

Diplomarbeit

**Der Einfluss sportlicher Intensität auf die
Serumkonzentration von Lactoyl-Phenylalanin**

Eine explorative Pilotstudie

eingereicht von

Fabian Briel

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik

unter der Anleitung von

Priv.-Doz. Mag. Dr.scient.med. Andreas Meinitzer

Dr. med. univ. Tobias Niedrist

Graz, 16.01.2025

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass, sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI) Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und den Vorgaben meiner Universität erfolgte, sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.

Graz, am 16.01.2025

Fabian Briel eh.

Danksagungen

Meinen engagierten Betreuern Herrn Dr. med. univ. Tobias Niedrist und Herrn Priv.-Doz. Mag. Dr.scient.med. Andreas Meinitzer möchte ich an dieser Stelle ganz herzlich für die wertvolle Chance zur wissenschaftlichen Mitarbeit in ihrem Forschungsprojekt danken. Ebenso möchte ich mich für die verlässliche und fachlich immer äußerst präzise Unterstützung auf Augenhöhe bedanken. Die zahlreichen konstruktiven Hinweise haben meine Arbeit erst zu dem gemacht, was sie heute ist.

Sen. Scientist Dipl.-Ing. Dr. Regina Riedl möchte ich für ihre äußerst hilfreiche Unterstützung bei meinen biostatistischen Fragestellungen danken.

Ein besonderer Dank gilt all den Menschen in meinem Umfeld, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite standen. Hervorheben möchte ich hier insbesondere meinen Vater Robert, meinen Bruder Marius und meine Freundin Mira.

Zusammenfassung

Hintergrund: Die präventive Wirkung von Bewegung gegen Übergewicht und Typ-2-Diabetes ist wissenschaftlich gut belegt. Vor kurzem wurde Lac-Phe als ein bedeutender molekularer Effektor des Nutzens von körperlicher Aktivität beschrieben. Die Konzentration dieses Metaboliten steigt bei körperlicher Aktivität an und bewirkt potenziell eine Reduktion des Appetits, der Nahrungsaufnahme und des Körpergewichts. Die Untersuchung des Einflusses der Belastungsintensität und der Belastungsdauer auf die Lac-Phe-Konzentration soll dazu beitragen den Hauptstimulus für die körpereigene Lac-Phe-Produktion zu identifizieren, um die positive Wirkung einer Trainingseinheit zu maximieren.

Methoden: In einer Pilotstudie wurden zwei ergometrische Belastungstests (Protokoll A: Maximalbelastung, VO_2max 100 %, ca. 15 min; Protokoll B: Ausdauerbelastung, mittlere bis hohe Intensität, VO_2max 75 %, ca. 60 min) anhand des quantitativen Parameters Lactoyl-Phenylalanin verglichen. Zehn Teilnehmende absolvierten beide Protokolle mit mind. einwöchigem Abstand. Blutproben wurden zu standardisierten Zeitpunkten (T_0 bis T_5) abgenommen und anschließend photometrisch ausgewertet.

Ergebnisse: Sowohl nach der Maximalbelastung (Protokoll A), als auch nach der Ausdauerbelastung (Protokoll B) zeigten die Teilnehmenden signifikant erhöhte Lac-Phe-Konzentrationen gegenüber den Ausgangswerten, welche auch in den Stunden danach erhöht blieben, sich jedoch nach 24 h wieder normalisiert hatten. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Protokollen trat lediglich 30 min nach Belastungsende auf ($p = 0,050$), wobei die Konzentrationen der Teilnehmer*innen von Protokoll A im Durchschnitt von 15,0 nmol/L auf 72,8 nmol/L anstiegen und bei Protokoll B von 13,6 nmol/L auf 46,9 nmol/L.

Schlussfolgerung: Die bei Protokoll A grenzwertig höheren Lac-Phe-Konzentrationen sind darauf zurückzuführen, dass die Teilnehmer*innen nach der kürzeren, intensiven Belastung ihr Maximum später nach Belastungsende erreichten. Ein Vergleich der Maxima über alle Zeitpunkte ergibt, dass kürzere, hochintensive Trainingsprotokolle in Bezug auf ihre Lac-Phe-Erhöhung als gleichwertig gegenüber längeren moderateren Protokollen betrachtet werden dürfen.

Abstract

Background: The protective effect of exercise against obesity and type 2 diabetes is well proved scientifically. Recently, Lac-Phe has been identified as a major molecular effector of the metabolic benefits of physical activity. The concentration of this metabolite increases during physical activity and potentially causes a reduction in appetite, food intake and body weight. Investigating the influence of exercise intensity and duration on Lac-Phe concentration should help to identify the main stimulus for endogenous Lac-Phe production, with the aim of maximizing the effect of an exercise session.

Methods: An exploratory pilot study compared two interventions based on the quantitative parameter Lac-Phe. Both interventions were ergometric exercise tests that differed in exercise intensity and duration. Protocol A was a graded maximal exercise test (high intensity, VO_2max 100 %, approx. 15 minutes) and Protocol B was an intensive endurance protocol (medium to high intensity, VO_2max 75 %, approx. 60 minutes). Both protocols were carried out with the same ten participants ($N = 10$) at least one week apart.

Results: Both after the maximum load (protocol A) and after the endurance load (protocol B), the participants showed significantly increased Lac-Phe concentrations, which remained elevated in the following hours, but had normalized again after 24 hours. A statistically significant difference between the protocols only occurred 30 minutes after the end of the exercise ($p = 0.050$), with the concentrations of the participants in protocol A increasing on average from 15.0 nmol/L to 72.8 nmol/L and in protocol B from 13.6 nmol/L to 46.9 nmol/L.

Conclusion: The borderline higher Lac-Phe concentrations in protocol A are due to the fact that the participants reached their maximum after the shorter, intensive exercise later after the end of the exercise. A comparison of the overall maxima shows that shorter, high-intensity training protocols can be considered at least equivalent to longer, more moderate protocols in terms of their Lac-Phe increase.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen und deren Erklärung.....	1
Abbildungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	5
1 Einleitung	6
1.1 Grundlagen zu Lac-Phe	9
1.2 Schlüsselenzym CNDP2.....	10
1.3 Lac-Phe-Anstieg bei körperlicher Belastung.....	11
1.4 Lac-Phe-Wirkung auf Appetit und Übergewicht.....	12
1.5 Forschungsfrage	13
2 Material und Methoden	15
2.1 Ethikvotum	15
2.2 Studiendesign	15
2.3 Fallzahlplanung	16
2.4 Studienpopulation.....	16
2.5 Arten der sportlichen Belastung	17
2.6 Ablauf.....	18
2.7 Datenerhebung.....	19
2.8 Sicherheit und Durchführung	19
2.9 Präanalytik.....	20
2.10 Analyse von Lactoyl-Phenylalanin.....	20
2.11 Datenauswertung	23
3 Ergebnisse mit graphischen Darstellungen.....	25
3.1 Merkmale der Studienpopulation	25
3.2 Allgemeine Charakteristika der Belastungsprotokolle	27
3.3 Lac-Phe bei Protokoll A	29
3.4 Lac-Phe bei Protokoll B	32
3.5 Unterschiede der Lac-Phe-Konzentration zwischen den Protokollen	35
3.5.1 Erniedrigte Lac-Phe-Werte 24 h nach Belastung	39
3.5.2 Standardisierte Lac-Phe-Verläufe.....	40
3.5.3 Abbau und Halbwertszeiten von Lac-Phe	40
3.6 Assoziationen von Lac-Phe mit anderen Einflussfaktoren.....	41
3.6.1 Geschlechterbezogene Unterschiede im Lac-Phe-Verlauf.....	41

3.6.2	Korrelation von Lac-Phe und Laktat	44
3.6.3	Lac-Phe und erreichte Spitzenleistungen	47
3.6.4	Lac-Phe und VO ₂ max	49
4	Diskussion	51
4.1	Interpretation der Ergebnisse	51
4.1.1	Repräsentativität der Stichprobe	51
4.1.2	Laktatkonzentrationen bei den Protokollen A und B	52
4.1.3	Lac-Phe-Konzentrationen bei den Protokollen A und B	52
4.1.4	Beantwortung der Hauptfragestellung	53
4.1.5	Zeitliche Dynamik der Lac-Phe-Konzentration	55
4.1.6	Individuelle Einflussfaktoren auf die Lac-Phe-Konzentration	55
4.2	Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien zu Lac-Phe	58
4.3	Intensitätsabhängige Unterschiede bei anderen Appetit-regulierenden Hormonen und Metaboliten	59
4.3.1	Die Sonderstellung von Laktat	60
4.4	Limitationen und Einschränkungen der Studie	62
4.4.1	Multiples Testen	62
4.4.2	Confounder	62
4.4.3	Individuelle Unterschiede	63
4.4.4	Studiendesign	63
4.5	Ausblick und Anregungen für weiterführende Arbeiten	64
4.6	Conclusio	65
Anhang		71

Abkürzungen und deren Erklärung

ABCC5	ATP-bindenden Transporter der Subgruppe C5
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body-Mass-Index
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CAD	Collisionally Activated Dissociation
cm	Zentimeter
CNDP2	Cytosolic non-specific dipeptidase 2
EK	Ethikkommission
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	et alii
GIP	Glukoseabhängiges insulinotropes Peptid
GLP-1	Glukagon-like- Peptide-1
G-Protein	Guaninnucleotide-bindendes Protein
HIT	High Intensity Training
HPLC	High pressure liquid chromatography
h	Stunde
i.d.R.	in der Regel
kg	Kilogramm
KIMCL	Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik
KO	Knockout
Lac-Phe	Lactoyl-Phenylalanin
LC-MS/MS	Liquid-Chromatographie- Massenspektrometrie/Massenspektrometrie
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of quantification
m ²	Quadratmeter
MICT	Moderate Intensity Continous Training
min	Minute

mind.	mindestens
mL	Milliliter
mmol	Millimol
MRM	Multiple Reaction Monitoring
mRNA	Messenger ribonucleic acid
N ₂	Stickstoff
nmol	Nanomol
PAL	Physical Activity Level
P _{max}	Spitzenleistung
PP	Pankreatisches Polypeptid
P _{rel}	Relative Leistung im Vergleich zum Bevölkerungsdurchschnitt
PYY	Peptid YY
Q-Q-Diagramm	Quantil-Quantil-Diagramm
rpm	revs per minute
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
s.o.	siehe oben
SD	Standardabweichung
v/v	Volumprozent
vgl.	vergleiche
V _k	Variationskoeffizient
VO _{2max}	Maximale Sauerstoffaufnahme
W	Watt
WHO	World Health Organization
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
ZNS	Zentralnervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel von Lactoylphenylalanin	10
Abbildung 2: Schema des Studiendesigns.....	16
Abbildung 3: Chromatogramm einer Serumprobe mit einer Konzentration von 14.8 nmol/L Lactoyl-Phenylalanin	23
Abbildung 4: Eichkurve von Lactoyl-Phenylalanin in 7 % Humanserumalbuminmatrix ..	23
Abbildung 5: Verlauf der Plasma-Laktatkonzentrationen der einzelnen Teilnehmenden ..	29
Abbildung 6: Boxplot der Plasma Lac-Phe-Konzentrationen der Teilnehmenden von Protokoll A.....	31
Abbildung 7: Lac-Phe-Verläufe der einzelnen Teilnehmenden bei Protokoll A über alle 6 Abnahmezeitpunkte hinweg	31
Abbildung 8: Boxplot der Plasma Lac-Phe-Konzentrationen der bei Protokoll B teilnehmenden Personen.....	33
Abbildung 9: Lac-Phe-Verläufe der einzelnen Teilnehmenden bei Protokoll B über alle 6 Abnahmezeitpunkte hinweg	34
Abbildung 10: Gruppiertes Boxplot mit den Lac-Phe-Konzentrationen der Belastungsprotokolle A (blau) und B (rot)	35
Abbildung 11: Lac-Phe-Verlauf der Mittelwerte.....	36
Abbildung 12: Mittlere Differenz zwischen den Protokollen mit 95% CI.....	37
Abbildung 13: Lac-Phe-Verlauf der einzelnen Teilnehmenden von beiden Protokolle über alle 6 Abnahmezeitpunkte hinweg	38
Abbildung 14: Relative prozentuelle Lac-Phe-Änderungen der einzelnen Teilnehmenden bei beiden Protokollen ausgehend von der Baseline T_0	39
Abbildung 15: Standardisierte Lac-Phe-Verläufe der einzelnen Teilnehmenden über beide Protokolle hinweg farblich dargestellt.	40
Abbildung 16: Verlauf der Lac-Phe-Werte über beide Protokolle hinweg entsprechend den Geschlechtern in zwei Gruppen aufgeteilt.....	43
Abbildung 17: Streudiagramm der Lac-Phe- und Laktat-Konzentrationen, welche vor den jeweiligen Protokollen gemessen wurden.....	44
Abbildung 18: Streudiagramm der präinterventionell gemessenen Lac-Phe- und Laktat-Durchschnittswerte einer jeden Person.....	45
Abbildung 19: Streudiagramm mit den Verhältnissen T_1/T_0 von Lac-Phe und Laktat.....	46

Abbildung 20: Streudiagramm mit den zum Zeitpunkt T_0 gemessenen Lac-Phe-Konzentrationen und der Spitzenleistung	47
Abbildung 21: Streudiagramm mit den zum Zeitpunkt T_1 gemessenen Lac-Phe-Konzentrationen und der Spitzenleistung	48
Abbildung 22: Streudiagramme mit den zum Zeitpunkt T_0 gemessenen Lac-Phe-Konzentrationen und der maximalen Sauerstoffaufnahme	49
Abbildung 23: Lac-Phe-Verläufe der Teilnehmenden entsprechend ihrer maximalen Sauerstoffaufnahme in 2 Gruppen aufgeteilt	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: <i>Kenndaten der Lactoyl-Phenylalanin Methode</i>	22
Tabelle 2: <i>Demographische, biometrische und leistungsabhängige Merkmale der Studienpopulation</i>	25
Tabelle 3: <i>Die Merkmale getrennt nach Geschlecht</i>	26
Tabelle 4: <i>Leistungsparameter von Protokoll B</i>	27
Tabelle 5: <i>Laktat-Messwerte der Protokolle A und B</i>	27
Tabelle 6: <i>Laktat-Messwerte getrennt nach Geschlechtern</i>	28
Tabelle 7: <i>Lac-Phe-Messwerte von Protokoll A</i>	30
Tabelle 8: <i>Absolute Lac-Phe-Zunahme von der Baseline (T_0) bei Protokoll A</i>	30
Tabelle 9: <i>Lac-Phe-Messwerte von Protokoll B</i>	32
Tabelle 10: <i>Absolute Lac-Phe-Zunahme von der Baseline (T_0) bei Protokoll B</i>	33
Tabelle 11: <i>Lac-Phe-Differenz zwischen Protokoll A und B</i>	37
Tabelle 12: <i>Approximierte Halbwertszeiten (HWZ) mit jeweiligem Bestimmtheitsmaß R^2</i> 41	
Tabelle 13: <i>Lac-Phe-Werte nach Frauen und Männer getrennt</i>	42

1 Einleitung

Seit den 90er Jahren wurde beginnend im Vereinigen Königreich in vielen Ländern der Welt nach und nach das Rezept auf Bewegung eingeführt. Grundlage hierfür ist die nachgewiesene hohe Wirksamkeit von körperlichem Training in der Prävention und Therapie zahlreicher Erkrankungen (1). Die Evidenz hierfür ist umfassend und wird für viele weit verbreitete Krankheiten, darunter das Metabolische Syndrom, mit dem höchsten Grad Ia angegeben (2). Mit dem Rezept soll einerseits die Awareness der Patient*innen erhöht werden und andererseits eine gezieltere Gesundheitsförderung ermöglicht werden. Der anerkannte Sportmediziner H. Löllgen plädiert dafür, körperliche Aktivität ähnlich wie ein Medikament zu verschreiben. Auf dem Rezept stünden neben der Art der Aktivität, der Trainingsmethode, dem Umfang und der Dauer des Trainings auch die Trainingsintensität. Vergleichbar mit der Dosierung eines Medikamentes, sollte hierbei exakt die Trainingsintensität gewählt werden, die gemäß aktuellem Stand der Forschung beim Erreichen des individuellen Trainingsziels (z.B. Gewichtsabnahme) den größten Erfolg verspricht (2).

Die Empfehlungen zu optimalen Trainingsintensitäten im Kontext von Prävention und Therapie sind aktuell im Wandel. Studien und Metaanalysen zeigten, dass Intervalltraining mit hoher Intensität (HIT) im Vergleich zu kontinuierlichem Training mit moderater Intensität (MICT) bei weniger Trainingszeit einen größeren Effekt auf die kardiorespiratorische Fitness haben kann (3–5). Ähnlich ist die Datenlage bei der Effektivität von Training zur Gewichtskontrolle. Bisherige Empfehlungen raten zu 150 – 300 min moderatem Training pro Woche (6,7). Die Ergebnisse von Studien, welche moderate mit hoher Belastungsintensität verglichen zeigten jedoch trotz kürzerer Trainingsdauer mehrheitlich stärkere Effekte bei höheren Intensitäten. Eine Metaanalyse ergab, dass zwar beide Trainingsformen zu einer Verringerung von Körperfett und Taillenumfang führten, Training mit höherer Intensität aber überlegen sei (8).

Obwohl also die Wirksamkeit von körperlicher Aktivität sehr gut belegt ist und es auch einige Studien gibt, welche die Effektivität von verschiedenen Trainingsintensitäten untersuchen, ist es bis dato weitgehend ungeklärt, wie die günstigen Effekte auf molekularer Ebene übertragen werden (9). Beim enormen gesundheitsfördernden Potenzial von Training ist das Interesse groß, in Zukunft genauer zu verstehen, auf welchen Ebenen das Training über welche Moleküle wirkt und welchen Einfluss die Intensität dabei hat.

Ein neuartiger Forschungsansatz, welcher von Li et al. verfolgt wurde, bestand darin, die metabolischen Konzentrationsveränderungen zu analysieren, die nach körperlicher Belastung im Vergleich zum Ruhezustand bestehen. Um diese Untersuchung auf eine möglichst unvoreingenommene Weise durchzuführen, wurde auf ein Verfahren zurückgegriffen, welches die Autor*innen spezifische und unspezifische metabolische Analyse nannten. Diese Analyse erfolgte bei Mäusen und Rennpferden. Dabei wurde Lactoyl-Phenylalanin (Lac-Phe) als das Molekül entdeckt, welches in beiden Tiermodellen belastungsinduziert den signifikantesten Anstieg aufwies. Bei einem weiteren Experiment führte dann die parenterale Verabreichung von Lac-Phe bei übergewichtigen Ratten zu einem Gewichtsverlust und einer verbesserten Glukosetoleranz. Diese Effekte wurden wahrscheinlich durch eine Hemmung des Appetits hervorgerufen (10). Seit dieser Veröffentlichung liegt die Vermutung nahe, dass Lac-Phe eine molekulare Übermittlerfunktion innehat. Spezielle Lac-Phe-Rezeptoren konnten allerdings bisher nicht gefunden werden (10).

In der klassischen Betrachtung ist Adipositas das Ergebnis der positiven Energiebilanz durch zu hohe Energieaufnahme (fett- und zuckerreiche Ernährung) bei zu niedrigem Energieverbrauch (körperliche Inaktivität) (11). Aus dieser klassischen Betrachtung leiten sich die bisherigen Empfehlungen zur Gewichtsabnahme ab: Mehr Bewegung und kalorienärmere Ernährung (6,12). Diese Empfehlungen alleine reichen für die meisten Betroffenen aber offenkundig nicht aus, denn die Prävalenz von Übergewicht in Österreich hat in den letzten Jahren kontinuierlich auf zuletzt über 50 % zugenommen (13). Laut den Zahlen der WHO hat sich die Gruppe der von Adipositas betroffenen Personen seit 1975 verdreifacht und zählte 2016 weltweit mehr als 650 Millionen Erwachsene. Die Empfehlungen sollten deshalb zusätzlich auch die Mechanismen der Regulation von Stoffwechsel und Appetit berücksichtigen. Die Art der Nahrungsmittel und die Art der sportlichen Betätigung haben einen Einfluss auf den Metabolismus und den Appetit und wirken über die reine Energiebilanz hinaus (11). Swinburn et al. zur Folge ist die Hauptursache für Übergewicht und Fettleibigkeit eine zu hohe Energiezufuhr (16). Daher ist die Erforschung von Möglichkeiten zur Reduktion von Appetit bzw. Energieaufnahme zentral. Appetit wird durch eine Vielzahl von Hormonen reguliert: Ghrelin, Peptid YY (PYY), pankreatisches Polypeptid (PP), Glukoseabhängiges insulintropes Peptid (GIP), Glukagon-like- Peptide-1 (GLP-1) und eben aller Wahrscheinlichkeit nach auch Lac-Phe (17).

Bekannt als Appetitzügler oder Abnehmspritzen sind GIP und GLP-1 bereits in der pharmakologischen Adipositas-therapie im Einsatz. Die Zulassung von Semaglutid, Liraglutid und Tirzepatid löste in den vergangenen Jahren großes mediales Interesse aus. Den Betroffenen wurde Hoffnung auf einen raschen und bequemen Gewichtsverlust gemacht. Neben diesen GIP bzw. GLP-1-Rezeptor-Agonisten besteht mit Lac-Phe die Chance, in einigen Jahren einen weiteren pharmakologischen Ansatz in Form einer neuen Abnehmspritze zur Appetitzügelung und Diabetes-Typ-II-Therapie anbieten zu können.

Die Zukunft der Adipositas-therapie wird wahrscheinlich in einem multimodalen Ansatz liegen (6). Adipositas ist eine hochkomplexe Erkrankung, welcher unterschiedliche Pathomechanismen zugrunde liegen. Das Ziel wird zukünftig darin liegen, je nach individueller Krankheitsursache eine personalisierte Therapie mit besonders hoher Wirksamkeit anbieten zu können (18). Es zeigte sich bereits, dass manche Betroffene besonders effektiv auf eine Ernährungsumstellung ansprechen, andere besonders von einer Bewegungstherapie profitieren und wieder andere von psychologischer Unterstützung Nutzen ziehen (19–24). Eine rezente Studie zeigte, dass Personen mit hohem belastungsinduziertem Lac-Phe-Anstieg bei gleichem Belastungsprotokoll auch einen größeren Fettgewebsverlust aufwiesen als Personen mit einem niedrigeren Lac-Phe-Anstieg. Die Autor*innen schlussfolgerten, dass Lac-Phe ein individueller Indikator dafür könnte, wie viel Körperfett eine übergewichtige Person mithilfe eines Trainingsprogramms verlieren könnte (19).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sich eine Adipositas-Pandemie ausgebreitet hat, deren Eindämmung eine große Herausforderung darstellt. Eine vielversprechende Therapie-Option stellt dabei die Beeinflussung der Nahrungszufuhr bzw. des Appetits dar. Bei der Untersuchung der Effekte von körperlicher Aktivität auf Körpergewicht und Taillenumfang zeigte sich High Intensity Training effektiver als moderates Training. Aus diesen Gründen untersucht unsere Studie den Einfluss der Trainingsintensität und Trainingsdauer auf die Lac-Phe-Konzentration (8). Das übergeordnete Ziel ist die exakte Untersuchung der Lac-Phe-Antwort auf einen bestimmten Trainingsreiz. Die Ergebnisse könnten Hinweise dafür liefern, welche Trainingsintensität besonders geeignet erscheint, um hohe Lac-Phe-Konzentrationen hervorzurufen. Die Vermutung ist, dass eine starke Lac-Phe-Antwort auch zu ausgeprägteren Lac-Phe-vermittelten günstigen Effekten führt, wobei die Effekte auf Appetit und Körpergewicht in unserer Studie nicht untersucht werden. Es besteht die Hoffnung, dass bei näherem Verständnis der Dynamik von Lac-Phe

gezieltere und wirksamere Trainingsempfehlungen für übergewichtige Personen abgeleitet werden können. Im Idealfall wird das Training samt der optimalen Intensität dann nach einer ärztlichen Untersuchung und Beratung entsprechend den individuellen Zielen und der genetischen Disposition präzise auf Rezept verschrieben. Davon würde die große Gruppe der von Adipositas betroffenen Personen profitieren.

1.1 Grundlagen zu Lac-Phe

Das Molekül N-Lactoyl-Phenylalanin ist ein wichtiger Vertreter der Gruppe der N-Lactoyl-Aminosäuren, welche erstmals von Jansen et al. im Jahr 2015 im Rahmen einer unspezifischen metabolomischen Analyse beschrieben wurden (25). Den Autor*innen zufolge kommt dieses Pseudopeptid ubiquitär im menschlichen Organismus vor und entsteht sehr rasch durch umgekehrte Katalyse mithilfe des Enzyms Cytosolic non-specific dipeptidase 2 (CNDP2). Es handelt sich dabei um eine Kondensationsreaktion zwischen Milchsäure und Phenylalanin, einer essenziellen proteinogenen Aminosäure. Zunächst wurde nicht erwartet, dass diese Reaktion in diese Richtung abläuft. Tatsächlich zeigte sich bei Vorhandensein von CNDP2 aber ein sich rasch einstellendes chemisches Gleichgewicht zwischen diesen drei chemischen Verbindungen. Demzufolge würde ein belastungsinduzierter Laktatanstieg bei gleichbleibendem Phenylalanin ebenso zu einem Lac-Phe-Anstieg führen wie eine pathologisch erhöhte Phenylalanin-Konzentration. Dies konnte anhand Patient*innen mit erhöhter Phenylalanin-Konzentration aufgrund von Phenylketonurie gezeigt werden (25).

Für den Ablauf dieser thermodynamisch eher ungünstigen Reaktion scheint entweder ein erhöhter Laktat- und/oder ein erhöhter Phenylalanin-Spiegel bei gleichzeitigem Auswärtstransport von Lac-Phe notwendig zu sein (10). Dieser Auswärtstransport erfolgt wahrscheinlich durch einen ATP-bindenden Transporter der Subgruppe C5 (ABCC5) (25). Nach dem Auswärtstransport konnten die Autor*innen eine rasche intrazelluläre Neubildung von Lac-Phe beobachten, solange Laktat und Phenylalanin ausreichend vorhanden waren. Ergo muss es sich um eine rasch ablaufende Reaktion handeln. Diese Schlussfolgerung wurde experimentell mit markierter Glucose-13C6 untermauert (25).

Die Lac-Phe-Bildung fand sowohl unter Zugabe von Zelllysat als auch von Vollblut statt. Keine Bildung erfolgte bei Zugabe von reinem Plasma. Damit muss die Herkunft von Lac-

Phe intrazellulär sein – mit der Ausschüttung in Folge. Die Elimination von Lac-Phe aus dem Plasma ist zum derzeitigen Zeitpunkt noch ungeklärt (25).

