

## **Fakultät für Medizin**

### **Auswirkungen von oralen hydrolytischen und proteolytischen Enzymen sowie Flavonoiden auf die Muskulatur nach einem Marathonrennen**

„Enzy-MagIC“ Marathonstudie

(Enzymes, Marathon running, Inflammation, Coagulation)

Natalie Christina Lindner

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen  
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades einer

**Doktorin der Medizin**

genehmigten Dissertation

Vorsitz: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. Prof. Dr. Martin Halle

2. Prof. Dr. Sebastian Siebenlist

Die Dissertation wurde am 08.09.2021 bei der Technischen Universität  
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 05.01.2022  
angenommen.

## Zusammenfassung

Sportliche Extremlastungen wie die eines Marathon- oder Langstreckenlaufs können muskuläre Schäden nach sich ziehen, welche sich subjektiv als Schmerzen, Steifheit sowie Funktionseinschränkung darstellen. Manifeste Überanstrengungen können objektiv anhand muskelspezifischer Serumenzyme kontrolliert werden.

Im Rahmen vorliegender Enzy-MagIC Studie wurden die Effekte des Präparates Wobenzym® plus auf belastungsinduzierte Veränderungen von Muskelschäden, Schmerzen sowie Regeneration bei gesunden Männern nach einem Marathon verifiziert.

138 Teilnehmern des München Marathons 2013 wurde das Flavonoid Rutosid (600-1200 mg/Tag) sowie hydrolytische und proteolytische Enzyme (540-1080 mg/Tag Bromelain, 288-576 mg/Tag Trypsin) (Verumgruppe) oder ein Placebo im Zeitraum eine Woche prä bis 2 Wochen post Marathon verabreicht. Blutabnahme und Laboranalysen der Serumparameter Creatin Kinase (CK), Creatin Kinase Isoenzym (CK-MB), Myoglobin, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Tansaminase (GPT), Lactatdehydrogenase (LDH) und Harnstoff erfolgten 5 Wochen vor Marathon, unmittelbar, 24 sowie 72 h nach Zieleinlauf. Zur Messung des subjektiven Muskelschadens wurden die Kurzform des McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), sowie der Fatigue Severity Scale (FSS) von jedem Teilnehmer täglich im Zeitraum von einer Woche prä bis zwei Wochen post Marathon ausgefüllt. Ein statistischer Vergleich der Gruppen erfolgte mittels T-Test und Mann-Whitney-Test. Trainingsdaten, objektive und subjektive Testergebnisse wurden mittels Spearman-Korrelation in Beziehung gesetzt.

Keine signifikanten Gruppenunterschiede ( $p > 0,05$ ) der Maximalwerte wurden für CK (Median [IQR] Verum: 1261 [768-3134] vs. Placebo: 1458 [703-2965] U/L), CK-MB (Median [IQR] Verum: 39 [24-59] vs. Placebo: 36 [26-59] ng/mL), Myoglobin (Median [IQR] Verum: 664 [443-1440] vs. Placebo: 613 [341-1086]  $\mu\text{g/L}$ ), LDH (Median [IQR] Verum: 360 [309-412] vs. Placebo: 354 [301-400] U/L), GOT (Median [IQR] Verum: 73 [54-129] vs. Placebo: 69 [53-135] U/L), GPT (Median [IQR] Verum: 36 [29-47] vs. Placebo: 37 [30-48] U/L) sowie Harnstoff (Median [IQR] Verum: 40 [34-46] vs. Placebo: 38 [33-43] mg/dL) nachgewiesen.

15,5 % der Verumgruppe sowie 16,7 % der Placebogruppe wiesen eine klinisch relevante Fatigue ( $> 36$ ) ohne Gruppensignifikanz ( $p = 0,852$ ) auf. Die maximal berichteten McGill PQ Total Scores lagen bei der Verumgruppe (Median [IQR] 10 [5,5-14,75]) höher als bei der Placebogruppe (Median [IQR] 9 [3,28-17,25]), jedoch ohne signifikanten Unterschied ( $p =$

0,551). Erwartungsgemäß wurden bei Zieleinlauf sowie an den beiden Folgetagen die stärksten muskulären Schmerzen sowie der höchste Grad muskulärer Ermüdung verzeichnet. Im zeitlichen Verlauf wurde deutlich, dass die Zeichen subjektiven Schmerzempfindens in der Placebogruppe länger berichtet wurden als in der Verumgruppe.

Besser trainierte Teilnehmer wiesen signifikant geringere Zeichen eines Muskelschadens, ermittelt anhand der Biomarker Creatin Kinase, Myoglobin und LDH, auf. Weiters korrelierte eine bessere Vorbereitung mit kürzeren Zielzeiten und höherer kardiorespiratorischer Fitness (gemessen anhand von VO<sub>2</sub> rel.).

Zusammenfassend konnten durch die Einnahme von Wobenzym® plus weder die untersuchten objektiven Parameter eines Muskelschadens noch die subjektive Ermüdungs- und Schmerzintensität nach einem Marathonlauf im Vergleich zur Placebogruppe signifikant verringert werden.

## Abstract

Extreme athletic strain such as Marathon or long distance runs can result in muscle damage which can lead to subjective symptoms such as pain, stiffness and loss of function. Manifest overexertion can be objectified through measurement of muscle-specific enzymes in blood serum.

Within the framework of this Enzy-MagIC Study, the effects of the supplement Wobenzym® plus on strain-induced alterations of muscle damage, pain and regeneration within healthy men after a Marathon were investigated.

138 participants of the Munich Marathon 2013 were therefore administered either the Flavonoid Rutoside (600-1200 mg/day) as well as hydrolytic and proteolytic enzymes (540-1080 mg/day Bromelaine, 288-576 mg/day Trypsine) (Verum group) or Placebo during a timeframe of one week before and two weeks after the race.

Blood draws and analysis of the serum parameters Creatine Kinase (CK), Creatine Kinase Isoenzyme (CK-MB), Myoglobine, Glutamate-Oxalacetate-Transaminase (GOT), Glutamate-Pyruvate-Tansaminase (GPT), Lactate Dehydrogenase (LDH) and urea took place 5 weeks before the Marathon, right after, 24 as well as 72 hours after the finish line. In order to measure the subjective sensations of muscle damage the short form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ) and the Fatigue Severity Scale (FFS) were filled out by every participant during the same timeframe as the medication intake.

The Verum and Placebo groups were statistically analyzed and compared using T-Test and Mann-Whitney Test. Training data, objective und subjective test results were correlated using Spearman-Correlation.

No significant group differences ( $p > 0,05$ ) of maximum values could be found for CK (Median [IQR] Verum: 1261 [768-3134] vs Placebo: 1458 [703-2965] U/L), CK-MB (Median [IQR] Verum: 39 [24-59] vs Placebo: 36 [26-59] ng/mL), Myoglobine (Median [IQR] Verum: 664 [443-1440] vs Placebo: 613 [341-1086]  $\mu$ g/L), LDH (Median [IQR] Verum: 360 [309-412] vs Placebo: 354 [301-400] U/L), GOT (Median [IQR] Verum: 73 [54-129] vs Placebo: 69 [53-135] U/L), GPT (Median [IQR] Verum: 36 [29-47] vs Placebo: 37 [30-48] U/L) and Urea (Median [IQR] Verum:40 [34-46] vs Placebo: 38 [33-43] mg/dL).

15,5% of the Verum group, respectively 16,7% of the Placebo group, showed a clinically relevant Fatigue ( $> 36$ ) without group significance ( $p = 0,852$ ). Reported Maximum McGill PQ

Total Scores were higher within the Verum group (Median [IQR] 10 [5,5-14,75]) compared to the Placebo group (Median [IQR] 9 [3,28-17,25]), however without statistical significance ( $p = 0,551$ ). As expected, highest levels of muscle pain and muscle fatigue were reported directly after crossing the finish line, as well as on the two consecutive days.

Analyzing symptom progression over time, it became apparent that signs of subjective pain sensation were reported for a longer time period within the Placebo group than in the Verum group. Better trained participants showed significantly less signs of muscle damage, by means of the biomarkers Creatine Kinase, Myoglobine and LDH. Furthermore, better preparation correlated with better target times and higher cardio-respiratory fitness (measured by VO<sub>2</sub> rel).

Summing up, through intake of Wobenzym® plus no statistically significant difference to Placebo could be detected, neither regarding the analyzed objective parameters of muscle damage nor subjective fatigue and pain sensations.

# Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. Einleitung</b> .....  | <b>1</b>  |
| 1.1. Problemstellung.....   | 1         |
| 1.2. Zielsetzung und Hypothesen .....   | 2         |
| <b>2. Wissenschaftlicher Hintergrund</b> .....  | <b>3</b>  |
| 2.1. DOMS (Delayed onset muscle soreness = „Muskelkater“).....                                      | 3         |
| 2.2. Muskulär-systemische Wechselwirkungen und Muskelschäden .....                                  | 4         |
| 2.3. Einflussmöglichkeiten von hydrolytischen und proteolytischen Enzymen sowie<br>Flavonoiden..... | 6         |
| 2.4. Derzeitiger Umgang mit „Marathon-Schmerzen“ .....  | 8         |
| 2.5. Forschung bezüglich NSAID-Alternativen.....  | 9         |
| <b>3. Material und Methodik</b> .....   | <b>10</b> |
| 3.1. Probandenauswahl und Gruppeneinteilung.....  | 11        |
| 3.2. Studienablauf.....   | 13        |
| 3.3. Studienpräparat und Placebo .....  | 15        |
| 3.4. Datenerhebung.....   | 16        |
| 3.4.1. Laboruntersuchungen.....   | 16        |
| Interleukin-6 (IL-6) .....  | 17        |
| C-Reactive Protein high sensitive (hsCRP).....  | 17        |
| Nüchtern-Blutglukose-Wert (NaF) .....   | 18        |
| Myoglobin (MYO).....  | 18        |
| Creatin-Kinase (CK) und Isoenzym (CK-MB).....   | 18        |
| Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT).....   | 19        |
| Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT).....  | 19        |
| Laktat-Dehydrogenase (LDH) .....  | 19        |
| Harnsäure.....  | 20        |
| Harnstoff.....  | 20        |
| 3.4.2. Blutdruckmessung .....   | 20        |
| 3.4.3. Elektrokardiogramm .....   | 21        |
| 3.4.4. Erhebung anthropometrischer Daten .....  | 21        |
| 3.4.5. Messungen während des Marathons.....   | 22        |
| 3.5. Verwendete Fragebögen .....  | 22        |
| 3.5.1. Lifestyle-Fragebogen .....   | 22        |
| 3.5.2. The Fatigue Severity Scale (FSS).....  | 22        |
| 3.5.3. Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ) .....  | 23        |
| 3.6. Studienendpunkte .....   | 24        |
| 3.7. Studiengröße.....  | 25        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4. Ergebnisse .....</b>   | <b>26</b> |
| 4.1. Beschreibung der Grundgesamtheit.....   | 27        |
| 4.2. Deskriptive Analyse der Anthropometrischen Daten .....                                      | 29        |
| 4.3. Deskriptive Analyse der Trainingsdaten.....   | 29        |
| 4.4. Deskriptive Analyse der Risikofaktoren und Familienanamnese .....                           | 30        |
| 4.5. Hypothesenprüfung.....  | 30        |
| 4.5.1. Objektiver Muskelschaden – Enzyme CK, CK-MB, Myoglobin, LDH, GOT, GPT,<br>Harnstoff ..... | 32        |
| Creatin Kinase.....  | 32        |
| Creatin Kinase Isoenzym (CK-MB).....   | 33        |
| Myoglobin .....  | 35        |
| LDH.....   | 37        |
| GOT.....   | 39        |
| GPT .....  | 41        |
| Harnstoff.....   | 43        |
| 4.5.2. Subjektiver Muskelschaden – SF-MPQ, FSS .....   | 46        |
| 4.5.3. Korrelationen.....  | 51        |
| <b>5. Diskussion.....</b>  | <b>57</b> |
| 5.1. Objektiver Muskelschaden.....   | 58        |
| 5.2. Subjektiver Muskelschaden .....   | 59        |
| 5.3. Korrelationen.....  | 61        |
| <b>6. Limitationen.....</b>  | <b>63</b> |
| <b>7. Ausblick.....</b>  | <b>65</b> |
| <b>8. Literaturverzeichnis.....</b>  | <b>66</b> |
| <b>9. Anhang .....</b>   | <b>74</b> |
| 9.1. Fatigue Severity Scale: Täglicher Symptomreport.....  | 74        |
| 9.2. Short Form McGill Pain Questionnaire: Täglicher Symptomreport .....                         | 75        |
| <b>10. Publikationen und Studien .....</b>   | <b>76</b> |

## Abbildungsverzeichnis

|  |    |
|--|----|
| Abbildung 1: Studienablauf (nach Grabs et al. 2014).....   | 14 |
| Abbildung 2: Flussdiagramm Analysegruppen Enzy-Magic Studie (Grabs et al. 2014).....             | 28 |
| Abbildung 3: Verlauf der Creatin Kinase (MW).....  | 32 |
| Abbildung 4: Vergleich der Creatin Kinase (MW mit SD).....                                       | 33 |
| Abbildung 5: Verlauf des Creatin Kinase Isoenzym (MW).....                                       | 34 |
| Abbildung 6: Vergleich des Creatin Kinase Isoenzym (MW mit SD).....                              | 35 |
| Abbildung 7: Verlauf des Myoglobin (MW).....   | 36 |
| Abbildung 8: Vergleich des Myoglobin (MW mit SD).....  | 37 |
| Abbildung 9: Verlauf der Lactatdehydrogenase (MW).....   | 38 |
| Abbildung 10: Vergleich der Lactatdehydrogenase (MW mit SD).....                                 | 39 |
| Abbildung 11: Verlauf der GOT (MW).....  | 40 |
| Abbildung 12: Vergleich der GOT (MW mit SD).....   | 41 |
| Abbildung 13: Verlauf der GPT (MW).....  | 42 |
| Abbildung 14: Vergleich der GPT (MW mit SD).....   | 43 |
| Abbildung 15: Verlauf des Harnstoffes (MW).....  | 44 |
| Abbildung 16: Vergleich des Harnstoffes (MW mit SD).....   | 45 |
| Abbildung 17: Anteil "Fatigue >36" für beide Gruppen während des<br>Untersuchungszeitraumes..... | 47 |
| Abbildung 18: McGill Total Scores der Gruppen im Vergleich.....                                  | 48 |
| Abbildung 19: Verteilung der McGill Total Scores während des Untersuchungszeitraumes..           | 49 |
| Abbildung 20: Verteilung der McGill Total Scores ab Zeitpunkt des Marathons.....                 | 50 |

## Tabellenverzeichnis

|  |    |
|--|----|
| Tabelle 1: Anthropometrie, Mittelwert $\pm$ SD.....  | 29 |
| Tabelle 2: Trainingsgeschichte, Median [IQR] .....   | 29 |
| Tabelle 3: Kardiovaskuläre Risikofaktoren, Anzahl Läufer (%).....                                | 30 |
| Tabelle 4: Creatin Kinase Werte [U/L], Placebo (P), Verum (V).....                               | 32 |
| Tabelle 5: Statistischer Vergleich Creatin Kinase .....  | 33 |
| Tabelle 6: Creatin Kinase Isoenzym Werte [ng/mL], Placebo (P), Verum (V).....                    | 34 |
| Tabelle 7: Statistischer Vergleich Creatin Kinase Isoenzym .....                                 | 35 |
| Tabelle 8: Myoglobin Werte [ $\mu$ g/L], Placebo (P), Verum (V).....                             | 36 |
| Tabelle 9: Statistischer Vergleich Myoglobin .....   | 37 |
| Tabelle 10: LDH Werte [U/L], Placebo (P), Verum (V).....   | 38 |
| Tabelle 11: Statistischer Vergleich LDH.....   | 39 |
| Tabelle 12: GOT Werte [U/L], Placebo (P), Verum (V).....   | 40 |
| Tabelle 13: Statistischer Vergleich GOT.....   | 41 |
| Tabelle 14: GPT Werte [U/L], Placebo (P), Verum (V) .....  | 42 |
| Tabelle 15: Statistischer Vergleich GPT .....  | 43 |
| Tabelle 16: Harnstoff Werte [mg/dL], Placebo (P), Verum (V).....                                 | 44 |
| Tabelle 17: Statistischer Vergleich Harnstoff.....   | 45 |
| Tabelle 18: Statistischer Vergleich Fatigue Severity Scores > 36.....                            | 47 |
| Tabelle 19: McGill Total Scores, Medianwerte.....  | 50 |
| Tabelle 20: Statistische Korrelationen von 9 Parametern nach Spearman.....                       | 51 |
| Tabelle 21: Statistische Korrelationen von 7 Parametern nach Spearman.....                       | 53 |
| Tabelle 22: Statistische Korrelationen von 9 Parametern nach Spearman zum Visit post-MT54        |    |
| Tabelle 23: Statistische Korrelationen von 7 Parametern nach Spearman zum Visit 24h-post-MT..... | 56 |

## Abkürzungsverzeichnis

|            |  |
|------------|--|
| ADP        | Adenosindiphosphat                                   |
| ATP        | Adenosintriphosphat                                  |
| ALT, ALAT  | Alanin-Aminotransferase                              |
| ANOVA      | Analysis of Variance                                 |
| ASAT       | Aspartat-Aminotransferase                            |
| BfArM      | Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte  |
| BMI        | Body-Mass-Index                                      |
| BSG        | Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit                |
| CK         | Creatin Kinase                                       |
| CK-MB      | Creatin Kinase Isoenzym                              |
| CRP        | C-reaktives Protein                                  |
| dL         | Deziliter  |
| DOMS       | Delayed onset muscle soreness                        |
| ECLIA      | Elektrochemilumineszenz Immunoassay                  |
| EDTA       | Ethylendiamintetraessigsäure                         |
| EKG        | Elektrokardiogramm                                   |
| ELISA      | enzyme-linked immunosorbent assay                    |
| Enzy-MagIC | Enzymes, Marathon running, Inflammation, Coagulation |
| FSS        | Fatigue Severity Score                               |
| g          | Gramm  |
| GGT        | Gamma-Glutamyl-Transferase                           |
| GOT        | Glutamat-Oxalacetat-Transaminase                     |
| GPT        | Glutamat-Pyruvat-Transaminase                        |
| h          | Stunde   |
| HBDH       | Hydroxybutyrat-Dehydrogenase                         |
| hsCRP      | hoch sensitives C-reaktives Protein                  |
| ID         | Identifikator, Kennung                               |
| IX         |  |

|                      |  |
|----------------------|--|
| i.e.S.               | im engeren Sinne                                 |
| IgA                  | Immunglobulin A                                  |
| IL                   | Interleukin                                      |
| ITT                  | Intention-To-Treat                               |
| J                    | Jahre  |
| kg                   | Kilogramm  |
| km                   | Kilometer  |
| L                    | Liter  |
| LDH                  | Laktatdehydrogenase                              |
| m <sup>2</sup>       | Quadratmeter                                     |
| mg                   | Milligramm                                       |
| min                  | Minuten  |
| mL                   | Milliliter                                       |
| mmHg                 | Millimeter-Quecksilbersäule                      |
| MPO                  | Myeloperoxidase                                  |
| MPQ                  | McGill Pain Questionnaire                        |
| MRT                  | Magnetresonanztomographie                        |
| MS                   | Multiple Sklerose                                |
| MT                   | Marathon   |
| MW                   | Mittelwert                                       |
| MYO                  | Myoglobin  |
| Na                   | Natrium  |
| NAC                  | N-Acetyl-Cystein                                 |
| NADP <sup>+</sup>    | Nicotinamidadenindinukleotidphosphat             |
| NADPH+H <sup>+</sup> | reduziertes Nicotinamidadenindinukleotidphosphat |
| NaF                  | Nüchtern-Blutglukose-Wert                        |
| ng                   | Nanogramm  |
| NSAID                | Non-steroidal anti-inflammatory drugs            |
| n.t.                 | non testatum, nicht geprüft                      |
| X                    |  |

|                 |  |
|-----------------|--|
| P               | Placebogruppe  |
| PASW            | Predictive Analysis SoftWare (statistische Software für Windows) |
| pg              | Pikogramm  |
| PQ              | Pain Questionnaire   |
| R               | R Foundation for Statistical Computing                           |
| ROM             | Range of motion  |
| ROS             | reaktive Sauerstoffradikale                                      |
| SD              | Standardabweichung   |
| SF-MPQ          | McGill Pain Questionnaire Short-Form                             |
| SOP             | Standard Operating Procedure                                     |
| SPSS            | Statistic package for social sciences (Statistikprogramm)        |
| TNF             | Tumornekrosefaktor   |
| TUM             | Technische Universität München                                   |
| U               | Units  |
| URTI            | upper respiratory tract infections                               |
| V               | Verumgruppe  |
| VAS             | Visuellen Analogskala  |
| VK              | Variationskoeffizient  |
| VO <sub>2</sub> | Sauerstoffaufnahme   |
| w               | Wochen   |
| WURSS-24        | Wisconsin Upper Respiratory Symptom Survey                       |
| µg              | Mikrogramm   |
| µmol            | Mikromol   |

# 1. Einleitung

## 1.1. Problemstellung

Regelmäßiges körperliches Training kann zu einer Reduktion von kardiovaskulären Risikofaktoren, Arteriosklerose und Metabolischem Syndrom sowie einer verringerten Infektanfälligkeit und Verbesserung der muskulären Regenerationsfähigkeit führen (Mathur & Pedersen 2008; Bernecker et al. 2013; Petersen & Pedersen 2005).

Dagegen stellt die Extrembelastung eines Marathon- oder Langstreckenlaufs einen akuten Inflammationsschub dar, der zu myokardialen Schäden, vermehrten Infekten und muskulären Schäden führen kann (Nieman et al. 2001; Scherr et al. 2011; Bernat-Adell et al. 2019).

Die Auswirkungen extremer physischer Belastung, wie die eines Marathonlaufs, auf das muskuloskeletale System und auf Entzündungsparameter stehen bereits lange Zeit im Fokus der Forschung. Erstes wird insbesondere durch die Komponenten anaerober Arbeit und exzentrischer Kontraktion beeinflusst. Entscheidende Symptome von Muskelschäden sind vor allem Schmerzen, Funktionseinschränkung, Steifheit und Schwellung. Histologische Zeichen sind unter anderem Unterbrechungen des Sarkolemm und der extrazellulären Matrix, während laborbiochemisch vornehmlich eine Erhöhung von Creatin Kinase (CK) und Myoglobin Serumwerten auffallen (Assumpção et al. 2013). Dennoch fehlen bis heute eindeutige Studienergebnisse über wirksame Maßnahmen und möglichst nebenwirkungsfreie Alternativen zu Corticosteroiden und NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drugs) bei der Behandlung dieser muskulären Symptome (Derman & Schweltnus 2010).

Immer mehr Freizeit- und Profisportler greifen mittlerweile nicht nur zur Behandlung von akuten Schmerzen, sondern bereits prophylaktisch zu Schmerzmitteln (Brune et al. 2009). Zum Einsatz kommen dabei diverse Analgetika (z. B. Acetylsalicylsäure, Paracetamol, Ibuprofen, Diclofenac, Tramadol, Codein, Coxibe), die eine Vielzahl unerwünschter systemischer Nebenwirkungen entfalten und somit einen Risikofaktor für Gastrointestinaltrakt, Nieren, Leber und das Kardiovaskuläre System darstellen können (Derman & Schweltnus 2010). Aus diesem Grund wäre ein Präparat auf natürlicher Basis und ohne schwerwiegende Nebenwirkungen, das dennoch effektiv wirkt, sowohl für Leistungs- als auch Freizeitsportler höchst relevant.

Hier setzte die zugrundeliegende Enzy-MagIC-Studie an, indem die Wirkungen von Wobenzym® plus (dem Studienpräparat) auf Inflammation und im Rahmen dieser Teilarbeit insbesondere auf muskuläre Aspekte, wie Muskelschaden- und Belastungszeichen, untersucht wurden.

## **1.2. Zielsetzung und Hypothesen**

Ziel der gesamten „Enzy-MagIC“-Marathonstudie war es, den Zusammenhang zwischen der Aufnahme oraler hydrolytischer sowie proteolytischer Enzyme und Flavonoiden, die in Wobenzym® plus enthalten sind, und der Beeinflussung belastungsinduzierter Entzündungsprozesse sowie die Häufigkeit oberer Atemwegsinfekte und der Beeinträchtigung des muskulären Bewegungsapparates nach einem Marathon- oder Langstreckenlauf zu untersuchen.

Im Rahmen dieser breit angelegten Studie lag der Schwerpunkt vorliegender Arbeit insbesondere auf den Auswirkungen auf das muskuläre System. Dazu wurden wiederholt die subjektiven Symptome der Athleten anhand von Fragebögen erhoben und zur objektiven Beurteilung eines Muskelschadens relevante Serumparameter (z. B. CK, LDH, Myoglobin, s.u.) untersucht.

Die Änderung der Konzentration des Pro-inflammatorischen Zytokins IL-6 und hs-CRP sowie das Auftreten von Infekten des oberen Respirationstrakts (URTI) durch die Einnahme von Wobenzym® plus wurde in einer anderen Teilarbeit behandelt (s. Publikationen und Studien). Dabei konnte keine signifikante Änderung durch Einnahme des Studienpräparates im Vergleich zum Placebo in Bezug auf die untersuchten Parameter gezeigt werden. Diese Resultate spielen insoweit für diese auf die Muskulatur fokussierte Arbeit eine Rolle, als dass der Botenstoff IL-6 offenbar sowohl peripher produziert wird und einen Einfluss auf die Muskulatur ausübt, als auch umgekehrt lokal im arbeitenden Muskel synthetisiert wird und dadurch systemische Wirkungen entfalten kann (Ostrowski et al. 1998; Pedersen et al. 2001; Siegel et al. 1983).

Es wurden in dieser Arbeit folgende Hypothesen untersucht:

- Die Einnahme von Wobenzym® plus verringert im Vergleich zum Placebo das Ausmaß des objektiven Muskelschadens (gemessen an der Höhe der Muskelenzyme CK, LDH, GOT, GPT, Myoglobin).

- Die Einnahme von Wobenzym® plus verringert im Vergleich zum Placebo die subjektiven Zeichen muskulärer Ermüdung (anhand Fatigue Severity Scale).
- Die Einnahme von Wobenzym® plus verringert im Vergleich zum Placebo die subjektiven Zeichen muskulärer Schmerzen (anhand SF-MPQ).

Nebenhypothesen:

- Besser Trainierte (anhand Vorbereitungsdistanz oder Zielzeit) zeigen geringere Zeichen eines Muskelschadens (geringere Enzymerhöhung) als weniger trainierte Teilnehmer.
- Besser Trainierte (anhand Vorbereitungsdistanz oder Zielzeit) zeigen schnellere Regenerationskapazitäten (Verlauf Enzymhöhe und Fragebögen) als weniger trainierte Teilnehmer.
- Zwischen objektiven Zeichen eines Muskelschadens (Enzymerhöhung) und subjektiven Zeichen (Ermüdung, Schmerzen) besteht eine signifikante Korrelation.

## **2. Wissenschaftlicher Hintergrund**

### **2.1. DOMS (Delayed onset muscle soreness = „Muskelkater“)**

Starke Trainingsreize können aufgrund verschiedener Prozesse zu muskulären Symptomen, vornehmlich durch ungewohnte oder neue Belastungen bei untrainierten Personen, aber auch durch übermäßig starke Belastungen bei Spitzensportlern führen. Diese Symptome werden häufig allgemein als Ermüdung („Fatigue“) oder „Muskelkater“ beschrieben und in der Literatur unter dem Akronym „DOMS“ (Delayed onset muscle soreness) zusammengefasst (Connolly et al. 2003). Für die Entstehung von DOMS gibt es in der Literatur diverse Erklärungsmodelle, wobei derzeit keine allseits akzeptierte Theorie existiert (Connolly et al. 2003). Exzentrische Bewegungen scheinen hierbei jedoch die größte Rolle zu spielen (Armstrong et al. 1991). Am häufigsten sind die Quadrizeps-, Extensoren- und Triceps Surae-Muskulatur von typischen Erscheinungen wie Kraftreduktion, Schwellung, Steifheit, eingeschränkter Beweglichkeit (ROM = range of motion) und Aktivierbarkeit betroffen. In diesem Zustand reagiert die Muskulatur sensibel auf Palpation, Kontraktion und passive

Dehnung (Assumpção et al. 2013; Armstrong et al. 1991; Coudreuse et al. 2004). Die Symptome erreichen meist 12 h bis 48 h nach der intensiven oder exzentrischen Belastung ein Maximum und ändern sich im Verlauf von maximal 10 Tagen in Intensität und Qualität (Vickers 2001). Dies spielt bei einem Marathonlauf die entscheidende Rolle, da hier insbesondere exzentrische Belastungen auf die Muskulatur einwirken.

Weiters sind häufig erhöhte Aktivitäten intramuskulärer Enzyme im Blutplasma (z. B. Creatin Kinase und Myoglobin) nachzuweisen, die auf einen trainingsinduzierten Muskelschaden schließen lassen (Warhol et al. 1985; Howatson et al. 2005). Erklärungsansätze für das Auftreten von DOMS umfassen einerseits metabolische Einflüsse wie Übersäuerung (Laktatazidose) und reaktive Sauerstoffradikale (ROS) sowie Mikroläsionen in Binde- und Muskelgewebe (Assumpção et al. 2013; Armstrong et al. 1991; Coudreuse et al. 2004; Tee et al. 2007). Die Oxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren durch Radikale führt zu einer direkt korrelierenden Anzahl an Lipidperoxiden. Dieser Prozess kann Gewebeschäden durch Veränderungen an der Zellmembran induzieren und wird als möglicher Mechanismus einer Muskelschädigung bei anaerober Belastung diskutiert (Armstrong et al. 1991).

Andererseits geht man von Entzündungsprozessen aus, die eine Voraussetzung für trainingsinduzierte Muskelschäden darzustellen scheinen (Bernecker et al. 2013; Scherr et al. 2011; Assumpção et al. 2013; Ostrowski et al. 1998; Ekblom et al. 2006; Ostrowski et al. 2000; Scherr et al. 2012). Letztendlich ist DOMS auch als Zeichen der Regeneration und Steigerung der Muskelmasse zu sehen (Coudreuse et al. 2004).

## **2.2. Muskulär-systemische Wechselwirkungen und Muskelschäden**

Regelmäßiges moderates Training kann sowohl das Immunsystem positiv beeinflussen (Mathur & Pedersen 2008; Nieman 1997) als auch die Regenerationsfähigkeit der Muskelfasern steigern (Siegel et al. 1983; Warhol et al. 1985). Klinisch manifestiert sich dies bei Sportlern, die regelmäßig moderates Training betreiben, in einem geringeren Auftreten von Infektionen der oberen Atemwege (URTI), niedrigeren pro-inflammatorischen Markern und einem erhöhten Basis-CK-MB Spiegel in Ruhephasen, welcher als Zeichen zellulärer Regenerationskapazität gesehen wird (Siegel et al. 1983; Warhol et al. 1985; Ekblom et al. 2006; Nieman 1997).

Im Gegensatz dazu stellt ein Marathon eine derartig starke Belastung für den gesamten Organismus und die Muskulatur dar, dass das Auftreten von Infekten begünstigt, pro-inflammatorische Marker (wie IL-6, IL-10, IL-1-ra und andere Myokine) gesteigert und

Muskelschäden induzieren werden können (Bernecker et al 2013; Nieman et al. 2001; Scherr et al. 2011; Assumpção et al. 2013; Ostrowski et al. 1998; Armstrong et al. 1991; Tee et al. 2007; Smith et al. 2004).

Interleukin (IL)-6 werden sowohl anti-inflammatorische als auch pro-inflammatorische Eigenschaften zugeschrieben. In diesem Zusammenhang wird in kontrahierenden Muskeln auch lokal IL-6 synthetisiert, wodurch diese eine Rolle beim Entzündungsgeschehen einnehmen können (Bernecker et al. 2013; Ostrowski et al. 1998). Ein starker IL-6 Anstieg direkt nach langer Belastung wird jedoch unabhängig von einem Muskelschaden gesehen, da IL-6 in großer Menge besonders im kontrahierenden Muskel synthetisiert wird. Ein verletzungsinduzierter IL-6-Anstieg tritt hingegen verzögert und in geringerem Ausmaß ein. Hier kann der Schaden zu Reparationsmechanismen führen, wobei Makrophagen in den Muskel einwandern und IL-6 produzieren können (Pedersen et al. 2001).

Der Einfluss von Muskelschädigungen auf eine Vielzahl systemischer Regulationsmechanismen wie der insulinabhängigen Glukoseverwertung und der Steuerung der Fettsäureoxidation konnte ebenfalls nachgewiesen werden (Tee et al. 2007). Die Kohlenhydrataufnahme während Belastung hat dabei einen Einfluss auf den Anstieg inflammatorischer Cytokine und Muskelenzyme (Bernecker et al. 2013; Ostrowski et al. 1998). Daher wurde in der Studie die Blutglukose zusammen mit IL-6 überwacht, um mögliche Effekte einer belastungsinduzierten Hypoglykämie auf den IL-6 Spiegel und folglich muskuläre Symptome zu kontrollieren.

In weiteren Studien konnten Close et al. (2003) zeigen, dass reaktive Sauerstoffradikale (ROS) bei der Entstehung von Muskelschäden und DOMS, die nach starker ungewohnter Belastung auftreten, eine Rolle spielen. Dabei konnte eine zeitliche Dissoziation des ROS Anstiegs und der erst später maximal ausgeprägten Muskelfunktionsreduktion sowie Intensität der DOMS beobachtet werden.

Muskelverletzungen mit Strukturzerstörungen der Muskelfasern kommen vor allem bei lang andauernden, repetitiven sowie exzentrischen Kontraktionen (z. B. Marathon) vor, während konzentrische oder intermittierende Kontraktionen (z. B. Radfahren, Tennis, Rudern) selten zu derartigen Schäden führen (Assumpção et al. 2013; Armstrong et al. 1991; Vickers 2001). Exzentrische Kontraktionen finden sich beim Laufen vornehmlich, wenn das Körpergewicht durch die Beinstrecker abgefangen wird. Nach einem Marathon kann folglich eine erhöhte Aktivität von CK Isoenzymen nachgewiesen werden, was allgemein auf Skelettmuskelschäden zurückgeführt wird (Nieman et al. 2001; Assumpção et al. 2013; Siegel et al. 1983; Armstrong

et al. 1991; Kanda et al. 2014). Bei gesunden Athleten erreichen Serum CK Werte 6 h nach Belastung ein Maximum und fallen innerhalb von 48 h auf ein normales Niveau (Brancaccio et al. 2008).

Ein Muskelschaden kann sich außerdem durch zentrale Fatigue und verringerte neuromuskuläre Kontrolle, einhergehend mit reduzierter willkürlicher Ansprechbarkeit der Muskulatur, präsentieren. Hierbei wird angenommen, dass die maximale Aktivierung zum Schutz der geschädigten Muskulatur durch absteigende neuronale Bahnen inhibiert wird (Byrne et al. 2004).

Ob die oben beschriebenen Veränderungen in erster Linie durch den Anstieg von Entzündungsmediatoren (wie z. B. IL6, TNF-alpha), mechanische Strukturschäden des Sarkolemms bzw. der Extrazellulärmatrix und Elektrolytstörungen oder hauptsächlich durch eine metabolische Substratverarmung (Hypoglykämie) hervorgerufen werden, ist noch nicht ausreichend erforscht (Bernecker et al. 2013; Nieman et al. 2001; Assumpção et al. 2013; Ostrowski et al. 1998; Siegel et al. 1983; Armstrong et al. 1991; Warhol et al. 1985; Tee et al. 2007; Smith et al. 2004; Kanda et al. 2014).

### **2.3. Einflussmöglichkeiten von hydrolytischen und proteolytischen Enzymen sowie Flavonoiden**

Flavonoide sowie weitere hydrolytische und proteolytische Enzyme sind bekanntermaßen in Gemüse und einer Vielzahl von Früchten enthalten und besitzen vor allem anti-oxidative und anti-inflammatorische Eigenschaften (Holt et al. 2009). Der langfristige Konsum solch pflanzlicher Nahrungsmittel wird mit einem verringerten Auftreten chronischer Erkrankungen wie Krebs und Arteriosklerose in Verbindung gebracht, was zu einem großen Teil diesen protektiven Stoffen zugeschrieben wird (Holt et al. 2009; Arts & Hollmann 2005; Bazzano et al. 2002; Lotito & Frei 2006).

Rutosid (Synonym Rutin) sowie dessen Glykosid Quercetin sind wichtige Flavonoide und vornehmlich in Pflanzen enthalten (Holt et al. 2009). Flavonoide sind zudem an der Modulation einer Reihe von Signalwegen beteiligt, die eine Rolle bei der Zellproliferation, Differenzierung, Apoptose und dem Zellüberleben spielen (Middleton et al. 2000). Weiters werden Flavonoiden anti-phlogistische und anti-mikrobielle Effekte (Holt et al. 2009; Arts & Hollmann 2005; Bazzano et al. 2002) sowie eine potentielle Wirkung auf Zeichen und Symptome von

trainingsinduzierten Muskelverletzungen zugeschrieben (Miller et al. 2004). Hydrolytische Enzyme entfalten eine immunmodulatorische Wirkung, indem sie auf die Induktion und Degradation von Immunkomplexen und Zytokinen wie IL-6 und TNF-alpha Einfluss nehmen können (Holt et al. 2009).

Bromelain ist ein proteinabbauendes Enzym, welches in Ananas vorkommt (Maurer 2001). Es kann die Wundheilung beschleunigen, indem es die Beseitigung des geschädigten Gewebes unterstützt (Maurer 2001). Trypsin, ein Verdauungsenzym, hat anti-oxidative Eigenschaften und kann die Entzündungsantwort auf Verletzungen verringern, während Bromelain und Trypsin beide vasodilatatorische, antithrombotische und fibrinolytische Effekte entfalten können. Die Ödembildung und der Gewebeschaden kann somit potentiell reduziert werden (Neumayer et al. 2006; Latha et al. 1998). In Studien zeigten proteolytische Zusätze zudem eine Reduktion des Kraftverlusts direkt nach exzentrischer Belastung und konnten die kurzfristige Kräfteregeneration unterstützen sowie das Auftreten von DOMS verringern (Miller et al. 2004).

Das Studienpräparat Wobenzym® plus besteht aus hydrolytischen sowie proteolytischen Enzymen (Bromelain, Trypsin) und dem Flavonoid Rutosid. Jede Tablette enthält 90 mg Bromelain, 48 mg Trypsin sowie 100 mg Rutosid. Nach Verletzungen konnte Wobenzym® plus nachweislich die Fibrinolyse beeinflussen, die Mikrozirkulation wiederherstellen sowie protektiv auf das Skelettmuskelgewebe wirken (Neumayer et al. 2006). Insgesamt resultiert dies in einer Verringerung der Schmerzen, Inflammation und Schwellung (Miller et al. 2004). Die Einnahme von Wobenzym® plus 72 h vor und nach exzentrischem Krafttraining führte zu einer signifikanten Reduktion von belastungsinduzierten Schmerzen sowie muskelspezifischen und inflammatorischen Biomarkern (Marzin et al. 2017).

Gemäß präklinischer Daten wird davon ausgegangen, dass die Substitution mit oralen hydrolytischen sowie proteolytischen Enzymen muskelprotektive, anti-inflammatorische, fibrinolytische, analgetische und anti-ödematöse Effekte haben kann. Dem Studienpräparat Wobenzym® plus werden diese Eigenschaften zugeschrieben.

In dieser Arbeit wurde die Hypothese untersucht, dass die Einnahme eines Präparates mit potentiell immunmodulatorischen Eigenschaften subjektive Symptome (anhand Fragebögen) und objektive Muskelschadenzeichen (anhand LDH, CK, Myoglobin und weiterer Marker), die nach einem Marathon regelmäßig erhöht sind, positiv beeinflusst.

## 2.4. Derzeitiger Umgang mit „Marathon-Schmerzen“

Derzeit werden zur Behandlung von Muskelschmerzen bei Marathonläufen – hauptsächlich aus Mangel an besser verträglichen sowie wirkungsvolleren Alternativen – vorwiegend Schmerzmittel wie NSAID eingesetzt. Laut Studien greift sogar jeder zweite Läufer zu Schmerzmitteln oder startet mit Beschwerden in ein Rennen (Brune et al. 2009). Die Anwendung von Analgetika bereits vor sportlichen Belastungen kann jedoch zusätzlich verschiedene Organsysteme wie Nieren, den Magen-Darm-Trakt und das Herz-Kreislauf-System belasten und die Blutgerinnung stören, wohingegen der erwünschte Effekt der Schmerzfreiheit nicht verlässlich gewährleistet werden kann (Brune et al. 2009). Die Langzeitanwendung von NSAID erhöht somit das Herzinfarkttrisiko, das Auftreten von Herzinsuffizienz und Magen-Darm-Blutungen. Bei Bluthochdruck kann außerdem eine Zunahme an Schlaganfällen beobachtet werden (Meyer 2013).

Untersuchungen verschiedener NSAID zeigten zudem, dass im Falle von Ibuprofen das Serum CK und Harnstoff-Werte bei DOMS und Muskelläsionen sogar höher waren als in der Placebogruppe, was für eine unangemessene Behandlungsalternative spricht (Donnelly et al. 1990). Bei Studien zur Anwendung von Meloxicam konnten ebenfalls sogar erhöhte CK Serumwerte nachgewiesen werden, wenn die Medikation vor der Schadeninduktion durch exzentrische Belastung erfolgte, was für eine Verstärkung des Muskelschadens spricht (Derman & Schweltnus 2010). Diclofenac hatte in Studien keinen signifikanten Einfluss auf die biochemische Serumantwort nach starker Belastung, beeinflusste also nicht die objektiven Zeichen des Muskelschadens an sich, konnte aber die subjektiv empfundene Schmerzhaftigkeit leicht reduzieren (Donnelly et al. 1998), weshalb dies ein beliebtes und weitverbreitetes Mittel unter Sportlern darstellt.

Weiters werden zur Behandlung von DOMS nach wie vor konventionelle Verfahren wie Massagen, Ultraschall und Stretching praktiziert, die allerdings meist nur geringes symptomatisches Linderungspotential besitzen (Connolly et al. 2003) und kaum die Ursache oder den Muskelschaden selbst kurieren.

Bei der Behandlung von akuten Weichteilschäden und den damit einhergehenden Symptomen bleibt somit zwischen dem kurzfristigen Nutzen für den Sportler, allgemein systemischen Nebenwirkungen, lokalen Langzeitfolgen sowie Beeinträchtigungen bei der Regeneration des Gewebes, der Struktur und der Funktion abzuwägen (Hertel 1997).

Hieran zeigt sich der Bedarf an natürlichen und zugleich effektiven Mitteln zur Behandlung muskuloskelettaler Symptome, die möglichst frei von unerwünschten Nebenwirkungen auf

andere Systeme wie den Magen-Darm-Trakt, das Herz-Kreislauf-System sowie Nieren und Blutgerinnung seien sollten.

## **2.5. Forschung bezüglich NSAID-Alternativen**

An der oben beschriebenen Problematik setzten bereits einige Studien zu natürlichen Stoffen und Nahrungsergänzungsmitteln an. Zur Anwendung kommen derzeit vor allem das Antioxidans Vitamin C (Ascorbinsäure), Vitamin E (Tocopherol), N-Acetyl-Cystein, Flavonoide, L-Carnitin, Astaxanthin,  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -Methylbutyrat, Kreatin Monohydrat, Essentielle Fettsäuren, Verzweigt-kettige Aminosäuren, Taurin, Bromelain, Proteine und Kohlenhydrate (Bloomer 2007).

Studien bezüglich der Muskelschaden- und Cytokinreduktion durch Supplementierung mit Antioxidantien konnten jedoch keine signifikante Wirkung nachweisen. Die Hypothese, dass ASS (Close et al. 2006), Vitamin C und E Substitution eine durch freie Radikale induzierte, belastungsabhängige Entzündungsantwort beeinflussen, konnte somit nicht gestützt werden (Petersen et al. 2001). Im Gegenteil zeigte die Einnahme von Vitamin C und N-Acetyl-Cystein (NAC) direkt nach Induktion einer akuten Verletzung durch exzentrische Belastung sogar eine vorübergehende Steigerung des Gewebeschadens und oxidativer Stressmarker wie Lipidperoxide (Childs et al. 2001), sowie eine verlangsamte Regeneration (Close et al. 2006). Allerdings konnten andere Studien zur Behandlung von DOMS mit Antioxidantien erfolgversprechende Resultate zeigen (Connolly et al. 2003; Petersen et al. 2001). Die Forschungsergebnisse bezüglich Antioxidantien sind folglich noch nicht eindeutig und benötigen eine weitere Evaluation.

Kreatin-Supplementierung vor starker Belastung zeigte in Studien hingegen eine signifikante Verringerung des Anstiegs von CK und pro-inflammatorischen Cytokinen nach einer Langlaufbelastung im Vergleich zur Placebogruppe, während LDH-Werte sogar auf Prä-Belastungsniveau verharrten. Dies kann auf eine Reduktion des Zellschadens und der Inflammation durch Kreatin-Substitution hinweisen (Santos et al. 2004).

Weitere Studien wurden mit  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -Methylbutyrat, einem Stoffwechselprodukt der essentiellen Aminosäure L-Leucin, durchgeführt. Dabei konnten signifikante Verringerungen der CK und LDH Werte nach einem Langstreckenlauf beobachtet werden, was ebenfalls für die mögliche Eindämmung eines belastungsinduzierten Muskelschadens spricht (Knitter et al.

2000). Wiederum andere Studien konnten diese positiven Effekte nicht bestätigen (Bloomer 2007).

Spätere Untersuchungen konnten zeigen, dass die Behandlung mit einer Kombination von verzweigtkettigen Aminosäuren und Taurin zwei Wochen vor sowie drei Tage nach einer starken exzentrischen Belastung, DOMS und objektive Muskelschäden reduzieren können (Ra et al. 2013). Hier zeigt sich das Potential natürlicher Kombinationspräparate und Einnahmestrategien in Form einer Aufsättigungsphase sowie reduzierter Erhaltungsdosis nach Belastung, was dem Applikationsplan der hier vorliegenden Studie ähnelt.

Clifford et al. (2016) publizierten den Zusammenhang der Einnahme von rotem Rübensaft (*Beta vulgaris L.*) und der Reduktion von Muskelschmerzen nach Plyometrie-Training. Eine Folgestudie widerlegte jedoch, dass die Ingestion von rotem Rübensaft eine Verminderung von inflammatorischen und muskelspezifischen Biomarkern nach sich zieht, wenn auch möglicherweise bedingt durch die Auswahl der gut trainierten Studienteilnehmer (Clifford et al. 2017).

AmLexin, eine standardisierte Mischung der Katechu-Akazie (*Acacia catechu*) und der weißen Maulbeere (*Morus alba*), wurden anti-inflammatorische Eigenschaften mit signifikanter Verminderung von DOMS zugeschrieben (Yimam et al. 2016). Im Rahmen einer Folgestudie wurde gezeigt, dass die Einnahme von AmLexin zu einer signifikanten Reduktion der belastungsinduzierten Schmerzen ein bis drei Tage post Marathon führt (Yimam et al. 2018).

Zusammenfassend existieren bezüglich effektiver und zugleich unbedenklicher Behandlungsmöglichkeiten belastungsinduzierter Muskelschäden und deren Symptome bislang keine einheitlichen Ergebnisse und Empfehlungen, sodass die Forschung in diesem Bereich weiterhin hohe Relevanz besitzt. Diese Arbeit sollte daher einen weiteren Beitrag zur Forschung liefern.

### **3. Material und Methodik**

Zur Datenerhebung wurde diese klinische Phase I Studie in Form einer offenen, monozentrischen, randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten Intervention gestaltet.

Es wurden im Zeitraum August bis September 2013 166 gesunde Athleten (Männer im Alter von 20-65 mit Vorhaben, am München Marathon 2013 teilzunehmen) rekrutiert. An diesem

Kollektiv wurden die Effekte eines Marathonlaufs auf Skelettmuskulatur, Erschöpfungserscheinungen, myokardiale Funktionen und Infektionszeichen gemessen. Die Beeinflussung dieser Parameter wurde durch die Einnahme von hydrolytischen sowie proteolytischen Enzymen und Bioflavonoiden (in Form des Studienpräparates Wobenzym® plus) untersucht.

Die Studie wurde im Rahmen des München Marathon 2013 unter Berücksichtigung der Good Clinical Practice Guidelines der Deklaration von Helsinki 2008 durchgeführt. Das Studienprotokoll wurde vom Ethikkomitee des Klinikums rechts der Isar in München (Referenznummer 5820/13) und dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM), Bonn (Vorlagenummer 4039219) genehmigt. Alle Teilnehmer mussten eine schriftliche Aufklärungs- und Einwilligungsbestätigung unterzeichnen, welche bei ClinicalTrials.gov (NCT01916408) registriert wurde.

### **3.1. Probandenauswahl und Gruppeneinteilung**

Es wurden lediglich gesunde Männer zwischen 20 und 65 Jahren in die Studie aufgenommen. Grund hierfür war einerseits die Sicherung einer hohen analytischen Sensitivität, andererseits hätten einige der untersuchten Parameter vom weiblichen Zyklus und hormonellen Parametern stark beeinflusst werden können, was die Vergleichbarkeit der Daten zwischen den einzelnen Teilnehmern beschränkt hätte.

Aus diesen Gründen wurden Frauen von dieser Studie ausgeschlossen und grundsätzlich nur Personen mit folgenden Eigenschaften berücksichtigt:

- Gesunde\* Männer
- Alter 20 bis 65 Jahre
- Mindestens eine erfolgreiche Teilnahme an einem (Halb-)Marathon
- Intention, am München Marathon 2013 teilzunehmen
- Die Studienteilnehmer haben die Probandeninformation gelesen und mit ihrer Unterschrift zur Teilnahme an der Studie eingewilligt.

---

\* \*Gesundheit ist gemäß der aktuellen WHO-Definition „ein Zustand vollkommenen körperlichen, geistigen und sozialen Wohlbefindens und nicht allein das Fehlen von Krankheit und Gebrechen“ (WHO 1948, Verfassung der Weltgesundheitsorganisation, S. 1)

Als Ausschlusskriterien wurden angesetzt:

- Bekannte manifeste Herzerkrankung oder Angina pectoris
- Bekannte Allergie gegen das Studienmedikament oder Ananas, Papaya oder Kiwi
- Schwere bekannte Koagulopathie
- Bekannte Laktoseintoleranz
- Einnahme von Antidiabetika oder Antihypertensiva
- Akute oder chronische Niereninsuffizienz
- Akute oder chronische Lebererkrankung
- Akute oder chronisch entzündliche Erkrankung
- Einnahme von Medikamenten mit Einfluss auf den Immunstatus
- Muskuloskeletale oder psychiatrische Erkrankung
- Tumorerkrankung
- Teilnahme an anderen klinischen Studien

Die eingeschlossenen Teilnehmer wurden randomisiert sowie blind ausgewählt und entweder in die Interventionsgruppe (Wobenzym® plus) oder die Placebogruppe eingeteilt.

Das Protokoll für die Sequenz der Randomisierung dieser Doppelblindstudie wurde durch unabhängiges Personal des Instituts für medizinische Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München (TUM) zusammengestellt, während die Randomisierung durch unabhängiges Personal des Instituts für Prävention und Sportmedizin der TUM durchgeführt wurde.

Die Verblindung erfolgte, indem der Hersteller MUCOS Pharma GmbH & Co. KG die Präparate (entweder Wobenzym® plus oder Placebo) anhand der Randomisierungsliste mit den Teilnehmer-IDs bedruckte und diese der Studienleitung zur Verfügung stellte. Die notfallmäßige „Entblindung“ konnte durch das Öffnen eines Notfall-Umschlags mit der Teilnehmer Studien-ID durch einen Beobachter erfolgen. Diese wurden vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie bereitgestellt und gewährleisteten das höchste Maß an genereller Verblindung. Jedes „Entblinden“ aufgrund eines Zwischenfalls war zu berichten.

## 3.2. Studienablauf

Der Studienablauf ist in Abbildung 1 ersichtlich.

**Visit prä-MT:** Fünf Wochen vor dem Marathon fand eine gründliche Voruntersuchung der Athleten mit Elektrokardiogramm, Blutdruckmessung, Spiroergometrie, Erhebung anthropometrischer Daten (Größe, Gewicht, Körperfettanteil, BMI), Blutanalyse und Ausfüllen des Lifestyle Fragebogens statt.

Daraufhin wurden die Läufer in Bezug auf die Erfüllung der definierten Kriterien evaluiert und schließlich in die Studie aufgenommen bzw. bei Nichterfüllen ausgeschlossen.

Eine Woche vor dem Rennen begannen die Teilnehmer mit der täglichen Einnahme (oral, 3 x 4 Tabletten) der Studienmedikation bzw. des Placebos. Für zwei Wochen nach dem Marathon wurden dann 3x2 Tabletten pro Tag eingenommen.

Zusätzlich wurden eine Woche vor sowie zwei Wochen nach dem Marathon täglich Symptomreports anhand von Fragebögen, Short Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ) und Fatigue Severity Scale (FSS) ausgefüllt.

**Visit post-MT:** Direkt nach Zieleinlauf erfolgte noch auf dem Gelände des Olympiastadions München eine Blutentnahme, bei der neben Markern für Inflammation, oxidativen Stress, Hämatologie/Gerinnung, IgA und Cortisol relevante Muskelenzyme wie CK, CK-MB, LDH, Myoglobin, GOT, GPT und Harnstoff (s.u.) abgenommen wurden.

**Visit 24h-post-MT:** 24 Stunden nach dem Marathon erfolgte in den Räumlichkeiten der Sportmedizin erneut eine Blutentnahme mit denselben Parametern wie direkt nach dem Marathon.

**Visit 72h-post-MT:** 72 Stunden nach dem Marathon erfolgte erneut in den Räumlichkeiten der Sportmedizin eine Blutentnahme mit denselben Parametern wie direkt nach dem Marathon und 24 Stunden nach dem Marathon.

**Visit 2Wo-post-MT:** 2 Wochen nach dem Marathon erfolgte eine letzte Blutabnahme zur Bestimmung der bereits bekannten Parameter.

Zu jedem Visit wurden zudem die bis dahin von den Läufern ausgefüllten Fragebögen (SF-MPQ und FFS) zur Erfassung der objektiven Symptome eingesammelt und digital zur Auswertung mittels SPSS erfasst.

**Visit 4Wo-post-MT:** Der letzte Visit erfolgte vier Wochen nach dem Marathon und umfasste ein Cardio-MRT, das für diese Teilarbeit keine Relevanz mehr hatte.

Enzy-MagIC Marathonstudie (Enzymes, Marathon running, Inflammation, Coagulation)

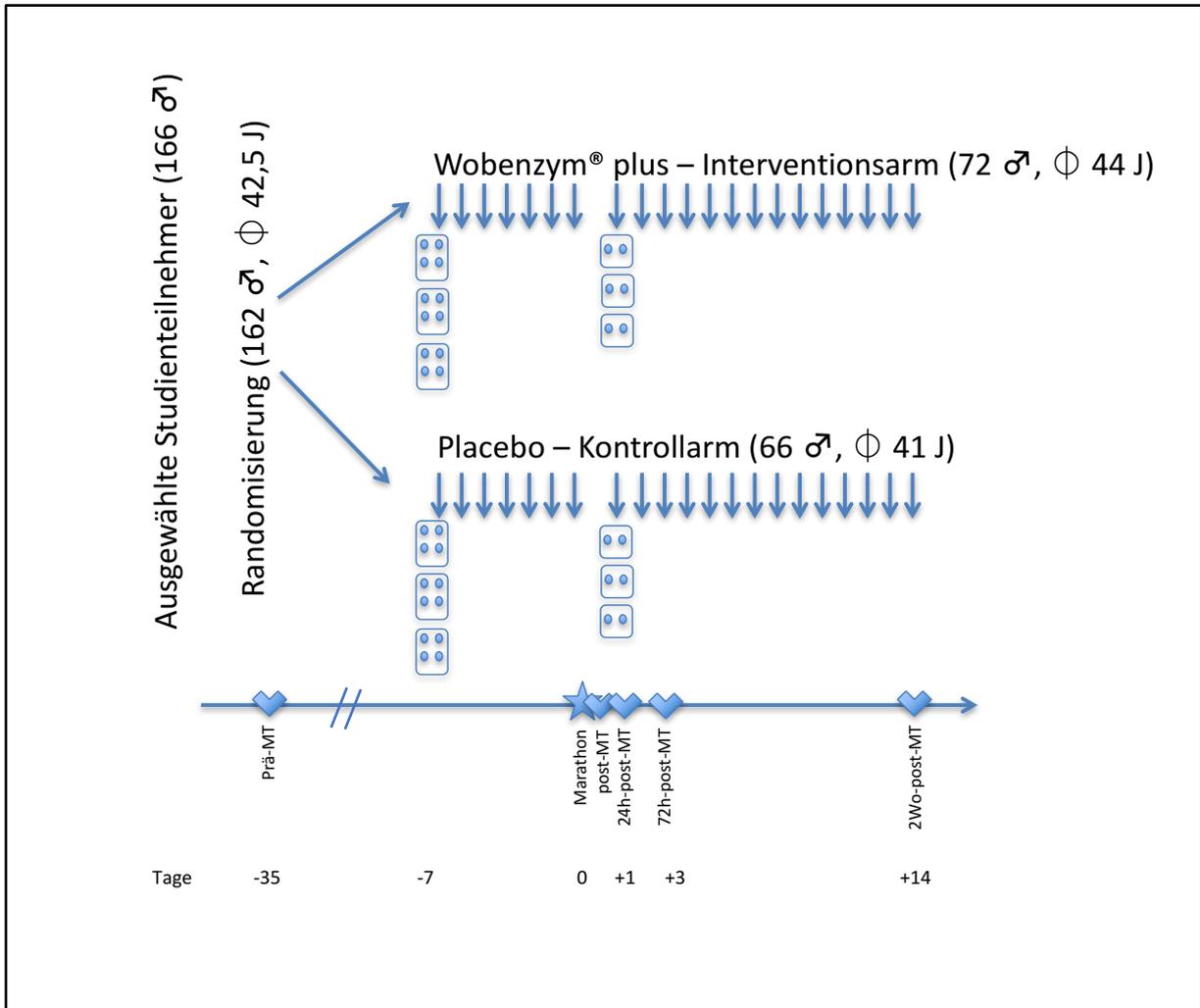


Abbildung 1: Studienablauf (nach Grabs et al. 2014)

### 3.3. Studienpräparat und Placebo

Das Studienpräparat, Wobenzym® plus (seit 1991 auf dem deutschen Markt, ursprünglich als Phlogenzym®) von der Firma MUCOS Pharma GmbH & Co. KG, enthält proteolytische und hydrolytische Enzyme sowie Flavonoide. Jede oral einzunehmende Tablette enthält 90 mg Bromelain, 48 mg Trypsin und 100 mg Rutosid. Die aktuellen Indikationen des Präparats sind traumatische Schwellung und Entzündungen, Thrombophlebitis sowie osteoarthritische Gelenkentzündungen. Pharmakologische Untersuchungen an Tieren lieferten keinen Nachweis für toxische, teratogene oder mutagene Auswirkungen durch Einzel-, Mehrfach- oder Langzeitanwendung.