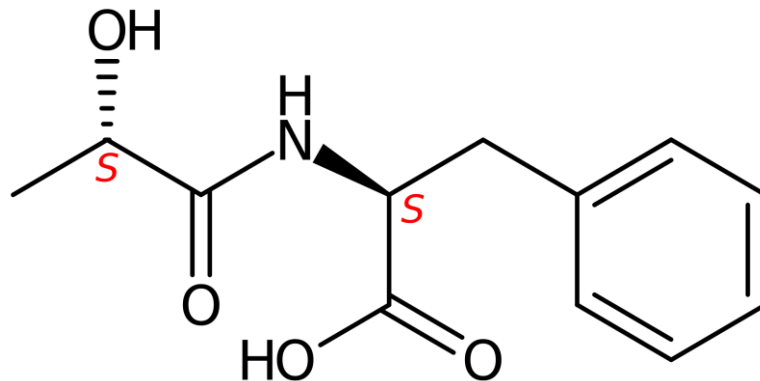


Abbildung 1: Strukturformel von Lactoylphenylalanin. Links: Lactoyl-Rest; Rechts: Phenylalanin. Eine Kondensationsreaktion, welche durch CNBP2 katalysiert wird, schafft die Peptidbindung, welche die beiden Moleküle miteinander verbindet.

1.2 Schlüsselenzym CNBP2

Mittels dem speziellen Verfahren Shotgun-Proteomics (LC-MS/MS) gelang es Jansen et al. CNBP2 als vermittelndes Enzym der Lac-Phe-Bildung zu identifizieren (8). Die Schlüsselrolle von CNBP2 konnte von Li et al. unterstrichen werden, da CNBP2-„Knockout“-Makrophagen (CNBP2-KO-Makrophagen) eine Verringerung des extrazellulären Lac-Phe-Spiegels > 75 % zeigten. Eine Reduktion zeigte sich gleichermaßen bei CNBP2-KO-Mäusen, sowohl unter Ruhe als auch bei körperlicher Aktivität (10).

Das Enzym kommt in vielen menschlichen Geweben vor (26) und eine CNBP2-mRNA-Expression konnte unter anderem in Muskelzellen, mesenchymalen Stammzellen, Leukozyten, Monozyten und Epithelzellen gezeigt werden (27,28). Laut Locke et al. werden zwei Missense-Polymorphismen von CNBP2 mit erhöhtem Body-Mass-Index in Verbindung gebracht, mutmaßlich aufgrund der dadurch eingeschränkten Lac-Phe-Synthese (29).

1.3 Lac-Phe-Anstieg bei körperlicher Belastung

Mit dem Ziel, Signalmoleküle zu identifizieren, welche die physiologischen Wirkungen von Sport übertragen, erforschten Li et al. belastungsinduzierte Metabolite im Rahmen einer gezielten und ungezielten metabolomischen Analyse bei Mäusen und Rennpferden. Die Mäuse rannten dabei bis zur Erschöpfung auf einem Laufband. Bei den Pferden wurde die Probe unmittelbar nach Ende des Rennens entnommen. Das Molekül mit dem signifikantesten Anstieg wurde bei beiden Tieren bei der ungezielten metabolomischen Analyse registriert. Ein chemisch synthetisierter Lac-Phe-Standard lieferte massenspektrometrisch das gleiche Ergebnis und der endogene Metabolit war als Lac-Phe identifiziert. Innerhalb von einer Stunde kehrten die Lac-Phe-Werte der Mäuse wieder zum Ausgangswert zurück (10).

Auch bei zwei menschlichen Kohorten untersuchten die Autor*innen Lac-Phe-Veränderungen bei körperlicher Belastung. Die erste Kohorte umfasste 36 gesunde Personen, die morgens nüchtern an der Stanford-Universität erschienen. Die Intervention war ein Stufentest zur Maximalbelastung, welcher an einem geneigten Laufband durchgeführt wurde und zwischen acht und zwölf Minuten dauerte. Blutproben wurden 2 min, 15 min, 30 min und 60 min nach Ende der Intervention entnommen. Mit der Probe wurde eine ungezielte massenspektrometrische Untersuchung des Plasmas durchgeführt. Hierbei war Lac-Phe der Metabolit mit dem drittsignifikantesten belastungsinduzierten Anstieg. Der Lac-Phe-Anstieg war robust und anhaltend. Die maximale Lac-Phe-Konzentration wurde 30 min nach Ende der Intervention gemessen. Laktat fiel rascher wieder ab und war bereits 15 min nach Ende der Intervention rückläufig. Phenylalanin blieb unverändert (10).

Die zweite Kohorte bestand aus acht Proband*innen, die drei unterschiedliche Leistungskategorien absolvierten: Ausdauer, Sprint und Kraft. Die Reihenfolge war randomisiert und zwischen den Interventionen lag ein Mindestabstand von 10 Tagen. Abgesehen von der Intervention selbst, unterschieden sich die Rahmenbedingungen nicht voneinander: 48 h vorher keine anstrengende körperliche Belastung, standardisierte Diät am Vortag, Nüchternheit am Testtag und Anreise mit dem Auto oder öffentlichen Verkehrsmitteln. Die Ausdauereinheit bestand aus 90 min kontinuierlichem Radfahren bei einer maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_{2max}) von 55 %. Die VO_{2max} wurde im Vorfeld bereits ermittelt, sodass der Zielwert bekannt war und der Widerstand entsprechen gewählt

werden konnte. Die Sprinteinheit bestand aus drei 30-sekündigen Vollgas-Sprints mit jeweils vierminütiger aktiver Erholung (5 Watt) dazwischen. Die Krafteinheit war eine Kniestreckübung an der Beinpresse. Nach einer Aufwärmphase wurden sechs Sätze mit je zehn Wiederholungen am Wiederholungsmaximum durchgeführt. Die Probenentnahmen erfolgten jeweils präinterventionell sowie 2 min, 60 min, 120 min und 180 min nach Ende der Belastung. Es zeigte sich, dass die Sprintbelastung den höchsten Lac-Phe-Anstieg verursachte, gefolgt von Kraft und Ausdauer. Die maximale Lac-Phe-Konzentration wurde bei Ausdauer 60 min nach Ende der Belastung und beim Ausdauerprotokoll 2 min nach Ende der Belastung erreicht. Auch hier war der Lac-Phe-Anstieg anhaltend, so dass die Teilnehmenden auch drei Stunden nach der Intervention noch erhöhte Lac-Phe-Werte aufwiesen. Es zeigte sich bei dieser Studie deutlich, dass die Trainingsmodalität prinzipiell einen deutlichen Unterschied zu machen scheint. Außerdem zeigte sich eine starke Korrelation zwischen den Lac-Phe- und Laktat-Konzentrationen Post/Prä ($r = 0,82$; $p < 0,001$) (10).

Ähnliche Ergebnisse lieferte die Untersuchung von Hoene et al. 2022. Hier mussten 22 sonst wenig aktive Personen 3x pro Woche für acht Wochen eine einstündige Ausdauereinheit absolvieren, welche zu einer Hälfte aus Radfahren und zur anderen Hälfte aus Gehen bestand. VO_{2max} wurde mithilfe eines Leistungstests vorher ermittelt und sollte während der Intervention ca. 80 % betragen. Lac-Phe wurde präinterventionell und fünf min nach Ende der Intervention entnommen. Die Trainingseinheiten verursachten einen signifikanten Lac-Phe-Anstieg. Zudem fanden sich signifikante Korrelationen zwischen der Plasma-Laktat- und der Plasma-Phenylalanin-Konzentration. Eine Änderung der Lac-Phe-Konzentration über die acht Wochen trat allerdings nicht auf. Weder bei der Ruhemessung noch bei der Messung nach der Belastungsintervention mit gleicher Intensität trat eine signifikante Änderung auf (19).

1.4 Lac-Phe-Wirkung auf Appetit und Übergewicht

Um den Zusammenhang zwischen Lac-Phe, körperlicher Aktivität und Gewichtsreduktion näher zu untersuchen, wählten Li et al. zunächst den pharmakologischen Ansatz. Die Verabreichung von Lac-Phe an übergewichtige Mäuse, verringerte deren Nahrungsaufnahme um 50 % ohne die Aktivität bzw. den Energieverbrauch zu verändern. Für diesen Effekt war die parenterale Verabreichung von Lac-Phe notwendig (50 mg/kg

intraperitoneal). Auch zeigte sich kein Effekt bei schlanken Mäusen, selbst bei dreifacher Dosis nicht. Bei längerfristiger Gabe von Lac-Phe (ab 10 Tagen) konnte bei den betroffenen Mäusen Übergewicht bzw. Adipositas abgebaut werden und die Glukosetoleranz verbesserte sich (10).

Um den Effekt des physiologischen Lac-Phe zu untersuchen, wurden CNDP2-KO-Mäuse mit CNDP2-Wildtyp-Mäusen (CNDP2-Wt-Mäuse) verglichen. Unter Ruhebedingungen zeigte sich während acht Wochen kein Unterschied hinsichtlich Nahrungsaufnahme und Körpergewicht, obwohl CNDP2-KO-Mäuse niedrigere Lac-Phe-Spiegel aufwiesen. Ein Unterschied zeigte sich erst während körperlicher Aktivität. Ein bei Nagetieren geprüftes Laufband-Protokoll führte zu einer Gewichtsabnahme von 75 % bei CNDP2-WT-Mäusen und 57 % bei CNDP2-KO-Mäusen ($p < 0,05$). Es zeigte sich also ein signifikanter Unterschied für übergewichtige Mäuse unter körperlicher Aktivität, nicht jedoch für schlanke Mäuse oder körperlich inaktive Mäuse (10).

Eine rezente Veröffentlichung von Xiao et al. zeigte, dass das weitverbreitete Antidiabetika Metformin seine anorexigene Wirkung über eine Erhöhung von Lac-Phe vermittelt. Dieser Effekt wurde bei Mäusen und zwei unabhängigen humanen Kohorten nachgewiesen. Die genetische Ausschaltung von CNDP2 führte bei der Maus-Kohorte zu einer Resistenz gegen die gewichtshemmende Komponente von Metformin (30).

Eine andere Studie untersuchte den Einfluss von eingeschränktem Blutfluss bei einer Belastung mittlerer Intensität auf verschiedene Metabolite. Auch ohne Einschränkung der Durchblutung mit einer Manschette stieg Lac-Phe belastungsinduziert an, deutlich stärker jedoch mit der Maßnahme. Zusätzlich wurden Veränderungen von Laktat, Ghrelin, GLP-1 und dem Hungergefühl gemessen. Bei der Nahrungszufuhr konnte allerdings kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (31).

1.5 Forschungsfrage

Eine explorative Pilotstudie wird untersuchen, welcher Unterschied in der Lac-Phe-Konzentration zwischen moderater und hoher Belastungsintensität besteht. Erwartet wird, dass eine hohe Belastungsintensität mit einem höheren Lac-Phe-Spiegel einhergeht, weil hierbei höhere Laktatkonzentrationen erreicht werden. Diese erhöhte Laktatkonzentration könnte in Kompartimenten mit vorhandenem CNDP2 die Lac-Phe-Bildung auslösen, weil die drei Moleküle Laktat, Phenylalanin und Lac-Phe in einem dynamischen Gleichgewicht

stehen. Ziel dieser Arbeit ist es, Hinweise darauf zu geben, welche Belastungsintensität im Hinblick auf eine Lac-Phe-vermittelte Gewichtsreduktion als besonders geeignet erscheint. Während die intensitätsabhängigen Unterschiede bei appetitregulierenden Peptiden bereits in verschiedenen Studien untersucht wurden, sind die Effekte der Belastungsintensität auf die Lac-Phe-Konzentration bislang kaum erforscht. Die in dieser Arbeit formulierten Erwartungen und Hypothesen stützen sich wesentlich auf die Publikation von Li et al. (2022), welche maßgeblich zur Etablierung von Lac-Phe als zentrales Forschungsthema beigetragen hat. Darüber hinaus gibt es bis dato nur wenige publizierte Arbeiten, welche die Lac-Phe-Veränderungen beim Menschen untersuchten. Die vorliegende Arbeit stellt die erste Untersuchung dar, welche versucht den belastungsinduzierten Lac-Phe-Anstieg bei einer österreichischen Stichprobe so zu reproduzieren wie er bei anderen Studien beobachtet wurde (10,19,25,31). Auch der Vergleich von moderater mit hoher Belastung wurde bisher ebenso wenig untersucht wie eine Lac-Phe-Messung 24 h nach Ende der Belastung.

Zunächst werden der Aufbau der Pilotstudie, die genaue Durchführung und die angewandte Analysemethode detailliert beschrieben. Im Anschluss erfolgt die Präsentation der Ergebnisse anhand von Tabellen und Diagrammen. Mithilfe statistischer Verfahren wird geprüft, ob weitere Einflussfaktoren auf die Lac-Phe-Konzentration identifiziert werden können. Im abschließenden Teil der Arbeit erfolgt die Interpretation und kritische Bewertung der Ergebnisse.

2 Material und Methoden

Um die Forschungsfrage dieser Diplomarbeit zu beantworten, wurde am KIMCL und der Sportambulanz der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendchirurgie der Medizinischen Universität Graz eine explorative Pilotstudie durchgeführt und ausgewertet. Das Ziel war die systematische quantitative Untersuchung des Einflusses der sportlichen Intensität und der Belastungsdauer auf den Lactoyl-Phenylalanin-Spiegel von metabolisch gesunden Personen.

2.1 Ethikvotum

Die hier beschriebene Pilotstudie wurde 2020 als „Telomax-EK-Studie“ durchgeführt und unter der EK-Nummer 32-153 ex 19/20 am 13.03.2020 von der zuständigen Ethikkommission zur Durchführung freigegeben. Das damalige Ziel der Studie war die Erforschung der „Auswirkungen von intensiver sportlicher Belastung auf zelluläre Seneszenzmarker“. Im Nachhinein erfolgte dann aus den vorhandenen Proben zusätzlich die Bestimmung und Quantifizierung des Parameters Lactoyl-Phenylalanin.

2.2 Studiendesign

In der monozentrischen interventionellen Pilotstudie wurden zwei verschiedene gruppenbildende Interventionen bei derselben Stichprobe mit $N = 10$ hinsichtlich der quantitativen Zielvariable Lactoyl-Phenylalanin und der quantitativen NebenvARIABLE Laktat vergleichend untersucht. Beide Interventionen waren ergometrische Belastungstests, deren Protokolle sich in Dauer und Intensität voneinander unterschieden. Dieselben Personen absolvierten zuerst Protokoll A und in einem mindestens einwöchigen Abstand Protokoll B. Diese Reihenfolge war einheitlich und wurde nicht randomisiert.

Protokoll A war ein Stufentest zur Maximalbelastung. Hierbei wird mit sukzessiv zunehmender Intensität bis zur Erschöpfung ausbelastet. Der Endwert entspricht der maximalen Intensität, welche abhängig vom individuellen Leistungsniveau nach ungefähr 20 min erreicht wurde. Protokoll B war ein intensives Ausdauerprotokoll, welches unter Arbeitspulsfrequenz nahe der zuvor ermittelten anaeroben Schwelle durchgeführt wurde und 50 – 60 min dauerte.

Die Probenentnahmen für Lactoyl-Phenylalanin erfolgten zu den 6 Zeitpunkten $T_0 - T_5$: Präinterventionell, unmittelbar postinterventionell, 30, 60 und 120 min postinterventionell sowie 24 h postinterventionell. Die Probenentnahmen für Laktat erfolgten während der Belastungsphase in unregelmäßigen Abständen.

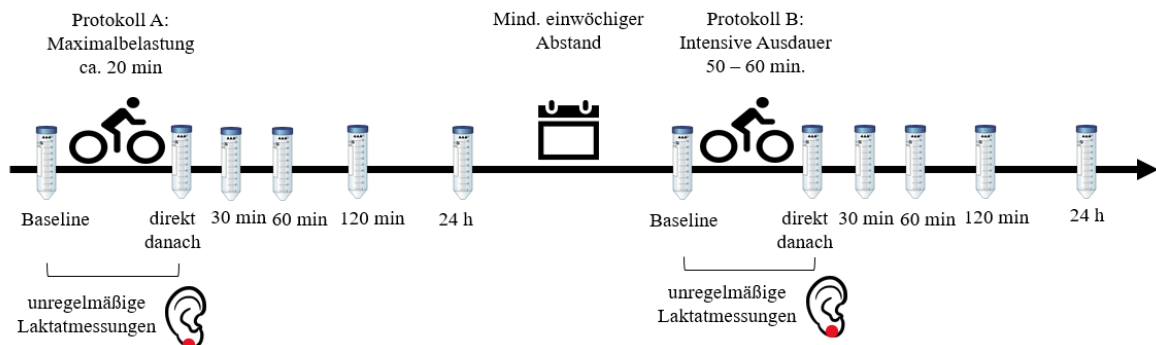


Abbildung 2: Schema des Studiendesigns, $N = 10$. Dargestellt sind die beiden Interventionen, die Abnahmezeitpunkte der Serumproben und der Zeitraum der repetitiven Laktatmessungen aus dem Ohrfläppchen.

2.3 Fallzahlplanung

Die zur Berechnung angenommene zu erwartende Effektstärke stützt sich auf die Daten von Li et al., Fig. 5e (10). Die Autor*innen verwendeten zwar ein anderes Belastungsprotokoll, es gab jedoch neben „Resistance“ auch die Belastungstests „Sprint“ und „Endurance“, deren Werte für die Planung herangezogen wurden.

Betrachtet wurden die Differenzen der gepaarten unmittelbar postinterventionell gemessenen Werte zwischen diesen beiden Belastungstests (Mittelwert = 77,3 nmol/L und Standardabweichung = 48,35 nmol/L). Es wurde ein standardmäßiges Signifikanzniveau von $\alpha = 5\%$ und eine Power von 80 % festgelegt. Der Online-Rechner „powerandsamplesize.com“ schätzte nach Eingabe dieser Datengrundlage eine Stichprobengröße von $N = 7$ für parametrische Testverfahren und eine Stichprobengröße von $N = 8$ für nicht-parametrische Testverfahren. Da sich das Belastungsprotokoll dieser Studie unterscheidet, wurde die Fallzahl $N = 10$ als angemessen betrachtet.

2.4 Studienpopulation

Insgesamt wurden 36 Personen für die Telomax-EK-Studie rekrutiert, wobei lediglich zehn Personen neben Protokoll A auch Protokoll B absolvierten, und in dieser Arbeit

berücksichtigt werden. Bei der Rekrutierung gab es keine offizielle Ausschreibung. Die Teilnehmenden setzten sich aus dem Kollegium des hiesigen Spitals zusammen und können grob als fittere Durchschnittspersonen beschrieben werden. Folgende Einschlusskriterien wurden formuliert:

- Volljährigkeit und -mündigkeit
- Alter zwischen 18 und 65 Jahren
- schriftliche Einwilligungserklärung (nach ärztlichem Aufklärungsgespräch)
- regelmäßiges Training

Ein ausgewogenes Verhältnis bezüglich Alter und Geschlecht wurde bei der Rekrutierung angestrebt.

Ausgeschlossen wurden Personen, bei denen ein oder mehrere der folgenden Kriterien zutrafen:

- Schwangerschaft
- Jegliche akute Erkrankungszustände
- Chronische kardiale, metabolische oder pulmonale Erkrankungen, koronare Herzkrankheit, stattgehabte Myokardinfarkte
- Body-Mass-Index (BMI) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$
- Polypharmazie (mehr als vier Wirkstoffe im Rahmen einer medikamentösen Dauertherapie); die Entscheidung zum Ein- bzw. Ausschluss der Studie aufgrund der Medikamenteneinnahme oblag dem Hauptprüfer

2.5 Arten der sportlichen Belastung

Alle zehn teilnehmenden Personen absolvierten zuerst Protokoll A und in einem mind. einwöchigen Abstand Protokoll B. Beide Interventionen setzten sich aus den folgenden Phasen mit den angegebenen Einstellungen zusammen.

Protokoll A: Maximalbelastung am Fahrradergometer (ca. 20 min)

- Dokumentation der Sattelhöhe
- Trittfrequenz $> 60 \text{ rpm}$
- passives Sitzen auf dem Ergometer vor Beginn = 3 min
- Aufwärmphase (10-20 W) = 3 min

- Erhöhung um 10-20 W in 1-Minuten-Schritten
- Erreichen der Maximalbelastung bei Abnahme der Trittfrequenz (< 50 rpm für mehr als 3 s)
- Auslaufphase = 3 min (20-40 W)
- passives Sitzen auf dem Ergometer nach Auslaufphase

Protokoll B: Intensives Ausdauerprotokoll am Fahrradergometer (50 – 60 min)

- Dokumentation der Sattelhöhe
- Trittfrequenz > 60 rpm
- passives Sitzen auf dem Ergometer vor Beginn = 3 min
- Aufwärmphase (10-20 W) = 3 min
- Intensive Ausdauerphase nahe der anaeroben Schwelle. Die individuelle Leistung wurde während den ersten 10 min eingependelt und entsprechend der Entwicklung der Laktat-Werte ggf. korrigiert = 50 – 60 min
- Beendigung der Ausdauerphase nach Ablauf der 60 min bzw. etwas früher, wenn Erschöpfung eintrat
- Auslaufphase = 3 min (20 – 40 W)
- passives Sitzen auf dem Ergometer nach Auslaufphase

2.6 Ablauf

Der folgende Workflow wurde bei allen teilnehmenden Personen einheitlich umgesetzt:

1. Einholen der schriftlichen Einverständniserklärung (Informed consent)
2. Präinterventionelle Untersuchung, Abschätzung der Tauglichkeit (Anamnese, physikalischer Status, Ruhe-EKG, Routinelaboruntersuchung)
3. Protokoll A samt präinterventioneller Blutabnahme (T_0) und postinterventionellen Blutabnahmen ($T_1 - T_5$)
4. Protokoll B samt präinterventioneller Blutabnahme (T_0) und postinterventionellen Blutabnahmen ($T_1 - T_5$)

2.7 Datenerhebung

Folgende biometrische Kennzahlen wurden im Vorfeld von allen teilnehmenden Personen erhoben: Geschlecht, Alter, Körpergewicht und Körpergröße. Anhand eines Routineschemas wurde durch die Sportwissenschaft der PAL-Wert (Physical Activity Level) erhoben.

Mithilfe der Spiroergometrie wurde während beiden Protokollen sowohl der Sauerstoffgehalt der Ein- und Ausatemluft als auch das Volumen der Ausatemluft gemessen. Daraus wurde die maximale Sauerstoffaufnahme bestimmt.

Um die repetitiven Entnahmen des venösen Blutes unkompliziert und für die Teilnehmenden möglichst schmerzarm durchführen zu können, wurde vor der Intervention bei allen teilnehmenden Personen ein peripherer Venenverweilkatheter in eine Unterarmvene gelegt. Über die damit einhergehenden möglichen Risiken wurden alle teilnehmenden Personen vorab ausführlich informiert und aufgeklärt.

Die sechs Zeitpunkte der Probenentnahme verteilten sich wie folgt: T_0 – vor der Belastung, T_1 – unmittelbar nach Ende der Belastung, T_2 – 30 min nach Ende der Belastung, T_3 – 60 min nach Ende der Belastung, T_4 – 120 min nach Ende der Belastung, T_5 – 24 h nach der Belastung.

Für spezielle Analysen von verschiedenen Parametern wurden insgesamt 132 mL Vollblut pro Teilnehmer*in in dafür geeignete Blutabnahmeröhrchen entnommen. Hinzu kamen noch 12 mL Vollblut für die Routineuntersuchung bei Studieneinschluss. Dabei wurde abgeklärt, ob keine noch symptomlosen Krankheitszustände (Anämien, Diabetes, systemische Entzündungen, etc.) vorlagen. Der Nachweis und die Quantifizierung von Lactoyl-Phenylalanin war Teil der ungezielten metabolomischen Analyse und erfolgte aus einem Serumröhrchen.

2.8 Sicherheit und Durchführung

Beide Belastungsprotokolle sowie sämtliche Probenentnahmen erfolgten unter Aufsicht der ärztlichen Studienmitarbeiter*innen. Die Eignung aller Teilnehmenden wurde vorab durch eine medizinische Untersuchung (inklusive EKG und Labordiagnostik) überprüft. Damit konnte die Gefahr der Teilnehmenden für unvorhergesehene belastungsbedingte Zwischenfälle auf ein minimales Restrisiko gesenkt werden. Über die möglichen Risiken

durch die Interventionen und die Probenentnahmen wurden alle Teilnehmer*innen bei der Rekrutierung hinreichend aufgeklärt.

Wie hier auch beschrieben, waren abweichend vom Studienprotokoll beide Interventionen ergometrische Belastungstests. Vom ursprünglichen Vorhaben, Protokoll B als Wald- und Wiesenlauf durchzuführen, wurde aufgrund der schwierigeren Umsetzung Abstand genommen.

Bei gewissen Teilnehmer*innen fehlen die Messdaten zu einzelnen Zeitpunkten, weil nicht mehr ausreichend Blut für die Analyse zur Verfügung stand. Dies betrifft insgesamt drei Werte. Ansonsten gab es keine Besonderheiten und die Studie konnte reibungslos und dem Studienprotokoll entsprechend durchgeführt werden.

2.9 Präanalytik

Das Serum wurde durch die Entnahme von venösem Vollblut in dafür geeigneten Primärröhrchen (VACUETTE CAT Serum mit Separationsgel und Gerinnungsaktivator, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Österreich) gewonnen. Aufgrund der vielen Blutabnahmen innerhalb der ersten beiden Stunden nach Belastung, wurde allen Teilnehmer*innen ein intravenöser Verweilkatheter gelegt. Die Abnahme aus diesem erhöht zwar grundsätzlich die Wahrscheinlichkeit einer In-vitro-Hämolyse, eine solche interferiert allerdings nicht mit den geplanten Analysen.

Nach der Blutentnahme wurden die Primärgefäße mindestens 30 min bei Raumtemperatur stehen gelassen, um eine regelrechte Koagulation zu ermöglichen. Danach erfolgte die Zentrifugation (2300 g für 10 min). Der Überstand wurde mittels Pipette abgehoben und ursprünglich in geeigneten Sekundärröhrchen (Nunc Cryotubes, Thermo Scientific, Massachusetts, USA) bei -80 °C tiefgefroren. Das Auftauen erfolgte unforciert bei Raumtemperatur. Vor den Analysen wurden die Proben mittels Schüttler homogenisiert.

2.10 Analyse von Lactoyl-Phenylalanin

Geräteausstattung: Das LC MS/MS System zur Analyse von Lactoyl-Phenylalanin bestand aus einer Shimadzu HPLC-Anlage (Kyoto, Japan) mit einem –Entgaser (DGU-20ASRCL) für die mobile Phasen, zwei Hochdruckpumpen (LC-20AD CL), einen Autosampler (SIL-30AC CL), einem Controller (CBM-20A) und einem Säulenofen (CTO-20AC). Gekoppelt war die Anlage mit einem SCIEX QTRAP 6500 Triple-Quadrupol-

Tandem-Massenspektrometer (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA). Als Ionisierungs- (CAD) und Kollisionsgas wurde Stickstoff (N₂) verwendet, das von einem Stickstoffgenerator NGM (cmc Instruments, Eschborn, Deutschland) erzeugt wurde. Alle Komponenten wurden mit der Software SCIEX Analyst 1.6.3 installiert auf einem PC gesteuert.

Chromatographische Bedingungen: Die chromatographische Trennung wurde mit einer Synergi 2,5 µm, Hydro RP, 100Å, 100 x 3 mm Säule (Phenomenex, USA) durchgeführt. Die Trennung des Analyten erfolgte mit einem Fluss von 0,4 mL/min, einer stufenweisen und einer linearen Gradientenelution. Die Probeninjektion erfolgte bei 100 % mobiler Phase A (Wasser/Ameisensäure, 100/0,1, v/v) die für 0,5 min konstant gehalten wurde. Der Anteil der mobile Phase B (Methanol/Ameisensäure, 100/0,1, v/v) wurde in einem 0,1-minütigen Schritt auf 45 % erhöht. Nach einer Minute wurde ein linearer Gradient über 0,5 min angelegt, gefolgt von einem Spülvorgang mit 100 % mobiler Phase B für eine weitere Minute. Nach einer zweiminütigen Reequilibrierung mit der mobilen Phase A war das System nach insgesamt 5 min Analysezeit bereit für die nächste Injektion. Mit der Ratio der Peakflächen des Analyten und des internen Standards wurden Eichkurven erstellt, mit denen die Auswertung unbekannter Proben erfolgte.

Probenvorbereitung: Zu 25 µL Probe, Kalibrator oder Kontrolle, wurden 100 µL eiskaltes Acetonitril (-20 °C) mit internem Standard (50 nmol/L) in Acetonitril (-20 °C) zugegeben. Nach 5 s vortexen (5 s) bei Raumtemperatur inkubierte die Mischung eine Minute bei 4 °C. Es folgte eine Zentrifugation von zwei Minuten bei 20.000 g. 100 µL des Überstandes wurde in Autosamplercups übergeführt aus denen 5 µL injiziert wurden.

Reagenzien: N-Lactoyl-Phenylalanin wurde von Toronto Research (Toronto, Kanada) geliefert. L-Phenylalanin ¹³C₉¹⁵N, Calciumoxid und L-Milchsäure wurden von Sigma Aldrich (St. Louis, USA) bezogen. Methanol, Acetonitril und Ameisensäure in Lichrosolv-Qualität kamen von Merck (Darmstadt, Deutschland). Reinstwasser LC-MS Chromasolv wurde von Riedel-de Haen (Seelze, Deutschland) und Humanalbuminlösung 200 g/L von Kedrion Biopharma (Gräfelfing, Deutschland) bezogen.

Herstellung von Stocklösungen und Kalibratoren: Der interne Standard wurde durch Mischen von Milchsäure mit L-Phenylalanin ¹³C₉¹⁵N und dem Katalysator Calciumoxid

hergestellt, wie an anderer Stelle beschrieben (32). N-Lactoyl-Phenylalanin und der interne Standard wurden in einer Stammlösung von 1 mg/mL in 50 % Methanol hergestellt. Die Kalibratoren (1, 5, 40, 20, 60, 200 nmol/L) wurden durch Aufstocken einer Humanalbuminlösung (7 %) hergestellt. Die Fällungslösung bestand aus 100 % Acetonitril und 50 nmol/L internem Standard und wurde bei -20 ° C gelagert.

Tabelle 1: Kenndaten der Lactoyl-Phenylalanin Methode

	Lac-Phe
Arbeitsbereich, nmol/L	1 - 200
Kalibration Kurve	$y = 0.00107x$
Achsenabschnitt	0.00686
Korrelationskoeffizient r^2	0.9999
Intra-day Präzision N = 6	
Low, high	8.0 (3.7)
Mittelwert, nmol/L (Vk, %)	27.5 (3.3)
Inter-day Präzision N = 6	
Low, high	7.8 (4.2)
Mittelwert, nmol/L (Vk, %)	27.6 (5.4)
Recovery, %, $\pm$ SD	89.1 $\pm$ 5.2
Limit of quantification (LOQ), nmol/L, Matrix	1.5
Limit of detection (LOD), nmol/L, 3-fache Standardabweichung (SD) des Basislinienrausches bei Injektion von Reinsubstanz	0.5
Stabilität in der Matrix	48h / RT

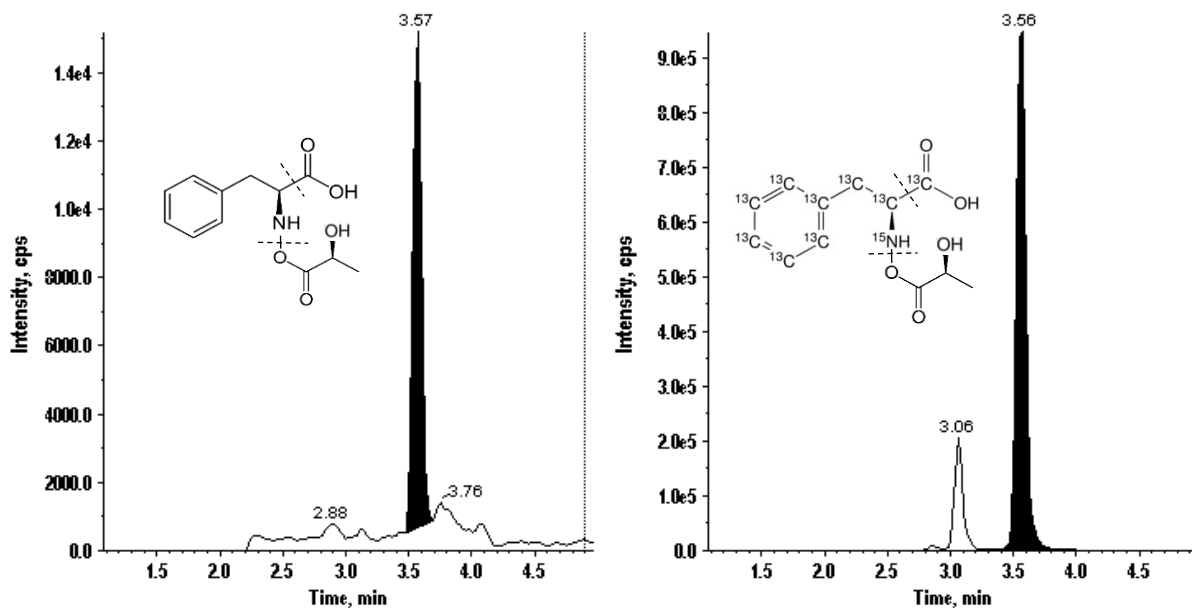


Abbildung 3: Chromatogramm einer Serumprobe mit einer Konzentration von 14,8 nmol/L Lactoyl-Phenylalanin, MRM-Übergang 238.5/120.15 (links) LPA, interner Standard $^{13}\text{C}_9$ ^{15}N markiert, MRM Übergang 248.5/129.15 (rechts).

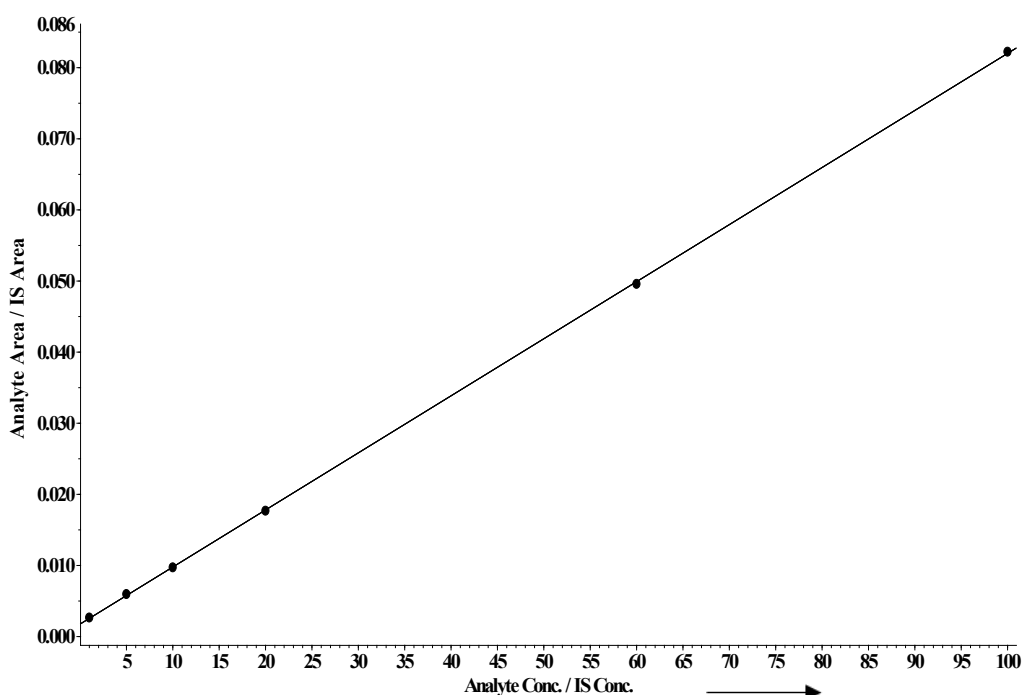


Abbildung 4: Eichkurve von Lactoyl-Phenylalanin in 7 % Humanserumalbuminmatrix

2.11 Datenauswertung

Die Datenauswertung erfolgte mit der Statistik-Software SPSS Stastics 29 (IBM Corporation, USA) und mit Microsoft Excel 365 (Microsoft Corporation, USA), welche

von der Medizinischen Universität Graz zur Verfügung gestellt wurden. Zunächst wurde eine ausführliche deskriptive Statistik berechnet und mit geeigneten Diagrammen veranschaulicht. Mit Q-Q-Diagrammen wurden die Werte bzw. deren Differenzen hinsichtlich Normalverteilung geprüft. Da sich dabei keine nennenswerten Abweichungen von der Normalverteilung zeigten, wurde gänzlich auf parametrische Testverfahren zurückgegriffen.

Zum Vergleich der Werte zwischen den Protokollen, als auch zwischen den Messzeitpunkten wurden t-Tests für verbundene Stichproben angewandt. Die Idee einer Varianzanalyse, bei der alle Stichproben in einem Test analysiert werden könnten, wurde verworfen. Die fehlenden Messwerte hätten dabei zu einem zu großen Datenverlust geführt, weil bei der ANOVA ein listenweiser Fallausschluss notwendig ist. Alle Teilnehmer*innen mit mindestens einem fehlenden Wert hätten herausgenommen werden müssen und die Stichprobengröße hätte sich auf $N = 7$ reduziert. Bei den angewandten t-Tests konnte mit paarweisem Fallausschluss gerechnet werden.

Mögliche Korrelationen zwischen Lactoyl-Phenylalanin und Laktat sowie zwischen weiteren Parametern wurden mittels Streudiagramm untersucht und wo sinnvoll mit Pearson berechnet. Das Signifikanzniveau wurde einheitlich auf $\alpha = 5\%$ festgelegt ($p < 0,05$). Mathematische Operationen wie die z-Transformation und die logarithmische Regression zur Ermittlung der Halbwertszeit wurden mittels Excel berechnet.

3 Ergebnisse mit graphischen Darstellungen

3.1 Merkmale der Studienpopulation

Es wurden je fünf Männer und fünf Frauen im Alter zwischen 24 und 58 Jahren in die Studie eingeschlossen. Die biometrischen Eigenschaften und sportmedizinischen Leistungsmerkmale der Studienpopulation sind zusammengefasst in Tabelle 2 dargestellt, während in Tabelle 3 dieselben Variablen nach Geschlechtern gegenübergestellt sind.

Tabelle 2: Demographische, biometrische und leistungsabhängige Merkmale der Studienpopulation. Der p-Wert entstammt dem Shapiro-Wilk-Test. $P_{\max}$ = Spitzenleistung bei Protokoll A; P_{rel} = relative Leistung im Vergleich zum Bevölkerungsdurchschnitt; $VO_2\max$ = maximale Sauerstoffaufnahme bei Protokoll A; Grand Mean = Gesamtmittelwert über mehrere Messzeitpunkte hinweg.

<i>Parameter</i>	<i>Einheit</i>	<i>Frauen (N = 5)</i>	<i>Männer (N = 5)</i>	<i>p-Wert</i>
Alter	Jahre	46,6 ± 7,3	38,6 ± 12,6	0,256
Größe	cm	166 ± 4,7	179,2 ± 8,5	0,016
Gewicht	kg	65 (65)	77 (71 – 84)	0,008
BMI	kg/m ²	23,7838 ± 1,5	25,035 ± 2,6	0,376
P_{max}	Watt	226 ± 43,4	331,2 ± 36,0	0,003
P_{rel}	%	184 ± 32,8	158 ± 22,9	0,185
VO₂max	mL/min/kg	42,4 ± 8,5	50,0 ± 12,0	0,280
Lac-Phe_AT₀	nmol/L	13,3 ± 3,5	16,3 ± 5,2	0,347
Lac-Phe_BT₀	nmol/L	11,8 ± 4,9	15,4 ± 2,2	0,179
Lac-Phe_A Grand Mean T₁₋₅	nmol/L	36,8 (18,2 – 52,0)	64,5 (32,8 – 92,5)	-
Lac-Phe_B Grand Mean T₁₋₅	nmol/L	33,7 (18,4 – 48,2)	50,7 (25,5 – 74,1)	-

Wie in Tabelle 3 ersichtlich, waren die teilnehmenden Männer größer ($p = 0,016$) und schwerer ($p = 0,008$) als die Frauen. Auch erreichten die Männer eine höhere

Spitzenleistung als die Frauen ($p = 0,003$), während die relativen Leistungen sich nicht signifikant voneinander unterschieden.

Tabelle 3: Die Merkmale getrennt nach Geschlecht. Bei Normalverteilung entstammt der p -Wert dem t -Test für unabhängige Stichproben. Ansonsten wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt.

<i>Parameter</i>	<i>Einheit</i>	<i>Frauen (N = 5)</i>	<i>Männer (N = 5)</i>	<i>p-Wert</i>
Alter	Jahre	46,6 ± 7,3	38,6 ± 12,6	0,256
Größe	cm	166 ± 4,7	179,2 ± 8,5	0,016
Gewicht	kg	65 (65)	77 (71 – 84)	0,008
BMI	kg/m ²	23,7838 ± 1,5	25,035 ± 2,6	0,376
P_{max}	Watt	226 ± 43,4	331,2 ± 36,0	0,003
P_{rel}	%	184 ± 32,8	158 ± 22,9	0,185
VO₂max	mL/min/kg	42,4 ± 8,5	50,0 ± 12,0	0,280
Lac-Phe_AT₀	nmol/L	13,3 ± 3,5	16,3 ± 5,2	0,347
Lac-Phe_BT₀	nmol/L	11,8 ± 4,9	15,4 ± 2,2	0,179
Lac-Phe_A Grand Mean T₁₋₅	nmol/L	36,8 (18,2 – 52,0)	64,5 (32,8 – 92,5)	-
Lac-Phe_B Grand Mean T₁₋₅	nmol/L	33,7 (18,4 – 48,2)	50,7 (25,5 – 74,1)	-

3.2 Allgemeine Charakteristika der Belastungsprotokolle

Wie in Tabelle 4 ersichtlich, erreichte das Ausdauerprotokoll B, welches nahe der anaeroben Schwelle durchgeführt wurde, ungefähr 75 % VO_2max .

Tabelle 4: Leistungsparameter von Protokoll B: P_{mean} = mittlere Leistung der Teilnehmenden; VO_2mean = mittlere Sauerstoffaufnahme der Teilnehmenden; % VO_2max = Anteil des VO_2mean am VO_2max von Protokoll A. Der p-Wert entstammt dem Shapiro-Wilk-Test.

Parameter	Einheit	p-Wert	Lagemaße	Minimum	Maximum
P_{mean}	Watt	0.763	$163,4 \pm 38,2$	111	222
VO_2mean	mL/min/kg	0.5023	$34,5 \pm 5,3$	27,4	45,9
%VO_2max	%	0,071	$76,2 \pm 9,9$	67,2	98,2

Die Laktatwerte der beiden Protokolle sind in Tabelle 5 gegenübergestellt. Das kürzere Protokoll A führte unmittelbar nach Belastung zu höheren Laktatwerten als das längere Ausdauerprotokoll B ($p < 0,001$). Auch die maximalen Laktatwerte waren unmittelbar nach Belastung bei Protokoll A höher ($p < 0,001$).

Tabelle 5: Laktat-Messwerte der Protokolle A und B zu den Zeitpunkten T_0 – vor Belastung und T_1 – unmittelbar nach Ende der Belastung. $\text{Laktat}_{\text{max}}$ beschreibt den höchsten gemessenen Wert während des jeweiligen Protokolls. Der p-Wert entstammt dem Shapiro-Wilk-Test.

Parameter	Einheit	Lagemaße Protokoll A	p-Wert	Lagemaße Protokoll B	p-Wert
Laktat T_0	mmol/L	$1,1 \pm 0,4$	0,677	$1,2 \pm 0,3$	0,189
Laktat T_1	mmol/L	11,9 (10,7 – 12,9)	0,019	4,0 (3,7 – 4,3)	0,006
Laktat_{max}	mmol/L	11,9 (10,6 – 13,3)	0,046	$4,9 \pm 1,0$	0,203
Absoluter Laktatanstieg $T_1 - T_0$	mmol/L	$10,2 \pm 2,3$	0,082	$2,8 \pm 1,2$	0,092
Verhältnis T_1/T_0	-	$11,7 \pm 5,2$	0,283	$3,6 \pm 1,3$	0,615

Tabelle 6 vergleicht die Laktatwerte der Männer und Frauen. Hierbei zeigte sich, dass die Männer vor und nach der Belastung etwas höhere Laktatwerte aufwiesen als die Frauen. Sowohl diese Unterschiede als auch etwaige Unterschiede im Laktatanstieg waren jedoch statistisch nicht signifikant.

Tabelle 6: Laktat-Messwerte getrennt nach Geschlechtern. Bei Normalverteilung entstammt der p-Wert dem t-Test für unabhängige Stichproben. Ansonsten wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt.

<i>Parameter</i>		<i>Einheit</i>	<i>Frauen (N = 5)</i>	<i>Männer (N = 5)</i>	<i>p-Wert</i>
Laktat Protokoll A	T₀	mmol/L	0,99 ± 0,34	1,21 ± 0,51	0,458
	T₁	mmol/L	10,72 (10,34 – 11,81)	11,96 (11,96 – 13,27)	0,222
	Absoluter Anstieg T₁ – T₀	mmol/L	9,4 ± 2,8	11,1 ± 1,5	0,275
	Verhältnis T₁/T₀	-	9,7 (8,1 – 16,1)	11,8 ± 5,1	0,950
Laktat Protokoll B	T₀	mmol/L	1,17 ± 0,33	1,24 ± 0,35	0,739
	T₁	mmol/L	3,75 (3,62 – 4,04)	4,23 (4,04 – 4,42)	0,222
	Absoluter Anstieg T₁ – T₀	mmol/L	2,5 ± 0,9	3,1 ± 1,6	0,512
	Verhältnis T₁/T₀	-	3,5 ± 1,6	3,6 ± 1,1	0,976

In den mittleren Laktatkonzentrationen, wie sie in Abbildung 5 gemeinsam mit den Kurven der einzelnen Teilnehmenden dargestellt sind, zeigen sich unterschiedliche Verläufe zwischen den Protokollen. Im kürzeren Protokoll A blieben die Laktatkonzentrationen während der ersten 9 min der Intervention unverändert nahe des Ausgangslevels. Danach setzte ein steiler Anstieg ein, der von Minute 13 bis 17 einen annähernd linearen Verlauf aufwies, mit einer Steigung von etwa 1,4 mmol/L/min. Gegen Ende des Protokolls flachte die Kurve wieder etwas ab.

Auch im Ausdauerprotokoll B starteten die Teilnehmenden mit niedrigen Ausgangswerten. Hier zeigte sich jedoch von Beginn ein annähernd linearer Verlauf mit einer Steigung von

etwa 0,15 mmol/L/min, welcher sich bis Minute 20 fortsetzte. Nach 25 min erreichte die Laktatkonzentration ein Plateau, dessen Höhe individuell variierte und ungefähr im Bereich von 4 mmol/L lag. Einige Personen zeigten in den letzten 10 min des Protokolls einen geringfügigen Rückgang der Laktatkonzentration.

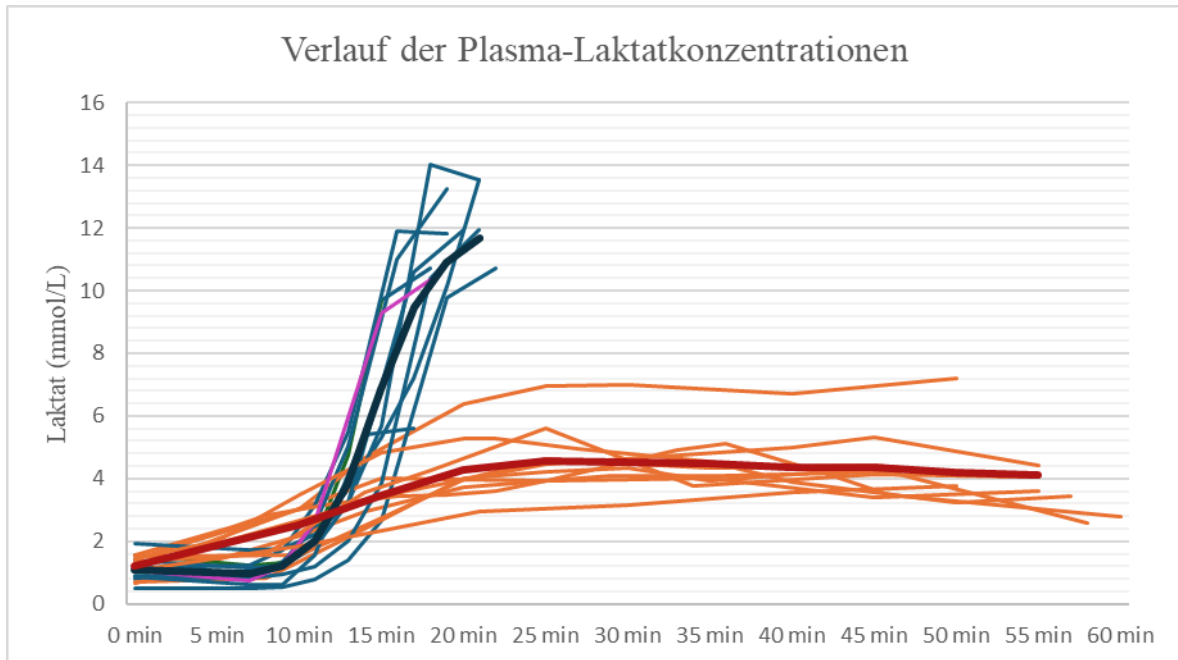


Abbildung 5: Verlauf der Plasma-Laktatkonzentrationen der einzelnen Teilnehmenden. Gemessen wurde vor und nach der Intervention sowie in unregelmäßigen Abständen währenddessen. Die Verläufe von Protokoll A sind in blau dargestellt und die Verläufe von Protokoll B in rot. Der Mittelwert wurde jeweils mit dicker Linie eingezeichnet.

3.3 Lac-Phe bei Protokoll A

Bei Protokoll A wurde unmittelbar nach Ende der ergometrischen Maximalbelastung ein Anstieg der Lac-Phe-Konzentration bei allen Teilnehmenden gemessen ($p = 0,002$). Von den zehn Personen erreichten sechs ihr Maximum zum Zeitpunkt T_1 und vier zum Zeitpunkt T_2 (vgl. Abbildung 6). Der Mittelwert erreichte seinen höchsten Wert bei diesem Protokoll zum Zeitpunkt T_2 , 30 min nach Belastungsende. Im Zeitraum von T_2 bis T_5 waren die Werte aller Teilnehmenden kontinuierlich rückläufig, wobei bis einschließlich T_4 signifikant erhöhte Werte im Vergleich zur Baseline gemessen wurden ($p = 0,018$). Die niedrigste Konzentration wurde 24 h nach dem Belastungstest gemessen. Zu dem Zeitpunkt bestand eine negative Veränderung, welche nicht signifikant war. Tabelle 7 zeigt die Messwerte zu den 6 Abnahmezeitpunkten, während Tabelle 8 die Veränderung ausgehend von der Baseline darstellt.

Tabelle 7: Lac-Phe-Messwerte von Protokoll A zu den Zeitpunkten T_0 – vor Belastung, T_1 – unmittelbar nach Ende der Belastung; T_2 – 30 min nach Belastung; T_3 – 60 min nach Belastung; T_4 – 120 min nach Belastung; T_5 – 24 h nach Belastung. Der p -Wert entstammt dem Shapiro-Wilk-Test.

Parameter	Messzeitpunkt	p -Wert	Lagemaße	Minimum	Maximum	Quartilsdispersionskoeffizient
Lac-Phe Protokoll A (nmol/L)	T₀	0,468	$15,0 \pm 4,6$	8,4	24,8	0,273
	T₁	0,143	$71,7 \pm 40,4$	18,3	168,0	0,465
	T₂	0,266	$72,8 \pm 40,2$	24,1	143,0	0,961
	T₃	0,162	$56,2 \pm 33,4$	16,8	105,0	1,477
	T₄	0,774	$38,1 \pm 23,0$	9,5	77,9	0,916
	T₅	<,001	$9,4 (8,4 - 12,4)$	4,7	30,5	0,431

Tabelle 8: Absolute Lac-Phe-Zunahme von der Baseline (T_0) bei Protokoll A. P -Werte entstammen dem t -Test für verbundene Stichproben; *markiert Signifikanz.

Messzeitpunkt	Mean $\pm$ SD (nmol/L)	p -Wert
T₁	$59,4 \pm 39,3^*$	0,002
T₂	$61,7 \pm 39,6^*$	0,002
T₃	$45,2 \pm 33,4^*$	0,007
T₄	$25,7 \pm 23,2^*$	0,018
T₅	$-3,1 \pm 4,1$	0,051

In Abbildung 6 ist zu erkennen, dass der Median zum Zeitpunkt T_2 bereits rückläufig war, wobei sich der Interquartilsabstand und insbesondere das obere Quartil noch erhöhte. Der Interquartilsabstand betrug präinterventionell 3,9 mmol/L und erreichte seinen höchsten Wert mit 66,9 mmol/L zum Zeitpunkt T_3 . Um die Beobachtung der größeren Interquartilsabstände von $T_1 - T_4$ zu normieren, wurde der Quartilsdispersionskoeffizient berechnet (vgl. Tabelle 7). Diese robuste Variante des Variationskoeffizient ermittelte den höchsten Wert ebenfalls zum Zeitpunkt T_3 .