Typische Nebenwirkungen der oralen Enzymtherapie sind Veränderungen der Stuhlkonsistenz, -farbe oder des -geruchs. Bei höheren Dosierungen können Völlegefühl, Blähungen oder Durchfall auftreten. Diese Symptome können auch auf die Laktose des Tablettenmantels zurückzuführen sein. Allergische Reaktionen wurden selten beobachtet. Alle beobachteten Nebenwirkungen waren von geringem Ausmaß, sodass sie keine weitere Behandlung benötigten und bildeten sich nach Absetzen der Medikamenteneinnahme zurück.

Das Placebo war ein optisch identisches Präparat, welches jedoch keine aktiven Inhaltsstoffe enthielt. Die aktiven Inhaltsstoffe wurden durch Laktose-Monohydrate ersetzt.

Die tägliche Dosis von Wobenzym® plus besteht normalerweise aus 6 Tabletten pro Tag. Im Falle von starken Entzündungskrankheiten oder akutem Trauma kann die Dosierung auf 12 Tabletten pro Tag angehoben werden. Extremer physischer Stress, wie durch einen Marathonlauf induziert, wird als Trigger „starker Entzündung“ angesehen. Dementsprechend wurde die Dosis in vorliegender Studie angepasst.

Die Teilnehmer nahmen somit täglich 3 x 4 Tabletten für eine Woche vor dem Marathon und 3 x 2 Tabletten pro Tag für weitere zwei Wochen nach dem Rennen ein. Die Präparate sollten 45 Minuten vor den Mahlzeiten oder 90 Minuten danach mit ausreichend Flüssigkeit eingenommen werden. Dieses Dosierungsschema wurde in der Wobenzym® plus und der Placebogruppe identisch angewandt.

Die 12 Tabletten pro Tag vor dem Rennen dienten als Aufsättigungsdosis, da ein Marathon einen starken inflammatorischen Stimulus darstellt. Im Anschluss an diese Aufsättigungsperiode wurde die Dosierung, den Empfehlungen des Beipackzettels von Wobenzym® plus entsprechend, auf eine Erhaltungsdosis von 6 Tabletten pro Tag reduziert.

Durch dieses Einnahmeschema war eine adäquate Plasmakonzentration von Rutosid, Trypsin und Bromelain zu erwarten.

Fünf Wochen vor dem Marathon bis zwei Wochen danach waren die Teilnehmer zudem angewiesen, die Einnahme jeglicher Nahrungsergänzungsmittel (insbesondere Antioxidantien, Vitamine, Mineralien) sowie Lebensmittel mit pro-biotischen Zusätzen oder hohem Gehalt an hydrolytischen Enzymen (Ananas, Papaya, Kiwi) zu vermeiden, um die Ergebnisse ausschließlich auf die gezielte Einnahme des Produkts oder Placebos beziehen zu können und mögliche Interferenzen anderweitig zugeführter Enzyme oder aktiver Substanzen auszuschalten. Außerdem war während der Zeit der Medikamenteneinnahme ein Ernährungstagebuch zu führen, um mögliche andere Einflussfaktoren zu registrieren.

Um einer Hyponatriämie während des Marathons vorzubeugen wurden die Läufer mit natriumhaltigen Gels versorgt (PowerBar Extra-Natrium: 0,5 g Na<sup>+</sup>/100g). Hiervon sollten 1-2 pro Stunde eingenommen werden, wodurch zusätzlich 54 g Kohlenhydrate pro Stunde (Empfehlung während des Laufens: 60-90 g/h) zugeführt wurden. Dies sollte zudem einen möglicherweise durch Hypoglykämie induzierten Zytokinanstieg vermeiden.

### **3.4. Datenerhebung**

#### **3.4.1. Laboruntersuchungen**

Nüchtern-Blutproben wurden den Probanden bei den Visits prä-MT, 24h-post-MT, 72h-post-MT und 2Wo-post-MT aus einer Cubitalvene in Supinationsstellung entnommen. Lediglich die Blutabnahme zum Visit post-MT erfolgte nicht nüchtern.

Im Labor des Zentrums für Prävention und Sportmedizin der Technischen Universität München wurden die Elektrolytwerte, ein kleines Blutbild durch einen Analyseautomaten (Sysmex SF-3000 Automated Hematology Analyzer, Sysmex Deutschland GmbH, Norderstedt, Deutschland) und folgende weitere Werte bestimmt.

Bei Erhöhung bestimmter Blutwerte kann, wie zuvor ausführlich beschrieben, von einem mehr oder weniger ausgeprägten Zellschaden, oxidativer Belastung oder einem Entzündungsgeschehen ausgegangen werden. Daher diene die Messung dieser Werte als Surrogat für eine Zellschädigung, um muskuläre Veränderungen objektiv zu beurteilen. Hierfür wurden die im Folgenden beschriebenen Serummarker vor dem Marathon sowie im Verlauf der

einzelnen Kontroll-Visits untersucht. Die jeweiligen Referenzwerte und Beschreibungen der Stoffe sind laut Online-Katalog von Synlab Augsburg angegeben.

Als Bezugswerte dienten der Hämatokrit-Wert mit einer Range von 40-53 % und das Hämoglobin mit einer Range von 14-18 g/dL des jeweiligen Visits.

### **Interleukin-6 (IL-6)**

IL-6 wurde anhand eines immunometrischen Assays mit dem ImmuLite® System (Siemens Healthcare, Eschborn, Germany) gemessen. Bei gesunden Erwachsenen liegen die Werte unter 3,4 pg/mL. Die analytische Sensitivität für IL-6 ist 2 ng/L-1, die Messrange reicht bis 1000 ng/L-1 für alle Parameter.

### **C-Reactive Protein high sensitive (hsCRP)**

Die hsCRP Plasmakonzentration wurde quantitativ durch den high-sensitivity assay CRP (Roche Diagnostics) auf Basis des Prinzips der latex particle enhanced immunological agglutination auf einem cobas c501 analyzer (Roche Diagnostics) bestimmt. Die Präzipitate werden dabei turbidimetrisch gemessen. Für Erwachsene gilt ein Referenzintervall <5 mg/L.

Das C-reaktive-Protein ist ein Akute-Phase-Protein der unspezifischen Immunabwehr mit schneller Reaktion auf einen Entzündungsherd. Es wird durch das in der Leberparenchymzelle stimulierte Interleukin-6 synthetisiert und an das Blut abgegeben. CRP hemmt die proinflammatorische Aktivität neutrophiler Granulozyten und damit das gewebszerstörende Potential dieser Zellen. Weiterhin bindet es sich an die Zellwand von Bakterien und aktiviert das klassische Komplementsystem. Ähnlich wie bei der BSG fallen beginnende oder chronische Infektionen durch einen erhöhten Wert auf, auch der Schweregrad des Krankheitsbildes lässt sich quantitativ (z. B. bei Sepsis) mit einer ausgeprägten Dynamik der CRP-Serumwerte erfassen. Die Halbwertszeit beträgt 5-7 h, ein Maximalanstieg ist nach etwa 50 h zu erwarten (Synlab 2019, o. S.).

Das high-sensitive CRP besteht aus fünf identischen Polypeptideinheiten, die zu einem Ring verbunden sind. Die Synthese erfolgt in der Leber und wird hauptsächlich durch die Zytokine IL-6 und den TNF-alpha reguliert. Konventionelle CRP-Tests schließen qualitative, semiquantitative und quantitative Tests ein, die zur Einschätzung von Infektionen, Gewebeverletzungen und entzündlichen Prozessen im Organismus genutzt werden können. Beim CRP high sensitive ist der Messbereich gegenüber den konventionellen CRP-Testen nach unten erweitert, um Schwellenveränderungen innerhalb entzündlicher Prozesse zu erkennen. Besonders in der Pathogenese der Atherosklerose scheinen Zytokine die Produktion von CRP durch fortschreitende Entzündung der Gefäßwände zu induzieren (Synlab 2019, o. S.).

Die Veränderungen dieser und anderer Inflammationsmarker durch die Einnahme von Wobenzym® plus wurden in einer anderen Teilarbeit in Zusammenschau mit dem Auftreten

von Infektionen des oberen Respirationstrakts (URTI) behandelt (s. Publikationen und Studien). Dabei konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Einnahme von Verum und Placebo gezeigt werden (Grabs et al., 2017)

### **Nüchtern-Blutglukose-Wert (NaF)**

Die Blutglukosewerte wurden mit Hilfe der Hexokinase-Methode mittels Beckman Coulter Analyser bestimmt. Das Enzym Hexokinase setzt Glukose und ATP mit Hilfe von Magnesium in Glukose-6-Phosphat und Adenosindiphosphat (ADP) um. Glukose-6-Phosphat wird durch die Glukose-6-Phosphatdehydrogenase zu D-Glukonolacton-6-Phosphat umgewandelt. Dabei wird NADP<sup>+</sup> (Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat) zu NADPH + H<sup>+</sup> reduziert. Die Zunahme von NADPH kann photometrisch durch die Absorption von Licht mit einer Wellenlänge von 340 nm gemessen werden (Gressner und Arndt, 2013). Der Messbereich beträgt 0,6 mmol/L bis 45,0 mmol/L (10 mg/dL bis 80 mg/dL). Der obere Referenzwert bei gesunden Probanden beträgt 5,9 mmol/L (100 mg/dL).

Der NaF liegt somit unter physiologischen Bedingungen bei 60-100 mg/dL. Der Variationskoeffizient ist hierbei 1,18% bei einer Glukose-Konzentration von 105,4 mg/dL.

### **Myoglobin (MYO)**

Myoglobin im Plasma wurde durch einen elektrochemilumineszenz Immunoassay (ECLIA) auf einem cobas e411 Immunoanalyzer (Roche Diagnostics) bestimmt. Bei gesunden Männern sind dabei Werte zwischen 28 und 72 ng/mL zu erwarten.

Myoglobin ist ein sauerstoffbindendes Hämprotein, das in der quergestreiften Muskulatur (Skelett- und Herzmuskel) gebildet wird und dort für den Transport und die Speicherung von Sauerstoff verantwortlich ist. Andere Gewebe weisen kein Myoglobin auf. Es wird bei Schädigungen der quergestreiften Muskulatur (Muskelnekrosen) und hohen körperlichen Belastungen rasch freigesetzt und erreicht deutlich schneller als z. B. CK, CK-MB pathologische Werte (Synlab 2019, o. S.).

Die folgenden Werte wurden durch photometrische Assays des Synlab Augsburg bestimmt.

### **Creatin-Kinase (CK) und Isoenzym (CK-MB)**

CK-Werte liegen normalerweise unter 190 U/L. Der methodenspezifische Variationskoeffizient beträgt 1,38% bei einer CK-Konzentration von 134 U/L.

Das Isoenzym CK-MB liegt normalerweise unter 24 U/L mit einem Variationskoeffizienten von 3,98% bei einer CK-MB Konzentration von 20,9 U/L.

Der CK-MB-Quotient ist eine Rechengröße aus CK und CK-MB und liegt im Regelfall unter 6%.

Die Creatin-Kinase (CK) überträgt enzymatisch N-Phosphoryl-Gruppen von Phosphokreatin auf Adenosindiphosphat, um als universelle Energiequelle in allen Zellen ATP zu regenerieren. Das Enzym findet man in allen Muskelzellen und im Gehirn. Die CK-Aktivität im Blut umfasst die Isoenzyme in Form der Dimere CK-MM, CK-MB, CK-BB, die postsynthetisch entstandenen Formen und die Aktivität der Makro-Creatinkinasen. In der Regel überwiegt der Muskel-Typ CK-MM im Blut; der prozentuale Anteil der CK-MB liegt unter 6%, während CK-BB und Makro-CK nicht nachweisbar sind. Eine erhöhte CK findet sich vor allem bei kardialen und neuromuskulären Schädigungen (Synlab 2019, o. S.).

### **Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)**

Die GOT nimmt physiologische Werte unter 50 U/L an mit einem Variationskoeffizienten von 2,10% bei einer GOT-Konzentration von 29,4 U/L.

Die GOT (ASAT) findet sich in Leber, Herz und Skelettmuskel, die Halbwertszeit im Plasma beträgt 17 Stunden. Das Enzym ist zu 30 % im Zytoplasma gelöst und zu 70 % an mitochondriale Strukturen gebunden. Zellveränderungen, z. B. Hepatozytenanschwellungen, mit Permeabilitätsstörungen verursachen einen vermehrten Übertritt zunächst vom Zytoplasma ins Serum, bei weiterer Schädigung treten auch mitochondrial freigesetzte GOT-Mengen ins Serum über (Synlab 2019, o. S.).

### **Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)**

Die GPT-Werte liegen bei gesunden Personen unter 50 U/L. Der methodenspezifische Variationskoeffizient beträgt 2,0% bei einer GPT-Konzentration von 21,6 U/L.

Die GPT (ALT, ALAT) ist im Zytoplasma der Leberzelle gelöst, die Halbwertszeit beträgt 47 h. Die enzymatische Aktivität hat in der Leber eine etwa 10fach höhere spezifische Aktivität als im Herz- und Skelettmuskel und kann somit als leberspezifisches Enzym betrachtet werden. Sie eignet sich als Suchenzym zur Erkennung von Lebererkrankungen (Synlab 2019, o. S.).

### **Laktat-Dehydrogenase (LDH)**

Die LDH nimmt bei gesunden Individuen Werte unter 250 U/L an. Der Interassay Variationskoeffizient liegt bei 1,28 % bei einer LDH-Konzentration von 220,1 U/L.

Die im Serum messbare LDH-Aktivität besteht aus den Aktivitätsanteilen der 5 Isoenzyme LDH 1-5. Das Isoenzym LDH 1 ist getrennt als Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (HBDH) messbar. Die LDH ist ein zytoplasmatisches Enzym, kommt in allen Geweben vor und katalysiert die reversible Oxidation. Die LDH-

Konzentration ist in den Erythrozyten ca. 360mal höher als im Serum, das Blut muss deshalb hämolysefrei entnommen werden und der Blutkuchen innerhalb einer Stunde abgetrennt sein (Synlab 2019, o. S.).

## **Harnsäure**

Harnsäurewerte liegen bei gesunden Individuen zwischen 3,6 und 8,2 mg/dL. Der methodenspezifische Variationskoeffizient beträgt 1,79 % bei einer Konzentration von 5,99 mg/dL.

Harnsäure ist das Endprodukt des Purinstoffwechsels bei der normalen Zellmauserung. Die Elimination erfolgt zu 80 % über die Nieren und zu weniger als 20 % über den Darm. Eine Vergrößerung des Harnsäurepools wird durch vermehrte Produktion (Fleischzufuhr, Zuckerverabreichung, Zellzerfall) oder verminderte Ausscheidung verursacht (Synlab 2019, o. S.).

## **Harnstoff**

Harnstoffwerte betragen physiologischer Weise bei Männern von 20 bis 50 Jahren 19-44 mg/dL, bei Männern ab 50 Jahren 28-55 mg/dL. Der Variationskoeffizient ist 1,22 % bei 43,9 mg/dL.

Harnstoff-N ist ein Rechenwert und liegt normal zwischen 5,0 und 26,0 mg/dL.

Harnstoff ist das Endprodukt des Eiweiß- und Aminosäure-Stoffwechsels und wird in der Leber gebildet. Beim Eiweißabbau werden die Proteine in Aminosäuren zerlegt und desaminiert. Der dabei anfallende Ammoniak wird in den Mitochondrien (Harnstoffzyklus) in Harnstoff umgewandelt. Die Ausscheidung erfolgt überwiegend renal durch glomeruläre Filtration. Etwa 40-60 % des filtrierte Harnstoffs diffundieren im proximalen Tubulus ADH-abhängig zurück (Synlab 2019, o. S.).

### **3.4.2. Blutdruckmessung**

Die Blutdruckbestimmung erfolgte mittels Riva-Rocci Methode. Dabei wurde nach fünfminütiger Ruhelage eine Blutdruckmanschette für Erwachsene in Supination am Oberarm straff und luftleer angelegt. Ein Stethoskop wurde mit dem Schallempfänger auf die Fossa cubitalis gesetzt und die Manschette aufgepumpt, bis der Puls nicht mehr hörbar war. Das Ventil wurde langsam geöffnet und der systolische Wert in mmHg beim ersten hörbaren Puls notiert, der diastolische Wert in mmHg beim letzten noch hörbaren Puls.

### 3.4.3. Elektrokardiogramm

Ein 12-Kanal-Elektrokardiogramm wurde mit Hilfe des Custo Card M Ruhe-EKGs geschrieben. Dafür wurden die Patientendaten mit Geburtsdatum, Größe und Gewicht eingegeben. Die Extremitätenkabel wurden gemäß Standard Operating Procedure (SOP) befestigt und die Brustwandelektroden V1 bis V6 angebracht. Während der elektrokardiographischen Untersuchung lag der Patient ruhig auf dem Rücken.

### 3.4.4. Erhebung anthropometrischer Daten

Die anthropometrischen Daten wurden ebenfalls beim ersten Visit im Zentrum für Prävention und Sportmedizin der Technischen Universität München nach einem standardisierten Untersuchungsprotokoll (SOP) erhoben. Die Probanden befanden sich dabei in eigenen Untersuchungsräumen und wurden in Unterwäsche und barfuß vermessen.

**Größe:** Mit Hilfe eines Stadiometers wurde die Größe mit einer Genauigkeit von 1,0 mm gemessen.

**Gewicht:** Das Körpergewicht wurde durch eine elektronische Präzisionswaage (Seca 764, seca GmbH; Hamburg, Deutschland) bestimmt.

**BMI:** Der Body Mass Index (BMI) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$BMI = m / l^2$$

BMI : Body Mass Index

m : Körpermasse in Kilogramm

l : Körpergröße in Metern

**Körperfett:** Der prozentuale Körperfettanteil wurde anhand der Hautfaltendicke der Probanden mit Hilfe einer Caliperzange und der 7-Falten-Methode bestimmt. Hierzu wurden die Hautfaltendicken an den sieben hierfür üblichen Körperstellen (Brust, Schulterblatt, Achsel, Trizeps, Bauch, Hüfte, Oberschenkel) erfasst. Durch die Summe der Hautfaltendicke konnte

anhand von alters- und geschlechtsspezifischen Regressionsformeln der Körperfettgehalt prozentual bestimmt werden.

### **3.4.5. Messungen während des Marathons**

Die durchschnittliche und maximale Herzfrequenz sowie die Marathonzeit wurden mit Hilfe eigener Pulsuhren erfasst.

## **3.5. Verwendete Fragebögen**

Die subjektiven Symptome der Athleten in Bezug auf muskuläre Belastung und deren Veränderungen im Verlauf wurden durch tägliches Ausfüllen (eine Woche vor und zwei Wochen nach dem Marathon) der „Fatigue Severity Scale (FSS)“ und dem „Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ)“ (siehe Anhang) erfasst.

Zudem wurde bei der Erstuntersuchung einmalig ein Lifestyle-Fragebogen zur zusätzlichen Informationsgewinnung erhoben.

### **3.5.1. Lifestyle-Fragebogen**

Hierbei handelt es sich um einen eigens für die Studie konstruierten Fragebogen, der beim ersten Untersuchungs-Visit auszufüllen war, um weitere relevante Informationen über die Athleten und deren Umfeld zu erhalten. Es wurden Daten bezüglich des allgemeinen Gesundheitszustands und eventuell bestehender Beschwerden, kardiovaskuläre Familienanamnese (koronare Herzerkrankungen, Schlaganfälle, plötzlicher Herztod unter 60 Jahren), kardiovaskulärer Risikofaktoren (Nikotinkonsum), Medikamenteneinnahme und sportlicher Aktivität (durchschnittlicher Trainingsumfang und Laufhistorie) erfragt.

### **3.5.2. The Fatigue Severity Scale (FSS)**

Mit „Fatigue“ wird grundsätzlich ein subjektives, unspezifisches Gefühl von Müdigkeit und Erschöpfung (ungeachtet des Ursprungs), das mit Hilfe des FSS objektiviert werden kann (Krupp et al. 1989; Neuberger 2003), bezeichnet. Breiten Einsatz findet diese Methode im

Bereich der Onkologie zur Beurteilung von Therapieerfolgen betreffend einer sehr häufig bestehenden Tumorfatigue sowie im Monitoring von Multiple Sklerose Patienten.

Zudem kann eine zentrale Fatigue und reduzierte neuromuskuläre Kontrolle Ausdruck eines Muskelschadens sein (Byrne et al. 2004).

Dieser kurze Fragebogen wurde eine Woche vor und zwei Wochen nach dem Marathon täglich ausgefüllt und diente der Bewertung des subjektiven „Fatigue“-Levels durch die Studienteilnehmer.

Der FSS besteht aus 9 Items, welche den Schweregrad der „Fatigue“ und die dadurch entstehende Beeinträchtigung des Alltags und Lebensstils erfragen. Der Teilnehmer bewertet die einzelnen Items je nach seinem aktuellen Empfinden am jeweiligen Tag anhand einer Skala von 1 bis 6. Wird die Aussage eines Items mit „1“ bewertet, bedeutet dies eine geringe Übereinstimmung mit der Aussage, während eine Bewertung mit „6“ eine starke Übereinstimmung von Befinden und der jeweiligen Aussage angibt.

Schließlich wird ein Total Score als Summe der 9 Items berechnet. Bei gesunden Individuen wird im Durchschnitt eine Summe von 2,3 (SD 0,7) beobachtet. Eine klinisch relevante Fatigue besteht ab einem Total Score von  $> 36$ . Im Falle einer manifesten Fatigue kann der FSS außerdem zum Monitoring des Syndromverlaufs eingesetzt werden.

Zur Beurteilung des Auftretens und Verlaufs einer klinischen Fatigue wurden die Angaben aller Läufer über die gesamten 3 Wochen anhand dieses Grenzwertes als signifikant beurteilt und somit lediglich Werte ab einem Total Score von 36 berücksichtigt.

### **3.5.3. Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ)**

Der McGill Pain Questionnaire ist derzeit einer der meistverbreiteten und weltweit akzeptierten Fragebögen zur Erfassung von klinischen Schmerzen, der statistisch ausgewertet werden kann. Er kann verwendet werden, um relevante Schmerzen einer Person zu bewerten und somit ein primär unspezifisches, subjektives Empfinden objektiv darzustellen und vergleichbar zu machen.

Es existieren zwei Varianten: Long-Form und Short-Form. Der MPQ (Long-Form) wurde von Melzack und Torgerson bereits 1971 an der McGill University in Montreal, Canada entwickelt und ist grundsätzlich aus Adjektiven aufgebaut, welche drei Gruppen des Schmerzempfindens (sensorisch, affektiv und evaluativ) beschreiben (Melzack 1975). Die Übersetzung des MPQ

ins Deutsche erfolgte 1986 in Bern und wurde als valide nachgewiesen (Radvilla et al. 1987; Stein & Mendl 1988). Da die Long-Form jedoch sehr umfangreich ist, entwickelte Melzack darauf aufbauend den SF-MPQ (Short-Form) (Melzack 1986). Dieser ist im englischsprachigen Raum bereits weitverbreitet und benötigt weniger Zeit. Da die Probanden den Fragebogen täglich über 3 Wochen ausfüllen sollten, war dies das ausschlaggebende Kriterium für die Entscheidung, die Kurzform in dieser Studie anzuwenden. Somit konnte von einer größeren Bereitschaft und einer besseren Abbildung der tatsächlichen Beschwerden ausgegangen werden.

Die Befragten lesen sich die Liste der Adjektive durch und kreuzen zu jedem die Zahl an, die das momentane Schmerzempfinden am besten beschreibt (0 = wird nicht empfunden, 3 = wird stark empfunden).

Eine visuelle Analogskala dient der Quantifizierung des Schmerzes von 0 bis 100.

Das Schmerzerleben wird durch eine Likert-Skala von 0 bis 5 (0 = kein Schmerz, 5 = qualvoll) quantifiziert.

Abschließend werden alle Zahlenwerte zu einer Gesamtsumme addiert, die zur Verlaufsmessung genutzt werden kann (Tal 2008).

Die auf diese Weise gewonnenen Daten wurden daraufhin zur Einnahme des Test-Präparates oder Placebos in Bezug gesetzt. Somit wurde versucht die subjektiven Zeichen eines Muskelschadens zu objektivieren und zur statistischen Hypothesenprüfung heranzuziehen.

### **3.6. Studienendpunkte**

Der primäre Endpunkt der breit angelegten Enzy-MagIC-Studie bezog sich auf die Veränderungen der Plasma-IL-6-Konzentration nach dem Marathonlauf und den Einfluss von Wobenzym® plus im Vergleich zu dem Placebo.

Die in dieser Arbeit im Speziellen betrachteten Effekte der Wobenzym® plus-Einnahme auf muskuläre Aspekte, wie prä- und post-Marathon-Blutwerte, die objektiv einen Rückschluss auf Muskelschäden zulassen (CK, CK-MB, Myoglobin, GOT, GPT, LDH, Harnstoff) sowie subjektive Muskelbeschwerden und Erschöpfungszeichen (erfasst durch SF-MPQ, FSS) stellten einen sekundären Endpunkt der Studie dar.

Weitere sekundäre Endpunkte der gesamten Enzy-MagIC-Studie, welche in anderen Teilarbeiten behandelt wurden, betrafen den Effekt der Wobenzym® plus-Einnahme auf:

- die Frequenz des Auftretens von Infekten des oberen Respirationstraktes (URTI) im Zeitraum von zwei Wochen nach dem Marathonlauf, anhand des Wisconsin Upper Respiratory Symptom Survey (WURSS-24).
- IgA- Speichelkonzentrationen vor und nach dem Lauf.
- Veränderungen rheologischer Parameter (z. B. D-Dimer, tPA, Plättchenaggregation) vor und nach dem Lauf.
- Veränderungen von Cytokinkonzentrationen (z. B. IL-10), oxidativer Marker (z. B. Myeloperoxidase) und akute Phase Proteine (z. B. hs-CRP) sowie des Differentialblutbildes vor und nach dem Rennen.

### 3.7. Studiengröße

Die Berechnung der Teilnehmerzahl erfolgte auf Basis des primären Endpunktes, dem Unterschied der IL-6 Werte zwischen den beiden Gruppen. Aufgrund einer erwarteten rechtsgeneigten Verteilung der IL-6 Werte, wurden die logarithmierten Veränderungen der IL-6 Werte (relative Gruppenveränderungen) als Basis für interferierende Statistik verwendet. Anhand früherer Publikationen war ein Variationskoeffizient (VK) von 0,60 für IL-6 Veränderungen für die zu betrachtende Studienpopulation zu erwarten (Scherr et al. 2011). Unter Annahme eines tatsächlichen relativen Unterschieds von mindestens 25 % zwischen den Gruppen war somit eine Größe von 80 Personen pro Gruppe nötig, um einen Unterschied der IL-6 Veränderungen mit einer Power von 90 % und einer Signifikanz von 0,05 bei einer zweiseitigen Hypothesenformulierung zu detektieren (Grabs et al, 2014).

Zur Analyse der sekundären Endpunkte, wie dem Muskelschaden, wurde das Secondary Set (siehe 4.1) verwendet. Nach Ausscheiden einzelner Läufer, aus Gründen ersichtlich in Abbildung 2, bestand die Verumgruppe (V) schlussendlich aus 72 und die Placebogruppe (P) aus 66 Läufern.

## 4. Ergebnisse

Alle in der Studie erhobenen Daten und Fragebögen wurden zunächst in eine Tabelle integriert. Hierfür wurde das Datenblatt von Microsoft Excel für Mac 2011 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) verwendet. Im Anschluss wurden die Daten für statistische Analysen in die statistische Software PASW für Windows (SPSS Inc.) und R (R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich) importiert und statistische Berechnungen durchgeführt.

Zunächst wurden die Gruppen und Parameter auf Normalverteilung mittels visueller Inspektion von Histogrammen untersucht.

Deskriptive Daten wurden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung für normal verteilte Parameter oder als Median (Interquartilbereich (IQR)) für nicht normal verteilte Parameter beschrieben.

Quantitative sekundäre Endpunkte wurden mit varianzanalytischen Methoden (ANOVA, t-Test bzw. Mann-Whitney-Test) ausgewertet, qualitative Endpunkte wurden mittels Chi-Quadrat-Tests verglichen.

Die Berechnung der Korrelationskoeffizienten erfolgte nach Spearman. Dieser Korrelationskoeffizient kann Werte zwischen -1 bis +1 annehmen, wobei ein positives Vorzeichen einen gleichsinnigen, ein negatives Vorzeichen einen gegensinnigen Zusammenhang angibt. Für das Ausmaß des Korrelationskoeffizienten galt für 0,00 bis 0,19 kein oder sehr schwacher Zusammenhang, 0,20 bis 0,30 schwacher Zusammenhang, 0,40 bis 0,69 moderater Zusammenhang, 0,70 bis 0,89 starker Zusammenhang und 0,90 bis 1,00 sehr starker Zusammenhang. Selbiges galt für den negativen Bereich.

Für alle Analysen wurde ein Wahrscheinlichkeitswert von  $p < 0,05$  als statistisch signifikant angesehen. Die Tests wurden zweiseitig durchgeführt.

Die Effizienzanalyse der primären und sekundären Endpunkte wurde unter Berücksichtigung des Intention-To-Treat (ITT) Prinzips durchgeführt. Das ITT Datenset bestand aus allen eingeschlossenen und randomisierten Personen. Für Probanden mit fehlenden post-marathon Markern wurden die fehlenden Werte unter der konservativen Annahme der niedrigsten beobachteten Werte für die Placebogruppe und der höchsten beobachteten Werte für die Interventionsgruppe ersetzt.

Bei der Bewertung der Fragebögen wurden lediglich Probanden berücksichtigt, von denen alle 21 Tage vollständig ausgefüllte Bögen vorlagen. Für die Analyse der Fatigue wurden 24 Läufer berücksichtigt, bei denen eine klinisch manifeste Ausprägung mit einem Punktwert  $>36$  bestand.

#### **4.1. Beschreibung der Grundgesamtheit**

Von ursprünglich 166 Teilnehmern konnten 162 randomisiert werden. Davon konnten wiederum 138 Läufer für die Auswertung der sekundären Endpunkte berücksichtigt werden (Abbildung 2). Im Secondary Set bestand die Verumgruppe (V) schlussendlich aus 72, die Placebogruppe (P) aus 66 Läufern.

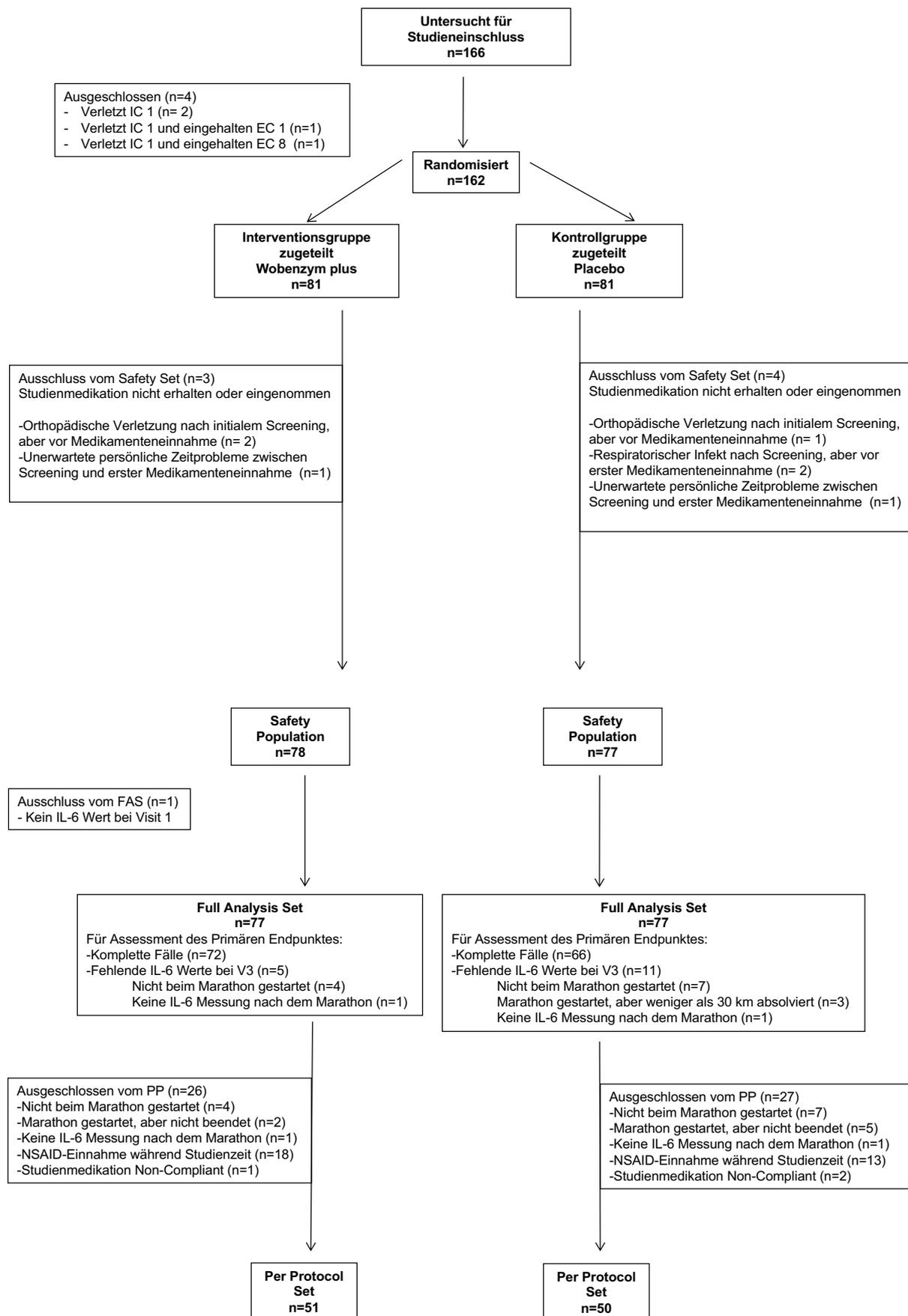


Abbildung 2: Flussdiagramm Analysegruppen Enzy-Magic Studie (Grabs et al. 2014)

## 4.2. Deskriptive Analyse der Anthropometrischen Daten

Wie in Tabelle 1 ersichtlich, betrug das Alter in der Placebogruppe (P) im Mittel 41 Jahre (SD 11 J.), in der Verumgruppe (V) 44 Jahre (SD 11 J.).

Die P wies im Mittel einen BMI von 23,4 kg/m<sup>2</sup> (SD 2,5 kg/m<sup>2</sup>) auf.

In V betrug er vergleichsweise 23,3 kg/m<sup>2</sup> (SD 2,0 kg/m<sup>2</sup>).

Der Körperfettanteil betrug in P im Mittel 13 % (SD 5 %), in V 14 % (SD 4 %).

Tabelle 1: Anthropometrie, Mittelwert  $\pm$ SD

| Anthropometrie           | Placebo        | Verum          |
|--------------------------|----------------|----------------|
| Alter (Jahre)            | 41 $\pm$ 11    | 44 $\pm$ 11    |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 23,4 $\pm$ 2,5 | 23,3 $\pm$ 2,0 |
| Körperfettanteil (%)     | 13 $\pm$ 5     | 14 $\pm$ 4     |

## 4.3. Deskriptive Analyse der Trainingsdaten

In der Placebogruppe (P) wurde zur Vorbereitung im Mittel eine wöchentliche Kilometeranzahl von 55 km [45-70 km] gelaufen, in der Verumgruppe (V) 50 km [40-65 km].

Die Vorbereitungszeit 2013 betrug in P im Mittel 41 Wochen [27-41 Wochen] und in V ebenfalls 41 Wochen [24-41 Wochen].

In P haben die Probanden 2013 im Mittel eine Trainingsstrecke von 1560 km [884-2050 km], in V eine Strecke von 1640 km [1025-2255 km] absolviert.

Tabelle 2: Trainingsgeschichte, Median [IQR]

| Trainingsgeschichte  | Placebo         | Verum            |
|--|-----------------|------------------|
| Trainingsstrecke pro Woche während der letzten 10 Wochen vor dem Rennen [km]   | 55 [45-70]      | 50 [40-65]       |
| Vorbereitungszeit in 2013 [Wochen]   | 41 [27-41]      | 41 [24-41]       |
| Kalkulierte Trainingsstrecke 2013 [km]<br>(km/Woche 2013*Trainingswochen 2013) | 1560 [884-2050] | 1640 [1025-2255] |

#### 4.4. Deskriptive Analyse der Risikofaktoren und Familienanamnese

Eine positive Familienanamnese bezüglich kardiovaskulärer Erkrankungen war in der Placebogruppe (P) bei 8 Läufern (14 %), in der Verumgruppe (V) bei 12 Läufern (20 %) zu eruieren.

In P waren 2 Läufer Raucher (3 %) und 1 Ex-Raucher (1 %), während in V vergleichbar 1 Raucher (2 %) und 1 Ex-Raucher (2 %) vertreten waren.

Während der Studiendauer wurde in P von 13 Läufern (24 %) eine NSAID-Einnahme angegeben, in V von 18 Teilnehmern (28 %).

Tabelle 3: Kardiovaskuläre Risikofaktoren, Anzahl Läufer (%)

| <b>Kardiovaskuläre Risikofaktoren</b>                   | <b>Placebo</b> | <b>Verum</b>  |
|---|----------------|---------------|
| Positive Familienanamnese Kardiovaskulärer Erkrankungen | 8 (14)         | 12 (20)       |
| Raucher/Ex-Raucher                                      | 2 (3) / 1(1)   | 1 (2) / 1 (2) |
| NSAID Einnahme  | -              | -             |
| NSAID Einnahme während der Studiendauer                 | 13 (24)        | 18 (28)       |

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Placebo- und Verumgruppe in allen deskriptiv analysierten Eigenschaften vergleichbar sind und sich nicht signifikant voneinander unterscheiden.

#### 4.5. Hypothesenprüfung

Die Objektivierung eines Muskelschadens erfolgte anhand der Laborwerte, die im Rahmen der einzelnen Visits erhoben wurden. Hierzu wurden insbesondere die Enzyme CK, CK-MB, LDH, GOT, GPT, Myoglobin und Harnstoff im Verlauf quantifiziert. Mit Hilfe dieser Werte wurde die Hypothese, dass Wobenzym® plus im Vergleich zum Placebo nach einem Marathonlauf zur Induktion eines geringeren Muskelschadens beitragen kann, geprüft.

### **Hypothese:**

- Die Einnahme von Wobenzym® plus verringert im Vergleich zum Placebo das Ausmaß des Muskelschadens (gemessen an der Höhe der Muskelenzyme CK, CK-MB, LDH, GOT, GPT, Myoglobin, Harnstoff).

Die subjektiven Zeichen eines Muskelschadens wurden durch Quantifizierung von Fatigue und Schmerzen mit Hilfe der Fragebögen (FSS, SF-MPQ) erfasst und zu statistischen Auswertungen herangezogen. Somit wurde die Hypothese überprüft, dass Wobenzym® plus im Vergleich zum Placebo nach einem Marathonlauf zur Reduktion belastungsinduzierter Schmerzen und Fatigue beitragen kann.

### **Hypothesen:**

- Die Einnahme von Wobenzym® plus verringert im Vergleich zum Placebo die subjektiven Zeichen muskulärer Ermüdung (anhand Fatigue Severity Scale).
- Die Einnahme von Wobenzym® plus verringert im Vergleich zum Placebo die subjektiven Zeichen muskulärer Schmerzen (anhand SF-MPQ).

Weitere Nebenhypothesen wurden durch Korrelationen überprüft:

- Besser Trainierte (anhand Vorbereitungsdistanz oder Zielzeit) zeigen geringere Zeichen eines Muskelschadens (geringere Enzymerhöhung) als weniger trainierte Teilnehmer.
- Besser Trainierte (anhand Vorbereitungsdistanz oder Zielzeit) zeigen schnellere Regenerationskapazitäten (Verlauf Enzymhöhe und Fragebögen) als weniger trainierte Teilnehmer.
- Zwischen objektiven Zeichen eines Muskelschadens (Enzymerhöhung) und subjektiven Zeichen (Ermüdung, Schmerzen) besteht eine signifikante Korrelation.

#### 4.5.1. Objektiver Muskelschaden – Enzyme CK, CK-MB, Myoglobin, LDH, GOT, GPT, Harnstoff

##### Creatin Kinase

In der Wobenzym® plus-Gruppe (syn. Verumgruppe) stieg der CK-Wert von MW 199 ( $\pm$ 131) U/L / (Median [IQR]: 162 [125-227]) zum Visit prä-MT auf ein Maximum 24h-post-MT mit MW 2589 ( $\pm$ 3194) U/L / Median [IQR]: 1261 [768-3134] (Tabelle 4, Abbildungen 3 und 4).

Es zeigte sich initial für die Placebogruppe ein Mittelwert (MW) von 212 ( $\pm$ 128) U/L / Median [IQR]: 186 [133-244] und ein Maximalwert 24h-post-MT mit MW 2320 ( $\pm$ 2803) U/L / Median [IQR]: 1458 [703-2965] (Tabelle 4, Abbildungen 3 und 4).

Tabelle 4: Creatin Kinase Werte [U/L], Placebo (P), Verum (V)

|                    | V MW $\pm$ SD      | Median [IQR]    | P MW $\pm$ SD      | Median [IQR]    |
|--------------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|
| <b>prä-MT</b>      | 199 ( $\pm$ 131)   | 162 [125-227]   | 212 ( $\pm$ 128)   | 186 [133-244]   |
| <b>post-MT</b>     | 475 ( $\pm$ 334)   | 377 [258-555]   | 559 ( $\pm$ 559)   | 379 [292-680]   |
| <b>24h-post-MT</b> | 2589 ( $\pm$ 3194) | 1261 [768-3134] | 2320 ( $\pm$ 2803) | 1458 [703-2965] |

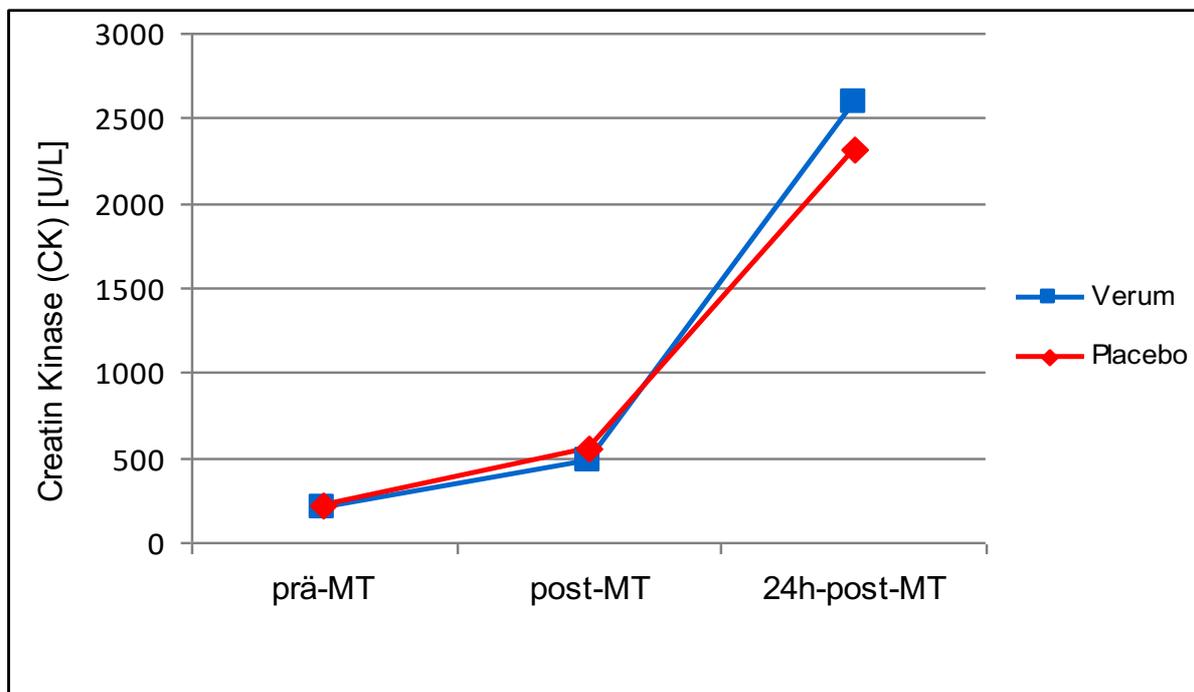


Abbildung 3: Verlauf der Creatin Kinase (MW)

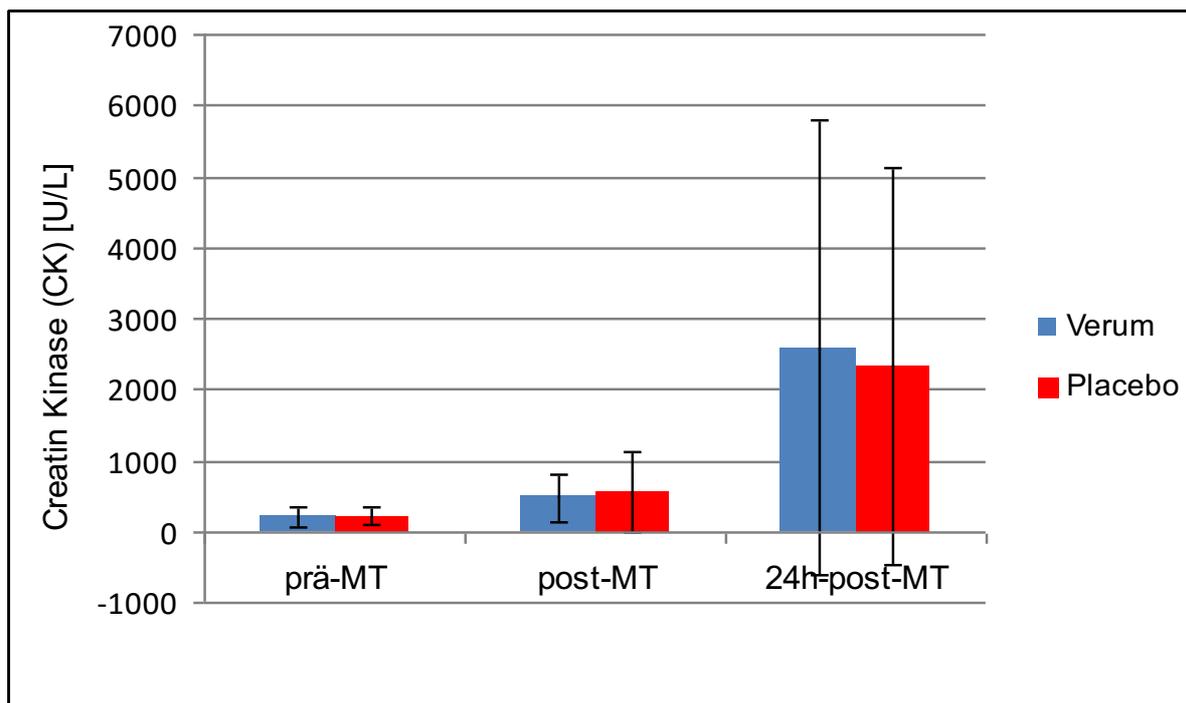


Abbildung 4: Vergleich der Creatin Kinase (MW mit SD)

Wie in Tabelle 5 dargestellt, ergibt sich beim statistischen Vergleich der Gruppen Verum vs. Placebo (T-Test, Mann-Whitney-Test) kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ) zum Visit prä-MT sowie zum Zeitpunkt mit den maximal ermittelten Werten (24h-post-MT), referenziert auf prä-MT.

Tabelle 5: Statistischer Vergleich Creatin Kinase

|             | T-Test | Mann-Whitney-Test |
|-------------|--------|-------------------|
| prä-MT      | 0,537  | 0,304             |
| 24h-post-MT | 0,582  | 0,826             |

### Creatin Kinase Isoenzym (CK-MB)

In der Verumgruppe stieg der CK-MB-Wert von MW 16 ( $\pm 7$ ) ng/mL / Median [IQR]: 15 [12-17] zum Zeitpunkt prä-MT auf ein Maximum 24h-post-MT mit MW 55 ( $\pm 52$ ) ng/mL / Median [IQR]: 39 [24-59] (Tabelle 6, Abbildungen 5 und 6).

Es zeigte sich zum Visit prä-MT für die Placebogruppe ein Mittelwert (MW) von 16 ( $\pm 3$ ) ng/mL / Median [IQR]: 15 [13-17] mit einem Maximalwert 24h-post-MT mit MW 52 ( $\pm 47$ ) ng/mL / Median [IQR]: 36 [26-59] (Tabelle 6, Abbildungen 5 und 6).

Tabelle 6: Creatin Kinase Isoenzym Werte [ng/mL], Placebo (P), Verum (V)

|                    | V MW±SD  | Median [IQR] | P MW±SD  | Median [IQR] |
|--------------------|----------|--------------|----------|--------------|
| <b>prä-MT</b>      | 16 (±7)  | 15 [12-17]   | 16 (±3)  | 15 [13-17]   |
| <b>post-MT</b>     | 27 (±11) | 24 [18-31]   | 26 (±9)  | 24 [20-28]   |
| <b>24h-post-MT</b> | 55 (±52) | 39 [24-59]   | 52 (±47) | 36 [26-59]   |

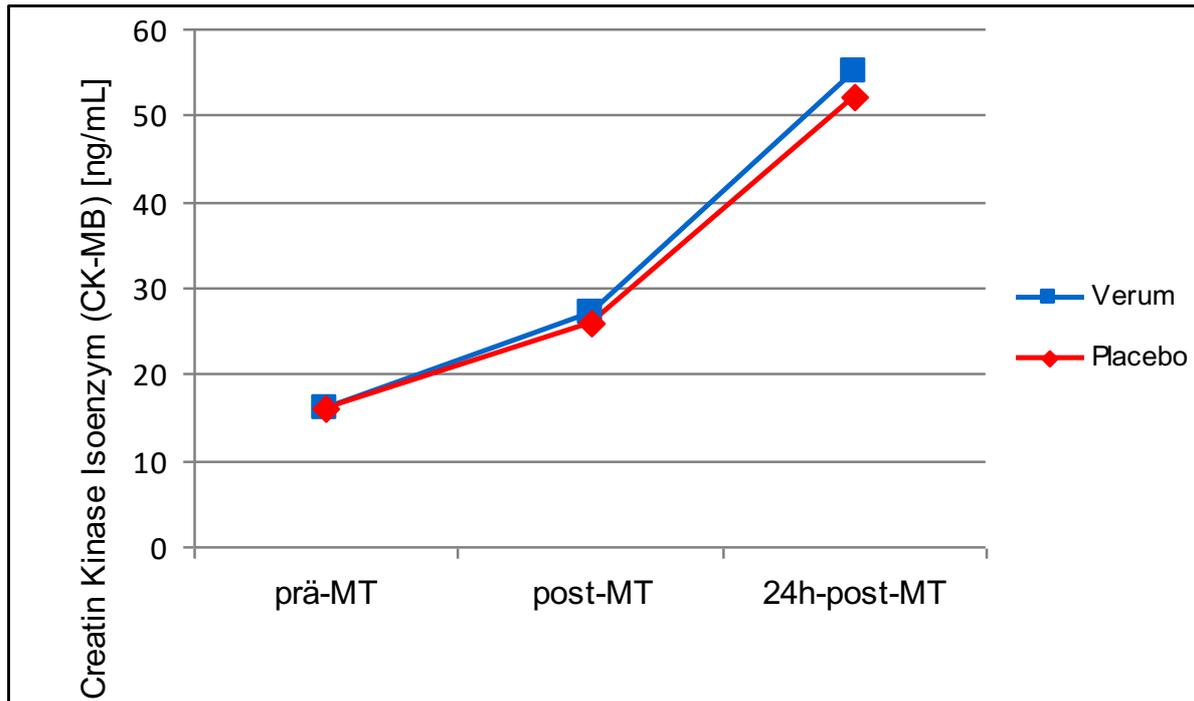


Abbildung 5: Verlauf des Creatin Kinase Isoenzym (MW)

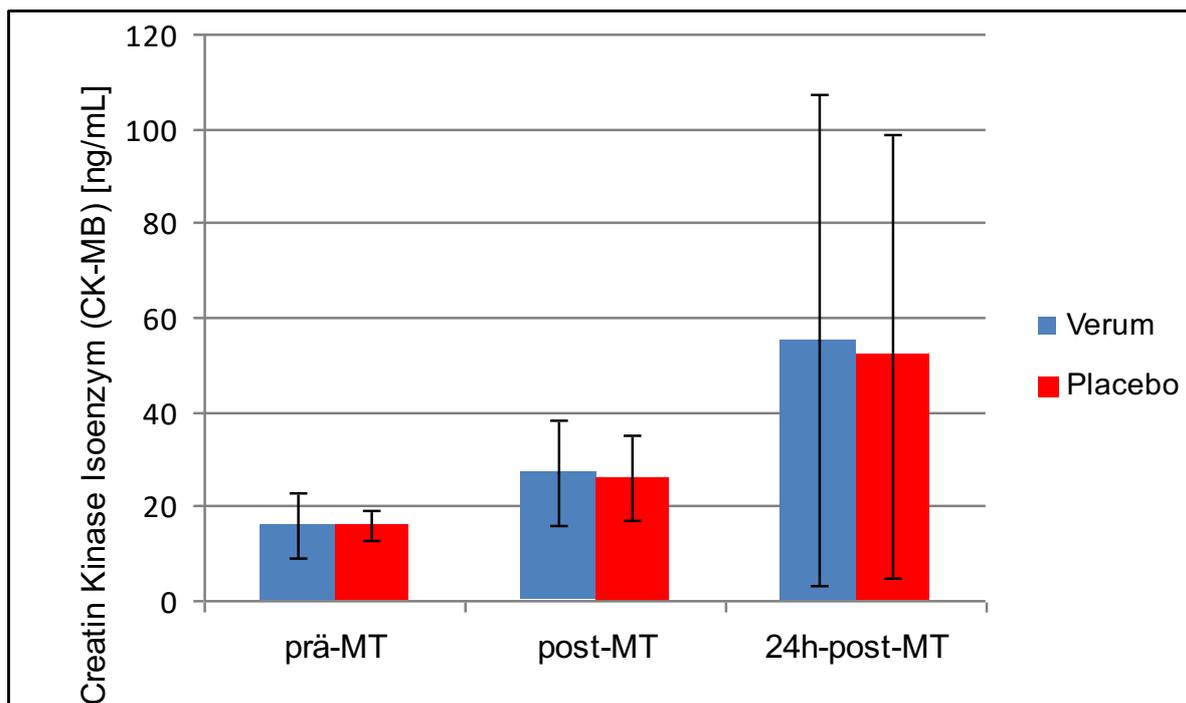


Abbildung 6: Vergleich des Creatin Kinase Isoenzym (MW mit SD)

Wie in Tabelle 7 dargestellt, ergibt sich beim statistischen Vergleich der Gruppen Verum vs. Placebo (T-Test, Mann-Whitney-Test) kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ) zum Visit prä-MT sowie zum Zeitpunkt mit den maximal ermittelten Werten (24h-post-MT), referenziert auf prä-MT.

Tabelle 7: Statistischer Vergleich Creatin Kinase Isoenzym

|                    | <b>T-Test</b> | <b>Mann-Whitney-Test</b> |
|--------------------|---------------|--------------------------|
| <b>prä-MT</b>      | 0,392         | 0,616                    |
| <b>24h-post-MT</b> | 0,761         | 0,916                    |

## Myoglobin

In der Verumgruppe stieg der Myoglobin-Wert von MW 43 ( $\pm 13$ )  $\mu\text{g/L}$  / Median [IQR]: 40 [32-52] vor dem Marathon auf ein Maximum post-MT mit MW 1085 ( $\pm 1056$ )  $\mu\text{g/L}$  / Median [IQR]: 664 [443-1440], 24h-post-MT fielen die Werte auf MW 199 ( $\pm 180$ )  $\mu\text{g/L}$  / Median [IQR]: 140 [91-206] (Tabelle 8, Abbildungen 7 und 8).

Es zeigt sich initial für die Placebogruppe ein Mittelwert (MW) von 44 ( $\pm 19$ )  $\mu\text{g/L}$  / Median [IQR]: 40 [32-52] mit einem Maximalwert post-MT mit MW 988 ( $\pm 1536$ )  $\mu\text{g/L}$  / Median [IQR]:

613 [341-1086], 24h-post-MT fielen die Werte auf MW 171 ( $\pm 120$ )  $\mu\text{g/L}$  / Median [IQR]: 133 [86-230] (Tabelle 8, Abbildungen 7 und 8).