Lac-Phe-Konzentrationen bei Protokoll A

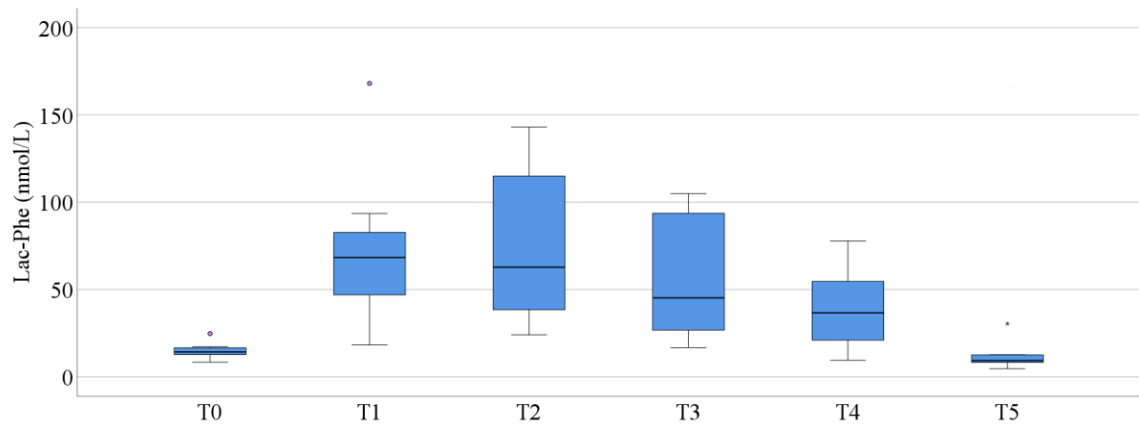


Abbildung 6: Boxplot der Plasma Lac-Phe-Konzentrationen der Teilnehmenden von Protokoll A; * extreme Ausreißer, ° milde Ausreißer; Messzeitpunkte: T₀ – vor Belastung; T₁ – unmittelbar nach der Belastung; T₂ – 30 min nach Belastungsende; T₃ – 60 min nach Belastungsende; T₄ – 120 min nach Belastungsende; T₅ – 24 h nach Belastungsende.

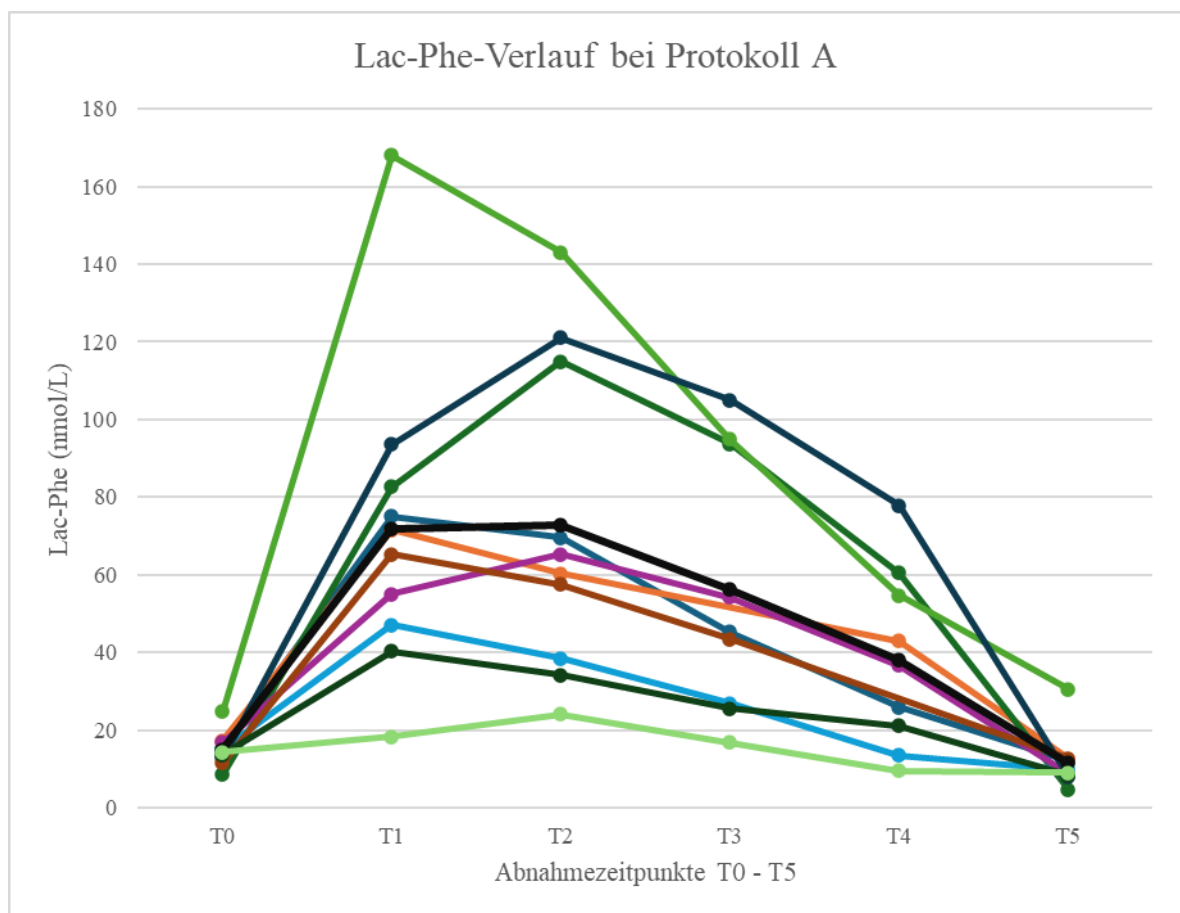


Abbildung 7: Lac-Phe-Verläufe der einzelnen Teilnehmenden bei Protokoll A über alle 6 Abnahmezeitpunkte hinweg. Jede teilnehmende Person ist mit eigener Farbe dargestellt. Der Mittelwert ist in schwarz eingezeichnet.

3.4 Lac-Phe bei Protokoll B

Bei Protokoll B stieg die Lac-Phe-Konzentration unmittelbar nach Ende der Ausdauerbelastung bei allen Teilnehmenden an ($p < 0,001$). Alle zehn Teilnehmenden erreichten ihr Maximum zum Zeitpunkt T_1 (vgl. Abbildung 9). Im Zeitraum von T_1 bis T_5 fiel der Mittelwert der Konzentrationen kontinuierlich ab. Bis einschließlich T_4 lagen die Konzentrationen auch bei Protokoll B oberhalb des Ausgangslevels ($p = 0,015$). 24 h nach Belastung wurden die niedrigsten Werte der Messreihe gemessen, allerdings war die Abnahme nicht signifikant. Tabelle 9 enthält die deskriptive Statistik der Messwerte, während Tabelle 10 die Mittelwerte und deren Standardabweichungen mit dem Ausgangslevel vergleicht.

Tabelle 9: Lac-Phe-Messwerte von Protokoll B. Die p -Werte entstammen dem Shapiro-Wilk-Test.

<i>Parameter</i>	<i>Messzeitpunkt</i>	<i>p-Wert</i>	<i>Lagemaße</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Quartilsdispersionskoeffizient</i>
Lac-Phe Protokoll B (nmol/L)	T₀	0,741	$13,6 \pm 4,1$	6,7	19,2	0,321
	T₁	0,131	$69,4 \pm 33,8$	33,1	146	0,501
	T₂	0,047	46,9 (35,7 – 62,5)	28,8	114,0	0,572
	T₃	0,037	36,8 (28,8 – 54,1)	21,9	103,0	0,688
	T₄	0,059	$32,8 \pm 19,5$	13,4	69,0	1,334
	T₅	0,037	9,5 (8,6 – 12,5)	7,3	19,7	0,409

Tabelle 10: Absolute Lac-Phe-Zunahme von der Baseline (T_0) bei Protokoll B. Die p-Werte entstammen dem t-Test für verbundene Stichproben; *markiert Signifikanz.

Messzeitpunkt	Mean $\pm$ SD (nmol/L)	p-Wert
T₁	55,8 $\pm$ 33,3*	<,001
T₂	39,3 $\pm$ 25,5*	<,001
T₃	31,3 $\pm$ 24,9*	0,003
T₄	19,2 $\pm$ 20,3*	0,015
T₅	-2,5 $\pm$ 3,5	0,050

In Abbildung 8 zeigt sich ab dem Messzeitpunkt T₂ ein kontinuierlicher Rückgang von sowohl Median als auch den Quartilen. Der Interquartilsabstand betrug präinterventionell 4,4 mmol/L und erreichte seinen höchsten Wert mit 30,6 mmol/L unmittelbar postinterventionell. Der Quartilsdispersionskoeffizient ermittelte den höchsten Wert zum Zeitpunkt T₄ (vgl. Tabelle 7).

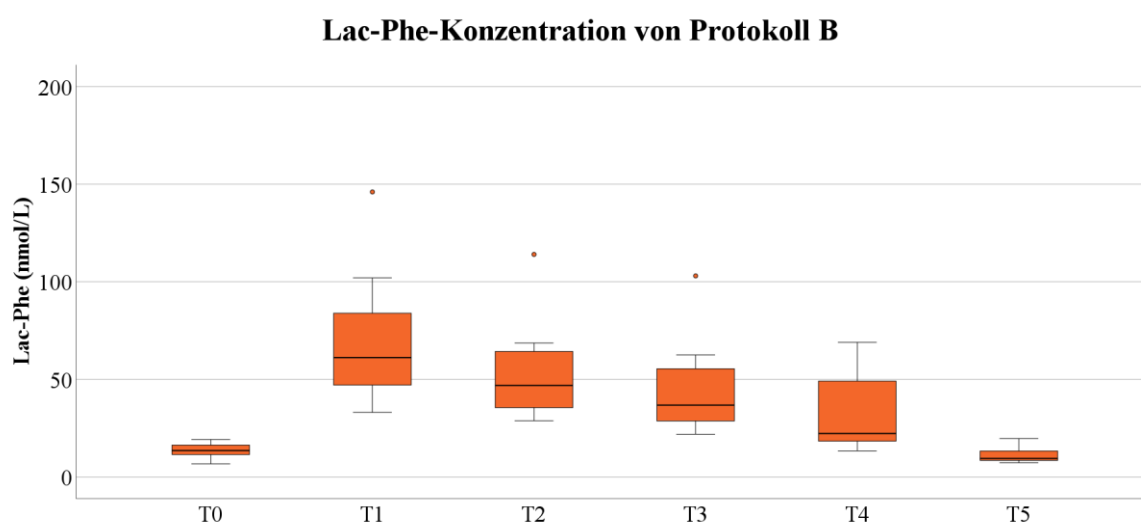


Abbildung 8: Boxplot der Plasma Lac-Phe-Konzentrationen der bei Protokoll B teilnehmenden Personen; * extreme Ausreißer, ° milde Ausreißer; Messzeitpunkte: T₀ – vor Belastung; T₁ – unmittelbar nach der Belastung; T₂ – 30 min nach Belastungsende; T₃ – 60 min nach Belastungsende; T₄ – 120 min nach Belastungsende; T₅ – 24 h nach Belastungsende.

Bei Betrachtung der Lac-Phe-Verläufe in Abbildung 9 fallen zwei Besonderheiten auf. Dies betrifft zum einen die Person mit der violetten Kurve, welche zwischen T₂ und T₄ einen Wiederanstieg der Lac-Phe-Konzentration aufwies. Diese Person erreichte zum Zeitpunkt T₄ einen Lac-Phe-Wert, welcher nur knapp unterhalb ihres Maximalwerts lag.

Zum anderen zeigte die Person mit der roten Kurve eine Auffälligkeit am Ende von Protokoll B. Zwischen den Zeitpunkten T₄ und T₅ stagnierte ihre Lac-Phe-Konzentration auf gleicher Höhe.

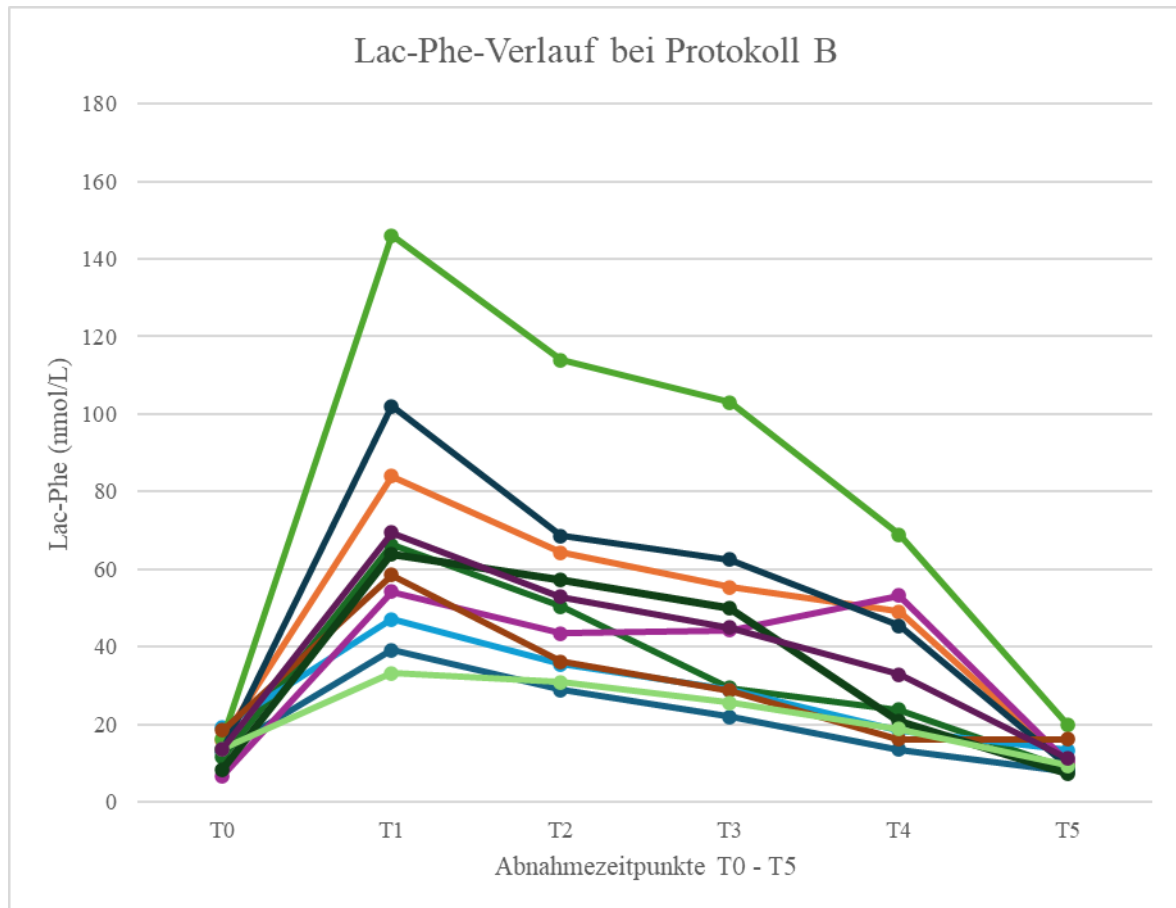


Abbildung 9: Lac-Phe-Verläufe der einzelnen Teilnehmenden bei Protokoll B über alle 6 Abnahmezeitpunkte hinweg. Jede teilnehmende Person ist mit eigener Farbe dargestellt. Der Mittelwert ist in schwarz eingezeichnet.

Die Teilnehmenden verzeichneten also sowohl nach der Maximalbelastung (Protokoll A), als auch nach der intensiven Ausdauerbelastung (Protokoll B) einen signifikanten Laktatanstieg. Die erhöhten Werte waren direkt nach der Belastung und in den Stunden danach (T1 bis T4) vorhanden, wobei nach 24 h wieder das Ausgangsniveau erreicht wurde.

3.5 Unterschiede der Lac-Phe-Konzentration zwischen den Protokollen

Beide Belastungsprotokolle zeigten niedrige Anfangswerte, einen deutlichen belastungsinduzierten Anstieg, gefolgt von einer Erholungsphase und niedrigen Werten nach 24 h. In Abbildung 10 sind die Boxplots beider Protokolle gegenübergestellt. Zu den Zeitpunkten T₀ und auch T₁ zeigen sich hierbei kaum Unterschiede. Beide Belastungen führten zu einer prompten Zunahme der Konzentrationen und der Interquartilsabstände in ähnlichem Maße.

Der größte Unterschied zeigte sich 30 min nach Belastungsende, als die Absolventen nach Protokoll A im direkten Vergleich um durchschnittlich 19,9 nmol/L höhere Konzentrationen aufwiesen als nach Protokoll B. Dieser Unterschied spiegelt sich in einem höheren Median und einem größeren Interquartilsabstand mit einem höheren 3. Quartil wider. Der Unterschied bildete sich allmählich zurück. Zu den Zeitpunkten T₃ und T₄ bestand er noch in abgeschwächter Form und ab dem Zeitpunkt T₅ hatten sich die Lac-Phe-Konzentrationen weitgehend angenähert.

Lac-Phe-Konzentration Protokoll A (blau) und B (rot)

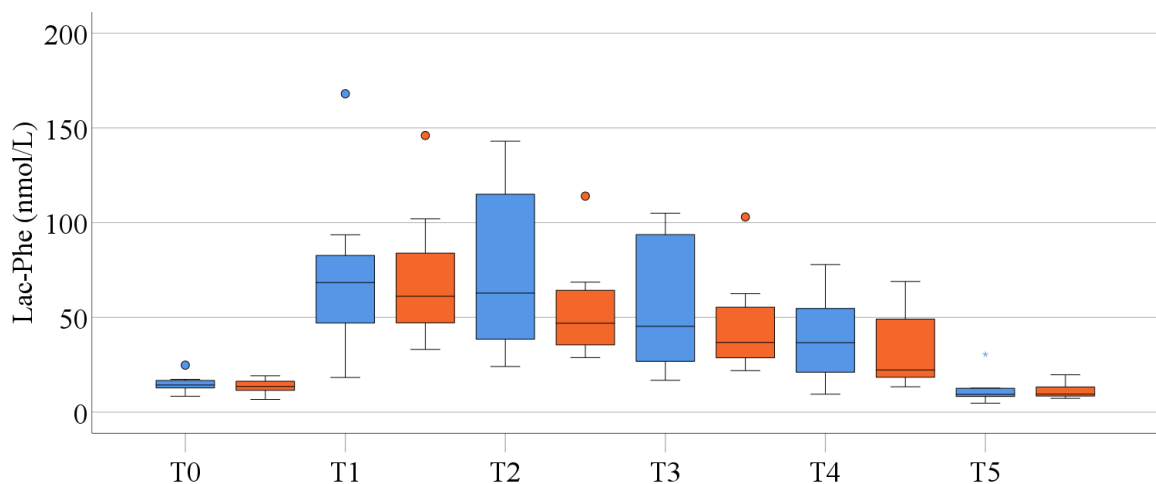


Abbildung 10: Gruppierter Boxplot mit den Lac-Phe-Konzentrationen der Belastungsprotokolle A (blau) und B (rot); * extreme Ausreißer, ° milde Ausreißer; Querbalken kennzeichnen den Median; Messzeitpunkte: T₀ – vor Belastung; T₁ – unmittelbar nach der Belastung; T₂ – 30 min nach Belastungsende; T₃ – 60 min nach Belastungsende; T₄ – 120 min nach Belastungsende; T₅ – 24 h nach Belastungsende.

In Abbildung 11 ist zu erkennen, dass die Mittelwerte zwischen T₀ und T₁ nahezu parallel verliefen. Zwischen T₁ und T₂ wiesen die Kurven hingegen unterschiedliche Richtungen

auf: Während die mittlere Konzentration bei Protokoll A leicht anstieg, sank sie bei Protokoll B bereits ab. Zwischen T₂ und T₅ tendierten die Kurven in dieselbe Richtung, und die Mittelwerte näherten sich an.

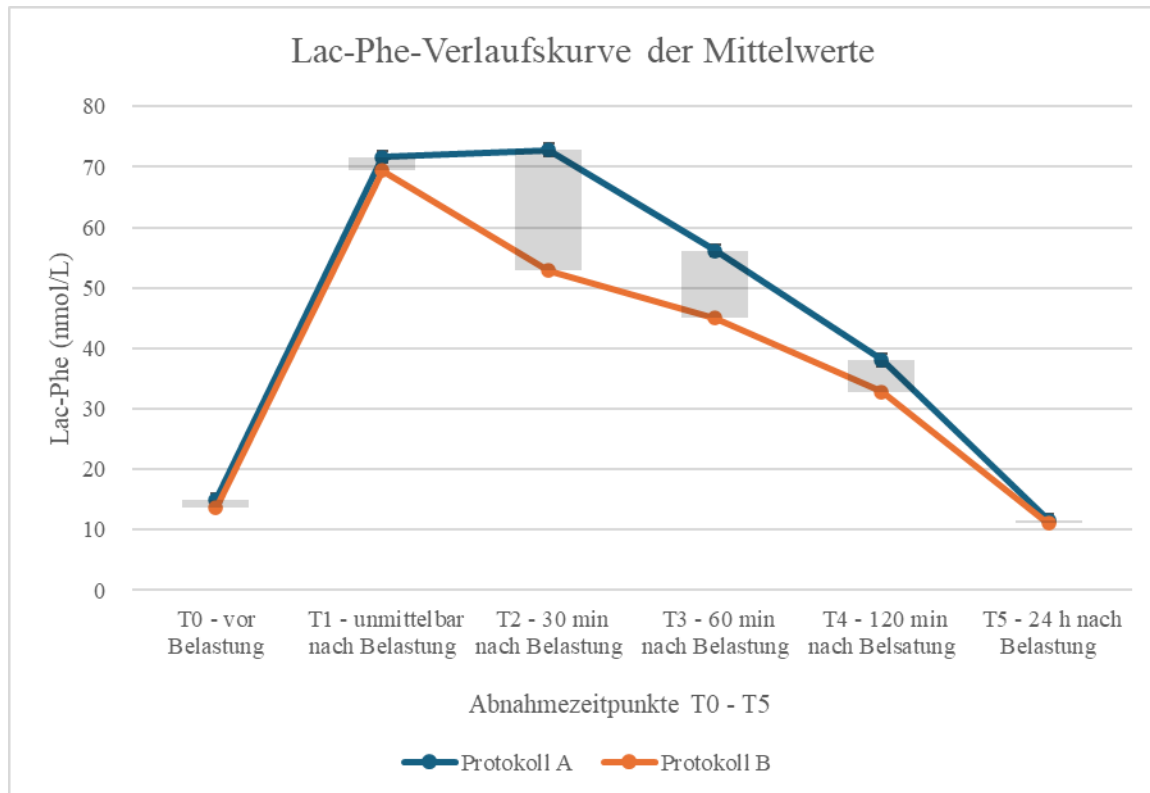


Abbildung 11: Lac-Phe-Verlauf der Mittelwerte. Eingefärbt ist die Differenz zwischen den Protokollen zum jeweiligen Zeitpunkt.

Ein möglicher signifikanter Unterschied zwischen den Belastungsprotokollen bestand zum Zeitpunkt T₂, 30 min nach Belastungsende ($p = 0,050$). Bereits zum Zeitpunkt T₃ war der Unterschied nicht mehr signifikant (vgl. Tabelle 11).

Tabelle 11: Lac-Phe-Differenz zwischen Protokoll A und B. Die p-Werte entstammen dem t-Test für verbundene Stichproben; * markiert Signifikanz.

Messzeitpunkt	Mean $\pm$ SD (nmol/L)	95 % CI	p-Wert
T ₀	2,0 $\pm$ 5,4	[-2,2;6,1]	0,304
T ₁	2,3 $\pm$ 27,9	[-10,9;15,4]	0,705
T ₂	19,9 $\pm$ 27,9*	[0;39,9]	0,050
T ₃	12,4 $\pm$ 27,8	[-9,0;33,7]	0,218
T ₄	3,4 $\pm$ 19,6	[-11,7;18,5]	0,616
T ₅	0,5 $\pm$ 4,5	[-2,7;3,7]	0,721

Die Analyse ergab, dass die Null zu Beginn und am Ende innerhalb des 95 %-Konfidenzintervalls lag. Lediglich zum Zeitpunkt T₂ erstreckte sich das Konfidenzintervall vollständig im positiven Bereich (siehe Abbildung 12).

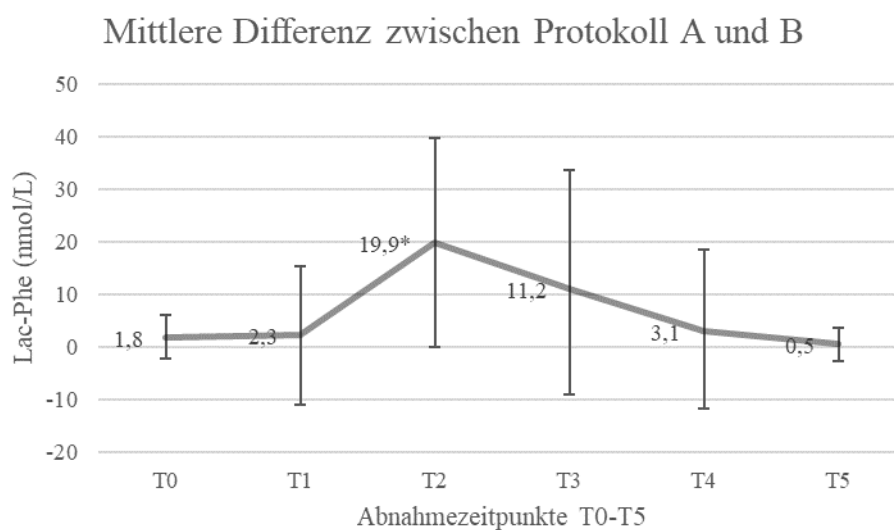


Abbildung 12: Mittlere Differenz zwischen den Protokollen mit 95 % CI; * markiert Signifikanz.

In Abbildung 13 sind die Lac-Phe-Verläufe der Teilnehmenden vergleichend nebeneinander dargestellt. Es wird deutlich, dass die beiden Personen mit den höchsten Konzentrationen bei Protokoll A (grün und blau-grau) auch bei Protokoll B die höchsten Konzentrationen aufwiesen. Die Person mit den höchsten Konzentrationen (grün) wies

zudem den höchsten Anfangswert bei Protokoll A und die höchsten Werte nach 24 h bei beiden Protokollen auf. Diese Person lag durchgängig oberhalb des Mittelwerts und wurde im Boxplot als Ausreißer markiert. Auch den niedrigsten Maximalwert erreichte bei beiden Protokollen dieselbe Person (hellgrün).

Für den gesamten Zeitraum $T_0 - T_5$ ergab der Mittelwert der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen den 10 Einzelverläufen bei Protokoll B einen minimal höheren Wert ($r = 0,909$) als bei Protokoll A ($r = 0,898$). Werden nur die Abnahmen $T_2 - T_5$ betrachtet, so erhält man bei Protokoll A ($r = 0,928$) eine höhere durchschnittliche Korrelation als bei Protokoll B ($r = 0,801$).