Tabelle 8: Myoglobin Werte [ $\mu\text{g/L}$ ], Placebo (P), Verum (V)

|                    | V MW $\pm$ SD       | Median [IQR]   | P MW $\pm$ SD      | Median [IQR]   |
|--------------------|---------------------|----------------|--------------------|----------------|
| <b>prä-MT</b>      | 43 ( $\pm 13$ )     | 40 [32-52]     | 44 ( $\pm 19$ )    | 40 [32-52]     |
| <b>post-MT</b>     | 1085 ( $\pm 1056$ ) | 664 [443-1440] | 988 ( $\pm 1536$ ) | 613 [341-1086] |
| <b>24h-post-MT</b> | 199 ( $\pm 180$ )   | 140 [91-206]   | 171 ( $\pm 120$ )  | 133 [86-230]   |

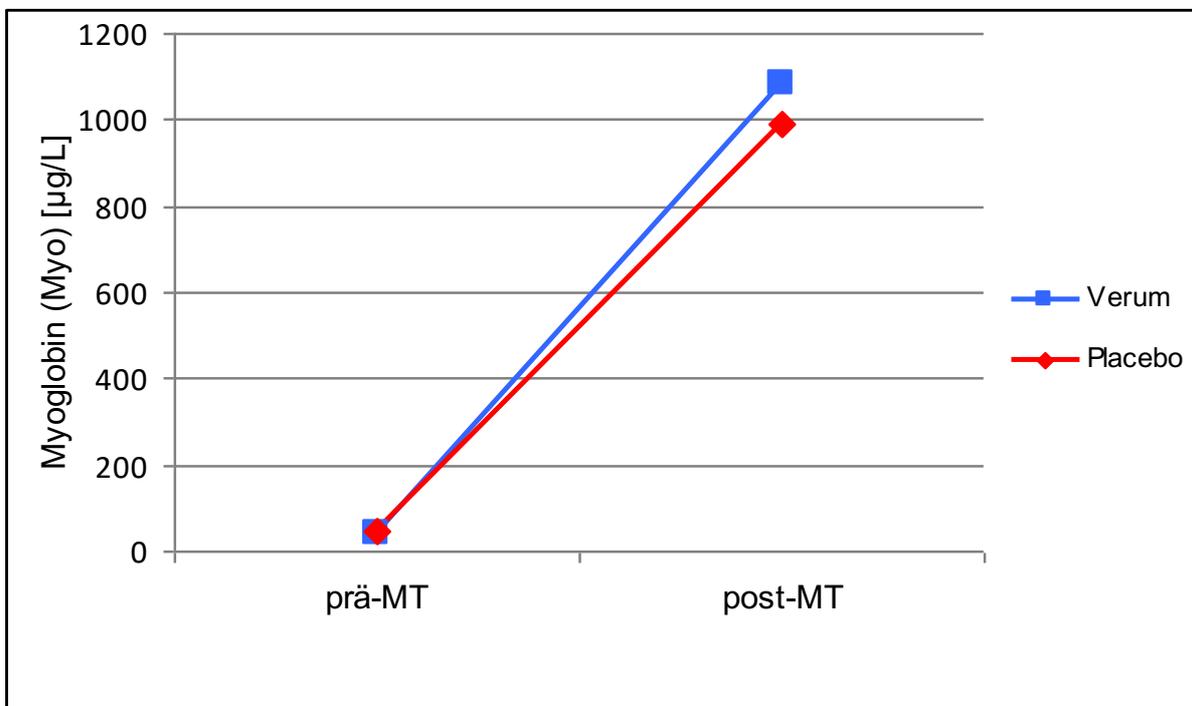


Abbildung 7: Verlauf des Myoglobin (MW)

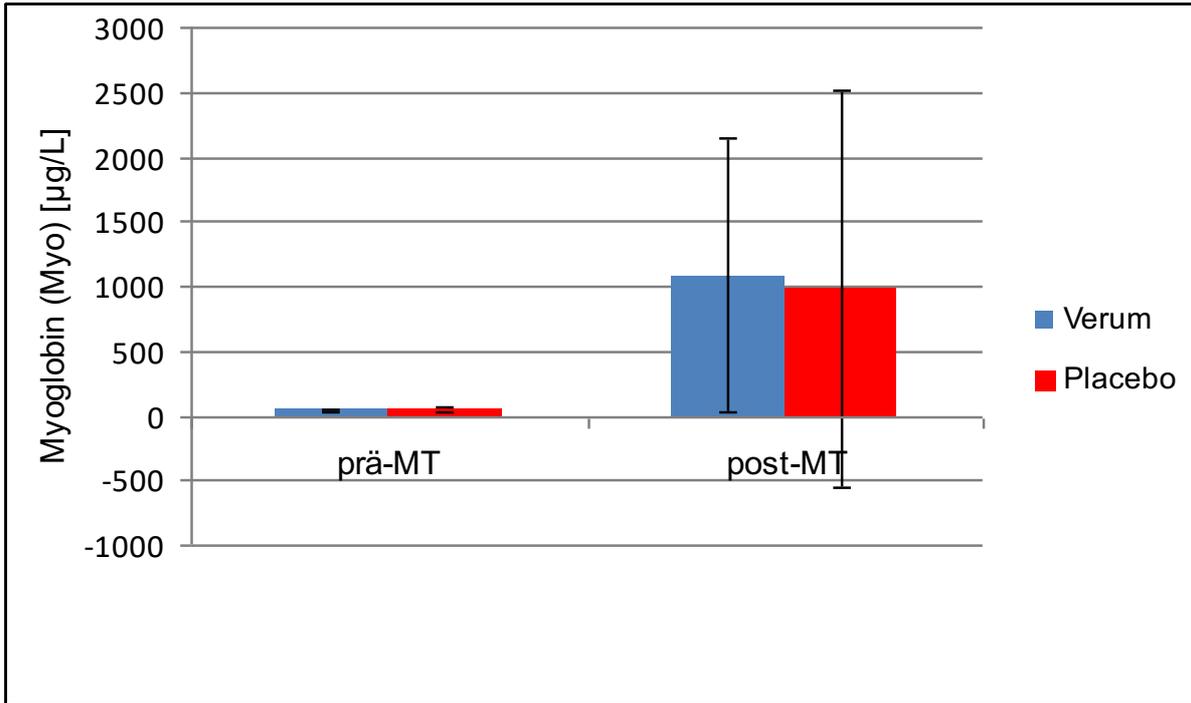


Abbildung 8: Vergleich des Myoglobins (MW mit SD)

Wie in Tabelle 9 dargestellt, ergibt sich beim statistischen Vergleich der Gruppen Verum vs. Placebo (T-Test, Mann-Whitney-Test) kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ) zum Visit prä-MT sowie zum Zeitpunkt mit den maximal ermittelten Werten (post-MT) referenziert auf prä-MT.

Tabelle 9: Statistischer Vergleich Myoglobin

|                | <b>T-Test</b> | <b>Mann-Whitney-Test</b> |
|----------------|---------------|--------------------------|
| <b>prä-MT</b>  | 0,641         | 0,946                    |
| <b>post-MT</b> | 0,660         | 0,275                    |

## LDH

In der Verumgruppe stieg der LDH-Wert von MW 218 ( $\pm 42$ ) U/L / (Median [IQR]: 214 [197-234]) prä-MT auf ein Maximum post-MT mit MW 380 ( $\pm 132$ ) U/L / Median [IQR]: 360 [309-412]. 24h-post-MT fiel der Wert auf MW 302 ( $\pm 96$ ) U/L / Median [IQR]: 273 [237-324] (Tabelle 10, Abbildungen 9 und 10).

Es zeigt sich initial für die Placebogruppe ein Mittelwert (MW) von 215 ( $\pm 33$ ) U/L / Median [IQR]: 214 [198-234] mit einem Maximalwert post-MT mit MW 360 ( $\pm 74$ ) U/L / Median

[IQR]: 354 [301-400]. 24h-post-MT fiel der Wert auf MW 291 ( $\pm 68$ ) U/L / Median [IQR]: 268 [244-316] (Tabelle 10, Abbildungen 9 und 10).

Tabelle 10: LDH Werte [U/L], Placebo (P), Verum (V)

|                    | V MW $\pm$ SD     | Median [IQR]  | P MW $\pm$ SD    | Median [IQR]  |
|--------------------|-------------------|---------------|------------------|---------------|
| <b>prä-MT</b>      | 218 ( $\pm 42$ )  | 214 [197-234] | 215 ( $\pm 33$ ) | 214 [198-234] |
| <b>post-MT</b>     | 380 ( $\pm 132$ ) | 360 [309-412] | 360 ( $\pm 74$ ) | 354 [301-400] |
| <b>24h-post-MT</b> | 302 ( $\pm 96$ )  | 273 [237-324] | 291 ( $\pm 68$ ) | 268 [244-316] |

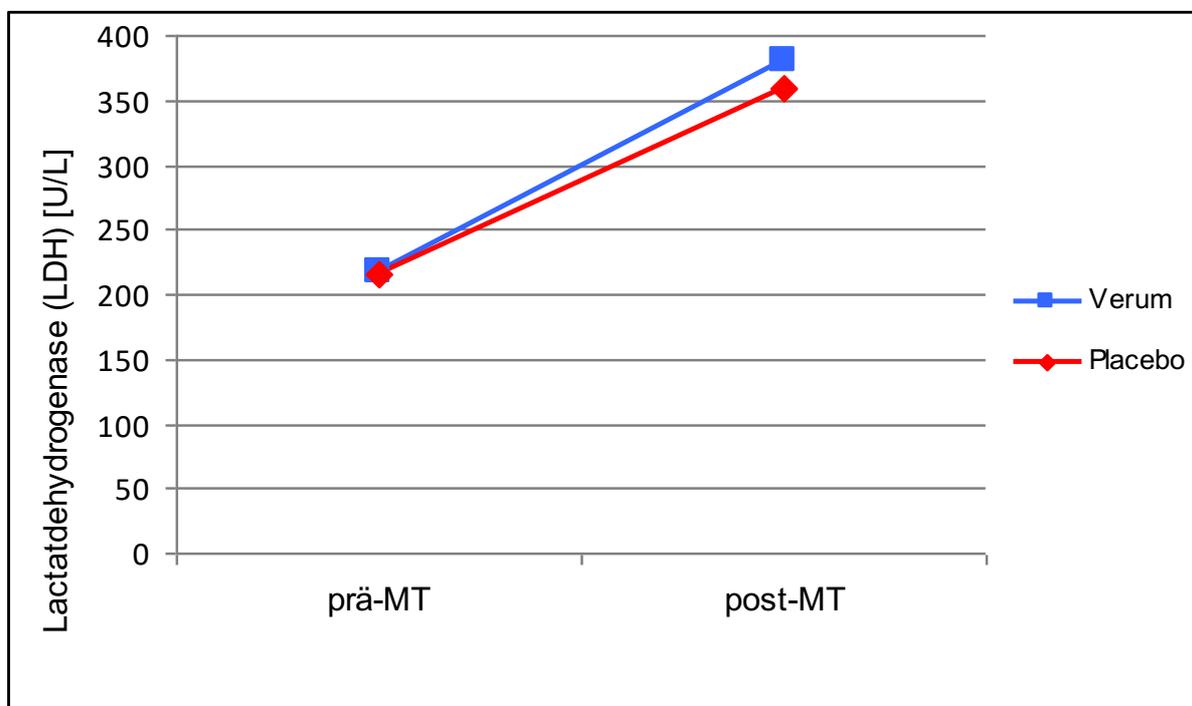


Abbildung 9: Verlauf der Lactatdehydrogenase (MW)

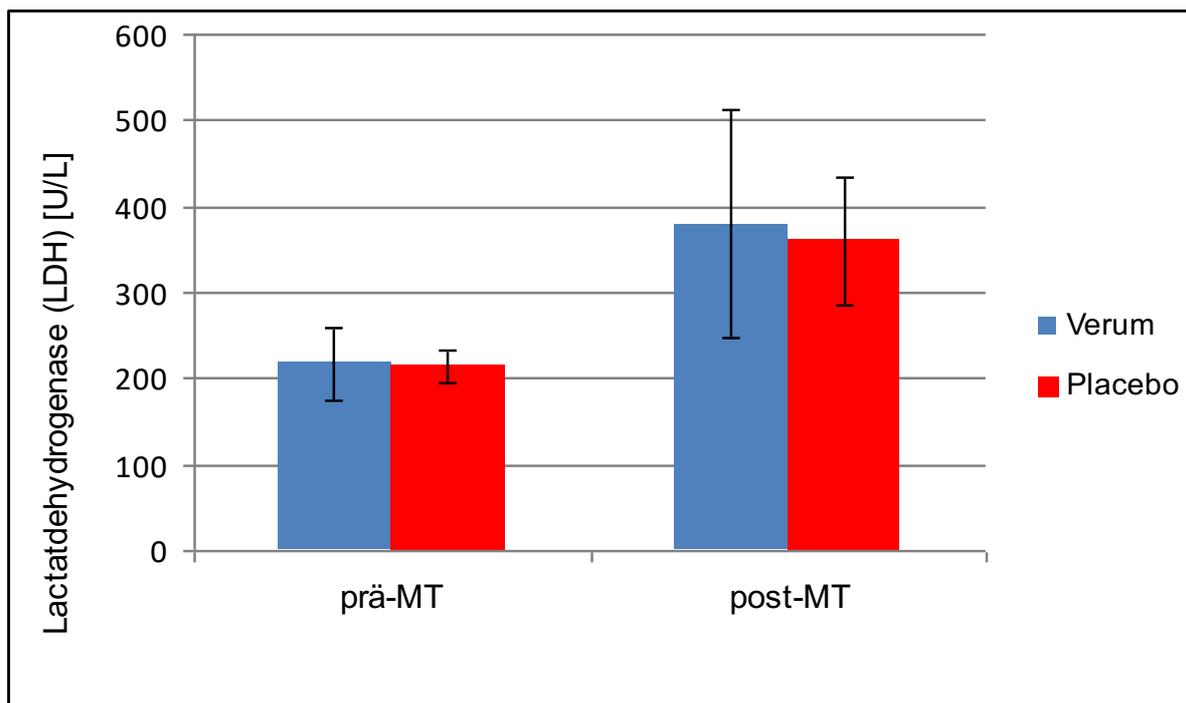


Abbildung 10: Vergleich der Lactatdehydrogenase (MW mit SD)

Wie in Tabelle 11 dargestellt ergibt sich beim statistischen Vergleich der Gruppen Verum vs. Placebo (T-Test, Mann-Whitney-Test) kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ) zum Visit prä-MT sowie zum Zeitpunkt mit den maximal ermittelten Werten (post-MT) referenziert auf prä-MT.

Tabelle 11: Statistischer Vergleich LDH

|                | T-Test | Mann-Whitney-Test |
|----------------|--------|-------------------|
| <b>prä-MT</b>  | 0,669  | 0,759             |
| <b>post-MT</b> | 0,335  | 0,944             |

## GOT

In der Verumgruppe stieg der GOT-Wert von MW 32 ( $\pm 8$ ) U/L / (Median [IQR]: 31 [25-36]) prä-MT auf ein Maximum 24h-post-MT mit MW 116 ( $\pm 111$ ) U/L / Median [IQR]: 73 [54-129] (Tabelle 12, Abbildungen 11 und 12).

Es zeigt sich initial für die Placebogruppe ein Mittelwert (MW) von 31 ( $\pm 10$ ) U/L / Median [IQR]: 29 [23-38] mit einem Maximalwert 24h-post-MT mit MW 106 ( $\pm 109$ ) U/L / Median [IQR]: 69 [53-135] (Tabelle 12, Abbildungen 11 und 12).

Tabelle 12: GOT Werte [U/L], Placebo (P), Verum (V)

|                    | V MW±SD    | Median [IQR] | P MW±SD    | Median [IQR] |
|--------------------|------------|--------------|------------|--------------|
| <b>prä-MT</b>      | 32 (±8)    | 31 [25-36]   | 31 (±10)   | 29 [23-38]   |
| <b>post-MT</b>     | 43 (±13)   | 41 [35-50]   | 44 (±16)   | 41 [35-48]   |
| <b>24h-post-MT</b> | 116 (±111) | 73 [54-129]  | 106 (±109) | 69 [53-135]  |

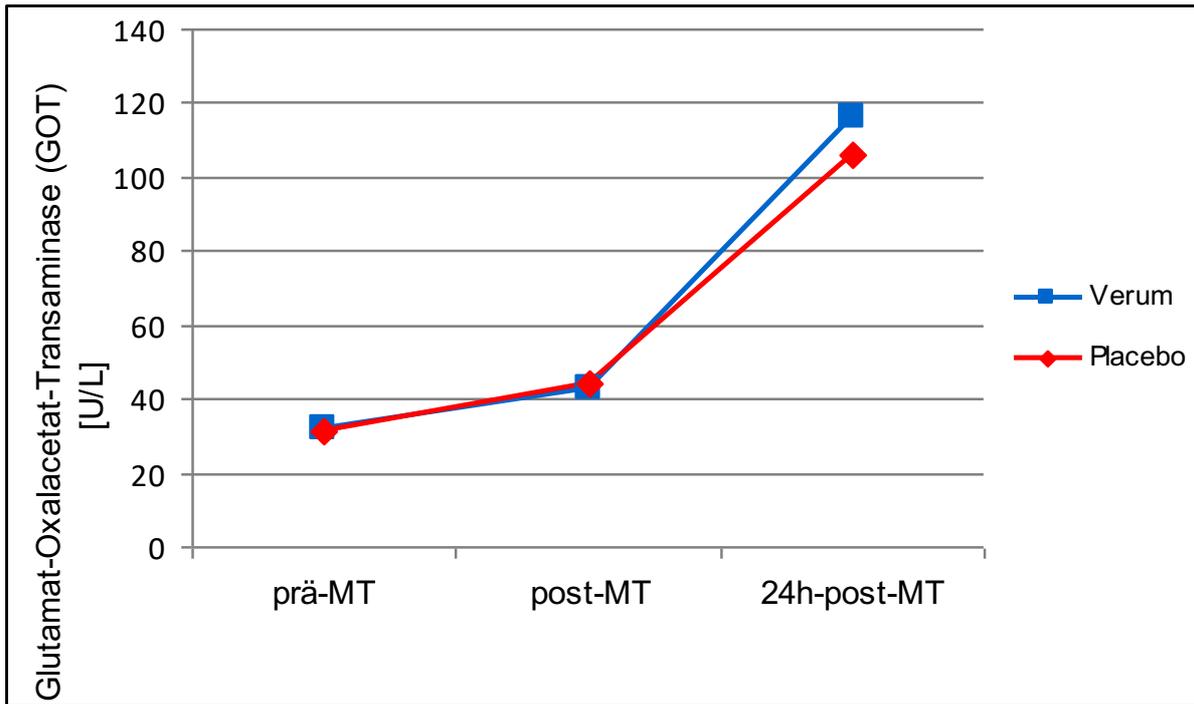


Abbildung 11: Verlauf der GOT (MW)

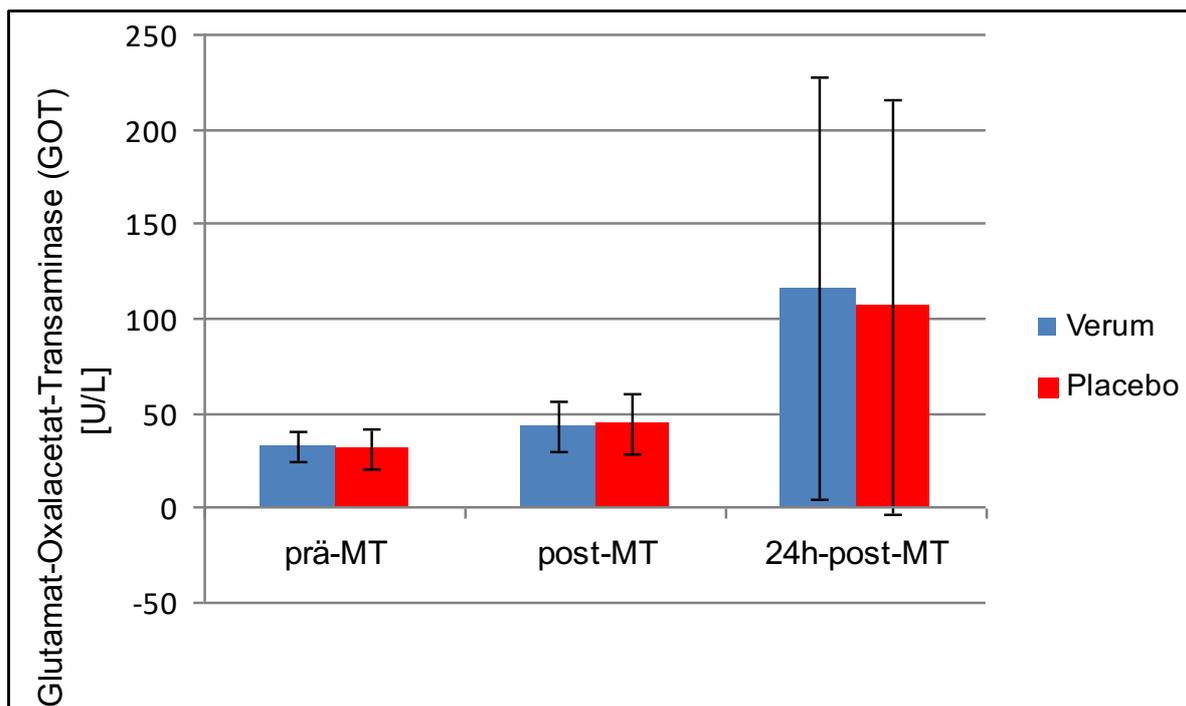


Abbildung 12: Vergleich der GOT (MW mit SD)

Wie in Tabelle 13 dargestellt ergibt sich beim statistischen Vergleich der Gruppen Verum vs. Placebo (T-Test, Mann-Whitney-Test) kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ) zum Visit prä-MT sowie zum Zeitpunkt mit den maximal ermittelten Werten (24h-post-MT) referenziert auf prä-MT.

Tabelle 13: Statistischer Vergleich GOT

|                    | <b>T-Test</b> | <b>Mann-Whitney-Test</b> |
|--------------------|---------------|--------------------------|
| <b>prä-MT</b>      | 0,758         | 0,422                    |
| <b>24h-post-MT</b> | 0,633         | 0,800                    |

## GPT

In der Verumgruppe stieg der GPT-Wert von MW 31 ( $\pm 11$ ) U/L / (Median [IQR]: 30 [24-39]) prä-MT auf ein Maximum 24h-post-MT mit MW 42 ( $\pm 22$ ) U/L / Median [IQR]: 36 [29-47] (Tabelle 14, Abbildungen 13 und 14).

Es zeigt sich initial für die Placebogruppe ein Mittelwert (MW) von 31 ( $\pm 10$ ) U/L / Median [IQR]: 28 [22-36] mit einem Maximalwert 24h-post-MT mit MW 41 ( $\pm 18$ ) U/L / Median [IQR]: 37 [30-48] (Tabelle 14, Abbildungen 13 und 14).

Tabelle 14: GPT Werte [U/L], Placebo (P), Verum (V)

|                    | V MW±SD  | Median [IQR] | P MW±SD  | Median [IQR] |
|--------------------|----------|--------------|----------|--------------|
| <b>prä-MT</b>      | 31 (±11) | 30 [24-39]   | 31 (±10) | 28 [22-36]   |
| <b>post-MT</b>     | 30 (±12) | 28 [22-36]   | 31 (±10) | 29 [23-38]   |
| <b>24h-post-MT</b> | 42 (±22) | 36 [29-47]   | 41 (±18) | 37 [30-48]   |

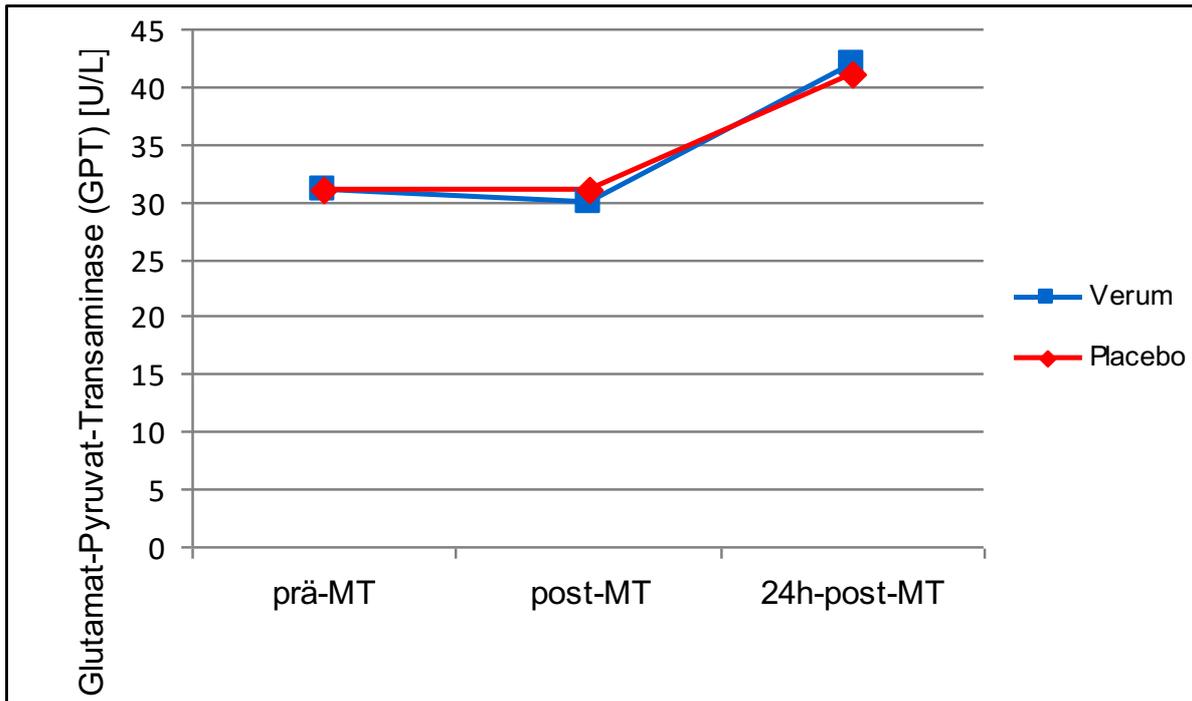


Abbildung 13: Verlauf der GPT (MW)

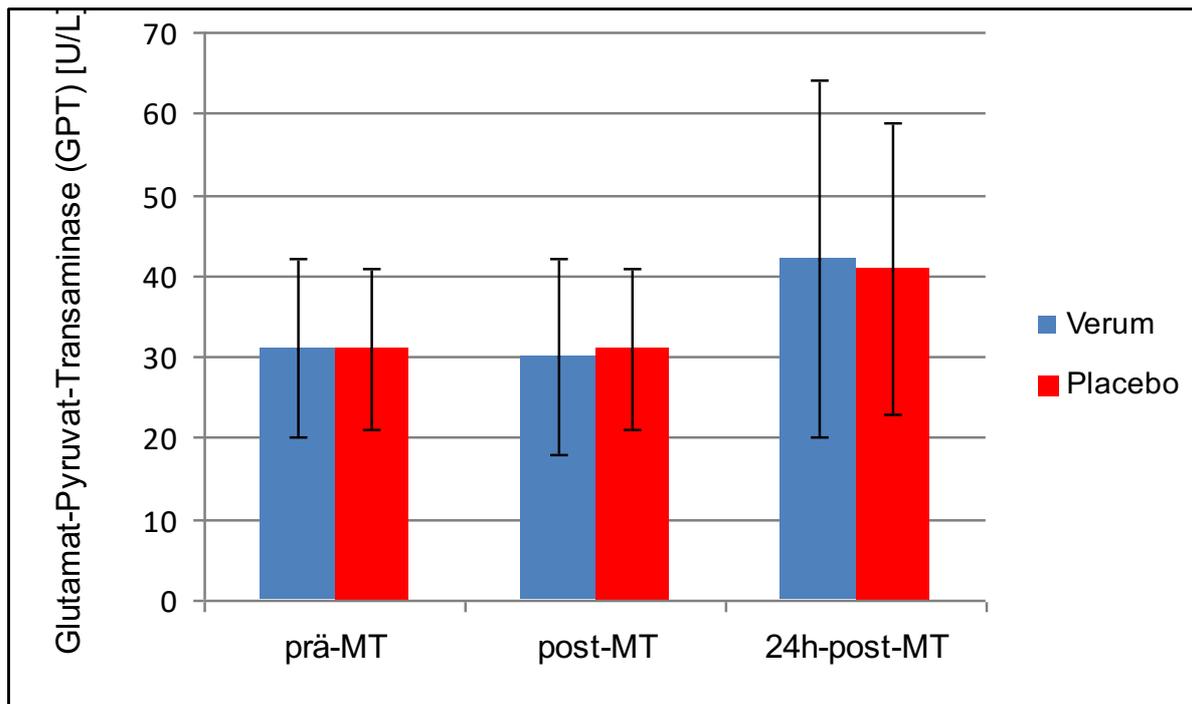


Abbildung 14: Vergleich der GPT (MW mit SD)

Wie in Tabelle 15 dargestellt ergibt sich beim statistischen Vergleich der Gruppen Verum vs. Placebo (T-Test, Mann-Whitney-Test) kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ) zum Visit prä-MT sowie zum Zeitpunkt mit den maximal ermittelten Werten (24h-post-MT) referenziert auf prä-MT.

Tabelle 15: Statistischer Vergleich GPT

|             | T-Test | Mann-Whitney-Test |
|-------------|--------|-------------------|
| prä-MT      | 0,432  | 0,810             |
| 24h-post-MT | 0,645  | 0,730             |

## Harnstoff

In der Verumgruppe stieg der Harnstoff-Wert von MW 33 ( $\pm 8$ ) mg/dL / (Median [IQR]: 31 [28-37]) prä-MT auf ein Maximum post-MT mit MW 41 ( $\pm 10$ ) mg/dL / Median [IQR]: 40 [34-46]. 24h-post-MT fiel der Wert auf MW 38 ( $\pm 8$ ) mg/dL / Median [IQR]: 37 [30-48] (Tabelle 16, Abbildungen 15 und 16).

Es zeigt sich initial für die Placebogruppe ein Mittelwert (MW) von 32 ( $\pm 7$ ) mg/dL / Median [IQR]: 31 [27-36] mit einem Maximalwert post-MT mit MW 38 ( $\pm 8$ ) mg/dL / Median [IQR]:

38 [33-43]. 24h-post-MT lag der Wert bei MW 38 ( $\pm 9$ ) mg/dL / Median [IQR]: 36 [29-47] (Tabelle 16, Abbildungen 15 und 16).