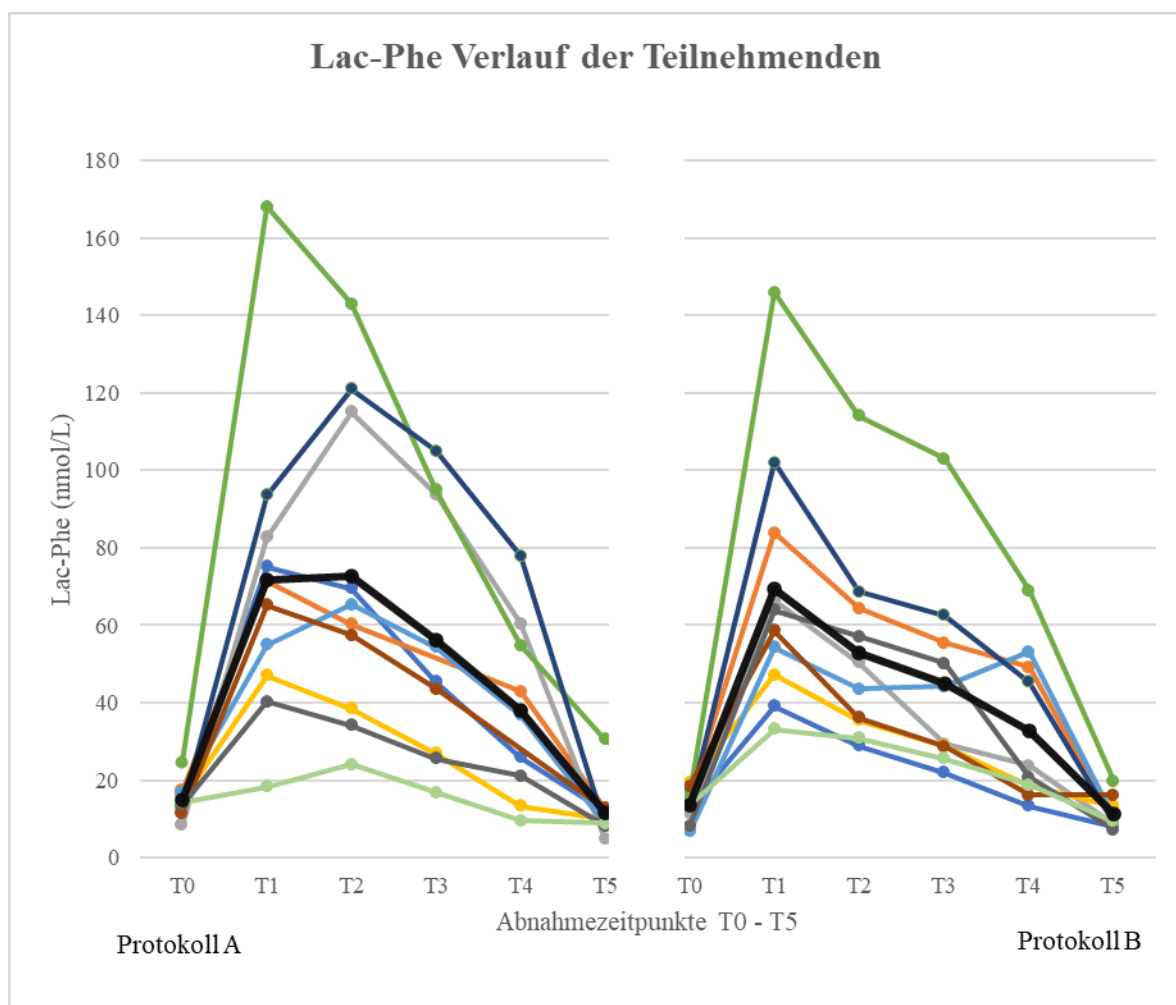


Abbildung 13: Lac-Phe-Verlauf der einzelnen Teilnehmenden von beiden Protokolle über alle 6 Abnahmezeitpunkte hinweg. Jede teilnehmende Person ist mit eigener Farbe dargestellt. Der Mittelwert ist schwarz eingezeichnet. Zwischen den Protokollen lag ein mind. einwöchiger Abstand.

3.5.1 Erniedrigte Lac-Phe-Werte 24 h nach Belastung

Der Vergleich der Anfangs- und 24-Stunden-Werte zeigt, dass bei beiden Protokollen alle Personen außer zwei jeweils 24 h nach Belastung niedrigere Lac-Phe-Konzentrationen aufwiesen als vor der Belastung (siehe Abbildung 14). Um diesen Unterschied zwischen T_0 und T_5 robuster zu gestalten, wurde der Durchschnitt zwischen den beiden T_0 - und T_5 -Werten jeder Person gebildet. Die Bildung dieser Durchschnittswerte erfolgte unter der Annahme, dass die Art des Protokolls präinterventionell sowie 24 h postinterventionell nur eine untergeordnete Rolle spielt. Der Vergleich dieser Mittelwerte ergab zwischen T_0 und T_5 eine durchschnittliche Abnahme um 3,14 nmol/L ($p = 0,015$) bei einer Standardabweichung von 3,31 nmol/L. Die Standardabweichung ist also größer als die Differenz zwischen den Mittelwerten.

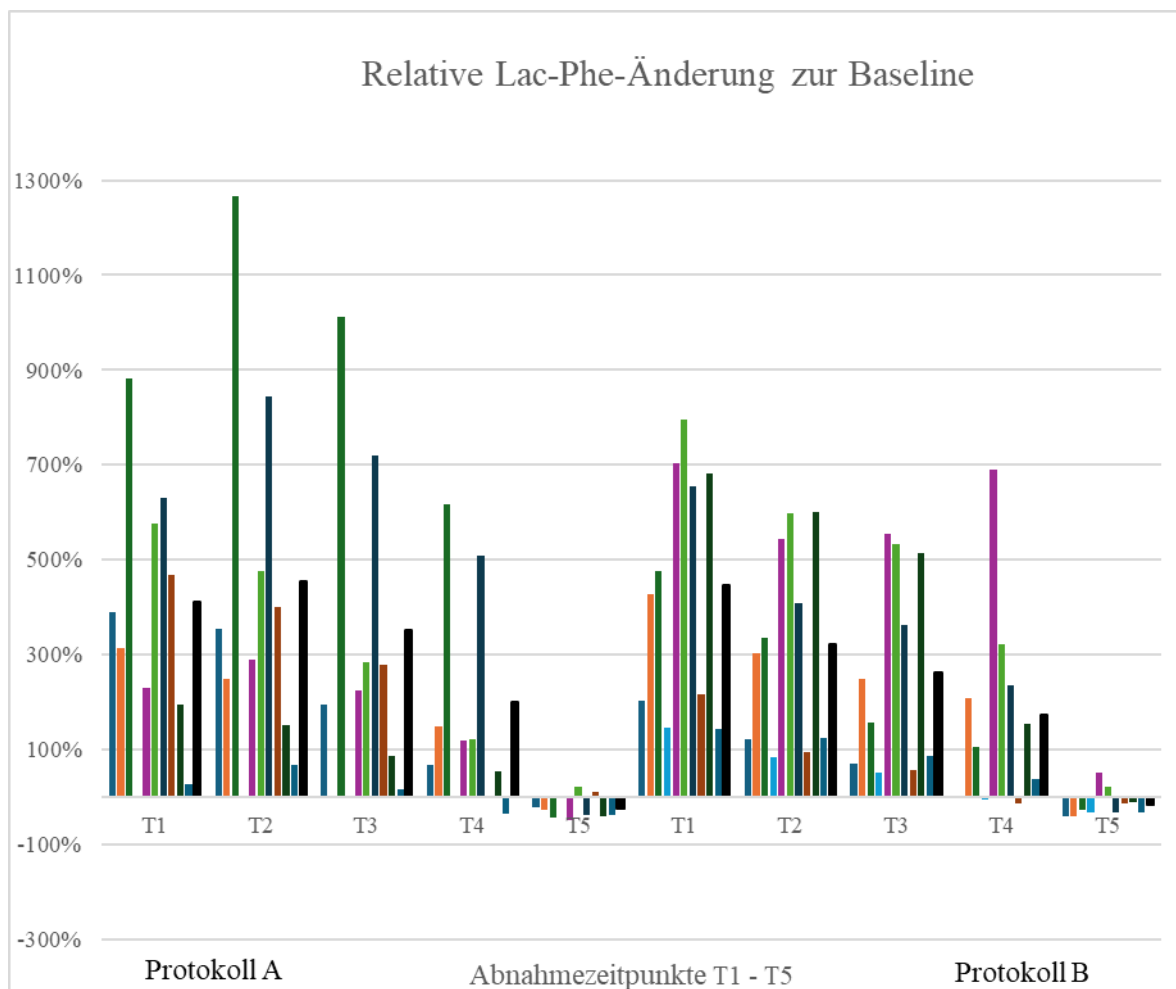


Abbildung 14: Relative prozentuelle Lac-Phe-Änderungen der einzelnen Teilnehmenden bei beiden Protokollen ausgehend von der Baseline T_0 . Jede teilnehmende Person ist mit eigener Farbe dargestellt. Der Mittelwert wurde als schwarze Säule eingetragen.

3.5.2 Standardisierte Lac-Phe-Verläufe

Um die Daten der Teilnehmenden zu standardisieren, wurde die z-Transformation angewendet. Daraufhin wurde eine Baseline-Korrektur durchgeführt, um sicherzustellen, dass alle Personen von einem einheitlichen Ausgangsniveau aus starteten. Dadurch sollte ein präziserer Vergleich der individuellen Verläufe ermöglicht werden. Diese mathematische Umwandlung führte zu einer engeren Anordnung der Verläufe, wie in Abbildung 15 ersichtlich. Dadurch werden eventuelle Abweichungen deutlicher sichtbar, beispielsweise der markante Rückgang des hellgrünen Verlaufs bei Protokoll A zwischen T₂ und T₄. Abgesehen davon und dem bereits erwähnten Wiederanstieg des violetten Verlaufs sind keine weiteren Auffälligkeiten erkennbar.

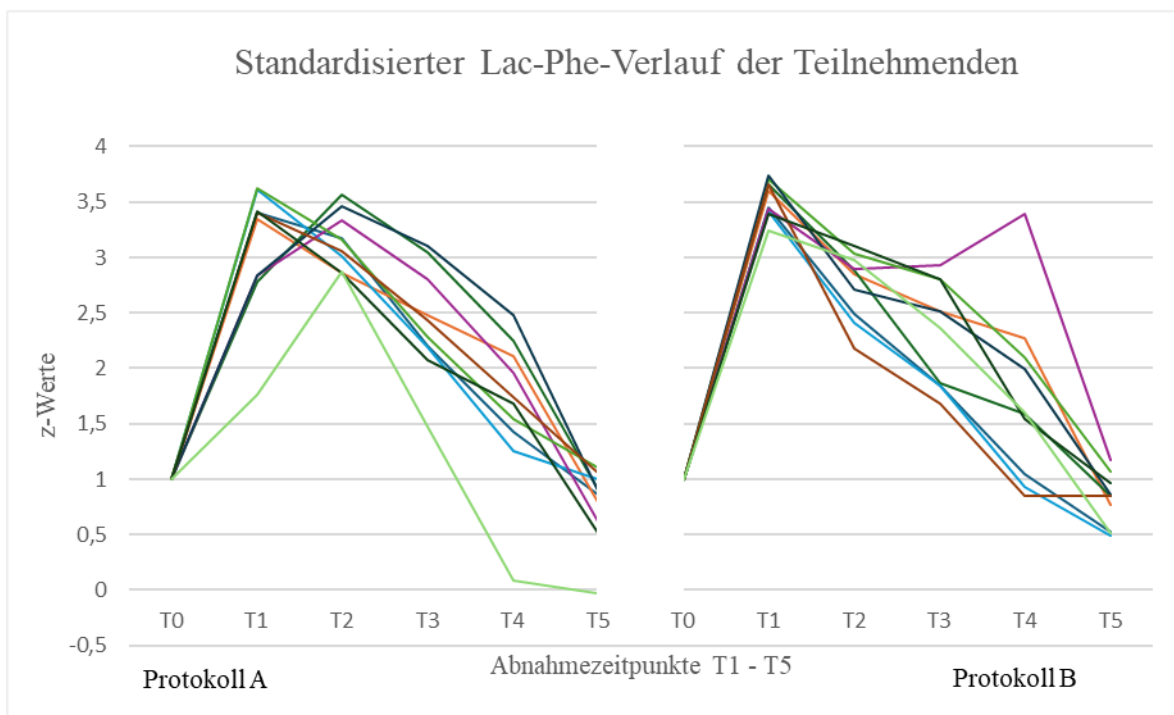


Abbildung 15: Standardisierte Lac-Phe-Verläufe der einzelnen Teilnehmenden über beide Protokolle hinweg farblich dargestellt.

3.5.3 Abbau und Halbwertszeiten von Lac-Phe

Die Analyse des Lac-Phe-Abbaus ergab, dass die besten Anpassungen gemäß dem Bestimmtheitsmaß R^2 mit einer logarithmischen Funktion der Form $y = a * \ln(x) + c$ erzielt wurden. Mithilfe regressiver Verfahren wurden die Parameter a und c für jede*n einzelne*n Teilnehmer*in approximiert. Die logarithmischen Funktionen wurden basierend auf den Werten vom jeweiligen Maximum bis zum 24-Stunden-Wert berechnet,

wobei entweder vier oder fünf Messwerte, je nach Höhe des Maximums, für die Regression berücksichtigt wurden.

Bei der Person mit dem violetten Verlauf wurde bei Protokoll B ein auffallend niedriges Bestimmtheitsmaß R^2 von 0,590 festgestellt. Diese Beobachtung kann durch den bereits erwähnten Wiederanstieg im Zeitraum von T_3 bis T_4 (vgl. Abbildung 9) erklärt werden. Daher konnte diese Person nicht angemessen mit einer logarithmischen Funktion beschrieben werden und wurde aus den weiteren Analysen ausgeschlossen.

Basierend auf den approximierten Funktionen wurden die Halbwertszeiten, wie in Tabelle 12 aufgeführt, berechnet. Dies wurde durch Umstellen der Gleichung $0,5 * Lac-Phe_{max} = a * \ln(x) + c$ erreicht.

Tabelle 12: Approximierte Halbwertszeiten (HWZ) mit jeweiligem Bestimmtheitsmaß R^2 . SWT: Shapiro-Wilk-Test; WVRT: Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test.

<i>Parameter</i>	p-Wert (SWT)	Lagemaße Protokoll A	p-Wert (SWT)	Lagemaße Protokoll B	p-Wert (WVRT)
HWZ (min)	0,31	$108,4 \pm 33,4$	0,003	83,5 (80,2 - 103,5)	0,953
R^2	0,329	$0,876 \pm 0,034$	0,111	$0,897 \pm 0,059$	0,260

3.6 Assoziationen von Lac-Phe mit anderen Einflussfaktoren

3.6.1 Geschlechterbezogene Unterschiede im Lac-Phe-Verlauf

Die Ausgangswerte zwischen Männern und Frauen wiesen lediglich einen geringfügigen Unterschied auf. Nach der ergometrischen Belastung zeigte sich jedoch ein deutlicherer Anstieg bei den männlichen Teilnehmern im Vergleich zu den Teilnehmerinnen. Dies äußerte sich in einer Zunahme der Differenz und des Verhältnisses, die zum Zeitpunkt T_1 ihren Höhepunkt erreichten. Ab T_2 verringerte sich die Differenz bei beiden Protokollen wieder. Zu keinem Zeitpunkt konnte ein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 13).

Tabelle 13: Lac-Phe-Werte nach Frauen und Männer getrennt. Bei Normalverteilung entstammen die p-Werte dem t-Test für unabhängige Stichproben °. Ansonsten wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt *. Zudem wurde die Differenz sowie das Verhältnis zwischen Männern und Frauen berechnet.

<i>Parameter</i>	<i>Messzeitpunkt</i>	<i>Frauen (N = 5)</i>	<i>Männer (N = 5)</i>	<i>Differenz (M – W)</i>	<i>Verhältnis M/W</i>	<i>p-Wert</i>
Lac-Phe Protokoll A (nmol/L)	T₀	13,3 ± 3,5	16,3 ± 5,2	3,1	1,233	0,347°
	T₁	48,7 ± 23,4	94,7 ± 42,3	46,0	1,946	0,066°
	T₂	55,4 ± 36,6	90,3 ± 39,1	34,8	1,629	0,184 °
	T₃	43,4 ± 31,4	72,2 ± 32,3	28,8	1,663	0,220°
	T₄	28,2 ± 20,8	50,4 ± 21,8	22,1	1,784	0,164°
	T₅	8,7 (8,3 – 9,0)	12,6 (11,9 – 12,7)	7,1	1,873	0,190*
Lac-Phe Protokoll B (nmol/L)	T₀	11,8 ± 4,9	15,4 ± 2,2	3,6	1,301	0,179°
	T₁	52,9 ± 13,5	85,9 ± 41,3	33,0	1,624	0,128°
	T₂	43,5 (35,5 – 50,3)	64,3 (36,1 – 68,6)	18,9	1,436	0,421*
	T₃	29,4 (28,9 – 44,2)	55,4 (28,7 – 62,5)	18,7	1,524	0,548*
	T₄	27,0 ± 14,8	38,6 ± 23,6	11,6	1,431	0,378°
	T₅	9,3 (8,5 – 10,2)	9,7 (9,0 – 16,1)	2,8	1,283	0,548*

Abbildung 16 illustriert, dass die männlichen Teilnehmer bei beiden Protokollen einen ausgeprägteren Anstieg aufwiesen als die Teilnehmerinnen. Zum Zeitpunkt T2 zeigten die männlichen Teilnehmer bereits eine Abnahme der Lac-Phe-Konzentration in beiden Protokollen, während die weiblichen Teilnehmerinnen bei Protokoll A zu diesem Zeitpunkt ihr Maximum erreichten. Bei genauer Analyse der Daten zeigte sich, dass drei der fünf Frauen (60 %) ihr Maximum zum Zeitpunkt T₂ erreichten, während dies nur bei einem von fünf Männern (20 %) der Fall war.

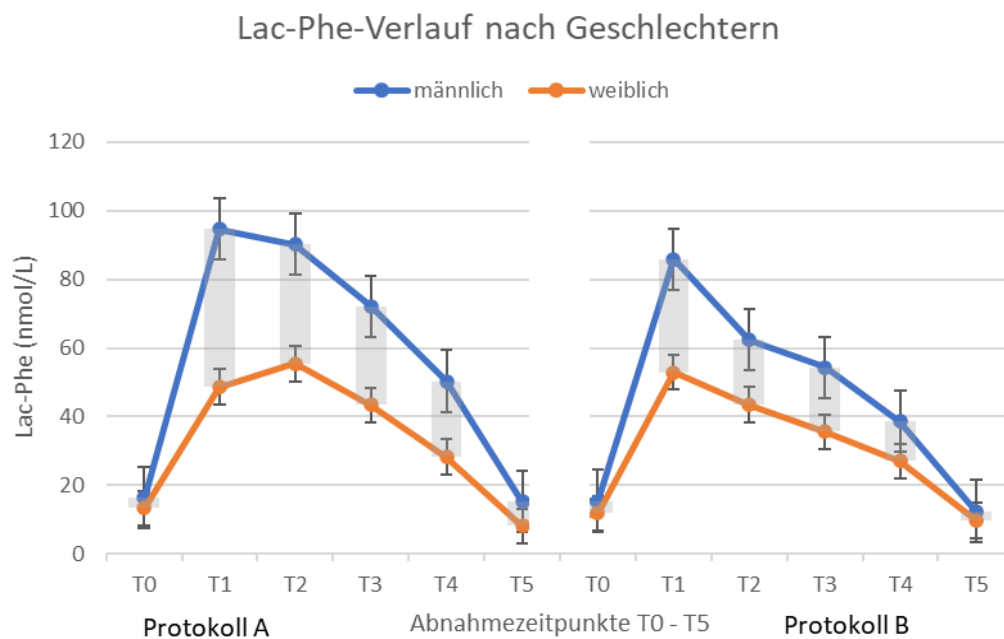


Abbildung 16: Verlauf der Lac-Phe-Werte über beide Protokolle hinweg entsprechend den Geschlechtern in zwei Gruppen aufgeteilt. Eingefärbt wurde die Differenz und markiert der Standardfehler.

3.6.2 Korrelation von Lac-Phe und Laktat

In Abbildung 17 wurden die vor den Protokollen gemessenen Lac-Phe- und Laktat-Konzentrationen im Streudiagramm gegeneinander aufgetragen. Bei Protokoll A zeigte sich eine deutliche lineare Korrelation ($p = <0,001$). Die vor Protokoll B gemessenen Konzentrationen wiesen hingegen keine Korrelation auf.

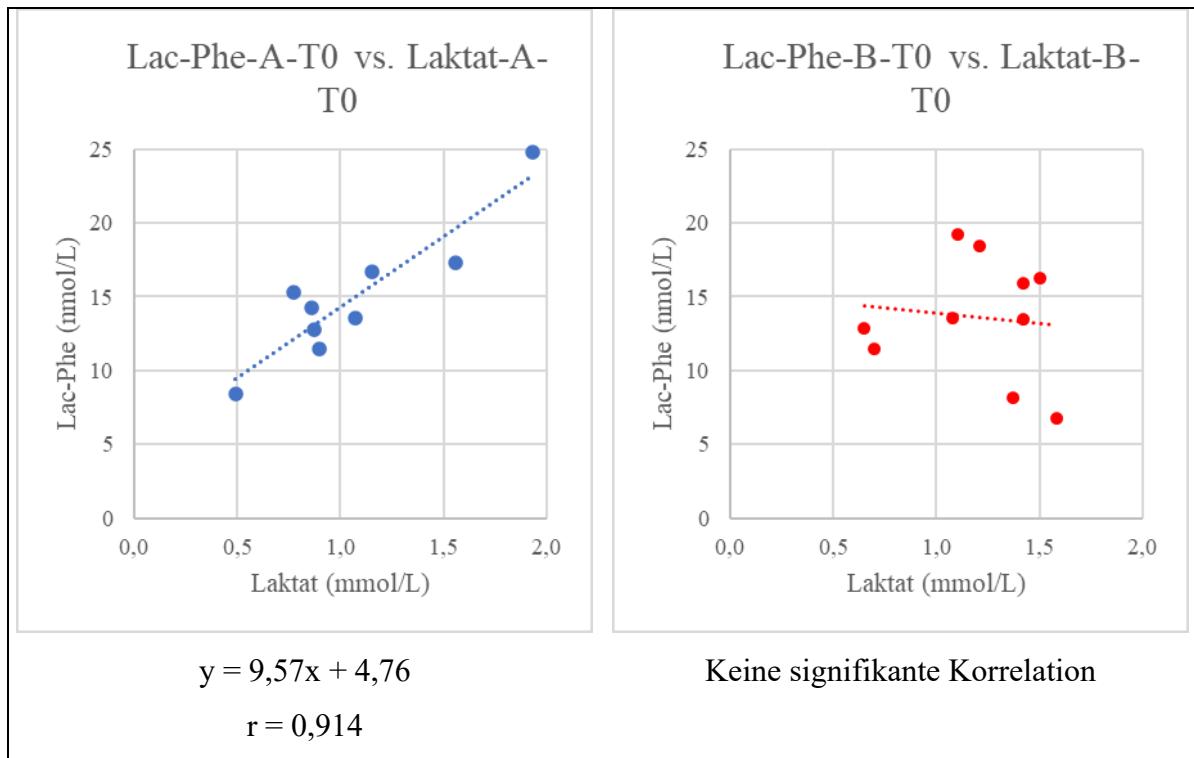


Abbildung 17: Streudiagramm der Lac-Phe- und Laktat-Konzentrationen, welche vor den jeweiligen Protokollen gemessen wurden; links: Protokoll A; rechts: Protokoll B. Der Korrelationskoeffizient entstammt der Pearson-Korrelation.

Da die Art der Protokolle bei den T₀-Werten nur eine untergeordnete Rolle spielen kann, wurden in Abbildung 18 zusätzlich die Durchschnittswerte jeder Person aufgetragen. Hier zeigte sich knapp keine Signifikanz ($p = 0,058$). Der Pearson-Korrelationskoeffizient betrug 0,615 und die Geradengleichung lautete $y = 6,26x + 7,29$.

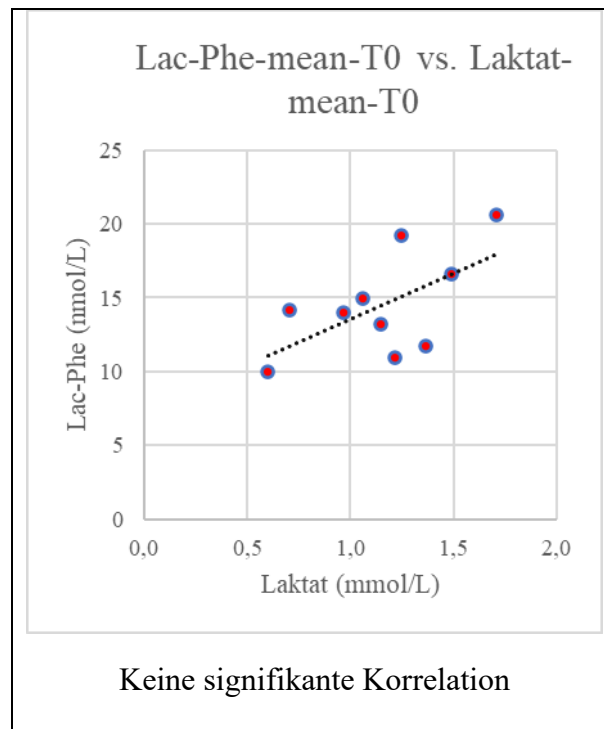


Abbildung 18: Streudiagramm der präinterventionell gemessenen Lac-Phe- und Laktat-Durchschnittswerte einer jeden Person.

In Abbildung 19 wurden die Verhältnisse der Lac-Phe- und Laktat-Messwerte (T_1/T_0) von beiden Protokollen aufgetragen. Bei Protokoll A zeigte sich hierbei eine lineare Korrelation ($p = 0,041$). Bei Protokoll B zeigte sich keine Korrelation.

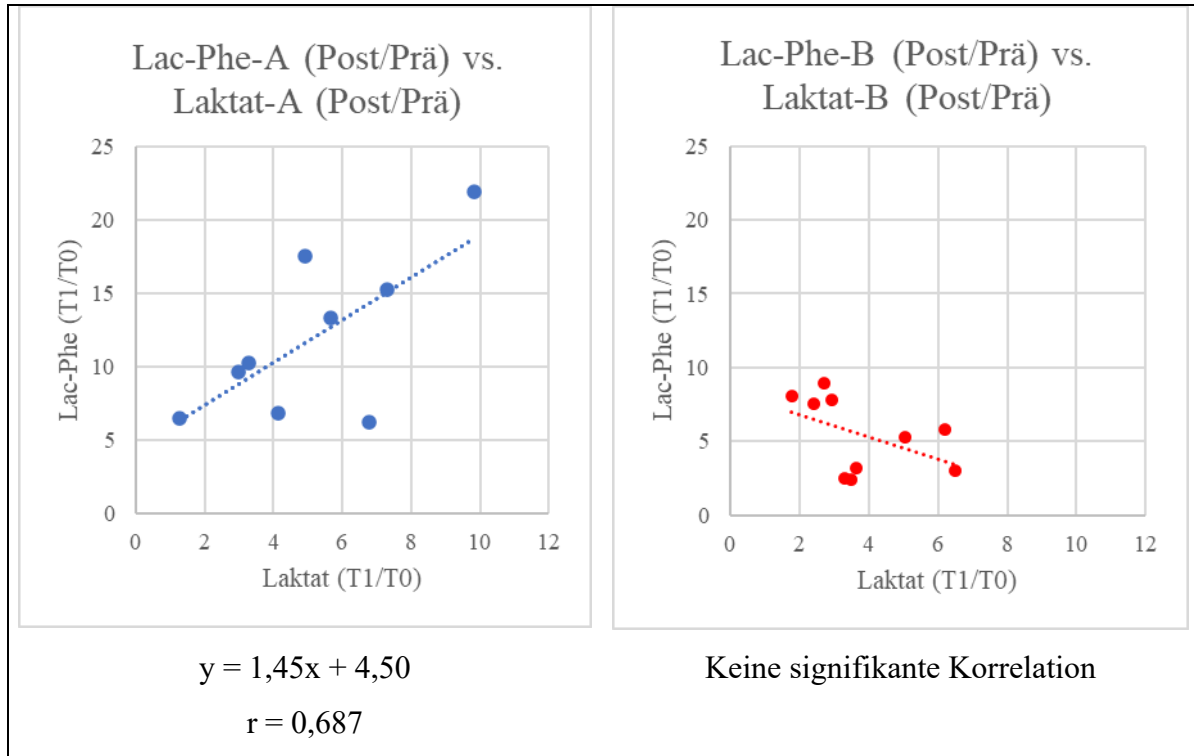


Abbildung 19: Streudiagramm mit den Verhältnissen T_1/T_0 von Lac-Phe und Laktat; links: Protokoll A; rechts: Protokoll B. Der Korrelationskoeffizient entstammt der Pearson-Korrelation.