Tabelle 16: Harnstoff Werte [mg/dL], Placebo (P), Verum (V)

|                    | V MW $\pm$ SD   | Median [IQR] | P MW $\pm$ SD  | Median [IQR] |
|--------------------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| <b>prä-MT</b>      | 33 ( $\pm 8$ )  | 31 [28-37]   | 32 ( $\pm 7$ ) | 31 [27-36]   |
| <b>post-MT</b>     | 41 ( $\pm 10$ ) | 40 [34-46]   | 38 ( $\pm 8$ ) | 38 [33-43]   |
| <b>24h-post-MT</b> | 38 ( $\pm 8$ )  | 37 [30-48]   | 38 ( $\pm 9$ ) | 36 [29-47]   |

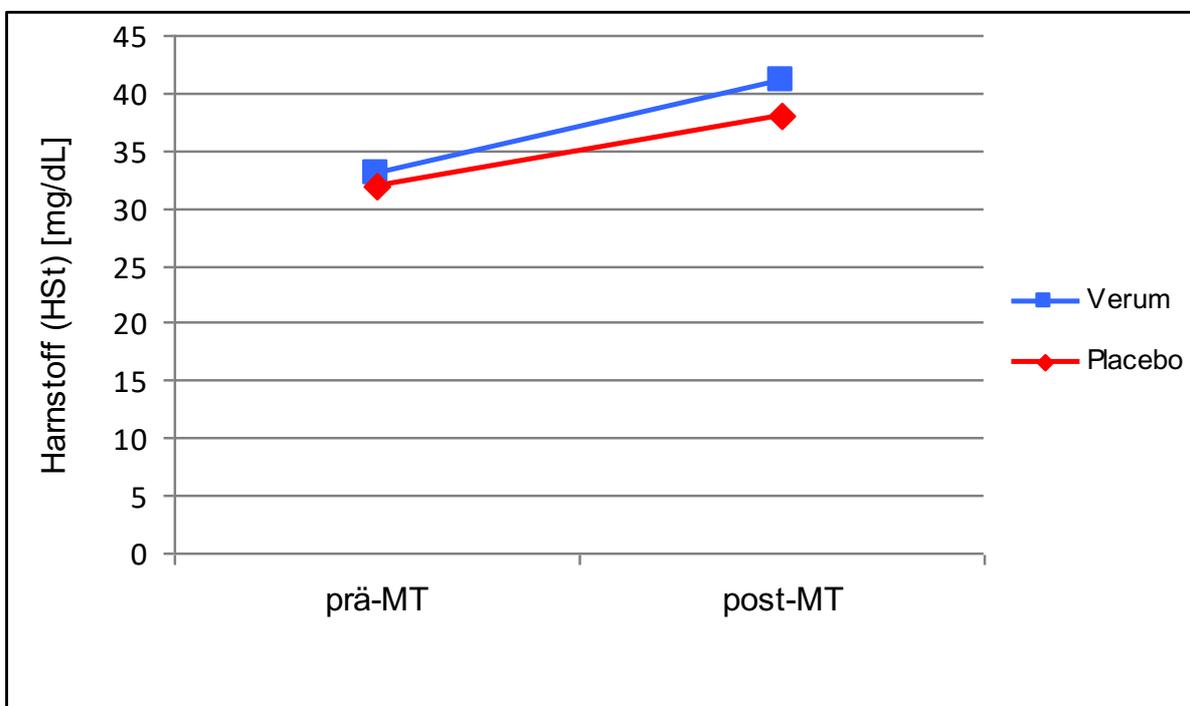


Abbildung 15: Verlauf des Harnstoffes (MW)

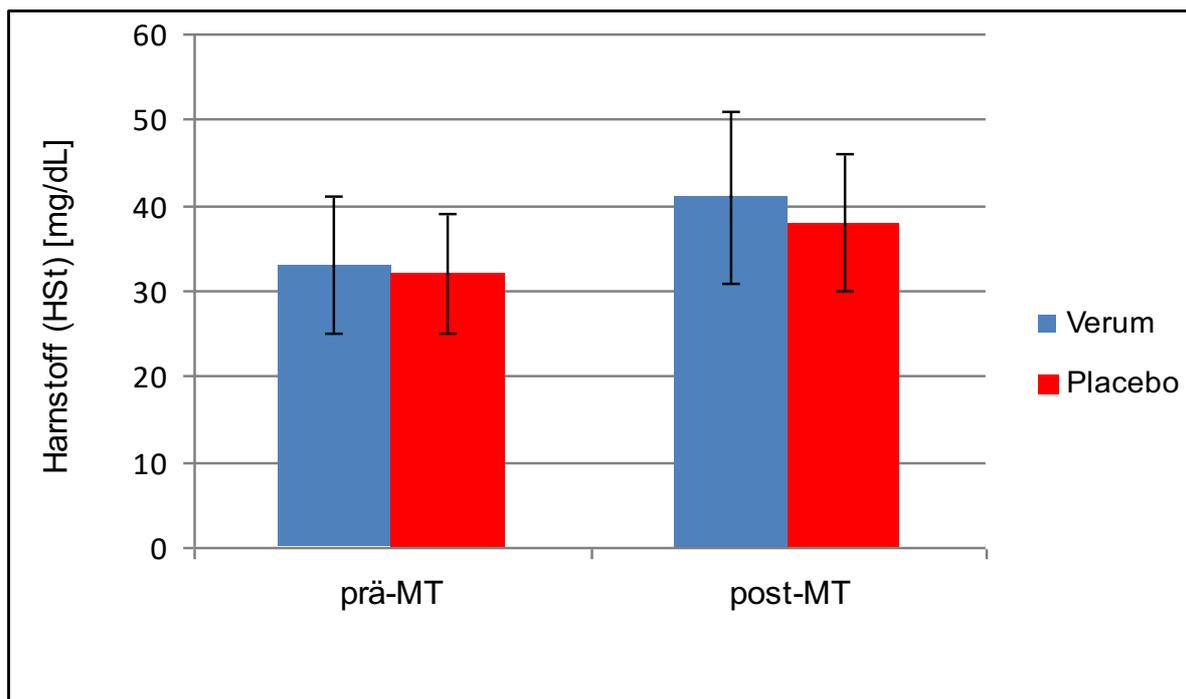


Abbildung 16: Vergleich des Harnstoffes (MW mit SD)

Wie in Tabelle 16 dargestellt ergibt sich beim statistischen Vergleich der Gruppen Verum vs. Placebo (T-Test partiell, Mann-Whitney-Test) kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ) zum Visit prä-MT sowie zum Zeitpunkt mit den maximal ermittelten Werten (post-MT), referenziert auf prä-MT

Tabelle 17: Statistischer Vergleich Harnstoff

|                | T-Test | Mann-Whitney-Test |
|----------------|--------|-------------------|
| <b>prä-MT</b>  | 0,573  | 0,744             |
| <b>post-MT</b> | n.t.   | 0,415             |

Zusammenfassend konnten beim Vergleich der Verum- zur Placebogruppe keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Muskelenzyme ausgemacht werden. Daraus lässt sich folgern, dass Wobenzym® plus keinen signifikanten Einfluss auf die Induktion eines objektiven Muskelschadens ausüben konnte. Somit wurde diese Haupthypothese widerlegt.

#### **4.5.2. Subjektiver Muskelschaden – SF-MPQ, FSS**

Anhand der zwei Fragebögen (SF-MPQ, FSS) wurden mögliche Einflüsse von Wobenzym® plus auf einen subjektiven Muskelschaden untersucht. Hierbei dienten der empfundene muskuläre Schmerz sowie eine geäußerte muskuläre Ermüdung als Korrelat des vorliegenden Muskelschadens. Durch diese Annahme wurde die Hypothese getestet, dass Wobenzym® plus den subjektiven Muskelschaden (Muskelschmerz und muskuläre Ermüdung) nach einem Marathonrennen beeinflussen kann.

Für die Auswertung der Fatigue Severity Scale Fragebögen wurden alle Teilnehmer mit einer klinisch relevanten Fatigue berücksichtigt. Eine dementsprechende Relevanz wird ab einem Fatigue Severity Score  $> 36$  angenommen. Dieser Score wurde in der Verumgruppe von 15,5 % und in der Placebogruppe von 16,7 % erreicht. Mit einem p-Wert von 0,852 (Chi-Quadrat) unterscheiden sich die beiden Gruppen somit nicht signifikant voneinander und die Ausprägung einer klinisch relevanten Fatigue kann als gleich angesehen werden.

Bei Betrachten des Verlaufs über den gesamten Zeitraum wurde deutlich, dass der größte Anteil Läufer mit einer klinisch relevanten Fatigue im Zeitraum Zieleinlauf bis 72 h nach Marathon ermittelt wurde (Abbildung 17, Tage 13-15 des Untersuchungszeitraumes). Ein Vergleich der Gruppen an diesen Tagen zeigte auf, dass der Anteil an Teilnehmern mit muskulärer Ermüdung innerhalb der Verumgruppe höher war als in der Placebogruppe (Abbildung 17).

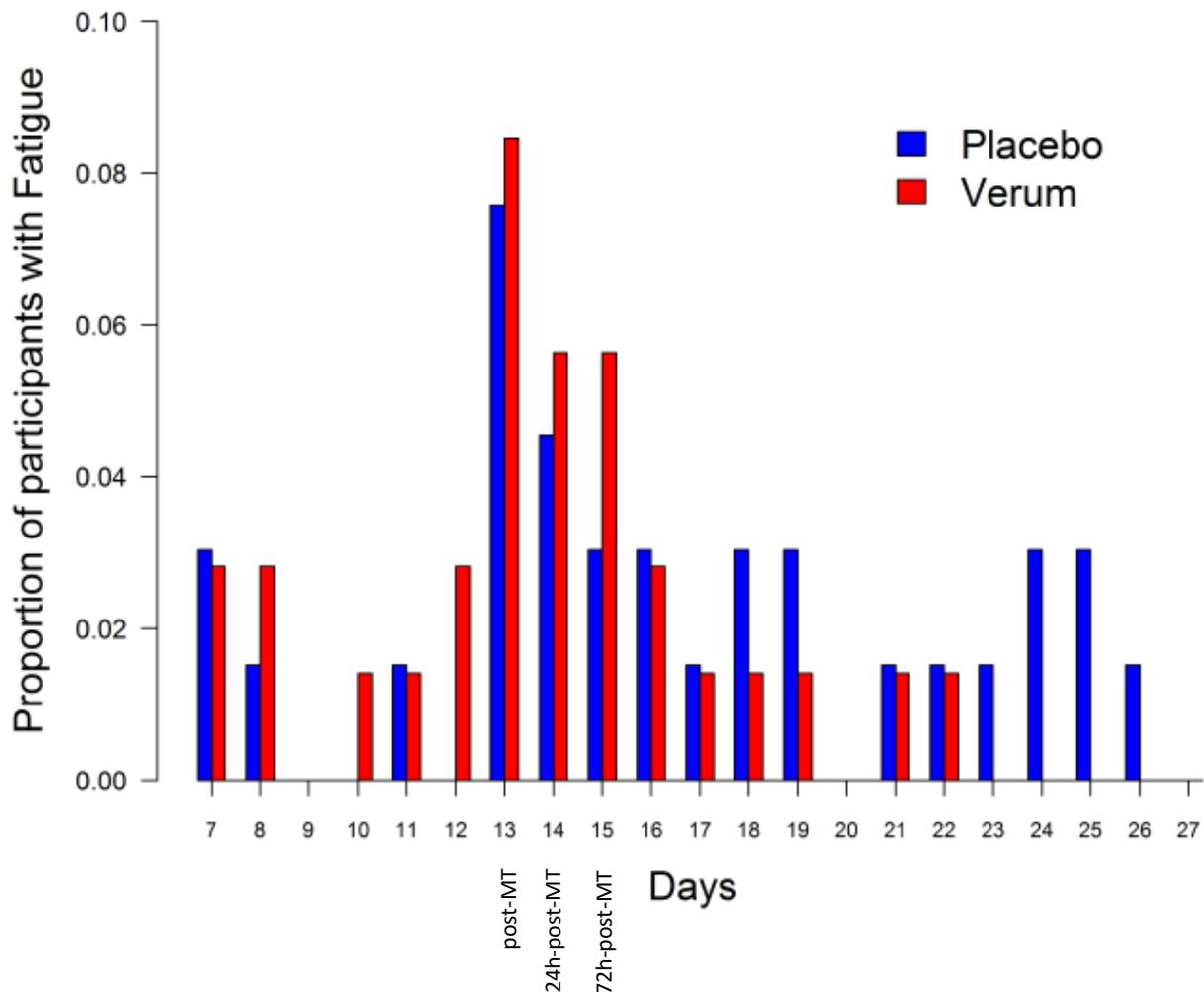


Abbildung 17: Anteil "Fatigue >36" für beide Gruppen während des Untersuchungszeitraumes

Ein statistischer Vergleich anhand T-Test sowie Mann-Whitney-Test zu den Visits post-MT, 24h-post-MT sowie 72h-post-MT, jeweils referenziert zu prä-MT, bestätigte keinen signifikanten Gruppenunterschied ( $p > 0,05$ ) (Tabelle 18).

Tabelle 18: Statistischer Vergleich Fatigue Severity Scores > 36

|                             | <b>T-Test</b> | <b>Mann-Whitney-Test</b> |
|-----------------------------|---------------|--------------------------|
| <b>post-MT - prä-MT</b>     | 0,775         | 0,724                    |
| <b>24h-post-MT - prä-MT</b> | 0,379         | 0,414                    |
| <b>72h-post-MT - prä-MT</b> | 0,573         | 0,480                    |

Während an Tag 7 post Marathon (Tag 20 des Gesamtzeitraumes) einheitlich keine klinisch relevante Fatigue ermittelt wurde, berichteten Teilnehmer in beiden Gruppen über muskuläre Ermüdung an den zwei Folgetagen. Ab Tag 10 post Marathon (Tag 23 des Gesamtzeitraumes)

wurde keine muskuläre Ermüdung mehr in der Verumgruppe verzeichnet. Die Placebogruppe hingegen wies im Zeitraum 10 bis 13 Tage post Marathon (Tag 23 bis 26 des Untersuchungszeitraumes) erneut Fatiguen auf. Erst 14 Tage nach Zieleinlauf (Tag 27) lag auch in der Placebogruppe keine klinisch relevante Fatigue mehr vor (Abbildung 17).

Bei der Auswertung des SF-MPQ wurden einerseits die Verteilung der maximalen SF-MPQ Total Scores pro Teilnehmer sowie die Verteilung aller SF-MPQ Total Scores über die Zeit verglichen. Wie in Abbildung 18 erkennbar lag der maximal berichtete Wert mit einem Median [IQR] von 10 [5,5-14,75] in der Verumgruppe etwas höher als in der Placebogruppe mit 9 [3,28-17,25]. Mit einem p-Wert von 0,551 (Mann-Whitney-U-Test) sind die Ausprägungen der Schmerzintensität jedoch nicht signifikant verschieden.

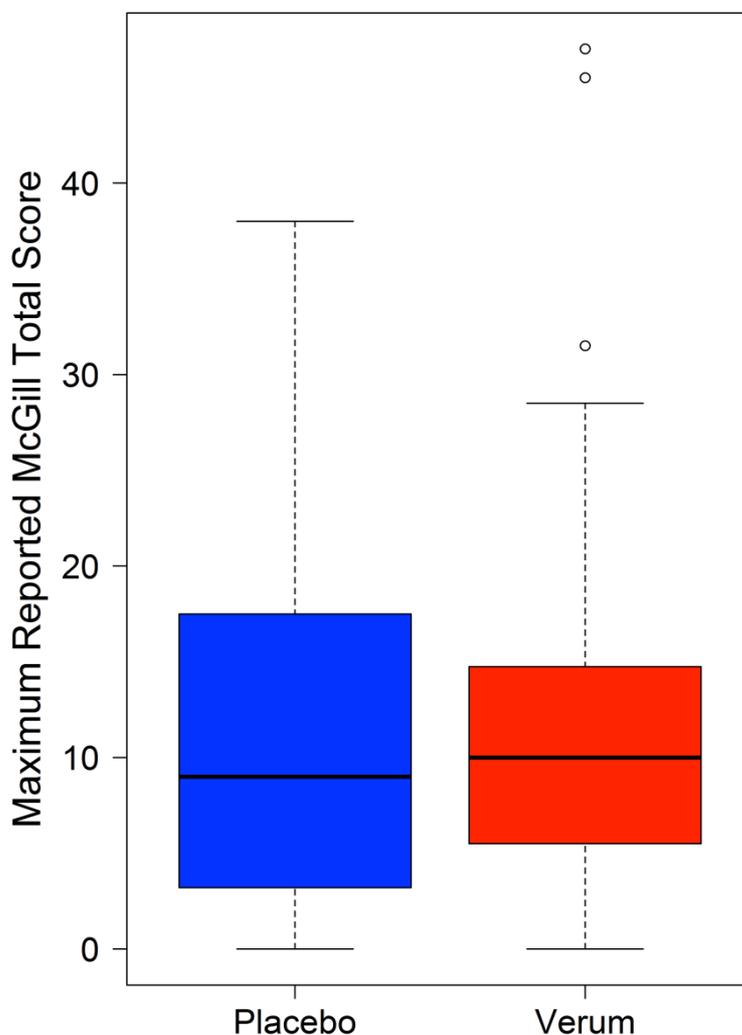


Abbildung 18: McGill Total Scores der Gruppen im Vergleich

Im Zeitverlauf wird deutlich, dass die maximalen Total Scores (wie beim FSS) am Tag des Marathons (post-MT, Tag 13 des Untersuchungszeitraumes) sowie an den beiden Folgetagen verzeichnet wurden (Abbildung 19). Analog zu den Fatigue-spezifischen Ergebnissen wurde auch für die McGill Total Scores ein Unterschied im zeitlichen Verlauf der Gruppen ermittelt. In der Placebogruppe wurden ab Tag 11 post Marathon (Tag 24 des Untersuchungszeitraumes) keine Schmerzen mehr ermittelt. Deutlich früher, nämlich ab Tag 8 post Marathon (Tag 21 des Untersuchungszeitraumes), zeigte sich die Verumgruppe schmerzfrei (Abbildungen 19 und 20).

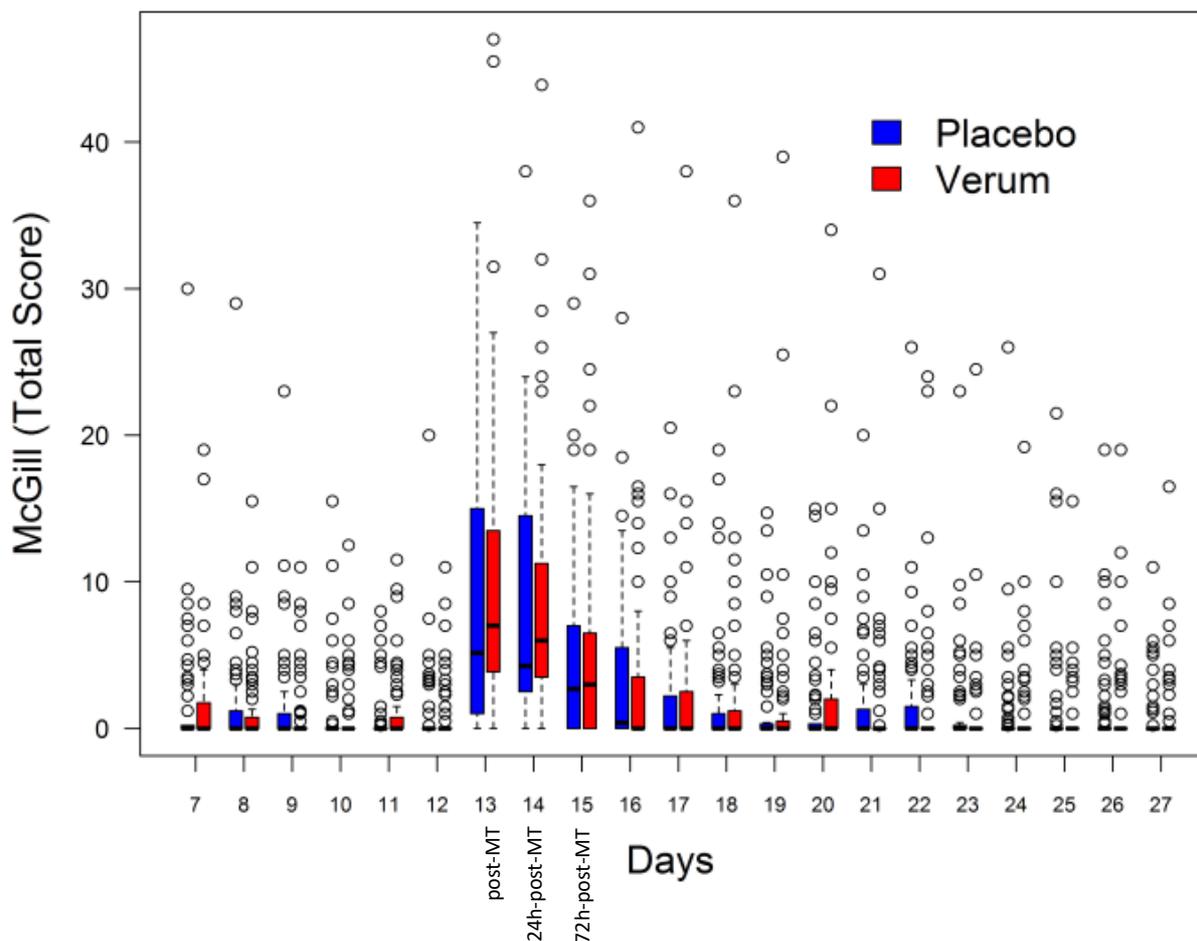


Abbildung 19: Verteilung der McGill Total Scores während des Untersuchungszeitraumes

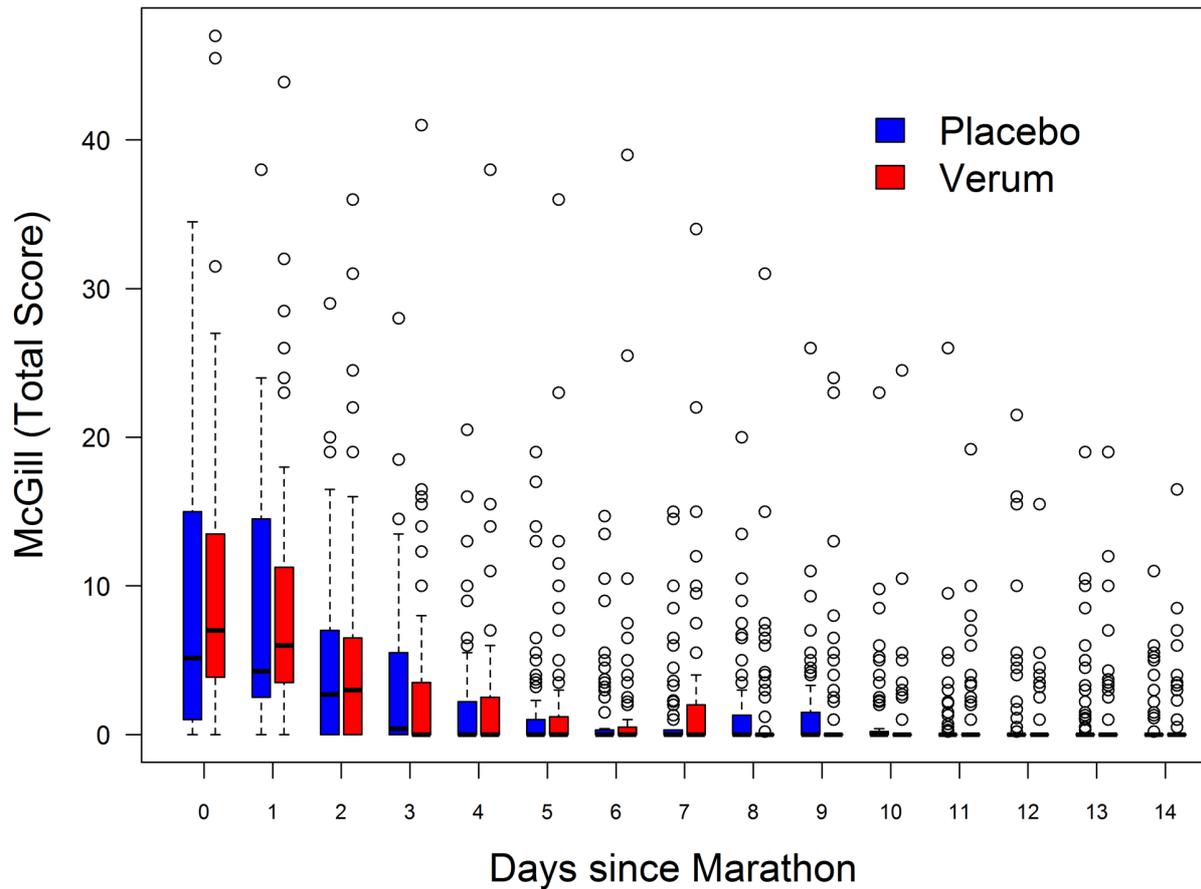


Abbildung 20: Verteilung der McGill Total Scores ab Zeitpunkt des Marathons

Die maximal ermittelten McGill Total Scores lagen bei Zieleinlauf und den zwei Folgetagen in der Verumgruppe leicht über jenen der Placebogruppe (Tabelle 19).

Tabelle 19: McGill Total Scores, Medianwerte

|                    | V Median [IQR] | P Median [IQR]  |
|--------------------|----------------|-----------------|
| <b>post-MT</b>     | 7 [3,7-13,5]   | 5,15 [1-15]     |
| <b>24h-post-MT</b> | 6 [3,5-11,5]   | 4,25 [2,5-14,5] |
| <b>72h-post-MT</b> | 3 [0-6,5]      | 2,7 [0-7]       |

Zusammenfassend konnten initiales Auftreten und Stärke der Schmerz- und Fatigueereignisse durch Wobenzym® plus ebenfalls nicht signifikant reduziert werden.

Somit wurden auch die Hypothesen betreffend die subjektiven Effekte widerlegt.

### 4.5.3. Korrelationen

Der Zusammenhang von Trainingsdaten, ermittelten laborchemischen Parametern sowie Daten betreffend den subjektiven Muskelschaden wurde mittels Spearman-Korrelation ermittelt.

Es existieren inverse Korrelationen mit hoher statistischer Signifikanz ( $p < 0,01$ ) zwischen der Dauer des Marathonlaufes (min) und sowohl der gelaufenen Kilometeranzahl 10 Wochen prä Marathon (km 10w) ( $r = -0,436$ ) als auch der gelaufenen Kilometeranzahl im Jahr 2013 (km 2013) ( $r = -0,453$ ) (Tabelle 20).

Inverse Korrelationen mit statistischer Signifikanz ( $p < 0,05$ ) bestehen zwischen der 10-wöchigen Vorbereitungszeit (km 10w) und den Laborparametern Creatin Kinase (CK) (24h-post-MT referenziert zu prä-MT) ( $r = -0,172$ ), Myoglobin (post-MT referenziert zu prä-MT) ( $r = -0,274$ ), und LDH (post-MT referenziert zu prä-MT) ( $r = -0,167$ ) (Tabelle 19). Weitere inverse Korrelationen, die sich als statistisch signifikant erwiesen haben, liegen für die Anzahl der gelaufenen Kilometer im Jahr 2013 (km 2013) und den Laborparametern Creatin Kinase (CK) (24h-post-MT referenziert zu prä-MT) ( $r = -0,196$ ), Myoglobin (post-MT referenziert zu prä-MT) ( $r = -0,299$ ), und LDH (post-MT referenziert zu prä-MT) ( $r = -0,295$ ) vor (Tabelle 20).

Der Anstieg eines Laborparameters korrelierte mit der signifikanten Erhöhung der anderen Werte in der Gruppe CK, CK-MB, GOT, GPT, LDH und Myoglobin, referenziert zu prä-MT (Tabelle 20).