3.6.3 Lac-Phe und erreichte Spitzenleistungen

Wie in Abbildung 20 ersichtlich konnte präinterventionell lediglich bei den vor Protokoll B gemessenen Lac-Phe-Konzentrationen eine Korrelation nachgewiesen werden ($p = 0,037$).

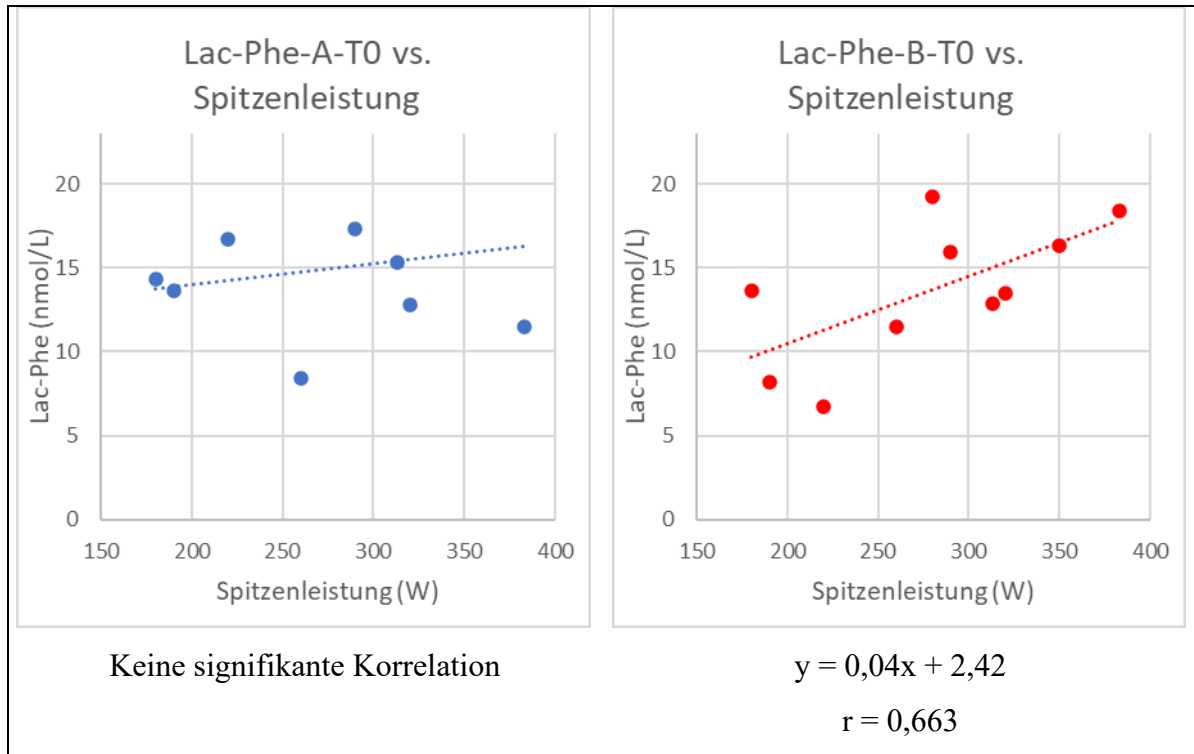


Abbildung 20: Streudiagramm mit den zum Zeitpunkt T_0 gemessenen Lac-Phe-Konzentrationen und der Spitzenleistung; links: Protokoll A; rechts: Protokoll B. Der Korrelationskoeffizient entstammt der Pearson-Korrelation.

Unmittelbar nach der Intervention korrelierten die Lac-Phe-Konzentrationen sowohl bei Protokoll A ($p = 0,043$) als auch bei Protokoll B ($p = 0,037$) mit der Spitzenleistung (vgl. Abbildung 20).

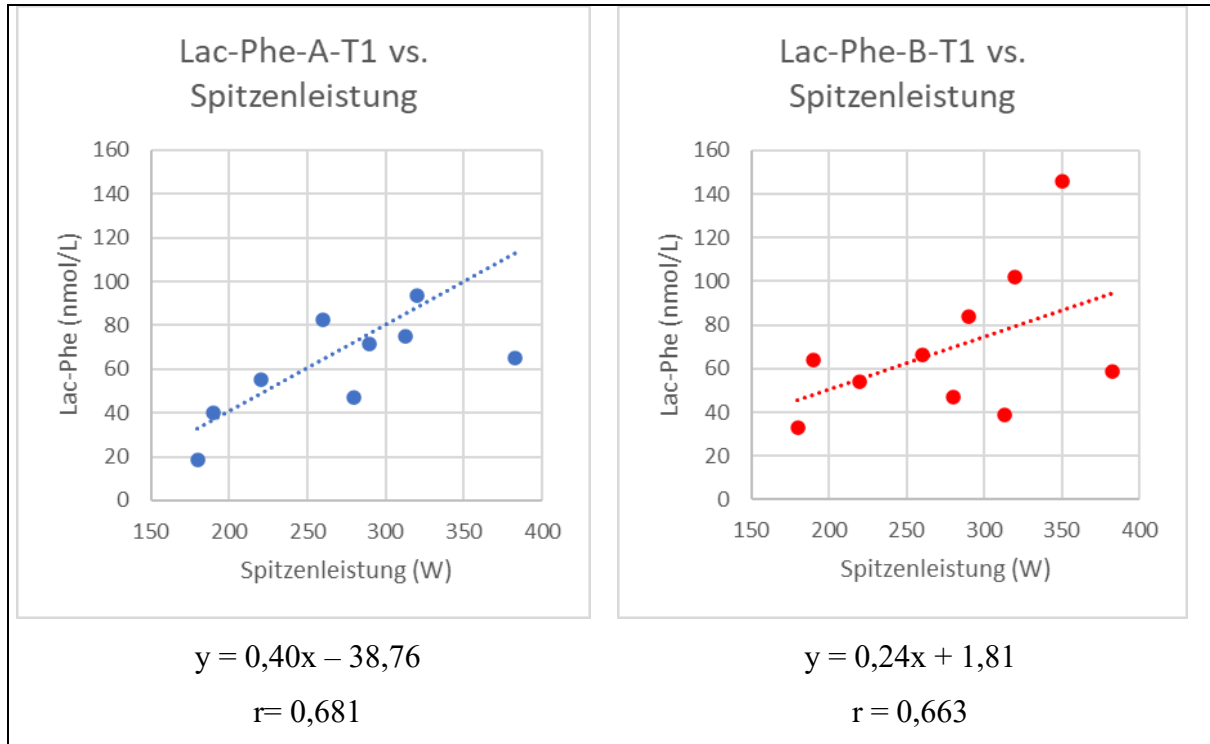


Abbildung 21: Streudiagramm mit den zum Zeitpunkt T_1 gemessenen Lac-Phe-Konzentrationen und der Spitzenleistung; links: Protokoll A; rechts: Protokoll B. Der Korrelationskoeffizient entstammt der Pearson-Korrelation.

3.6.4 Lac-Phe und VO₂max

Wie in Abbildung 22 ersichtlich, wies Protokoll B einen signifikanten Zusammenhang zwischen den Lac-Phe-Ausgangswerten zum Zeitpunkt T₀ und der maximalen Sauerstoffaufnahme auf ($p = 0,022$).

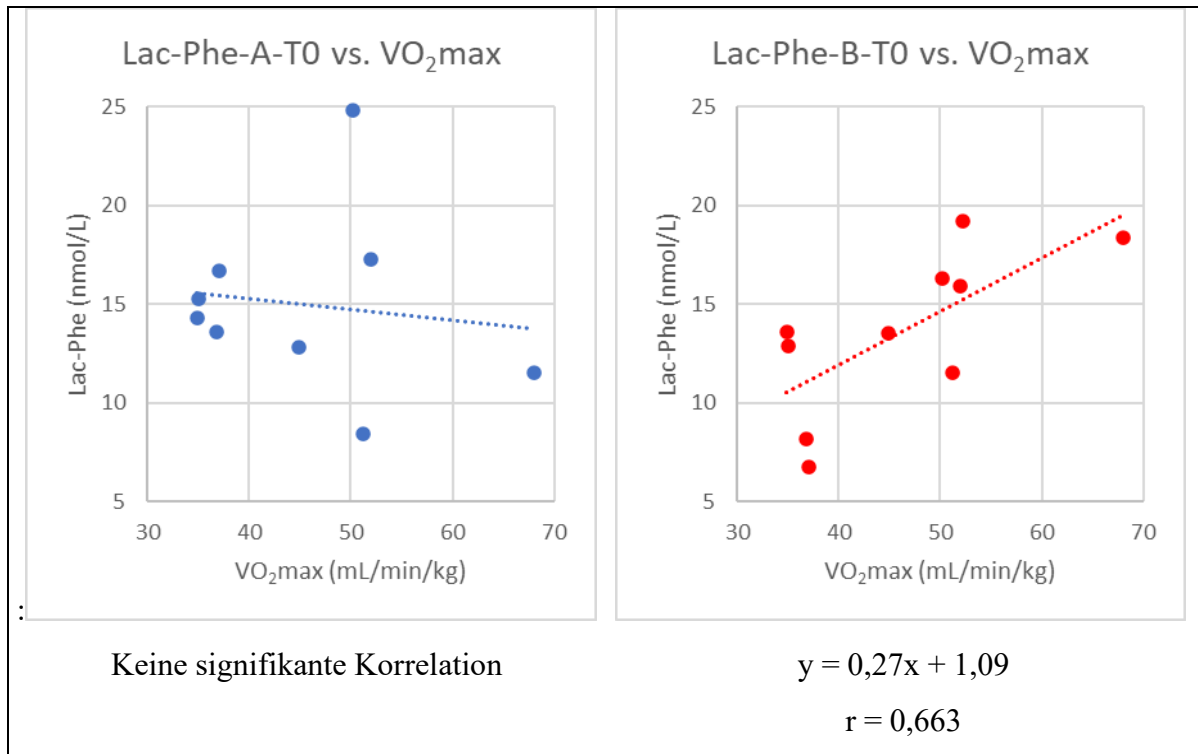


Abbildung 22: Streudiagramme mit den zum Zeitpunkt T₀ gemessenen Lac-Phe-Konzentrationen und der maximalen Sauerstoffaufnahme; links: Protokoll A; rechts: Protokoll B. Der Korrelationskoeffizient entstammt der Pearson-Korrelation.

Abbildung 23 zeigt die Verläufe der Teilnehmenden entsprechend ihrer VO_2max in zwei gleich große Gruppen aufgeteilt. Die Personen mit einem VO_2max von unter 50 mL/min/kg zeigten bei beiden Protokollen durchweg niedrigere durchschnittliche Lac-Phe-Werte im Vergleich zu den Personen mit einer VO_2max von über 50 mL/min/kg . Des Weiteren erreichte die Gruppe mit einer VO_2max von unter 50 mL/min/kg ihre maximale Lac-Phe-Konzentration bei Protokoll A erst zum Zeitpunkt T_2 , während die andere Gruppe ihr Maximum bereits zum Zeitpunkt T_1 erreichte.

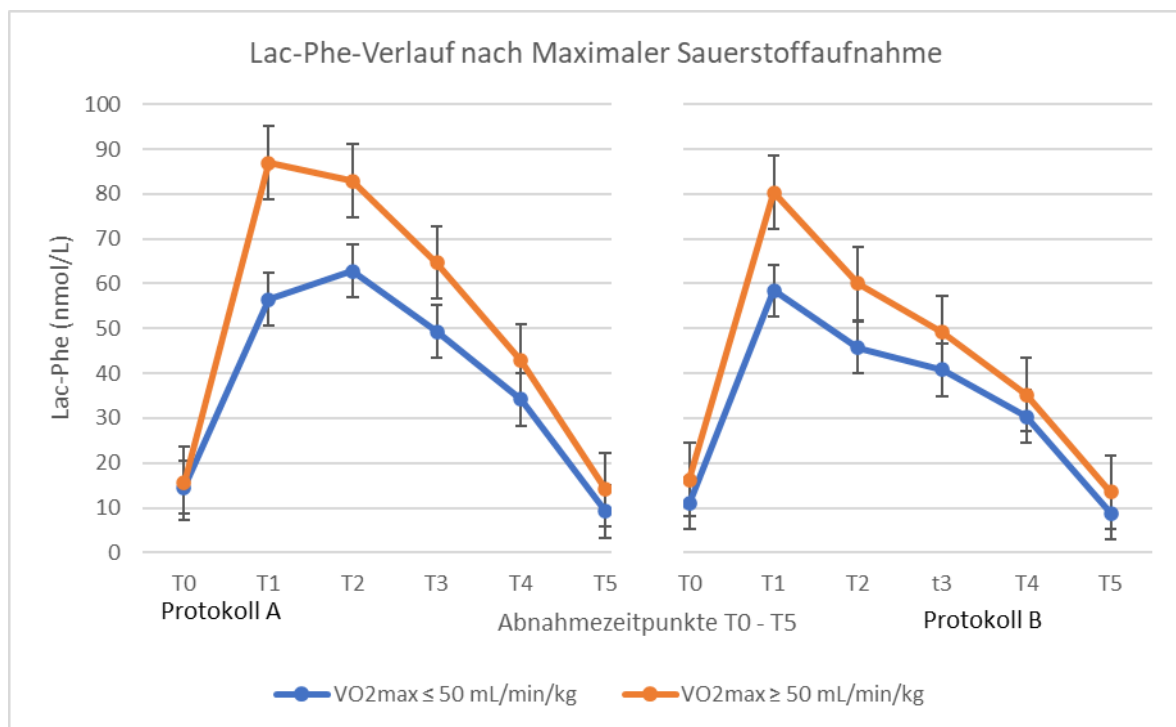


Abbildung 23: Lac-Phe-Verläufe der Teilnehmenden entsprechend ihrer maximalen Sauerstoffaufnahme in 2 Gruppen aufgeteilt. Markiert ist der Standardfehler des Mittelwertes.

4 Diskussion

Diese Diplomarbeit widmet sich der Frage, welchen Einfluss die sportliche Intensität und Dauer eines Belastungsprotokolls auf die Serumkonzentration des appetitzügelnden Metaboliten Lactoyl-Phenylalanin hat. Dafür wurden die Daten einer explorativen Pilotstudie umfassend ausgewertet. Die Studie enthielt zwei unterschiedliche Belastungsprotokolle deren Effekte bei den zehn Teilnehmenden miteinander verglichen wurden, um etwaige intensitätsabhängige Unterschiede festzustellen. Das Ziel ist es herauszufinden, welche sportliche Intensität einen möglichst großen Lac-Phe-Anstieg hervorruft. Dies ist von Interesse, weil Lac-Phe mitunter für die günstigen Effekte von sportlicher Aktivität auf das Körpergewicht und die Glukosehomöostase bei übergewichtigen Personen verantwortlich gemacht wird (10).

Im Großen und Ganzen zeigte sich, dass beide Belastungsprotokolle einen Anstieg der Lac-Phe-Konzentration hervorriefen ($p < 0,01$). Die Lac-Phe-Konzentration war beim kürzeren intensiven Protokoll A 30 min nach Belastung grenzwertig höher als beim längeren Ausdauerprotokoll B ($p = 0,050$). Zu den übrigen Messzeitpunkten unterschieden sich die Konzentrationen nicht signifikant voneinander.

4.1 Interpretation der Ergebnisse

4.1.1 Repräsentativität der Stichprobe

Die Stichprobe war mit $N = 10$ relativ klein, jedoch hinsichtlich des Geschlechts und der übrigen Merkmale weitgehend ausgeglichen. Abgesehen vom Körpergewicht wiesen die Charakteristika der Teilnehmenden keine signifikante Abweichung von der Normalverteilung auf. Lediglich das Körpergewicht zeigte eine rechtsschiefe Verteilung, wie auch in anderen größer angelegten Studien bei diesem Parameter beobachtet werden konnte (33,34). 50 % der Teilnehmenden wiesen einen Body-Mass-Index größer als 25 kg/m^2 auf und gelten somit als übergewichtig. Dieser Prozentsatz ist ungefähr vergleichbar zu repräsentativen Erhebungen in Österreich (13).

Die Altersspanne von 24 bis 58 Jahre deckte in etwa den erwerbstätigen Bereich ab. Die Parameter Geschlecht, Körpergröße und Körpergewicht wichen nicht nennenswert vom österreichischen Durchschnitt ab (35), jedoch wiesen alle Teilnehmer*innen eine überdurchschnittliche Leistung auf. Folglich repräsentiert die Stichprobe wahrscheinlich

die erwerbstätige sportlich aktive österreichische Durchschnittsbevölkerung. Studien zu dieser Population gibt es bisher noch nicht. In unserer Studie wurde also nicht nur die generelle Reproduzierbarkeit der belastungsinduzierten Lac-Phe-Veränderungen untersucht, sondern auch die Anwendbarkeit der Beobachtungen hinsichtlich dieser Bevölkerungsgruppe erweitert. Bisherige Untersuchungen zu Lac-Phe wurden in den Vereinigten Staaten (10,25), in Dänemark (10) oder in Deutschland durchgeführt (19) und beinhalteten zum Teil metabolisch beeinträchtigte Personen (19) oder ausschließlich männliche Probanden (10).

4.1.2 Laktatkonzentrationen bei den Protokollen A und B

Die gemessenen Laktatkonzentrationen entsprachen den erwarteten Verläufen gemäß den durchgeführten Belastungsprotokollen. Bei Protokoll A zeigte sich der charakteristische exponentielle Verlauf der Laktat-Leistungs-Kurve, wie er in der Literatur für Stufentests beschrieben ist (36). Die Abflachung der Kurven am Ende des Protokolls kann durch die kurze zeitliche Verzögerung zwischen Belastungsende und Laktatmessung erklärt werden. Lediglich eine Person sticht heraus, weil sie bei Protokoll A ein auffällig niedriges Maximum von 5,59 mmol/L (Durchschnitt: 11,9 mmol/L) aufwies. Dies deutet auf eine Verschiebung hin, wie sie typischerweise bei Glykogenverarmung auftritt (36). Interessanterweise handelte sich um die gleiche Person, die auch die niedrigsten Lac-Phe-Konzentrationen aufwies.

Bei Protokoll B wurde ein intensives Ausdauerprotokoll erfolgreich unterhalb der anaeroben Schwelle durchgeführt. Der horizontale Verlauf der Laktatkonzentrationen deutet darauf hin, dass die Produktion von Laktat die Kapazität zur Laktatelimination nicht überschritt (37). Es gab jedoch erhebliche interindividuelle Unterschiede in den Laktatschwellen, mit Konzentrationen von 3,5 mmol/L bis 7,2 mmol/L. Unmittelbar nach der Intervention lagen 50 % der Personen über und 50 % unter dem allgemeinen Laktatschwellenwert von 4 mmol/L.

4.1.3 Lac-Phe-Konzentrationen bei den Protokollen A und B

Wie gemäß vorangegangenen Veröffentlichungen (10,19,25) zu erwarten war, zeigten sowohl Protokoll A als auch Protokoll B einen signifikanten belastungsinduzierten Anstieg des Lac-Phe-Spiegels. Dieser Anstieg erreichte sein Maximum zu verschiedenen

Zeitpunkten, abhängig von der Dauer und Intensität des Protokolls, insbesondere wenn die Zeit ab dem Ende der Belastung betrachtet wird. Bei Protokoll A wurde das Maximum des Mittelwerts zum Zeitpunkt T_2 erreicht, obwohl 60 % der Teilnehmenden ihr Maximum bereits zum Zeitpunkt T_1 erreichten. Die Zunahme bei den übrigen 40 % war ausgeprägter als die Abnahme bei den 60 %. Dies deutet darauf hin, dass die Bildung von Lac-Phe während dieses Zeitraums schneller ablief als der Abbau. Hinzu kommt, dass die errechnete Halbwertszeit von knapp 100 min länger ist als die Zeitspanne von 30 – 60 min, die nach Belastungsbeginn vergeht, bis die maximalen Lac-Phe-Konzentrationen erreicht werden.

Mit dem Lac-Phe-Anstieg erhöhte sich die Variation der Messwerte, was sich sowohl in den absoluten als auch in den relativen Streuungsmaßen widerspiegelte. Mögliche Erklärungen für die individuellen Unterschiede in der zeitlichen Dynamik und im Anstieg könnten das Geschlecht, der Trainingszustand oder die Ausstattung mit verschiedenen Varianten des Lac-Phe-produzierenden Enzyms CNBP2 sein, wobei letzteres bei unserer Studie nicht erhoben wurde. Unerwartet war die Beobachtung, dass der Lac-Phe-Spiegel 24 h nach Belastung geringfügig unter das Ausgangsniveau fiel. Diese Veränderung wurde bisher nicht beschrieben, ist aber wahrscheinlich zu gering, um klinische Auswirkungen hervorzurufen.

4.1.4 Beantwortung der Hauptfragestellung

Das Hauptziel dieser Studie war es, zu untersuchen, ob es einen Unterschied in der Lactoyl-Phenylalanin-Konzentration zwischen den Belastungsprotokollen gibt und falls ja, wie groß dieser Unterschied ausfällt. Nach Erhebung und Auswertung der benötigten Daten lässt sich die Forschungsfrage wie folgt beantworten: Ja, es gab einen statistisch knapp signifikanten Unterschied bei den Lac-Phe Konzentrationen der Teilnehmenden zwischen Protokoll A und B zum Zeitpunkt T_2 , 30 min nach dem Ende der Belastung. Dieser Unterschied wurde allerdings nicht durch eine tatsächliche Differenz in der Höhe des Lac-Phe-Spiegels zwischen den Gruppen verursacht, da sich die jeweiligen maximalen Mittelwerte kaum unterschieden. Der nachgewiesene Unterschied war wahrscheinlich auf die unterschiedliche Dauer der Belastungsprotokolle und die dadurch nicht vollständig gegebene Vergleichbarkeit der Messzeitpunkte zwischen den Protokollen zurückzuführen. Protokoll A dauerte im Durchschnitt ungefähr 20 min. Eine ausreichend hohe Intensität mit deutlichem Laktat-Anstieg wurde erst in den zweiten zehn Minuten des Protokolls

beobachtet. Es vergingen also nur ungefähr zehn Minuten zwischen dem Erreichen einer ausreichend hohen Intensität und dem Messzeitpunkt T_1 unmittelbar nach Belastung. Diese kurze Zeitspanne führte dazu, dass ein Teil der Teilnehmenden (bei unserer Studienpopulation vier von zehn) ihre maximale Lac-Phe-Konzentration erst zum Zeitpunkt T_2 erreichte.

Bei Protokoll B führte eine von Anfang an mehr oder weniger konstante Intensität zu einem Laktatanstieg, der ungefähr nach 25 min ein Plateau erreichte. Dieses Plateau wurde dann für ungefähr 30 min beibehalten. Es lag also viel mehr Zeit zwischen Beginn der Belastung bzw. des erhöhten Laktatspiegels und dem Erreichen des Messzeitpunkts T_1 . Die Stoffwechselwege und -mechanismen konnten sich länger auf die Belastungssituation einstellen. Individuelle Unterschiede in der Schnelligkeit der Lac-Phe-Bildung wurden bei Protokoll A weniger deutlich als bei Protokoll B. Daher korrelierten die Lac-Phe-Verläufe bei Protokoll B auch etwas besser miteinander. Dies bestätigt sich auch bei direktem Vergleich der Standardabweichungen von Protokoll A und B. Die Standardabweichungen der Messwerte von Protokoll A waren zu allen Zeitpunkten größer als bei Protokoll B.

Wenn man die Zeit nicht nach Ende der Belastung beginnen würde zu messen, sondern nach Beginn der Belastung, dann entspräche Messzeitpunkt T_2 bei Protokoll A ungefähr Messzeitpunkt T_1 bei Protokoll B und es gäbe nur noch einen nicht signifikanten Unterschied von 3,4 nmol/L.

Die Antwort auf die Forschungsfrage ist demnach, dass eine maximale sportliche Intensität mit kurzer Dauer zu ähnlichen Lac-Phe Werten führt als eine mittlere bis hohe sportliche Intensität mit längerer Dauer. Wenn also die sportliche Betätigung auf die Lac-Phe-vermittelten Effekte abzielt, dann kann unseren Daten zufolge die kürzere Ausbelastung als zumindest gleichwertig gegenüber einem intensiven Ausdauerprotokoll angesehen werden. Angesichts des geringeren Zeitaufwands bei Protokoll A erscheint dieses effektiver.

Diese Beobachtungen stimmen mit den aktuellen Forschungsergebnissen mehrheitlich überein, welche Training mit höherer Intensität, insbesondere hochintensives Intervalltraining als effektiver zur Verbesserung der kardiorespiratorischen Leistungsfähigkeit im Vergleich zum kontinuierlichen Training bei moderater Intensität betrachten (3–5). Eine Metaanalyse, welche verschiedene Intensitäten hinsichtlich ihres Effekts auf Körperfett und Taillenumfang verglich, bestätigte ebenfalls einen größeren Nutzen für das Training mit höherer Intensität (8). Die starke Lac-Phe-Bildung bei höherer

Intensität könnte demzufolge ein Erklärungsansatz für die schon seit einiger Zeit beobachtete hohe Effektivität von hochintensivem Training sein.

4.1.5 Zeitliche Dynamik der Lac-Phe-Konzentration

Durch die Standardisierung der Lac-Phe-Verläufe (vgl. Abbildung 15) wurde die Vergleichbarkeit erhöht, sodass Unterschiede in der zeitlichen Dynamik deutlicher hervortraten. Bei Protokoll A zeigte sich besonders markant, wie die Maxima zu unterschiedlichen Zeitpunkten erreicht wurden und bei Protokoll B der auffällige Anstieg zum Zeitpunkt T_4 bei der Person mit dem violetten Verlauf. Abgesehen davon zeigten die Verläufe bei dieser Darstellungsform ein konsistentes Muster. Folglich hatte die Belastungssituation bei den Teilnehmenden ähnliche Auswirkungen auf den Organismus und triggerte ähnliche biologische Reaktionen. Lediglich der Umfang der Lac-Phe-Antwort variierte zwischen den Personen. Die unterschiedlichen Zeitpunkte der Maxima bei Protokoll A sind wahrscheinlich der Grund, weshalb die Verläufe bei Protokoll B minimal besser miteinander korrelierten, solange die komplette Zeitspanne $T_0 - T_5$ betrachtet wurde. Hingegen ist die Person mit dem violetten Verlauf bei Protokoll B wahrscheinlich der Grund, weshalb die Verläufe bei Protokoll A besser miteinander korrelierten, solange nur die Abnahmen $T_2 - T_5$ berücksichtigt wurden.