Tabelle 20: Statistische Korrelationen von 9 Parametern nach Spearman

|                |                | km<br>10w      | km<br>2013     | min            | CK<br>24h-<br>post-MT<br>- prä-<br>MT | CKM<br>B 24h-<br>post-MT<br>- prä-<br>MT | GOT<br>24h-<br>post-MT<br>- prä-<br>MT | GPT<br>24h-<br>post-MT<br>- prä-<br>MT | LDH<br>post-MT<br>- prä-<br>MT | MYO<br>post-MT<br>- prä-<br>MT |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------------------------------|--|--|--|--------------------------------|--------------------------------|
| <b>km 10w</b>  | Korr.koeff.    | 1.000          | .650**         | <b>-.436**</b> | <b>-.172*</b>                         | -.113                                    | -.132                                  | .001                                   | <b>-.167</b>                   | <b>-.274**</b>                 |
|                | Sig. (2seitig) | .              | .000           | <b>.000</b>    | <b>.044</b>                           | .192                                     | .126                                   | .991                                   | <b>.052</b>                    | <b>.001</b>                    |
|                | N              | 138            | 138            | 132            | 137                                   | 135                                      | 135                                    | 137                                    | 136                            | 138                            |
| <b>km 2013</b> | Korr.koeff.    | .650**         | 1.000          | <b>-.453**</b> | <b>-.196*</b>                         | -.136                                    | -.174*                                 | -.016                                  | <b>-.295**</b>                 | <b>-.299**</b>                 |
|                | Sig. (2seitig) | .000           | .              | <b>.000</b>    | <b>.022</b>                           | .116                                     | .044                                   | .855                                   | <b>.000</b>                    | <b>.000</b>                    |
|                | N              | 138            | 138            | 132            | 137                                   | 135                                      | 135                                    | 137                                    | 136                            | 138                            |
| <b>min</b>     | Korr.koeff.    | <b>-.436**</b> | <b>-.453**</b> | 1.000          | .047                                  | -.067                                    | .013                                   | -.110                                  | .222*                          | .192*                          |

|                                     |                |         |         |       |               |               |               |               |               |               |
|-------------------------------------|----------------|---------|---------|-------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                                     | Sig. (2seitig) | .000    | .000    | .     | .592          | .448          | .883          | .212          | .011          | .028          |
|                                     | N              | 132     | 132     | 132   | 131           | 129           | 129           | 131           | 130           | 132           |
| <b>CK</b><br>24h-post-MT – prä-MT   | Korr.koeff.    | -.172*  | -.196*  | .047  | 1.000         | <b>.931**</b> | <b>.962**</b> | <b>.689**</b> | <b>.470**</b> | <b>.831**</b> |
|                                     | Sig. (2seitig) | .044    | .022    | .592  | .             | <b>.000</b>   | <b>.000</b>   | <b>.000</b>   | <b>.000</b>   | <b>.000</b>   |
|                                     | N              | 137     | 137     | 131   | 137           | 135           | 135           | 137           | 135           | 137           |
| <b>CKMB</b><br>24h-post-MT – prä-MT | Korr.koeff.    | -.113   | -.136   | -.067 | .931**        | 1.000         | <b>.945**</b> | <b>.720**</b> | <b>.370**</b> | <b>.778**</b> |
|                                     | Sig. (2seitig) | .192    | .116    | .448  | .000          | .             | .000          | .000          | .000          | .000          |
|                                     | N              | 135     | 135     | 129   | 135           | 135           | 135           | 135           | 135           | 135           |
| <b>GOT</b><br>24h-post-MT – prä-MT  | Korr.koeff.    | -.132   | -.174*  | .013  | .962**        | <b>.945**</b> | 1.000         | <b>.771**</b> | <b>.408**</b> | <b>.843**</b> |
|                                     | Sig. (2seitig) | .126    | .044    | .883  | .000          | .000          | .             | .000          | .000          | .000          |
|                                     | N              | 135     | 135     | 129   | 135           | 135           | 135           | 135           | 135           | 135           |
| <b>GPT</b><br>24h-post-MT – prä-MT  | Korr.koeff.    | .001    | -.016   | -.110 | <b>.689**</b> | <b>.720**</b> | <b>.771**</b> | 1.000         | <b>.209*</b>  | <b>.555**</b> |
|                                     | Sig. (2seitig) | .991    | .855    | .212  | .000          | .000          | .000          | .             | .015          | .000          |
|                                     | N              | 137     | 137     | 131   | 137           | 135           | 135           | 137           | 135           | 137           |
| <b>LDH</b><br>post-MT – prä-MT      | Korr.koeff.    | -.167   | -.295** | .222* | <b>.470**</b> | <b>.370**</b> | <b>.408**</b> | <b>.209*</b>  | 1.000         | <b>.507**</b> |
|                                     | Sig. (2seitig) | .052    | .000    | .011  | .000          | .000          | .000          | .015          | .             | .000          |
|                                     | N              | 136     | 136     | 130   | 135           | 135           | 135           | 135           | 136           | 136           |
| <b>MYO</b><br>post-MT – prä-MT      | Korr.koeff.    | -.274** | -.299** | .192* | <b>.831**</b> | <b>.778**</b> | <b>.843**</b> | <b>.555**</b> | <b>.507**</b> | 1.000         |
|                                     | Sig. (2seitig) | .001    | .000    | .028  | .000          | .000          | .000          | .000          | .000          | .             |
|                                     | N              | 138     | 138     | 132   | 137           | 135           | 135           | 137           | 136           | 138           |

Ein inverser Zusammenhang zwischen der Zielzeit (min) und der kardiorespiratorischen Fitness (VO<sub>2</sub> rel.) wurde mit einem Korrelationskoeffizienten von -0,611 mit hoher Signifikanz (p = 0,000) bestätigt (Tabelle 21). Eine inverse Korrelation von -0,233 (p = 0,006) liegt für die 10wöchige Vorbereitungszeit (km 10w) und die kardiorespiratorische Fitness (VO<sub>2</sub> rel.) vor (Tabelle 21).

Ein verzögerter Anstieg der laborchemischen Parameter CK, Myoglobin und LDH wurde in Korrelation mit der Vorbereitungszeit (km 10w und km 2013) nachgewiesen (Tabellen 20 und

21). Der Anstieg des Korrelationskoeffizienten zwischen Creatin Kinase (CK) und 10wöchiger Vorbereitungszeit (km 10w) wurde von 24h-post-MT (referenziert zu prä-MT) ( $r = -0,172$ ,  $p = 0,044$ ) zu 72h-post-MT (referenziert zu 24h-post-MT) ( $r = 0,171$ ,  $p = 0,048$ ) ermittelt. Selbiges gilt für die Creatin Kinase und die Vorbereitungszeit 2013 (km 2013) ( $r = -0,196$  24h-post-MT referenziert zu prä-MT,  $r = 0,189$  72h-post-MT referenziert zu 24h-post-MT), wobei die Signifikanz des Zusammenhangs der CK Werte mit der Vorbereitungszeit im Jahr 2013 höher waren als mit der Vorbereitungszeit 10 Wochen prä Marathon.

Im Falle von Myoglobin und der 10wöchigen Vorbereitungszeit wiesen die Korrelationskoeffizienten bei gleicher statistischer Signifikanz ( $p = 0,001$ ) einen Anstieg von  $-0,274$  zum Zeitpunkt post-MT (referenziert zu prä-MT) auf  $0,295$  bei 72h-post-MT (referenziert zu post-MT) auf. Vergleichbare Ergebnisse wurden für Myoglobin und die Vorbereitungszeit 2013 ermittelt ( $r = -2,99$  post-MT referenziert zu prä-MT,  $r = 0,320$  72h-post-MT referenziert zu post-MT,  $p=0,000$ ).

Ein verzögerter Anstieg des LDH von post-MT ( $r = -0,167$ , referenziert zu prä-MT) auf 72h-post-MT ( $r = -0,021$ , referenziert zu post-MT) im Vergleich zu km10w und von post-MT ( $r = -0,295$ , referenziert zu prä-MT) auf 72h-post-MT ( $r = 0,145$ , referenziert zu post-MT) im Vergleich zu km 2013 war ohne statistische Signifikanz nachzuweisen.

Tabelle 21: Statistische Korrelationen von 7 Parametern nach Spearman

|         |                | km 10w  | km 2013 | min     | CK 72h-<br>post-MT –<br>24h-post-<br>MT | MYO<br>72h-post-<br>MT – post-<br>MT | LDH<br>72h-post-<br>MT – post-<br>MT | VO <sub>2</sub> rel. |
|---------|----------------|---------|---------|---------|---|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|
| km 10w  | Korr.koeff.    | 1.000   | .650**  | -.436** | <b>.171*</b>                            | <b>.295**</b>                        | -.021                                | <b>-.233**</b>       |
|         | Sig. (2seitig) | .       | .000    | .000    | <b>.048</b>                             | <b>.001</b>                          | .814                                 | <b>.006</b>          |
|         | N              | 138     | 138     | 132     | 134                                     | 131                                  | 134                                  | 138                  |
| km 2013 | Korr.koeff.    | .650**  | 1.000   | -.453** | <b>.189*</b>                            | <b>.320**</b>                        | .145                                 | n.t.                 |
|         | Sig. (2seitig) | .000    | .       | .000    | <b>.029</b>                             | <b>.000</b>                          | .094                                 | n.t.                 |
|         | N              | 138     | 138     | 132     | 134                                     | 131                                  | 134                                  | n.t.                 |
| min     | Korr.koeff.    | -.436** | -.453** | 1.000   | -.016                                   | -.195*                               | -.146                                | <b>-.611**</b>       |
|         | Sig. (2seitig) | .000    | .000    | .       | .858                                    | .029                                 | .099                                 | <b>.000</b>          |
|         | N              | 132     | 132     | 132     | 128                                     | 126                                  | 128                                  | 132                  |

|   |                |        |        |       |        |               |       |      |
|---|----------------|--------|--------|-------|--------|---------------|-------|------|
| <b>CK</b><br>72h-post-MT –<br>24h-post-MT | Korr.koeff.    | -.172* | -.196* | .047  | 1.000  | <b>.812**</b> | -.133 | n.t. |
|   | Sig. (2seitig) | .044   | .022   | .592  | .      | <b>.000</b>   | .125  | n.t. |
|   | N              | 137    | 137    | 131   | 134    | 131           | 134   | n.t. |
| <b>MYO</b><br>72h-post-MT –<br>post-MT    | Korr.koeff.    | -.113  | -.136  | -.067 | .812** | 1.000         | -.063 | n.t. |
|   | Sig. (2seitig) | .192   | .116   | .448  | .000   | .             | .474  | n.t. |
|   | N              | 135    | 135    | 129   | 131    | 131           | 131   | n.t. |
| <b>LDH</b><br>72h-post-MT –<br>post-MT    | Korr.koeff.    | -.132  | -.174* | .013  | -.133  | -.063         | 1.000 | n.t. |
|   | Sig. (2seitig) | .126   | .044   | .883  | .125   | .474          | .     | n.t. |
|   | N              | 135    | 135    | 129   | 134    | 131           | 134   | n.t. |

Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen subjektivem (McGill Total Scores sowie Fatigue Scores > 36) und objektivem Muskelschaden (muskelspezifische Enzyme CK, CK-MB, GOT, GPT, Harnstoff, LDH, Myoglobin) zum Zeitpunkt post-MT nachgewiesen werden (Tabelle 22.)

Der Anstieg eines Laborparameters korrelierte mit der signifikanten Erhöhung der anderen Werte zum Visit post-MT, mit Ausnahme des Harnstoffes (Tabelle 22).

Tabelle 22: Statistische Korrelationen von 9 Parametern nach Spearman zum Visit post-MT

|                                       |                | <b>Gill</b><br>post-MT<br>– prä-<br>MT | <b>Fatigue</b><br>post-MT<br>– prä-<br>MT | <b>CK</b><br>post-MT | <b>CKM</b><br><b>B</b> post-<br>MT | <b>GOT</b><br>post-MT | <b>GPT</b><br>post-MT | <b>HSf</b><br>post-MT | <b>LDH</b><br>post-MT | <b>MYO</b><br>post-MT |
|---------------------------------------|----------------|--|---|----------------------|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>Gill</b><br>post-MT –<br>prä-MT    | Korr.koeff.    | 1.000                                  | n.t.                                      | .093                 | .028                               | .023                  | -.017                 | .049                  | .059                  | .108                  |
|                                       | Sig. (2seitig) | .                                      | n.t.                                      | .277                 | .747                               | .788                  | .846                  | .566                  | .490                  | .209                  |
|                                       | N              | 137                                    | n.t.                                      | 137                  | 137                                | 137                   | 137                   | 137                   | 137                   | 137                   |
| <b>Fatigue</b><br>post-MT –<br>prä-MT | Korr.koeff.    | n.t.                                   | 1.000                                     | .035                 | .070                               | .048                  | .065                  | .137                  | -.071                 | n.t.                  |
|                                       | Sig. (2seitig) | n.t.                                   | .   | .682                 | .413                               | .574                  | .448                  | .110                  | .408                  | n.t.                  |
|                                       | N              | n.t.                                   | 137                                       | 137                  | 137                                | 137                   | 137                   | 137                   | 137                   | n.t.                  |
| <b>CK</b><br>post-MT                  | Korr.koeff.    | .093                                   | .035                                      | 1.000                | <b>.811**</b>                      | <b>.735**</b>         | <b>.290**</b>         | -.035                 | <b>.524**</b>         | <b>.724**</b>         |
|                                       | Sig. (2seitig) | .277                                   | .682                                      | .                    | <b>.000</b>                        | <b>.000</b>           | <b>.001</b>           | .684                  | <b>.000</b>           | <b>.000</b>           |

|                        |                |       |       |        |        |        |        |       |        |        |
|------------------------|----------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|
|                        | N              | 137   | 137   | 138    | 138    | 138    | 138    | 138   | 138    | 138    |
| <b>CKMB</b><br>post-MT | Korr.koeff.    | .028  | .070  | .811** | 1.000  | .705** | .303** | -.002 | .629** | .665** |
|                        | Sig. (2seitig) | .747  | .413  | .000   | .      | .000   | .000   | .980  | .000   | .000   |
|                        | N              | 137   | 137   | 138    | 138    | 138    | 138    | 138   | 138    | 138    |
| <b>GOT</b><br>post-MT  | Korr.koeff.    | .023  | .048  | .735** | .705** | 1.000  | .546** | .116  | .496** | .531** |
|                        | Sig. (2seitig) | .788  | .574  | .000   | .000   | .      | .000   | .177  | .000   | .000   |
|                        | N              | 137   | 137   | 138    | 138    | 138    | 138    | 138   | 138    | 138    |
| <b>GPT</b><br>post-MT  | Korr.koeff.    | -.017 | .065  | .290** | .303** | .546** | 1.000  | .203* | .115   | .139   |
|                        | Sig. (2seitig) | .846  | .448  | .001   | .000   | .000   | .      | .017  | .180   | .104   |
|                        | N              | 137   | 137   | 138    | 138    | 138    | 138    | 138   | 138    | 138    |
| <b>HStf</b><br>post-MT | Korr.koeff.    | .049  | .137  | -.035  | -.002  | .116   | .203*  | 1.000 | -.004  | -.017  |
|                        | Sig. (2seitig) | .566  | .110  | .684   | .980   | .177   | .017   | .     | .966   | .844   |
|                        | N              | 137   | 137   | 138    | 138    | 138    | 138    | 138   | 138    | 138    |
| <b>LDH</b><br>post-MT  | Korr.koeff.    | .059  | -.071 | .524** | .629** | .496** | .115   | -.004 | 1.000  | .513** |
|                        | Sig. (2seitig) | .490  | .408  | .000   | .000   | .000   | .180   | .966  | .      | .000   |
|                        | N              | 137   | 137   | 138    | 138    | 138    | 138    | 138   | 138    | 138    |
| <b>MYO</b><br>post-MT  | Korr.koeff.    | .108  | n.t.  | .724** | .665** | .531** | .139   | -.017 | .513** | 1.000  |
|                        | Sig. (2seitig) | .209  | n.t.  | .000   | .000   | .000   | .104   | .844  | .000   | .      |
|                        | N              | 137   | n.t.  | 138    | 138    | 138    | 138    | 138   | 138    | 138    |

Zum Visit 24h-post-MT lag eine positive Korrelation mit statistischer Signifikanz für McGill Total Scores mit den Laborparametern CK, GOT und LDH vor (Tabelle 23). Mit Ausnahme des Harnstoffes konnte auch zum Messpunkt 24h-post-MT ein hoch signifikanter Zusammenhang der Erhöhung aller Laborparameter nachgewiesen werden (Tabelle 23).

Tabelle 23: Statistische Korrelationen von 7 Parametern nach Spearman zum Visit 24h-post-MT

|  |                | <b>Gill</b><br>24h-<br>post-MT<br>- prä-<br>MT | <b>Fatigue</b><br>24h-<br>post-MT<br>- prä-<br>MT | <b>CK</b><br>24h-<br>post-MT | <b>CKM</b><br><b>B</b> 24h-<br>post-MT | <b>GOT</b><br>24h-<br>post-MT | <b>GPT</b><br>24h-<br>post-MT | <b>LDH</b><br>24h-<br>post-MT | <b>HStf</b><br>24h-<br>post-MT | <b>MYO</b><br>24h-<br>post-MT |
|--|----------------|--|---|------------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| <b>Gill</b><br>24h-post-<br>MT - prä-<br>MT    | Korr.koeff.    | 1.000  | n.t.  | <b>.184*</b>                 | .124                                   | <b>.197*</b>                  | .050                          | <b>.170*</b>                  | -.007                          | .077                          |
|  | Sig. (2seitig) | .  | n.t.  | <b>.032</b>                  | .151                                   | <b>.022</b>                   | .560                          | <b>.048</b>                   | .932                           | .372                          |
|  | N              | 137  | n.t.  | 136                          | 136                                    | 136                           | 136                           | 136                           | 136                            | 135                           |
| <b>Fatigue</b><br>24h-post-<br>MT - prä-<br>MT | Korr.koeff.    | n.t.   | 1.000   | .067                         | .055                                   | .084                          | .004                          | .053                          | -.057                          | -.003                         |
|  | Sig. (2seitig) | n.t.   | .   | .435                         | .522                                   | .333                          | .963                          | .538                          | .511                           | .972                          |
|  | N              | n.t.   | 137   | 136                          | 136                                    | 136                           | 136                           | 136                           | 136                            | 135                           |
| <b>CK</b><br>24h-post-<br>MT                   | Korr.koeff.    | .184*  | .067  | 1.000                        | <b>.923**</b>                          | <b>.948**</b>                 | <b>.675**</b>                 | <b>.825**</b>                 | .024                           | <b>.792**</b>                 |
|  | Sig. (2seitig) | .032   | .435  | .                            | <b>.000</b>                            | <b>.000</b>                   | <b>.000</b>                   | <b>.000</b>                   | .782                           | <b>.000</b>                   |
|  | N              | 136  | 136   | 137                          | 137                                    | 137                           | 137                           | 137                           | 137                            | 136                           |
| <b>CKMB</b><br>24h-post-<br>MT                 | Korr.koeff.    | .124   | .055  | .923**                       | 1.000                                  | .943**                        | .703**                        | .854**                        | -.080                          | .751**                        |
|  | Sig. (2seitig) | .151   | .522  | .000                         | .                                      | .000                          | .000                          | .000                          | .356                           | .000                          |
|  | N              | 136  | 136   | 137                          | 137                                    | 137                           | 137                           | 137                           | 137                            | 136                           |
| <b>GOT</b><br>24h-post-<br>MT                  | Korr.koeff.    | .197*  | .084  | .948**                       | .943**                                 | 1.000                         | .738**                        | .824**                        | -.038                          | .742**                        |
|  | Sig. (2seitig) | .022   | .333  | .000                         | .000                                   | .                             | .000                          | .000                          | .663                           | .000                          |
|  | N              | 136  | 136   | 137                          | 137                                    | 137                           | 137                           | 137                           | 137                            | 136                           |
| <b>GPT</b><br>24h-post-<br>MT                  | Korr.koeff.    | .050   | .004  | .675**                       | .703**                                 | .738**                        | 1.000                         | .647**                        | -.025                          | .574**                        |
|  | Sig. (2seitig) | .560   | .963  | .000                         | .000                                   | .000                          | .                             | .000                          | .769                           | .000                          |
|  | N              | 136  | 136   | 137                          | 137                                    | 137                           | 137                           | 137                           | 137                            | 136                           |
| <b>LDH</b><br>24h-post-<br>MT                  | Korr.koeff.    | .170*  | .053  | .825**                       | .854**                                 | .824**                        | .647**                        | 1.000                         | -.041                          | .640**                        |
|  | Sig. (2seitig) | .048   | .538  | .000                         | .000                                   | .000                          | .000                          | .                             | .631                           | .000                          |
|  | N              | 136  | 136   | 137                          | 137                                    | 137                           | 137                           | 137                           | 137                            | 136                           |
| <b>HSTf</b><br>24h-post-<br>MT                 | Korr.koeff.    | -.007  | -.057   | .024                         | -.080                                  | -.038                         | -.025                         | -.041                         | 1.000                          | .232**                        |
|  | Sig. (2seitig) | .932   | .511  | .782                         | .356                                   | .663                          | .769                          | .631                          | .                              | .007                          |

|                               |                |      |       |        |        |        |        |        |        |       |
|-------------------------------|----------------|------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
|                               | N              | 136  | 136   | 137    | 137    | 137    | 137    | 137    | 137    | 136   |
| <b>MYO</b><br>24h-post-<br>MT | Korr.koeff.    | .077 | -.003 | .792** | .751** | .742** | .574** | .640** | .232** | 1.000 |
|                               | Sig. (2seitig) | .372 | .972  | .000   | .000   | .000   | .000   | .000   | .007   | .     |
|                               | N              | 135  | 135   | 136    | 136    | 136    | 136    | 136    | 136    | 136   |

## 5. Diskussion

Im Rahmen der Enzy-MagIC Studie wurden die Effekte oraler hydrolytischer und proteolytischer Enzyme sowie Flavonoide (Wobenzym® plus) auf belastungsinduzierte Veränderungen von Muskelschaden, Schmerzen sowie Regeneration bei gesunden Männern nach einem Marathon untersucht.

In früheren Studien konnte Wobenzym® plus nachgewiesenermaßen die Fibrinolyse beeinflussen, die Mikrozirkulation wiederherstellen, sowie protektiv auf das Skelettmuskelgewebe wirken (Neumayer et al. 2006). Weiters wurden signifikante Reduktionen von muskelspezifischen Biomarkern sowie belastungsinduzierten Schmerzen mit der Einnahme von Wobenzym® plus in Beziehung gesetzt (Marzin et al. 2017). Insgesamt resultiert dies in einer Verringerung der Schmerzen, Inflammation und Schwellung (Miller et al. 2004). Anhand präklinischer Daten wurde davon ausgegangen, dass die Substitution mit oralen hydrolytischen und proteolytischen Enzymen muskelprotektive, anti-inflammatorische, fibrinolytische, analgetische und anti-ödematöse Effekte haben kann. Dem Studienpräparat Wobenzym® plus wurden diese Eigenschaften zugeschrieben. Rezent konnte in einer anderen Teilarbeit der Enzy-Magic-Studie aufgezeigt werden, dass die Einnahme von Wobenzym® plus nicht zur Reduktion von Entzündungswerten nach einem Marathon, gemessen anhand der Marker Interleukin (IL)-6, und -10 sowie hsCRP (hoch sensitives C-Reaktives Protein), führt (Grabs et al. 2017).

In vorliegender Teilarbeit wurde die Hypothese untersucht, dass die Einnahme eines Präparates mit potentiell immunmodulatorischen Eigenschaften, wie Wobenzym® plus, eine Woche vor und zwei Wochen nach einem Marathon die subjektiven Symptome und die objektiven Muskelschadenszeichen, welche nach einem Marathon regelmäßig erhöht sind, positiv beeinflussen kann. Exzentrische Belastungen im Rahmen eines Marathonlaufes können Mikroverletzungen der beanspruchten Muskulatur nach sich ziehen (Assumpção et al. 2013). Solche Muskelschäden können anhand signifikanter Anstiege der Creatin Kinase (CK), der

LDH, der GOT und des Myoglobins im Plasma beurteilt werden (Smith et al. 2004; DelCoso et al. 2013). Analog zum Proteinabbau in der Muskulatur steigt der Serumharnstoffspiegel nach einem Marathon (Warhol et al. 1985).

Zusammenfassend wurde die Hypothese überprüft, dass die Einnahme oraler hydrolytischer und proteolytischer Enzyme sowie Flavonoide als mögliche Strategie gegen marathon-induzierte Muskelschäden und -beschwerden angewandt werden könnte, was sich wiederum positiv auf den Regenerationsprozess auswirken sollte. Eine schnelle und effektive Regeneration ist für Athleten von größter Bedeutung, weshalb ein Produkt, das die Regeneration nach starker Anstrengung unterstützt, nicht nur für Spitzensportler, sondern auch für Breitensportler wünschenswert wäre.

### **5.1. Objektiver Muskelschaden**

Augenscheinlich gesunde Männer zwischen 20 und 65 Jahren, welche bereits einen (Halb-)Marathon absolviert haben, wurden als Probanden rekrutiert. 138 Teilnehmer des München Marathon wurden in die endgültige Auswertung einbezogen. Die orale Einnahme von Wobenzym® plus (Verumgruppe) oder eines Placebos (Placebogruppe) erfolgte im Zeitraum eine Woche vor bis zwei Wochen nach Marathon.

Ein objektiver Muskelschaden wurde anhand der laborchemischen Biomarker Creatin Kinase (CK), Creatin Kinase Isoenzym (CK-MB), Myoglobin (MYO), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Tansaminase (GPT), Lactatdehydrogenase (LDH) und Harnstoff beurteilt. Blutabnahme und Laboranalyse erfolgten 5 Wochen vor Marathon (prä-MT), beim Zieleinlauf (post-MT), 24h (24h-post-MT), 72h (72h-post-MT) sowie 2 Wochen (2Wo-post-MT) nach absolviertem Marathon. Ein Vergleich der Wobenzym® plus-Gruppe zur Placebogruppe erfolgte zum Zeitpunkt des maximalen Anstiegs, referenziert zum jeweiligen Initialwert.

Eine Beschädigung der Muskelzellmembran führt zum Austritt von Creatin Kinase aus der Muskelzelle in die Blutbahn, wodurch dieses als zuverlässiger Messparameter eines Muskelschadens gilt (Howatson et al. 2005). Wie in vorangegangenen Marathonstudien veröffentlicht, wies die Serum CK Aktivität in vorliegender Studie 24h nach dem Marathon Maximalwerte auf (Clifford et al. 2016; Clifford et al. 2017). Die Ausschüttung des CK-MB Isoenzym korrelierte mit jener der Gesamt-CK. Erwartungsgemäß wurden die höchsten Werte zum Kontrolltermin 24h-post-MT gemessen (Apple et al. 1984).

Ein Myoglobin-Anstieg geht mit der Verletzung von quergestreifter Muskulatur einher (Puschendorf & Maier 1998). Der nachgewiesene frühere Anstieg des Myoglobins zum Messpunkt post-MT (Zieleinlauf) im Vergleich zur CK ist durch das geringere Molekulargewicht von Myoglobin und dadurch höhere Geschwindigkeiten des Zellaustrittes nach Verletzungen des Sarkolemmes zu erklären (Howatson et al. 2005). Eine Erhöhung der GOT um das 2- bis 3-fache des Initialwertes bei nur leichten Veränderungen der GPT wurde als typisch für Marathonläufer beschrieben (Berg & Keul 1979). Dies stimmt mit vorliegenden Ergebnissen überein, bei jeweiligen Maximalwerten 24h nach Zieleinlauf.

Eine signifikante LDH Erhöhung wurde von Bernat-Adell et al. (2019) von Zieleinlauf bis 192h nach Marathon nachgewiesen. Dies deckt sich mit vorliegender Studie, in der die ermittelten Maximalwerte bei Zieleinlauf (post-MT) vorlagen. Die maximalen Serumharnstoffwerte wurden bei Zieleinlauf ermittelt, was mit dem maximalen Proteinabbau korreliert.

Bezüglich aller oben genannten Biomarker ergaben sich zum Zeitpunkt der jeweils maximal ermittelten Werte, referenziert zu den Initialwerten, keine statistisch messbaren Veränderungen im Vergleich der Wobenzym® plus- und der Verumgruppe. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Einnahme von Wobenzym® plus nicht zur Reduktion eines objektiven Muskelschadens beizutragen vermag.

## **5.2. Subjektiver Muskelschaden**

Zur Beurteilung eines subjektiven Muskelschadens wurden zwei Fragebögen angewandt. Die Entscheidung für die im deutschsprachigen Raum wenig verbreitete Kurzform (Short Form) des McGill Pain Questionnaire wurde einerseits zugunsten einer Untersuchungsdauer von 21 Tagen im Gegensatz zu einer einmaligen Momentaufnahme gefällt. Andererseits wurde das Risiko der Ergebnisverfälschung durch mangelnde Akzeptanz und Compliance von Seiten der Athleten in Betracht auf das tägliche Ergänzen des Fragebogens als höher eingeschätzt als durch kulturelle Einflüsse der Übersetzung der englischen in die deutsche Form. Zusätzlich zu der Liste der 15 Adjektive (11 sensorische, 4 affektive) konnten weitere Informationen aus einer Visuellen Analogskala (VAS) und einer Skala für die Gesamtbeurteilung der Schmerzintensität gewonnen werden.

Die Fatigue Severity Scale (FSS) ist ein gebräuchlicher Fragebogen zur Diagnostik und Charakterisierung eines Fatigue-Syndroms (syn. Fatigue) und in weiterer Folge zur Abgrenzung von anderen Erkrankungen wie beispielsweise Depressionen. Als Fatigue wird ein

Erschöpfungszustand beschrieben, der bei chronischen Erkrankungen wie Multipler Sklerose (MS) auftreten kann (Krupp et al. 1989).

Es konnten in dieser Studie durch die Einnahme von Wobenzym® plus keine signifikanten Einflüsse in Bezug auf die subjektiv empfundene Ermüdung, gemessen anhand Fatigue Severity Scores > 36, festgestellt werden. Im zeitlichen Verlauf wurde die stärkste muskuläre Ermüdung bei Zieleinlauf und den beiden Folgetagen ermittelt. Während in der Verumgruppe keine klinisch relevanten Fatiguen mehr ab Tag 10 post Marathon verzeichnet wurden, berichteten Teilnehmer der Placebogruppe bis Tag 14 post Marathon ebensolche muskuläre Ermüdungszeichen.

Der Einsatz des FSS-Fragebogens zeigte sich aufgrund der geringen Anzahl an Läufern mit signifikant positiven Werten (> 36) für vorliegende Studie als wenig geeignet, da eine solide statistische Auswertung einer größeren Anzahl bedarf. Der Zusammenhang von Wobenzym® plus und einer positiven Schmerzmodulation sollte in Folgestudien unter Verwendung eines besser geeigneten Instrumentes der Datenerhebung verifiziert werden.

Kein signifikanter Einfluss auf die Schmerzintensität, ermittelt anhand der SF-MPQ Total Scores, konnte durch die Einnahme von Wobenzym® plus nachgewiesen werden. Die höchsten Werte konnten erwartungsgemäß am Tag des Marathons sowie an den beiden Folgetagen ermittelt werden. Analog zu den fatiguespezifischen Ergebnissen wurden Gruppenunterschiede im zeitlichen Verlauf nachgewiesen. Während Schmerzfreiheit in der Verumgruppe ab Tag 8 berichtet wurde, konnte sie in der Placebogruppe erst ab Tag 11 post Marathon verzeichnet werden.

Diese Ergebnisse könnten darauf hinweisen, dass Wobenzym® plus zwar initial das Auftreten von Fatigue sowie muskulären Schmerzen nicht reduzieren, jedoch den Regenerationsprozess beschleunigen könnte.

### 5.3. Korrelationen

Mittels Korrelation nach Spearman wurden Beziehungen von Trainingsdaten mit Werten des objektiven sowie subjektiven Muskelschadens untersucht. Dabei wurde anhand der inversen Korrelation von kardiorespiratorischer Fitness und Zielzeit nachgewiesen, dass der Marathon umso schneller absolviert wurde, je besser die Maximale Sauerstoffaufnahme war. Der Zusammenhang von kardiorespiratorischer Fitness und Laufgeschwindigkeit im Rahmen eines Halb-Marathon wurde bereits postuliert (Ogueta-Alday et al. 2018). Die Gruppe um Salinero (2016) beschrieb einen signifikanten Zusammenhang der individuellen Lungenfunktion und der Marathonlaufzeit.

Des Weiteren standen die Vorbereitungszeit auf den Marathon und die Zielzeit in inverser Wechselwirkung. Je besser und kontinuierlicher also die Marathonvorbereitung war, gemessen an der Kilometerzahl, welche 10 Wochen vor dem Lauf zurückgelegt wurde, desto schneller wurde dieser beendet. Gleiches gilt für die Vorbereitungszeit anhand der wöchentlich absolvierten Kilometerzahl im gesamten Jahr 2013 und der Zielzeit. Tanda und Knechtle (2015) kamen zu ähnlichen Ergebnissen, die einen Zusammenhang der durchschnittlichen wöchentlichen Trainingsdistanz und der Zielzeit bei Marathon- und Ultra-Marathon-Läufern nachwiesen. Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass sich die 10-wöchige Vorbereitungszeit und die kardiorespiratorische Fitness bedingen. Konkret bedeutet das, je höher die Kontinuität der Vorbereitung, desto höher die maximale Sauerstoffaufnahme.

Anhand negativer Korrelationen der Vorbereitungszeit (10-wöchig sowie ganzjährlich) und der Laborparameter Creatin Kinase (CK), Myoglobin und LDH konnte nachgewiesen werden, dass besser trainierte Läufer eine geringere Erhöhung dieser muskelspezifischen Enzyme, i. e. S. geringere Zeichen eines Muskelschadens, aufwiesen als weniger trainierte Teilnehmer. Stein (1998) beschrieb den Zusammenhang von besserem Trainingszustand und geringeren CK Werten.

Je besser die Vorbereitung, sowohl ganzjährlich als auch in den 10 Wochen vor dem Lauf, desto geringer fiel die Erhöhung des Myoglobins und LDH im Serum beim Vergleich vorher (prä-MT) zu nachher (post-MT) aus. Ein verzögerter Anstieg zum Visit 72h-post-MT, referenziert zu post-MT (Zieleinlauf), konnte festgestellt werden, wenn auch nicht signifikant bei LDH. Für die Creatin Kinase konnte diese Veränderung von prä-MT (Initialwerte) zu 24h-post-MT sowie von 24h-post-MT zu 72h-post-MT bestätigt werden, wobei die Signifikanz der Korrelation mit der ganzjährlichen Vorbereitungszeit höher war als jene mit der 10-wöchigen

Vorbereitungszeit. Daraus lässt sich schließen, dass besser trainierte Läufer schnellere Regenerationskapazitäten aufweisen als weniger trainierte Teilnehmer.

Zwischen den objektiven Zeichen eines Muskelschadens, i. e. S. der Erhöhung der Biomarker Creatin Kinase, GOT und LDH, und den subjektiven Zeichen, ermittelt anhand der McGill Total Scores, konnte 24h nach dem Marathonlauf eine signifikante Korrelation festgestellt werden.

Zusammenfassend konnten weder die untersuchten objektiven Parameter eines Muskelschadens noch die subjektive Ermüdungs- und Schmerzintensität nach einem Marathonlauf durch die Einnahme hydrolytischer und proteolytischer Enzyme sowie Flavonoide im Vergleich zur Placebogruppe verringert werden. Eine ausführliche Vorbereitung spiegelte sich in geringeren Muskelschäden, schnelleren Regenerationszeiten sowie nicht zuletzt kürzeren Zielzeiten wider. Zukunftsweisend könnte die Dosierung von Wobenzym® plus optimiert sowie der Einsatz eines besser geeigneten Fragebogens zur Messung einer Marathon-induzierten Fatigue angedacht werden.

## 6. Limitationen

Die vorliegende Studie beschreibt die Einflüsse der Einnahme hydrolytischer und proteolytischer Enzyme sowie Flavonoide auf die Induktion eines Muskelschadens, Schmerzen und Ermüdungserscheinungen nach einer extremen Belastung wie einem Marathonlauf. Zeichen eines Muskelschadens wurden durch wiederholte Blutentnahmen anhand der Laborparameter CK, CK-MB, Myoglobin, LDH, GOT, GPT und Harnstoff gemessen. Dabei besteht die Möglichkeit von Messfehlern durch Störfaktoren in der prä-analytischen sowie analytischen Phase. Häufige Fehlerquellen in der prä-analytischen Phase stellen Einflüsse durch die Probengewinnung dar, wie lange venöse Stauung und die Abnahmetechnik (Punktionsfehler, dünne Kanülen oder starke Aspiration), Tageszeit und Pharmakokinetik (Einnahmezeitpunkt des Testpräparates bzw. Placebos vor der Blutentnahme), fehlende Probendurchmischung sowie unterschiedliche Füllung der Röhrchen und somit unterschiedliches Mischungsverhältnis mit den Stabilisatoren. Weitere Fehlerquellen können sich durch Mängel im Probentransport, wie falsche Temperierung (fehlende oder irrtümliche Kühlung) oder zu lange Transport-, bzw. Liegezeiten ergeben. In der analytischen Phase können ebenfalls Fehler bei der Temperierung und Verarbeitung der Proben zu falschen Werten führen.

Des Weiteren muss bei der regelrechten Einnahme der Studienmedikation auf die Compliance der Teilnehmer vertraut werden. Hier besteht die Möglichkeit, dass nicht der vorgeschriebene zeitliche Abstand zur Nahrungsaufnahme (45 min. vor bzw. 1,5 h danach) eingehalten wurde, einzelne Einnahmen unwissentlich versäumt wurden, oder versäumte Einnahmen nicht angegeben wurden.

Es wurde zwar ein Ernährungsprotokoll durch die Teilnehmer ausgefüllt, dabei wurde jedoch vornehmlich auf eindeutig mit der Studienmedikation interferierende Lebensmittel wie Ananas, Papaya o.ä. hingewiesen und geachtet. Es ist nicht auszuschließen, dass einige Teilnehmer sich verstärkt pflanzlich ernährt und somit bereits eine höhere natürliche Dosis an hydrolytischen und proteolytischen Enzymen sowie Flavonoiden zu sich genommen haben, als andere mit einer tendenziell fleischlastigen oder durch Proteinshakes stark geprägten Ernährungsweise. Die exakt gleiche Nahrungs- und Nährstoffzufuhr konnte nicht gewährleistet werden.

Die Schmerzintensität und das Erschöpfungsempfinden wurden durch tägliche Symptomreports (FSS und SF-MPQ) erfasst. Auch bei diesem täglichen Ausfüllen der Fragebögen kann ein Mangel an Compliance nicht ausgeschlossen werden. Um eine maximal hohe Bereitschaft zum gewissenhaften Beantworten der Fragen zu erreichen, wurde zwar darauf

geachtet möglichst kurze Fragebögen (SF-MPQ) zu verwenden, jedoch können sich durch verspätetes Ausfüllen aus dem Gedächtnis, bei vorherigem Vergessen einzelner Tage oder aus Zeitmangel, Verzerrungen ergeben haben. Bei weiteren Studien könnte man zur Umgehung dieses Problems eine onlinegestützte Erfassung erwägen. Das würde sowohl die Anwenderfreundlichkeit erheblich steigern und könnte den genauen Erfassungszeitpunkt nachvollziehbar machen. Zudem würde die Auswertung durch eine direkte elektronische Erfassung erheblich vereinfacht und durch das Wegfallen der Überführung von Papierfragebögen in elektrische Form weniger fehleranfällig.

Weitere Ungenauigkeiten könnten sich durch die lediglich einmalige Erfassung der anthropometrischen Daten ergeben haben. Die Messungen wurden zu unterschiedlichen Zeiten durchgeführt, was zu Schwankungen bei Gewicht und Größe im Tagesverlauf zwischen den einzelnen Teilnehmern geführt haben könnte.

Bei der Erfassung der Laufhistorie und Laufleistung wurden andere regelmäßig betriebene Sportarten wie zum Beispiel Radfahren und Schwimmen, welche ebenfalls die kardiorespiratorische Fitness und Regenerationskapazität beeinflussen, nicht berücksichtigt, was zu einer Verzerrung bei den Korrelationen geführt haben könnte.

## 7. Ausblick

Die vorliegenden Studienergebnisse zeigen keinen Hinweis, dass die orale Einnahme von hydrolytischen und proteolytischen Enzymen sowie Flavonoiden in der Form von Wobenzym® Plus das Auftreten von Muskelschäden sowie deren Symptome (Schmerzen und Fatigue) verhindern oder signifikant reduzieren kann.

Zukunftsweisend könnte die Dosierung, sowie Zusammensetzung der einzelnen Inhaltsstoffe von Wobenzym® plus optimiert werden oder die Darreichung generell in anderer Applikationsform erfolgen (zum Beispiel Saft, Pulver). Da in dieser Studie nicht festgestellt wurde, inwieweit das Testpräparat tatsächlich absorbiert werden konnte und wie hoch darauf die effektive Dosis der Substanz am Wirkungsort war, könnte in Folgestudien angedacht werden, diese Parameter ebenfalls zu überprüfen und somit eventuell auch Veränderungen der Applikationsform zu untersuchen. Eventuell könnte zudem eine individuelle Dosisanpassung in Bezug auf die anthropometrischen Daten erfolgen. Die Dosierungsempfehlung erfolgt aktuell ungeachtet Größe, Gewicht, BMI, Körperfett. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass eine größere Muskelmasse einer höheren Dosis des Testpräparates bedarf um ausreichend muskelprotektive Effekte zu entfalten.

Extremsportarten wie Marathons werden zunehmend auch unter Frauen beliebt und haben bereits Einzug in den Profisport gehalten. Daher wäre es in Folgestudien interessant, Studiendesigns zu entwerfen, die auch für weibliche Teilnehmer unter Berücksichtigung der hormonellen Besonderheiten eingesetzt werden können.

Weiters könnte für die Objektivierung der subjektiven Muskelschadenzeichen wie Schmerzen und Fatigue die Überarbeitung der angewandten Fragebögen oder die Verwendung gänzlich anderer Fragebögen angedacht werden, die das Empfinden besser abzubilden vermögen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen zwar, dass Wobenzym® Plus das Auftreten der Symptome Schmerz und Fatigue nicht reduzieren konnte, jedoch zeichnete sich eine Tendenz ab, dass die Dauer der Symptome eventuell verkürzt werden kann. Weitere Forschung könnte untersuchen, ob die Regeneration durch die Inhaltsstoffe gefördert werden kann.

Abschließend sind weitere Studien nötig, um mögliche Modulatoren auf die schädlichen Auswirkungen extremer Belastungen, wie einem Marathon, zu erforschen.

## 8. Literaturverzeichnis

1. Apple, F.S., Rogers, M.A., Sherman, W.M., & Ivy, J.L. (1984). Comparison of serum creatine kinase and creatine kinase MB activities post marathon race versus post myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta*, 138, 111–118.
2. Armstrong, R.B., Warren, G.L., & Warren, J.A. (1991). Mechanisms of Exercise-Induced Muscle Fibre Injury. *Sports Medicine*, 12(3), 184–207.
3. Arts, I.C., & Hollman, P.C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1s), 317–325.
4. Assumpção, C.O., Lima, L.C., Oliveira, F.B., Greco, C.C., & Denadai, B.S. (2013). Exercise-Induced Muscle Damage and Running Economy in Humans. *ScientificWorldJournal*, 2013. doi: 10.1155/2013/189149.
5. Bazzano, L.A., He, J., Ogden, L.G., Loria, C.M., Vupputuri, S., Myers, L., & Whelton, P.K. (2002). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 93–99.
6. Berg, A., & Keul, J. (1979). Körperbelastung und Serumenzyme. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, 30, 128–130.
7. Bernat-Adell, M.D., Collado-Boira, E.J., Moles-Julio, P., Panizo-Gonzalez, N., Martinez-Navarro, I., Hernando-Fuster, B., & Hernando-Domingo, C. (2019). Recovery of Inflammation, Cardiac, and Muscle Damage Biomarkers After Running a Marathon. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 2019. doi: 10.1519/JSC.0000000000003167.
8. Bernecker, C., Scherr, J., Schinner, S., Braun, S., Scherbaum, W.A., & Halle, M. (2013). Evidence for an exercise induced increase of TNF-a and IL-6 in marathon runners. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sport*, 23(2), 207–214.
9. Bloomer, R.J. (2007). The Role of Nutritional Supplements in the Prevention and Treatment of Resistance Exercise-Induced Skeletal Muscle Injury. *Sports Medicine*, 37(6), 519–532.

10. Brancaccio, P., Maffulli, N., Buonauro, R., & Limongelli, F.M. (2008). Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clinics in Sports Medicine*, 27(1), 1–18.
11. Brune, K., Niederweis, U., Kaufmann, A., & Küster-Kaufmann, M. (2009). Analgetikamissbrauch bei Marathonläufern: Jeder zweite nimmt vor dem Start ein Schmerzmittel. *MMW-Fortschritte der Medizin*, 151(40), 39–42.
12. Byrne, C., Twist, C., & Eston, R. (2004). Neuromuscular Function After Exercise-Induced Muscle Damage Theoretical and Applied Implications. *Sports Medicine*, 34(1), 49–69.
13. Childs, A., Jacobs, C., Kaminski, T., Halliwell, B., & Leeuwenburgh, C. (2001). Supplementation with Vitamin C and N-Acetyl-Cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(6), 745–753.
14. Clifford, T., Bell O., West, D.J., Howatson, G., & Stevenson, E.J. (2016). The effects of beetroot juice supplementation on indices of muscle damage following eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 116(2), 353–362.
15. Clifford, T., Allerton, D.M., Brown, M.A., Harper, L., Horsburgh, S., Keane, K.M., Stevenson, E.J., & Howatson, G. (2017). Minimal muscle damage after a marathon and no influence of beetroot juice on inflammation and recovery. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 42(3), 263–270.
16. Close, G.L., Asthon, T., Cable, T., Doran, D., & MacLaren, D.P. (2003). Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. *European Journal of Applied Physiology*, 91(5-6), 615–621.
17. Close, G.L., Ashton, T., Cable, T., Doran, D., Holloway, C., McArdle, F., & MacLaren, D.P. (2006). Ascorbic acid supplementation does not attenuate post-exercise muscle soreness following muscle-damaging exercise but may delay the recovery process. *British Journal of Nutrition*, 95(5), 976–981.
18. Connolly, D.A., Sayers, S.E., & McHugh, M.P. (2003). Treatment and Prevention of Delayed Onset Muscle Soreness. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 17(1), 197–208.

19. Coudreuse, J.M., Dupont, P., & Nicol, C. (2004). Analyse de la littérature: Douleurs musculaires posteffort. *Annales de réadaptation et de médecine physique*, 47(6), 290–298.
20. DelCoso, J., Fernandez, D., Abian-Vicen, J., Salinero, J.J., Gonzalez-Millan, C., Areces, F., Ruiz, D., Gallo, C., Calleja-Gonzalez, J., & Perez-Gonzalez, B. (2013). Running pace decrease during a marathon is positively related to blood markers of muscle damage. *PLoS One*, 8(2). doi:10.1371/annotation/47fe0942-fff7-4df2-bac8-fd93bc7bb242.
21. Derman, E.W., & Schweltnus, M.P. (2010). Pain management in sports medicine: Use and abuse of anti-inflammatory and other agents. *South African Family Practice*, 52(1), 27–32.
22. Donnelly, A.E., Maughan R.J., & Whiting P.H. (1990). Effects of ibuprofen on exercise-induced muscle soreness and indices of muscle damage. *British Journal of Sports Medicine*, 24(3), 191–195.
23. Donnelly, A.E., McCormick, K., Maughan, R.J., Whiting, P.H., & Clarkson, P.M. (1998). Effects of non-steroidal anti-inflammatory drug on delayed onset muscle soreness and indices of damage. *British Journal of Sports Medicine*, 22(1), 35–38.
24. Ekblom, B., Ekblom, O., & Malm, C. (2006). Infectious episodes before and after a marathon race. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 16(4), 287–293.
25. Grabs, V., Kersten, A., Haller, B., Braun, S., Niemann, D.C., Halle, M., & Scherr, J. (2017). Rutoside and Hydrolytic Enzymes do not Attenuate Marathon-Induced Inflammation. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39(1), 387–395.
26. Grabs, V., Niemann, D.C., Haller, B., Halle, M., & Scherr, J. (2014). The effects of oral hydrolytic enzymes and flavonoids on inflammatory markers and coagulation after marathon running: study protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, 6(8). doi: <https://doi.org/10.1186/2052-1847-6-8>.
27. Gressner, A. M. & Arndt, T. (Hrsg.). (2013). *Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik: mit 434 Tabellen* (2., überarb. und erw. Aufl). Berlin: Springer Medizin.

28. Hertel, J. (1997). The Role of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in the Treatment of Acute Soft Tissue injuries. *Journal of Athletic Training*, 32(4), 350–358.
29. Holt, E.M., Steffen, L.M., Moran, A., Basu, S., Steinberger, J., Ross, J.A., Hong, C.P., & Sinaiko, A.R. (2009). Fruit and Vegetable Consumption and Its Relation to Markers of Inflammation and Oxidative Stress in Adolescents. *Journal of American Dietetic Association*, 109(3), 414–421.
30. Howatson, G., Gaze, D., & Someren, K.A. van (2005). The efficacy of ice massage in the treatment of exercise-induced muscle damage. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 15, 416–422.
31. Kanda, K., Sugama, K., Sakuma, J., Kawakami, Y., & Suzuki, K. (2014). Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage. *Exercise Immunology Review*, 20, 39–54.
32. Knitter, A.E., Panton, L., Rathmacher, J.A., Petersen, A., & Sharp, R. (2000). Effects of beta-hydroxy-methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run. *Journal of Applied Physiology*, 89(4), 1340–1344.
33. Krupp, L.B., LaRocca, N.G., Muir-Nash, J., & Steinberg, A.D. (1989). The Fatigue Severity Scale: application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Archives of Neurology*, 46(10), 1121–1123.
34. Latha, B., Ramakrishnan, M., Jayaraman, V., & Babu, M. (1998). The efficacy of trypsin: chymotrypsin preparation in the reduction of oxidative damage during burn injury. *Burns*, 24(6), 532–538.
35. Lotito, S.B., & Frei, B. (2006). Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology and Medicine*, 41(12), 1727–1746.
36. Marzin, T., Lorkowski, G., Reule, C., Rau, S., Pabst, E., Vester, J.C., & Pabst, H. (2017). Effects of a systemic enzyme therapy in healthy active adults after exhaustive eccentric exercise: a randomised, two-stage, double-blinded, placebo-controlled trial. *BMJ Open Sport & Exercise Medicine*, 2(1). doi: 10.1136/bmjsem-2016-000191.

37. Mathur, N., & Pedersen, B. (2008). Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2008. doi: 10.1155/2008/109502.
38. Maurer, H.R. (2001). Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(9), 1234–1245.
39. Melzack, R. (1975). The McGill Pain Questionnaire: Major Properties and Scoring Methods. *Pain*, 1(3), 277–299.
40. Melzack, R. (1986). The short-form McGill Pain Questionnaire. *Pain*, 30(2), 191–197.
41. Meyer, R., (2013). Nichtsteroidale Antiphlogistika - Erhöhtes Herzinfarkttrisiko bei Langzeitanwendung. *Deutsches Ärzteblatt*, 110(33-34), B-1378. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60900-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60900-9).
42. Middleton, E. Jr, Kandaswami, C., & Theoharides, T.C. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673–751.
43. Miller, P.C., Bailey, S.P., Barnes, M.E., Derr, S.J., & Hall, E.E. (2004). The effects of protease supplementation on skeletal muscle function and DOMS following downhill running. *Journal of Sports Sciences*, 22(4), 365–372.
44. Neuberger, G.B. (2003). Measures of Fatigue; The Fatigue Questionnaire, Fatigue Severity Scale, Multidimensional Assessment of Fatigue Scale, and Short Form-36 Vitality (Energy/Fatigue) Subscale of the Short Form Health Survey. *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)*, 49(5S), 175–183.
45. Neumayer, C., Fügl, A., Nanobashvili, J., Blumer, R., Punz, A., Gruber, H., Polterauer, P., & Huk, I. (2006). Combined Enzymatic and Antioxidative Treatment Reduces Ischemia-Reperfusion Injury in Rabbit Skeletal Muscle. *Journal of Surgical Research*, 133(2), 150–158.
46. Nieman, D.C. (1997). Risk of upper respiratory tract infection in athletes: an epidemiologic and immunologic perspective. *Journal of Athletic Training*, 32(4), 344–349.

47. Nieman, D.C., Henson, D.A., Smith, L.L., Utter, A.C., Vinci, D.M., Davis, J.M., Kaminsky, D.E., & Shute, M. (2001). Cytokine changes after a marathon race. *Journal of Applied Physiology*, *91*(1), 109–114.
48. Ogueta-Alday, A., Morante, J.C., Gomez-Molina, J., & Garcia-Lopez, J. (2018). Similarities and differences among half-marathon runners according to their performance level. *PLoS ONE*, *13*(1). doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191688>.
49. Ostrowski, K., Rohde, T., Zacho, M., Asp, S., & Pedersen, B.K. (1998). Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *The Journal of Physiology*, *508*(3), 949–953.
50. Ostrowski, K., Schjerling, P., & Pedersen, B.K. (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans - effect of intensity of exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *83*(6), 512–515.
51. Pedersen, B.K., Steensberg, A., & Schjerling P. (2001). Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *The Journal of Physiology*, *536*(2), 329–337.
52. Petersen, A.M., & Pedersen, B.K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of Applied Physiology*, *98*(4), 1154–1162.
53. Petersen, E.W., Ostrowski, K., Ibfelt, T., Richelle, M., Offord, E., Halkjaer-Kristensen, J., & Pedersen, B.K. (2001). Effect of vitamin supplementation on cytokine response and on muscle damage after strenuous exercise. *American Journal of Physiology- Cell Physiology*, *280*(6), C1570–1575.
54. Puschendorf, B., & Mair, J. (1998). Kardiale Diagnostik. In L. Thomas (Ed.), *Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik* (pp. 103-122). Frankfurt/Main: TH-Books VerlagsgesellschaftmbH.
55. Ra, S.G., Miyazaki, T., Ishikura, K., Nagayama, H., Komine, S., Nakata, Y., Maeda, S., Matsuzaki, Y., & Ohmori, H. (2013). Combined effect of branched-chain amino acids and taurine supplementation on delayed onset muscle soreness and muscle damage in high-intensity eccentric exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, *10*(1), 51. doi: 10.1186/1550-2783-10-51.

56. Radvilla, A., Adler, R.H., Galeazzi, R.L., & Vorkauf, H. (1987). The development of a German language (Berne) pain questionnaire and its application in a situation causing acute pain. *Pain*, 28(2), 185–195.
57. Salinero, J.J., Soriano, M.L., Ruiz-Vicente, D., Gonzalez-Millan, C., Areces F., Gallo-Salazar, C, Abian-Vicen, J., Lara, B., & Del Coso, J. (2016). Respiratory function is associated to marathon race time. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 56(12), 1433–1438.
58. Santos, R.V., Bassit, R.A., Caperuto, E.C., & Costa Rosa, L.F. (2004). The effect of creatine supplementation upon inflammatory and muscle soreness markers after a 30km race. *Life Sciences*, 75(16), 1917–1924.
59. Scherr, J., Braun, S., Schuster, T., Hartmann, C., Moehlenkamp, S., Wolfarth, B., Pressler, A., & Halle, M. (2011). 72-h Kinetics of High-Sensitive Troponin T and Inflammatory Markers after Marathon. *Medicine & Science in Sports & Exercises*, 43(10), 1819–1827.
60. Scherr, J., Nieman, D.C., Schuster, T., Habermann, J., Rank, M., Braun, S., Pressler, A., Wolfarth, B., & Halle, M. (2012). Non-Alcoholic Beer Reduces Inflammation and Incidence of Respiratory Tract Illness. *Medicine & Science in Sports & Exercises*, 44(1), 18–26.
61. Siegel, A.J., Silverman, L.M., & Evans, W.J. (1983). Elevated skeletal muscle creatine kinase MB isoenzyme levels in marathon runners. *Journal of the American Medical Association*, 250(20), 2835–2837.
62. Smith, J.E., Garbutt, G., Lopes, P., & Tunstall Pedoe, D. (2004). Effects of prolonged strenuous exercise (marathon running) on biochemical and haematological markers used in the investigation of patients in the emergency department. *British Journal of Sports Medicine*, 38(3), 292–294.
63. Stein, W. (1998). Creatinkinase (Gesamtaktivität). Creatinkinase-Isoenzyme und –Varianten. In L. Thomas (Ed.), *Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik* (pp. 73-83). Frankfurt/Main: TH-Books VerlagsgesellschaftmbH.

64. Stein, C., & Mendl, G. (1988). The German counterpart to McGill Pain Questionnaire. *Pain*, 32(2), 251–255.
65. Synlab (2019). Leistungsverzeichnis human, Augsburg. Retrieved from <https://www.synlab.de/leistungsverzeichnis/augsburg> on 18.09.2019.
66. Tal, A. (2008). Schmerzen Evaluieren: Assessment: Short-Form McGill Pain Questionnaire. *Physiopraxis*, 6(6), 38–39.
67. Tanda, G., & Knechtle, B. (2015). Effects of training and anthropometric factors on marathon and 100 km ultramarathon race performance. *Open Access Journal of Sports Medicine*, 28(6), 129–136.
68. Tee, J.C., Bosch, A.N., & Lambert, M.I. (2007). Metabolic consequences of exercise-induced muscle damage. *Sports Medicine*, 37(10), 827–836.
69. Vickers, A.J. (2001). Time course of muscle soreness following different types of exercise. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2(5). doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2474-2-5>.
70. Warhol, M.J., Siegel, A.J., Evans, W.J., & Silverman, L.M. (1985). Skeletal Muscle Injury and Repair in Marathon Runners after Competition. *American Journal of Pathology*, 118(2), 331–339.
71. WHO (1948). Preamble to the constitution of the world health organization as adopted by the international health conference. New York, 19-22 June, 1946; signed on 22 July 1946 by the representatives of 61 States. *Official Records of the World Health Organization*, 2, 100.
72. Yimam, M., Lee, Y.C., Jiao, P., Brownell, L., Hyun, E., & Jia, Q. (2016). UO1306, a Botanical Composition with Analgesic and Anti-inflammatory Effect. *Pharmacognosy Research*, 8, 186–192.
73. Yimam, M., Talbott, S.M., Talbott, J.A., Brownell, L., & Jia, Q. (2018). AmLexin, a standardized blend of Acacia catechu and Morus alba, shows benefits to delayed onset muscle soreness in healthy runners. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, 22(4), 20–31.

## 9. Anhang

### 9.1. Fatigue Severity Scale: Täglicher Symptomreport

Datum : xx.10.2013

Probandennummer: xxx

**Bitte kreuzen Sie zu jeder der folgenden Aussagen das Zutreffende an:**

(1=trifft nicht zu; 6=trifft voll zu)

| <i>Während des Tages habe ich festgestellt:</i>  | trifft nicht zu       |                       |                       |                       |                       | trifft voll zu        |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|  | 1                     | 2                     | 3                     | 4                     | 5                     | 6                     |
| Ich habe weniger Motivation, wenn ich erschöpft bin.                                   | <input type="radio"/> |
| Körperliche Betätigung führt zu mehr Erschöpfung.                                      | <input type="radio"/> |
| Ich bin schnell erschöpft.   | <input type="radio"/> |
| Die Erschöpfung beeinflusst meine körperliche Belastbarkeit.                           | <input type="radio"/> |
| Die Erschöpfung verursacht Probleme für mich.  | <input type="radio"/> |
| Meine Erschöpfung behindert körperliche Betätigung.                                    | <input type="radio"/> |
| Die Erschöpfung behindert mich an der Ausführung bestimmter Aufgaben und Pflichten.    | <input type="radio"/> |
| Die Erschöpfung gehört zu den drei mich am meisten behindernden Beschwerden.           | <input type="radio"/> |
| Die Erschöpfung hat Einfluss auf meine Arbeit, meine Familie bzw. mein soziales Leben. | <input type="radio"/> |

## 9.2. Short Form McGill Pain Questionnaire: Täglicher Symptomreport

Datum : xx.10.2013

Probandennummer: xxx

Wie fühlt sich der Schmerz an? Einige der folgenden Wörter beschreiben Ihren momentanen Schmerz. Kreuzen Sie bitte die Wörter an, welche den Schmerz am besten beschreiben.

**I. Normativ geschätzter Schmerzindex:** Die untenstehenden Worte beschreiben den durchschnittlichen Schmerztyp. Setzen Sie ein Kreuz (x) für alle nachstehenden