Die Abbaugeschwindigkeit von Lac-Phe unterschied sich nicht wesentlich zwischen den Protokollen und lag in der Größenordnung von 90 min. Im Vergleich dazu liegen die Halbwertszeiten von Laktat in der Literatur bei ca. 10 min (Blutlaktatwerte von ca. 5 mmol/L) bzw. bei ca. 15 min (Blutlaktatwerte von ca. 10 mmol/L) (36). Diesen Zahlen zufolge wird Laktat schnell metabolisiert, während Lac-Phe länger im Körper verbleibt und daher als ein Signalmolekül potenziell längerfristige Auswirkungen nach dem Training vermitteln könnte. Bisherige Studien haben die Halbwertszeit von Lac-Phe nicht berechnet.

4.1.6 Individuelle Einflussfaktoren auf die Lac-Phe-Konzentration

Die Analyse der individuellen Verläufe (vgl. Abbildung 13) zeigt, dass Personen, die bei Protokoll A hohe Konzentrationen aufwiesen, auch bei Protokoll B vergleichsweise hohe Konzentrationen aufwiesen und umgekehrt. Dies legt nahe, dass bestimmte individuelle Faktoren das Konzentrationsniveau beeinflussen. Die Darstellung der relativen Veränderungen (vgl. Abbildung 14) weist ebenfalls große individuelle Unterschiede auf,

das heißt die Ausgangskonzentrationen allein erklären die Schwankungen nicht. Dies könnte ein Hinweis dafür sein, dass andere Faktoren Einfluss auf die Lac-Phe-Veränderungen haben könnten. Im Folgenden werden die beobachteten Zusammenhänge der Lac-Phe-Konzentration und dem Geschlecht, der Laktatkonzentration, der Spitzenleistung und der maximalen Sauerstoffaufnahme diskutiert.

Obwohl es im Verlaufsdiagramm (vgl. Abbildung 16) einen markanten Unterschied in den Lac-Phe-Konzentrationen von Männern und Frauen geben zu scheint, zeigte sich in beiden Gruppen zu keinem Messzeitpunkt eine signifikante Differenz. Es wäre wahrscheinlich erforderlich gewesen, eine größere Stichprobe als 5 Frauen und 5 Männer zu verwenden, um das Signifikanzniveau von $\alpha = 5\%$ zu erreichen. Verglichen mit den kleineren Unterschieden bei den Laktatkonzentrationen, ist der Unterschied bei der Lac-Phe-Konzentration ausgeprägter. Es gibt bisher keine anderen Studien zu Geschlechtsunterschieden und Lac-Phe. Eine interessante Frage wäre, ob der Geschlechtsunterschied in dieser Form bestehen bliebe, wenn die Werte nach Muskelmasse adjustiert werden würden. Aus diesem Grund empfehlen wir die Erfassung des Anteils der Muskelmasse in zukünftigen Studien.

Der graphische Lac-Phe-Verlauf bei Protokoll A (vgl. Abbildung 16) lässt vermuten, dass Frauen ihr Maximum erst später nach Belastungsende erreichen als Männer, weil die Lac-Phe-Konzentration der Frauen im Gegensatz zu den Männern zum Zeitpunkt T_2 größer war als zum Zeitpunkt T_1 . Bei genauer Betrachtung der Daten lässt sich eine schwache Regelmäßigkeit erkennen: Drei der fünf Frauen erreichten ihr Maximum erst zum Zeitpunkt T_2 , während es bei den Männern einer von fünf war.

Bei der Analyse der Korrelationen der jeweils präinterventionell gemessenen Konzentrationen von Lac-Phe und Laktat, fällt ein deutlicher Unterschied zwischen Protokoll A und B auf (vgl. Abbildung 17). Während bei Protokoll A eine signifikante positive Korrelation nachgewiesen werden konnte, zeigte sich bei Protokoll B lediglich eine unstrukturierte Wolke im Streudiagramm. Dieser Unterschied zwischen den Protokollen erscheint bemerkenswert, da zum Messzeitpunkt T_0 im Studienablauf noch keine Intervention erfolgt war. Es könnte argumentiert werden, dass Protokoll B für die Teilnehmenden die zweite Belastung darstellte und sie mit dem Wissen, was sie erwarten würde, möglicherweise gestresster waren. Als Erklärungsversuch erscheint dies jedoch spekulativ. Angesichts der Tatsache, dass die T_0 -Durchschnittswerte sich zwischen den

Protokollen kaum unterschieden, liegt hier wahrscheinlich eine Zufälligkeit vor. Das Streudiagramm der Lac-Phe- und Laktatdurchschnittswerte der T_0 -Zeitpunkte beider Protokolle war von der Grundaussage ähnlich zu dem Diagramm von Protokoll A (vgl. Abbildung 18). Obwohl die Durchschnittswerte knapp keine Signifikanz aufwiesen, stützt das ähnliche Muster des Streudiagramms dennoch die Korrelation bei Protokoll A. Die relativen Lac-Phe- und Laktatanstiege zwischen T_1 und T_0 unterschiedlicher Personen bei Protokoll A und deren Korrelationen (vgl. Abbildung 19) sind vergleichbar zu anderen Studien. Bei Li. et al. zeigte sich eine Korrelation bei allen drei Belastungsformen. Es resultierte ein etwas höherer Korrelationskoeffizient ($r = 0,8178$) als bei unserer Studie ($r = 0,687$) (10). In einer anderen Studie ergab sich eine Korrelation sowohl mit als auch ohne Einschränkung des Blutflusses ($r = 0,80$) (31). Interessanterweise gab es bei dieser Studie auch eine schwache Korrelation ($r = 0,38$) zwischen Lac-Phe und Phenylalanin (31).

Bei der Analyse der Spitzenleistung und der maximalen Sauerstoffaufnahme wurden ebenfalls Zusammenhänge sowohl für T_0 als auch für T_1 nachgewiesen. Ähnlich wie zuvor beim Laktat, zeigten sich auch hier präinterventionelle Unterschiede zwischen den Protokollen. Umgekehrt zu Laktat, wurde bei diesen beiden Parametern allerdings eine Korrelation für Protokoll B beobachtet, während Protokoll A keinen signifikanten Zusammenhang zeigte (vgl. Abbildung 20 und Abbildung 21). Im Allgemeinen wiesen Personen mit höherer Spitzenleistung bzw. höherer VO_{2max} , also trainiertere Personen, höhere Lac-Phe-Werte auf – sowohl vor als auch nach Belastung. Hohe Spitzenleistungen korrelierten bei beiden Protokollen mit hohen postinterventionellen Lac-Phe-Konzentrationen. Ein Erklärungsansatz hierfür lautet, dass wenig trainierte Personen nicht in der Lage sind die hohen Trainingsintensitäten zu erreichen, welche nötig sind, um Lac-Phe in einem hohen Ausmaß zu stimulieren.

Eine ähnliche Beobachtung wie bei Männern und Frauen wurde gemacht, als die Personen entsprechend ihrer VO_{2max} in zwei Gruppen eingeteilt wurden (siehe Abbildung 23). Personen mit niedrigerer VO_{2max} und niedrigeren Lac-Phe-Konzentrationen erreichten ihr Maximum bei Protokoll A erst zum Zeitpunkt T_2 – ähnlich zum Verlauf der Gruppe der Frauen (vgl. Abbildung 16). Es liegen bisher keine anderen Studien zur Korrelation von Lac-Phe mit der Spitzenleistung und der VO_{2max} vor.

4.2 Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien zu Lac-Phe

In ihrer Gesamtheit wirken die Studienergebnisse nachvollziehbar und sind kohärent zu Ergebnissen von früheren Untersuchungen. Bei Li et al. erfolgte erstmals ein Vergleich von Lac-Phe-Konzentrationen bei verschiedenen Belastungsformen. Es handelte sich dabei um einen Dreiervergleich der Kategorien Ausdauer, Sprint und Kraft, jedoch mit anderen Protokollen, Messzeitpunkten und einer anderen Zusammensetzung der Stichprobe. Die Ausdauerinheit dauerte mit 90 min (vs. 60 min) länger, war aber mit 55 % VO_2max (vs. 75 %) weniger intensiv. Bei den Sprints handelte es sich nicht um einen ergometrischen Stufentest, sondern um drei 30-sekündige Vollsprints am Ergometer. Gemessen wurde die Baseline, zwei Minuten, eine Stunde, zwei Stunden und 3 h (vs. Baseline, unmittelbar nach Belastung, 30 min, 60 min, 120 min, 24 h) nach Ende der Belastung. Die Stichprobe setzte sich aus acht jungen Männern zusammen, die nicht an regelmäßigem Training teilnehmen durften und demzufolge untrainierter waren als die zehn Teilnehmenden unserer Studie.

Die drei Belastungsformen zeigten unterschiedlich hohe Lac-Phe-Anstiege: Am höchsten stiegen die Werte nach dem Sprintprotokoll, am zweihöchsten nach dem Kraftprotokoll und am wenigsten hoch nach der Ausdauerinheit. Der Unterschied zwischen Sprint und Ausdauer war bei Li et al. viel größer als bei unserer Untersuchung. Direkt nach dem Sprint war der Wert ungefähr dreimal so hoch wie nach dem Ausdauerprotokoll und 60 min nach der Belastung sogar ungefähr fünfeinhalbmals so hoch. Die zeitliche Dynamik unterschied sich bei Li et al. ähnlich wie bei unseren Werten dahingehend, dass beim Sprintprotokoll das Maximum später, und zwar 60 min nach Belastungsende, erreicht wurde, während beim Ausdauerprotokoll bereits zwei Minuten nach Belastungsende die höchsten Lac-Phe-Konzentrationen gemessen wurden. Allerdings gab es, anders als bei unserer Studie, dazwischen keinen Messzeitpunkt (s.o.). 180 min nach Belastungsende wurden beim Sprintprotokoll noch deutlich erhöhte Konzentrationen gemessen, während sich die Konzentrationen beim Ausdauerprotokoll bereits 120 min nach Belastungsende normalisiert hatten und 180 min nach Belastungsende bereits unter das Ausgangsniveau fielen (10).

Zusammenfassend verdeutlicht der Vergleich dieser zwei Studien einerseits, dass eine Sequenz von drei 30-Sekündigen Vollsprints im Vergleich zur ergometrischen Maximalbelastung eine höhere Lac-Phe-Bildung induziert, deren Maximum wahrscheinlich später erreicht wird. Andererseits führt eine Ausdauerbelastung bei

50 %VO₂max zu einer geringeren Lac-Phe-Bildung im Vergleich zu Belastungen bei 75 % VO₂max. Dies wird durch die Analyse von Dorling et al. unterstützt, die feststellte, dass die trainingsinduzierte Anorexie erst bei Belastungen ab ungefähr 60 % VO₂max auftritt (38).

Abgesehen von der Studie von Li et al. gibt es keine weiteren Studien, welche die intensitätsabhängigen Unterschiede der Lac-Phe-Konzentration untersuchten. Die prinzipielle Erhöhung der Lac-Phe-Bildung durch körperliche Aktivität wurde jedoch bereits bei mehreren Studien beobachtet (10,19,25,31) und kann durch unsere Studie bestätigt werden.

4.3 Intensitätsabhängige Unterschiede bei anderen Appetit-regulierenden Hormonen und Metaboliten

Es konnte bereits in mehreren Arbeiten gezeigt werden, dass körperliche Aktivität ab einer gewissen Intensität ($\geq 60\%$ VO₂max) zu einer vorübergehenden Abnahme des subjektiven Appetitempfindens führt (38). Dieser Effekt hält i.d.R. für einige Stunden nach dem Training an (39), ist individuell aber unterschiedlich stark ausgeprägt (40). Bisher existieren noch widersprüchliche Aussagen darüber, ob diese passagere Appetithemmung auch zu verringerter Nahrungsaufnahme führt und langfristig überhaupt Auswirkungen auf die Energiebilanz hat (41).

Bisher wurde für die belastungsinduzierte Appetitreduktion weniger Lac-Phe verantwortlich gemacht, sondern vor allem die Sättigungspeptide PYY, GLP-1, Pankreatisches Polypeptid, das appetitsteigernde Ghrelin (38), sowie Laktat (42,43). Dem Laktat kommt eine Sonderstellung zu. Es wird von manchen Autor*innen als direktes muskuläres Signal betrachtet, das die Konzentration der Appetit-regulierenden Hormone und Metabolite beeinflusst (43). Da es sehr viele Arbeiten mit z.T. unterschiedlichen Aussagen gibt, die den Einfluss der sportlichen Intensität auf diese Hormone untersuchten, stützen sich die folgenden Aussagen vorrangig auf die Metaanalyse von Hazell et al. (17).

1. Acetyliertes Ghrelin (aktivierte Form): Laut der Metaanalyse, welche 21 Studien miteinbezog, ist acetyliertes Ghrelin sowohl bei moderater als auch bei hoher Intensität verringert, allerdings etwas stärker bei hoher Intensität (14 – 60 % vs.

- 20 – 66 %) (17). Die Dauer hat auch einen Einfluss, aber einen geringeren als die Intensität (44).
2. PYY: Kommt als PYY1-36 und als PYY3-36 vor. Obwohl PYY3-36 für die vermittelte Wirkung entscheidender ist, gibt es Studien zur einen und zur anderen Unterform. Der Metaanalyse folgend sind beide PYY-Formen definitiv belastungsinduziert. Zwischen moderater und hoher Intensität wies aber nur ein Teil der Studien einen Unterschied nach. Der Unterschied scheint bei PYY3-36 größer zu sein (17). Eine neuere Studie zeigte eine deutliche Intensitätsabhängigkeit für PYY (45).
 3. GLP-1: Hier ist das Ergebnis der Metaanalyse uneindeutig. Es gibt Hinweise dafür, dass der GLP-1-Spiegel mehr vom Energieverbrauch als von der Intensität abhängt (17). Auch bei einer neueren Studie zeigte sich kein Einfluss durch die Belastungsintensität (45).
 4. Pankreatisches Peptid (PP): Die in der Metaanalyse berücksichtigten Studien zeigen zwar einen belastungsinduzierten Anstieg, der Einfluss der Intensität bleibt allerdings aufgrund widersprüchlicher Daten unklar (17).

4.3.1 Die Sonderstellung von Laktat

Ähnlich wie in einer früheren Veröffentlichung wurde in unserer Studie gezeigt, dass eine Korrelation zwischen der Laktatkonzentration und der Lac-Phe-Konzentration besteht. Um den Einfluss der sportlichen Intensität auf den Lac-Phe-Spiegel zu ermitteln, erscheint es daher notwendig, den Einfluss der sportlichen Intensität auf den Laktat-Spiegel zu berücksichtigen.

Steigt der ATP-Verbrauch in der Skelettmuskelzelle durch körperliche Aktivität plötzlich an, muss dieses rasch nachgebildet werden. Bei maximaler Belastung könnte das ATP theoretisch für maximal 7 s ausschließlich aus Kreatinphosphat nachgebildet werden, bis es zur Kontraktionsinsuffizienz käme. Folglich muss fast sofort nach Belastung die Glykolyse zunehmen. Eine Erhöhung des Produktes der Glykolyse, der Brenztraubensäure, führt dann auch zu einer Erhöhung von Laktat. Eine moderate Belastung führt nur zu einem kleinen Laktat-Anstieg, weil die Laktatelimination mit der Laktatbildung schritthalten kann und ein Steady state entsteht. Dieser Steady state kann bei niedriger Intensität über einen langen Zeitraum auf einem niedrigen Laktat-Niveau aufrechterhalten werden und es entstünde keine starke Laktatantwort, welche die Lac-Phe-Bildung stimulierte. Bei einer

supramaximalen Sprintbelastung hingegen werden innerhalb von wenigen Sekunden 15 – 18 mmol Laktat pro kg Muskulatur gebildet. Diese müssen dann ins Plasma transportiert werden und erhöhen die Plasmalaktatkonzentration in kürzer Zeit auf 10 – 13 mmol/L (36). Die Plasmalaktatkonzentration ist höchst dynamisch und ändert sich durch Laktatbildung, -umverteilung und -elimination ständig. Je nach Intensität und Dauer der Belastung wird die Energie über unterschiedliche Stoffwechselwege entweder alaktazid, laktazid oder aerob zur Verfügung gestellt, wobei dabei auch der individuelle Trainingszustand eine wichtige Rolle spielt.

Die Abhängigkeit der Laktatkonzentration von der Intensität liegt also auf der Hand. Die hohe Komplexität entsteht dadurch, dass neben der Skelettmuskulatur auch viele andere Organe, wie Herz, Leber, Niere und Gehirn am Laktatstoffwechsel beteiligt sind (36,46). So wie Laktat also auf der einen Seite das Ergebnis vieler fein regulierter Mechanismen ist, so beeinflusst es auf der anderen Seite auch verschiedene Signalwege. Es konnte gezeigt werden, dass Laktat in vitro an den G-Protein-gekoppelten Rezeptor 81 bindet und die Freisetzung von Ghrelin und acetyliertem Ghrelin (wirken appetitsteigernd) inhibiert (47). Dieser Effekt wurde in einer rezenten Veröffentlichung als Ursache der Tumorkachexie identifiziert. Bei den teilnehmenden Krebspatient*innen zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der Serumlaktatkonzentration und dem Ausmaß des Gewichtsverlustes. Bei Ratten genügte sogar die Laktatinfusion an sich, um eine Kachexie auszulösen. Wurde bei den Ratten hingegen der G-Protein-gekoppelte Rezeptor 81 entfernt, verbesserte sich die Kachexie (48).

Eine Verringerung der Laktatkonzentration, hervorgerufen durch verabreichtes Natriumbicarbonat vor hochintensivem Training, führte hingegen zu verringertem Ghrelin sowie zu erhöhtem PYY und GLP-1 (die letzten beiden wirken appetithemmend) (49). Insgesamt waren höhere Laktatkonzentrationen nach einer Belastung mit niedrigerer Energieaufnahme verbunden (50). Auch konnte gezeigt werden, dass der Appetit bei Menschen nach Laktat-Verabreichung mittels Infusion vermindert ist (42,51). Ähnliches zeigte sich auch bei Ratten. Neben der normalen intravenösen Verabreichung auch bei Injektion von Laktat ins ZNS (52).

Angeichts all dieser Beobachtungen liegt die Annahme nahe, dass Laktat als ein Signalmolekül wirkt, welches bei anaerober Stoffwechsellaage reflektorisch den Appetit und die Nahrungszufuhr hemmen soll. Dieser Mechanismus könnte darauf abzielen das Herzzeitvolumen in einer hypoxischen Lage für die Muskulatur verfügbar zu halten und

nicht für Verdauungsprozesse aufwenden zu müssen. In einer Kampfsituation konnte ein leistungsfähiger Bewegungsapparat im Zweifel über Leben und Tod entscheiden. Vor diesem Hintergrund beschreibt die Korrelation von Lac-Phe und Laktat einen neuen zusätzlichen Signalweg, der mit den anderen appetithemmenden Effekten von Laktat übereinstimmt.

Xiao et al. haben ebenfalls den Zusammenhang zwischen Laktat, Lac-Phe und der Appetithemmung beschrieben. Sie konnten nachweisen, dass das weit verbreitete Antidiabetikum Metformin seine appetithemmende Wirkung über das Enzym CNBP2 ausübt, welches Lac-Phe bildet. Im Gegensatz zur Muskelaktivität führt Metformin nicht zu einer Erhöhung der Serum-Laktatkonzentration, sondern erhöht intrazellulär die Laktatkonzentration in den Darmzellen durch eine Steigerung der anaeroben Glykolyse (30).

4.4 Limitationen und Einschränkungen der Studie

4.4.1 Multiples Testen

Da es sich um eine explorative Studie handelt, wurden etliche unterschiedliche Hypothesen geprüft. Das Ziel dabei war nicht eine einzelne Aussage konfirmatorisch zu bestätigen oder zu widerlegen, sondern Hypothesen zu generieren. Diese können dann in weiteren Studien unter strengeren Kriterien genauer erforscht werden. Die Aussagen zur Signifikanz von gemessenen Unterschieden haben demzufolge nur explorativen Charakter. Vor diesem Hintergrund wurde auf eine Adjustierung des Fehlers 1. Art verzichtet (53,54).

4.4.2 Confounder

Bei unserer Studie waren ein paar Ausschläge auffällig, die im Nachhinein nicht erklärbar sind und möglicherweise durch unterschiedliche äußere Faktoren (z.B. Arbeitsbelastung, Bewegung, Ernährung, Stress) der Teilnehmenden vor den Interventionen zustande kamen. Bei dieser Pilotstudie wurden solche Confounder nicht kontrolliert. So erschienen die Teilnehmenden aus unterschiedlichen Tätigkeiten kommend zur Studie und waren auch mehr oder weniger ausgeruht. Folglich kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, dass Unterschiede in den Verläufen ausschließlich auf die Interventionen zurückzuführen sind. Es wäre also zum Beispiel denkbar, dass Stress oder Schlafmangel die Bildung von Lac-

Phe unterdrückt haben, weil diese Faktoren die körperliche Leistungsfähigkeit einschränken (55). Diese Confounder wurden bei der Studie von Li et al. zuverlässiger kontrolliert, indem die Teilnehmenden gebeten wurden, zwei Tage vor der Intervention auf anstrengende Tätigkeiten zu verzichten. Zudem erhielten die Teilnehmenden am Tag vor der Intervention eine standardisierte Diät und mussten am Tag der Intervention nüchtern um acht Uhr morgens erscheinen (10).

4.4.3 Individuelle Unterschiede

Im Abschnitt 3.6, "Assoziationen von Lac-Phe mit anderen Studienvariablen", wurde untersucht, ob individuelle Unterschiede in der Höhe der Lac-Phe-Konzentration durch die von uns erfassten Studienvariablen Geschlecht, Laktat, Spitzenleistung und VO_{2max} erklärt werden können. Es ist jedoch anzumerken, dass diese Studienvariablen nicht alle möglichen Einflussfaktoren abdecken. Zum Beispiel könnte die Lac-Phe-Bildung hauptsächlich in Muskelzellen stattfinden, was darauf hindeutet, dass der Anteil an Muskelmasse eine entscheidende Rolle für die Höhe der Lac-Phe-Konzentration spielen könnte. Eine weitere mögliche Erklärung für individuell unterschiedlich hohe Lac-Phe-Konzentrationen könnte in der Variabilität der Lac-Phe-bildenden Enzymvariante CNBP-2 liegen. Leider wurden beide Variablen nicht erfasst. Es wäre interessant, diese Hypothesen in zukünftigen Studien durch eine umfassendere Untersuchung der Studienpopulation zu überprüfen.

4.4.4 Studiendesign

Trotz der kleinen Fallzahl konnte die Studie interessante Ergebnisse liefern, weil sich viele Variablen dadurch eliminierten, dass dieselben Personen sequenziell beide Interventionen durchliefen. Trotzdem hätten die Beobachtungen bei einer größeren Stichprobe besser gegenüber dem Zufall abgesichert werden können, gerade weil auch drei Messwerte fehlten. Eine wichtige Einschränkung betrifft die fehlende Rekrutierung und einer damit verbundenen möglichen Verzerrung der Beobachtungen. Die Studienteilnehmer*innen entstammen einer sog. Bequemlichkeitsstichprobe, indem Mitarbeiter*innen des hiesigen Spitals einbezogen wurden. Da die Auswahl nicht zufällig aus der Gesamtbevölkerung erfolgte, könnte die externe Validität beeinträchtigt sein und die Ergebnisse könnten nicht verallgemeinerbar sein.

Ein weiterer kritischer Aspekt betrifft die fehlende Randomisierung der Reihenfolge der beiden Interventionen. Alle Teilnehmer*innen begannen mit Protokoll A und absolvierten in einem mindestens einwöchigen Abstand Protokoll B. Mögliche Unterschiede, die durch die Reihenfolge der Interventionen verursacht wurden, konnten bei diesem Studiendesign nicht kontrolliert werden. Die Kritikpunkte sollten bei zukünftigen Studien beachtet werden, um potenziell irreführende Schlussfolgerungen zu vermeiden.

4.5 Ausblick und Anregungen für weiterführende Arbeiten

Angeichts der Neuheit des Forschungsthemas der Lactoyl-Aminosäuren wird in den kommenden Jahren umfangreiche Forschung erforderlich sein, um die grundlegenden Mechanismen der Bildung und der Wirkung detaillierter zu verstehen. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass die Intensität und die Dauer der körperlichen Belastung eine gewisse Rolle als Stimulus für die Bildung von Lac-Phe spielen. Um dies zu konkretisieren, könnten Dauer und Intensität eines Belastungsprotokolls separat in verschiedenen Kohorten analysiert werden. Dadurch ließe sich der jeweilige Einfluss deutlicher voneinander abgrenzen. Möglicherweise könnte eine Schwellenintensität ermittelt werden, ab der eine vermehrte Bildung von Lac-Phe auftritt. Ferner könnte untersucht werden, ob die Belastungsmodalität eine Rolle spielt.

Um die zeitliche Dynamik der Bildung und des Abbaus von Lac-Phe genauer zu charakterisieren, könnte bei zukünftigen Studien ein zusätzlicher Messzeitpunkt zwischen den bereits vorhandenen Zeitpunkten T_1 und T_2 eingeführt werden. Dieser könnte dazu beitragen, das zeitliche Maximum der Lac-Phe-Konzentration genauer zu ermitteln.

Des Weiteren sollte in zukünftigen Studien eine detaillierte Analyse der individuellen Einflussfaktoren auf die Lac-Phe-Konzentration durchgeführt werden. Hierbei wäre es sinnvoll, den Anteil an Muskelgewebe der Proband*innen zu erfassen. Zudem sollten sowohl untrainierte als auch trainierte Personen in die Studie einbezogen werden. Ferner sollte eine ausgewogene Geschlechterverteilung berücksichtigt werden, um potenzielle geschlechtsspezifische Unterschiede statistisch signifikant nachzuweisen. Zur Untersuchung der Bedeutung des beteiligten Enzyms sollten die Teilnehmenden auf mögliche Varianten, Mutationen oder Defekte des Enzyms CNDP2 untersucht werden. Eine besondere CNDP2-Variante wäre zum Beispiel für die Person mit dem grünen Lac-

Phe-Verlauf denkbar, welche durchwegs überdurchschnittliche Lac-Phe-Konzentrationen aufwies.

Es wäre von Interesse, die Wirkung von Lac-Phe auf den Organismus genauer zu erforschen. Dabei könnte eine Vergleichsstudie zwischen endogen hergestelltem Lac-Phe und pharmakologisch verabreichtem Lac-Phe durchgeführt werden. Es könnte die Hypothese untersucht werden, ob die Verabreichung von Lac-Phe auch bei übergewichtigen Menschen zur Gewichtsreduktion bzw. bei Diabetikern zur Senkung des Glukoselevels beitragen kann. Zudem wäre es wichtig, den Wirkungsort von Lac-Phe näher zu untersuchen, insbesondere die Existenz molekularer Rezeptoren für Lac-Phe im Gehirn. Diese böten einen interessanten pharmakologischen Angriffspunkt.

4.6 Conclusio

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass sowohl die Maximalbelastung (Protokoll A), als auch die intensive Ausdauerbelastung (Protokoll B) zu einem signifikanten Anstieg der Lac-Phe-Konzentration unmittelbar nach Ende der Belastung und in den Stunden danach (T1 bis T4) führten, wobei sich die Lac-Phe-Konzentration 24 h später wieder dem Ausgangsniveau angenähert hatte. Der Vergleich zwischen den Belastungsintensitäten ergab für die Maximalbelastung (Protokoll A) 30 min nach Ende der Belastung (T2) grenzwertig höhere Lac-Phe-Konzentrationen als für die intensive Ausdauerbelastung (Protokoll B), was auf eine zeitliche Verschiebung des Konzentrationsmaximums infolge der unterschiedlichen Protokolldauer zurückzuführen ist.

Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass kürzere, hochintensive Trainingseinheiten als gleichwertig gegenüber längeren weniger intensiven Einheiten betrachtet werden können und somit sehr effektiv sind, um hohe Lac-Phe-Konzentrationen zu erreichen. Limitationen der Studie, wie die kleine Stichprobengröße und die fehlende Kontrolle von Confoundern, insbesondere die fehlende Randomisierung der Interventionsreihenfolge, müssen beachtet werden.

Literaturverzeichnis

1. Warburton DER, Nicol CW, Bredin SSD. Health benefits of physical activity: the evidence. CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can. 14. März 2006;174(6):801–9.
2. Löllgen H. Bedeutung und Evidenz der körperlichen Aktivität zur Prävention und Therapie von Erkrankungen. DMW - Dtsch Med Wochenschr. Oktober 2013;138(44):2253–9.
3. Z M, G S, M W. Effectiveness of High-Intensity Interval Training (HIT) and Continuous Endurance Training for VO₂max Improvements: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. Sports Med Auckl NZ [Internet]. Oktober 2015 [zitiert 17. Januar 2024];45(10). Verfügbar unter: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26243014/>
4. Sloth M, Sloth D, Overgaard K, Dalgas U. Effects of sprint interval training on VO₂max and aerobic exercise performance: A systematic review and meta-analysis. Scand J Med Sci Sports. Dezember 2013;23(6):e341–352.
5. Cao M, Quan M, Zhuang J. Effect of High-Intensity Interval Training versus Moderate-Intensity Continuous Training on Cardiorespiratory Fitness in Children and Adolescents: A Meta-Analysis. Int J Environ Res Public Health. 30. April 2019;16(9):1533.
6. Yumuk V, Tsigos C, Fried M, Schindler K, Busetto L, Micic D, u. a. European Guidelines for Obesity Management in Adults. Obes Facts. Dezember 2015;8(6):402–24.
7. Medicine AC of S. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. Lippincott Williams & Wilkins; 2013. 481 S.
8. Armstrong A, Jungbluth Rodriguez K, Sabag A, Mavros Y, Parker HM, Keating SE, u. a. Effect of aerobic exercise on waist circumference in adults with overweight or obesity: A systematic review and meta-analysis. Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes. August 2022;23(8):e13446.
9. Sanford JA, Nogiec CD, Lindholm ME, Adkins JN, Amar D, Dasari S, u. a. Molecular Transducers of Physical Activity Consortium (MoTrPAC): Mapping the Dynamic Responses to Exercise. Cell. 25. Juni 2020;181(7):1464–74.
10. Li VL, He Y, Contrepois K, Liu H, Kim JT, Wiggenhorn AL, u. a. An exercise-inducible metabolite that suppresses feeding and obesity. Nature. Juni 2022;606(7915):785–90.
11. Bosy-Westphal A, Müller MJ. Die Energiebilanz charakterisiert Adipositas, sie erklärt sie aber nicht und sie ermöglicht keine Strategien für eine nachhaltige Behandlung. Adipositas - Ursachen Folgeerkrankungen Ther. Dezember 2023;17(04):191–6.
12. Obesity and overweight [Internet]. [zitiert 5. Januar 2024]. Verfügbar unter: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

13. Dorner TE, Bernecker O, Haider S, Stein KV. Steady increase of obesity prevalence in Austria: Analysis of three representative cross-sectional national health interview surveys from 2006 to 2019. *Wien Klin Wochenschr.* 2023;135(5–6):125–33.
14. Mensink G, Schienkiewitz A, Haftenberger M, Lampert T, Ziese T, Scheidt-Nave C. Übergewicht und Adipositas in Deutschland. 27. Mai 2013 [zitiert 6. Januar 2024]; Verfügbar unter: <https://edoc.rki.de/handle/176904/1481>
15. Bennett JE. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014 : A pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. 2016;
16. Swinburn BA, Sacks G, Lo SK, Westerterp KR, Rush EC, Rosenbaum M, u. a. Estimating the changes in energy flux that characterize the rise in obesity prevalence2. *Am J Clin Nutr.* 1. Juni 2009;89(6):1723–8.
17. Hazell TJ, Islam H, Townsend LK, Schmale MS, Copeland JL. Effects of exercise intensity on plasma concentrations of appetite-regulating hormones: Potential mechanisms. *Appetite.* 1. März 2016;98:80–8.
18. Qi L, Heianza Y, Li X, Sacks FM, Bray GA. Toward Precision Weight-Loss Dietary Interventions: Findings from the POUNDS Lost Trial. *Nutrients.* 21. August 2023;15(16):3665.
19. Hoene M, Zhao X, Machann J, Birkenfeld AL, Heni M, Peter A, u. a. Exercise-Induced N-Lactoylphenylalanine Predicts Adipose Tissue Loss during Endurance Training in Overweight and Obese Humans. *Metabolites.* 22. Dezember 2022;13(1):15.
20. Bray GA, Krauss RM, Sacks FM, Qi L. Lessons Learned from the POUNDS Lost Study: Genetic, Metabolic, and Behavioral Factors Affecting Changes in Body Weight, Body Composition, and Cardiometabolic Risk. *Curr Obes Rep.* September 2019;8(3):262–83.
21. Livingstone KM, Celis-Morales C, Papandonatos GD, Erar B, Florez JC, Jablonski KA, u. a. FTO genotype and weight loss: systematic review and meta-analysis of 9563 individual participant data from eight randomised controlled trials. *The BMJ.* 19. September 2016;354:i4707.
22. Qi L. Gene–diet interaction and weight loss. *Curr Opin Lipidol.* Februar 2014;25(1):27–34.
23. Qi L. Personalized nutrition and obesity. *Ann Med.* August 2014;46(5):247–52.
24. Qi L, Cho YA. Gene-environment interaction and obesity. *Nutr Rev.* Dezember 2008;66(12):684–94.
25. Jansen RS, Addie R, Merckx R, Fish A, Mahakena S, Bleijerveld OB, u. a. N-lactoyl-amino acids are ubiquitous metabolites that originate from CNDP2-mediated reverse proteolysis of lactate and amino acids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 26. Mai 2015;112(21):6601–6.

26. Teufel M, Saudek V, Ledig JP, Bernhardt A, Boularand S, Carreau A, u. a. Sequence Identification and Characterization of Human Carnosinase and a Closely Related Non-specific Dipeptidase *. *J Biol Chem.* 21. Februar 2003;278(8):6521–31.
27. Everaert I, De Naeyer H, Taes Y, Derave W. Gene expression of carnosine-related enzymes and transporters in skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol.* 1. Mai 2013;113(5):1169–79.
28. Schaum N, Karkanas J, Neff NF, May AP, Quake SR, Wyss-Coray T, u. a. Single-cell transcriptomics of 20 mouse organs creates a Tabula Muris. *Nature.* Oktober 2018;562(7727):367–72.
29. Locke AE, Kahali B, Berndt SI, Justice AE, Pers TH, Day FR, u. a. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature.* 12. Februar 2015;518(7538):197–206.
30. Xiao S, Li VL, Lyu X, Chen X, Wei W, Abbasi F, u. a. Lac-Phe mediates the anti-obesity effect of metformin [Internet]. *bioRxiv*; 2023 [zitiert 8. Januar 2024]. S. 2023.11.02.565321. Verfügbar unter: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.11.02.565321v1>
31. Li S, Guo R, Wang J, Zheng X, Zhao S, Zhang Z, u. a. The effect of blood flow restriction exercise on N-lactoylphenylalanine and appetite regulation in obese adults: a cross-design study. *Front Endocrinol.* 2023;14:1289574.
32. Wu J, Gao J, Lin J, Cui C, Li L, He S, u. a. Preparation and Taste Characteristics of Kokumi N-Lactoyl Phenylalanine in the Presence of Phenylalanine and Lactate. *J Agric Food Chem.* 4. Mai 2022;70(17):5396–407.
33. Lehmann A, Floris J, Woitek U, Rühli FJ, Staub K. Temporal trends, regional variation and socio-economic differences in height, BMI and body proportions among German conscripts, 1956-2010. *Public Health Nutr.* Februar 2017;20(3):391–403.
34. Hermanussen M, Danker-Hopfe H, Weber GW. Body weight and the shape of the natural distribution of weight, in very large samples of German, Austrian and Norwegian conscripts. *Int J Obes.* Oktober 2001;25(10):1550–3.
35. Siebzig ist das neue Vierundsechzig! Je älter desto jünger fühlen wir uns - im Durchschnitt rund 4 Jahre - Österreicher:innen sind im Schnitt 173 cm groß und haben in der Regel braune Augen und brünettes Haar [Internet]. [zitiert 10. Januar 2024]. Verfügbar unter: <https://www.imas.at/index.php/de/imas-report-de/aktuelle-reports/1257-siebzig-ist-das-neue-vierundsechzig-je-aelter-desto-juenger-fuehlen-wir-uns-im-durchschnitt-rund-4-jahre-oesterreicher-innen-sind-im-schnitt-173-cm-gross-und-haben-in-der-regel-braune-auge-und-bruenettes-haar>
36. Sportphysiologie • Bestseller • Sportverlag Strauß [Internet]. [zitiert 8. Februar 2024]. Verfügbar unter: https://www.sportverlag-strauss.de/bestseller_26/sportphysiologie_37744.htm
37. Billat VL, Sirvent P, Py G, Koralsztejn JP, Mercier J. The Concept of Maximal Lactate Steady State. *Sports Med.* 1. Mai 2003;33(6):407–26.

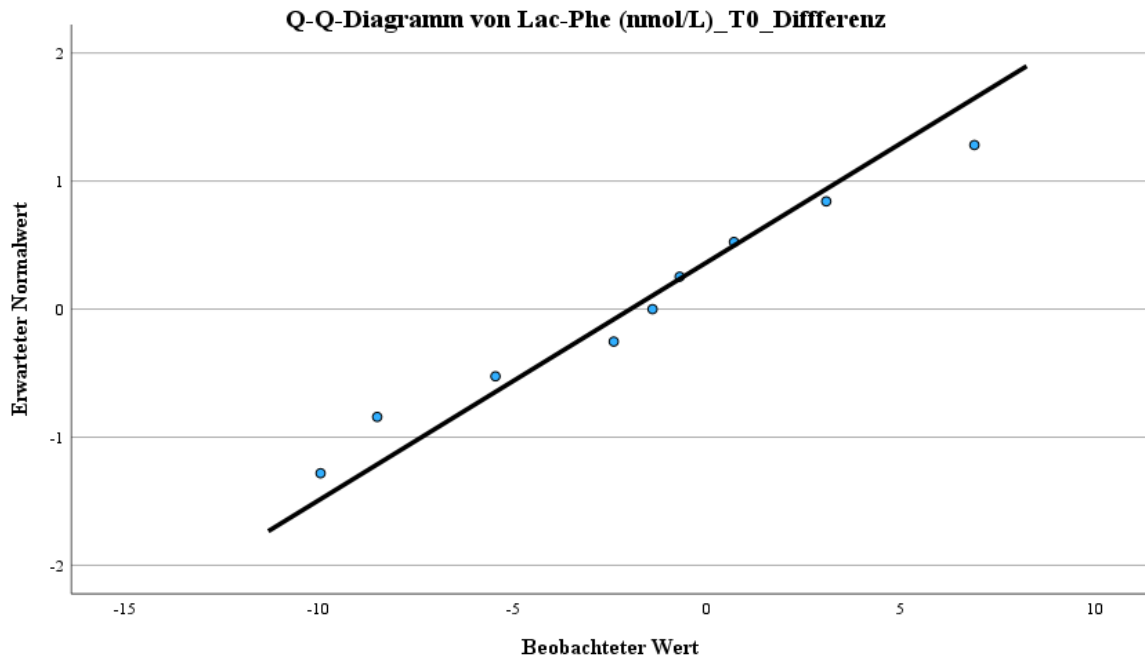
38. Dorling J, Broom DR, Burns SF, Clayton DJ, Deighton K, James LJ, u. a. Acute and Chronic Effects of Exercise on Appetite, Energy Intake, and Appetite-Related Hormones: The Modulating Effect of Adiposity, Sex, and Habitual Physical Activity. *Nutrients*. 22. August 2018;10(9):1140.
39. King NA, Burley VJ, Blundell JE. Exercise-induced suppression of appetite: effects on food intake and implications for energy balance. *Eur J Clin Nutr*. Oktober 1994;48(10):715–24.
40. Hopkins M, Blundell JE, King NA. Individual variability in compensatory eating following acute exercise in overweight and obese women. *Br J Sports Med*. 1. Oktober 2014;48(20):1472–6.
41. Stensel D. Exercise, appetite and appetite-regulating hormones: implications for food intake and weight control. *Ann Nutr Metab*. 2010;57 Suppl 2:36–42.
42. Schultes B, Schmid SM, Wilms B, Jauch-Chara K, Oltmanns KM, Hallschmid M. Lactate infusion during euglycemia but not hypoglycemia reduces subsequent food intake in healthy men. *Appetite*. 1. Juni 2012;58(3):818–21.
43. McCarthy SF, Islam H, Hazell TJ. The emerging role of lactate as a mediator of exercise-induced appetite suppression. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*. Oktober 2020;319(4):E814–9.
44. Broom DR, Miyashita M, Wasse LK, Pulsford R, King JA, Thackray AE, u. a. Acute effect of exercise intensity and duration on acylated ghrelin and hunger in men. *J Endocrinol*. 1. März 2017;232(3):411–22.
45. Hazell TJ, Islam H, Hallworth JR, Copeland JL. Total PYY and GLP-1 responses to submaximal continuous and supramaximal sprint interval cycling in men. *Appetite*. 1. Januar 2017;108:238–44.
46. van Hall G. Lactate kinetics in human tissues at rest and during exercise. *Acta Physiol*. 2010;199(4):499–508.
47. Engelstoft MS, Park W mee, Sakata I, Kristensen LV, Husted AS, Osborne-Lawrence S, u. a. Seven transmembrane G protein-coupled receptor repertoire of gastric ghrelin cells. *Mol Metab*. 1. November 2013;2(4):376–92.
48. Liu X, Li S, Cui Q, Guo B, Ding W, Liu J, u. a. Activation of GPR81 by lactate drives tumour-induced cachexia. *Nat Metab*. April 2024;6(4):708–23.
49. Vanderheyden LW, McKie GL, Howe GJ, Hazell TJ. Greater lactate accumulation following an acute bout of high-intensity exercise in males suppresses acylated ghrelin and appetite postexercise. *J Appl Physiol*. Mai 2020;128(5):1321–8.
50. Sim AY, Wallman KE, Fairchild TJ, Guelfi KJ. High-intensity intermittent exercise attenuates ad-libitum energy intake. *Int J Obes* 2005. März 2014;38(3):417–22.

51. Silberbauer CJ, Surina-Baumgartner DM, Arnold M, Langhans W. Prandial lactate infusion inhibits spontaneous feeding in rats. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*. März 2000;278(3):R646–53.
52. Lam CKL, Chari M, Wang PYT, Lam TKT. Central lactate metabolism regulates food intake. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. August 2008;295(2):E491-496.
53. Bender R, Lange S. Adjusting for multiple testing--when and how? *J Clin Epidemiol*. April 2001;54(4):343–9.
54. Perneger TV. Adjusting for multiple testing in studies is less important than other concerns. *BMJ*. 8. Mai 1999;318(7193):1288.
55. Craven J, McCartney D, Desbrow B, Sabapathy S, Bellinger P, Roberts L, u. a. Effects of Acute Sleep Loss on Physical Performance: A Systematic and Meta-Analytical Review. *Sports Med*. 1. November 2022;52(11):2669–90.

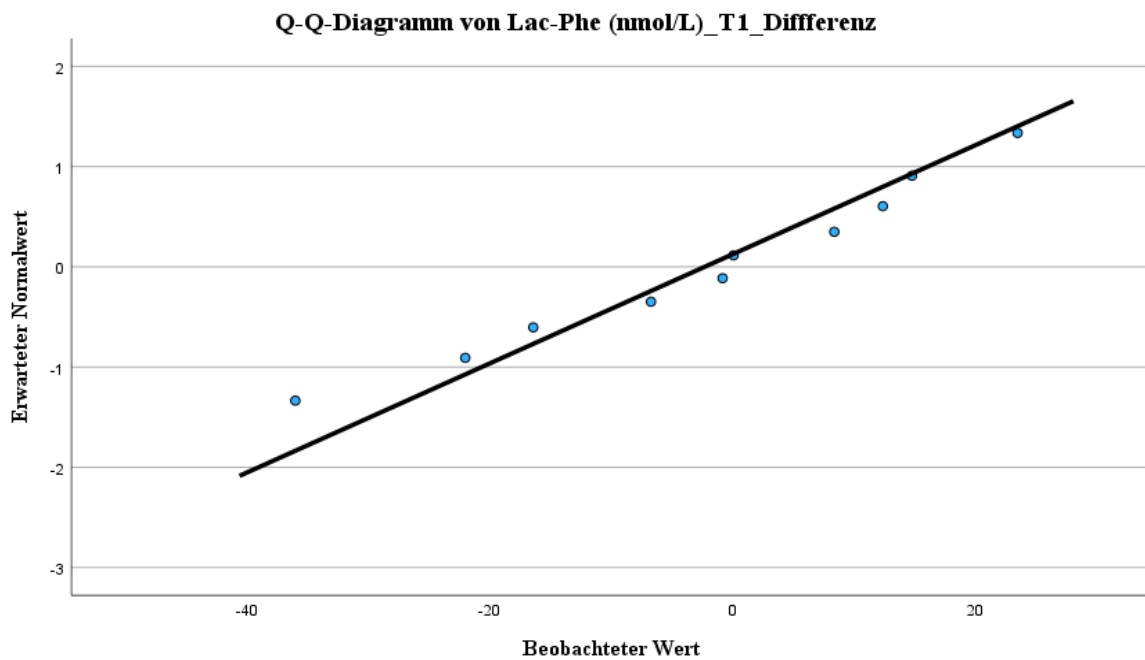
Zur sprachlichen Optimierung des Textes wurde folgendes KI-Tool verwendet: ChatGPT 3.5, OpenAI, 11.06.24; <https://chatgpt.com>.

Anhang

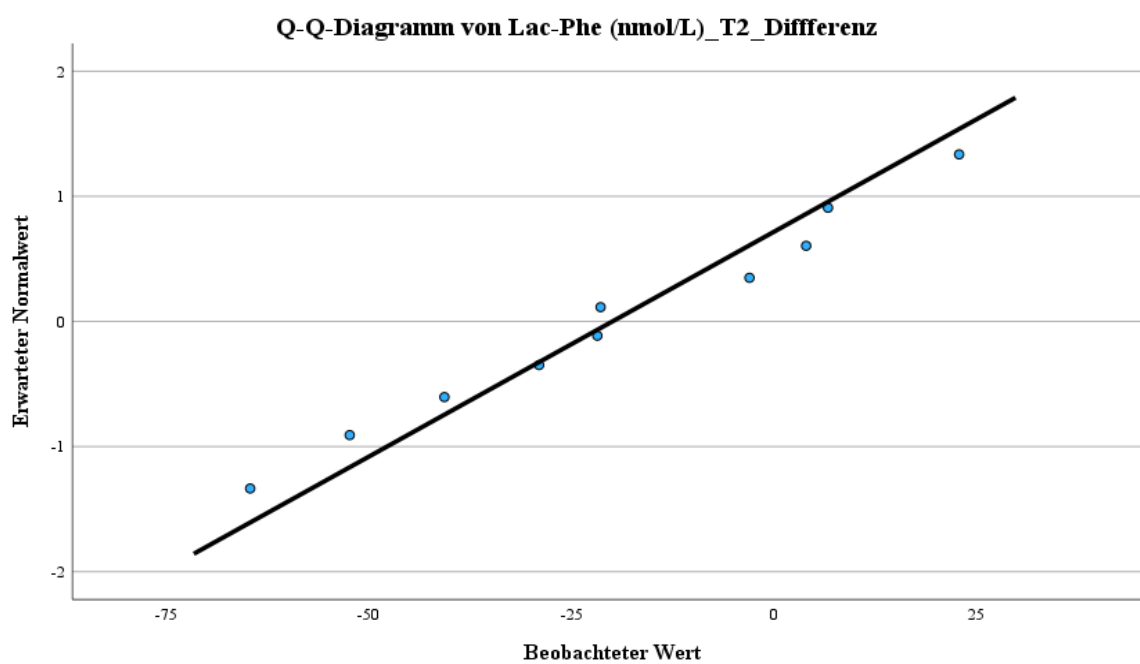
Anhang 1: Q-Q-Diagramm der Differenz von Lac-Phe (nmol/L) zwischen den Protokollen zum Zeitpunkt T_0



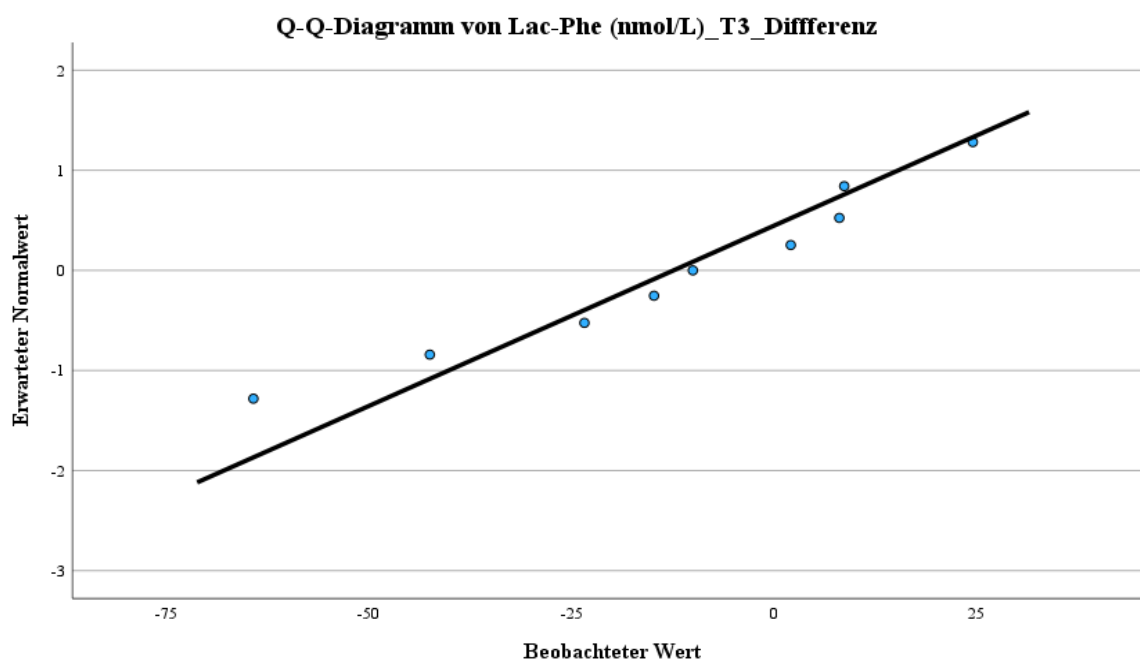
Anhang 2: Q-Q-Diagramm der Differenz von Lac-Phe (nmol/L) zwischen den Protokollen zum Zeitpunkt T_1



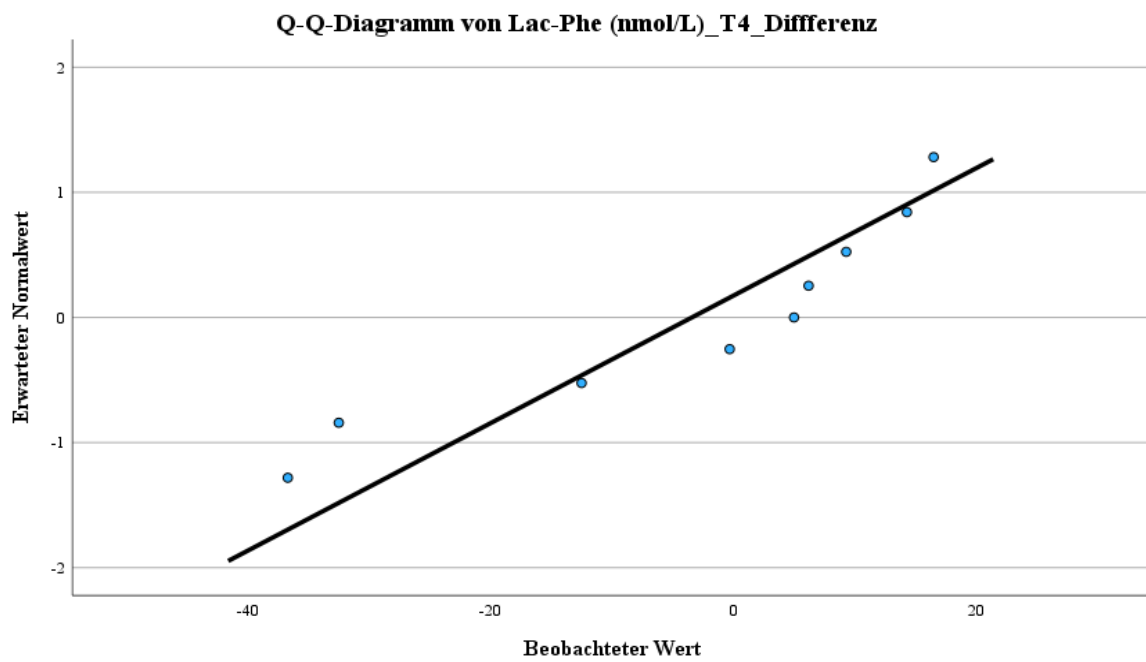
Anhang 3: Q-Q-Diagramm der Differenz von Lac-Phe (nmol/L) zwischen den Protokollen zum Zeitpunkt T_2



Anhang 4: Q-Q-Diagramm der Differenz von Lac-Phe (nmol/L) zwischen den Protokollen zum Zeitpunkt T_3



Anhang 5: Q-Q-Diagramm von Lac-Phe (nmol/L) der Differenz zwischen den Protokollen zum Zeitpunkt T4



Anhang 6: Q-Q-Diagramm der Differenz von Lac-Phe (nmol/L) zwischen den Protokollen zum Zeitpunkt T5

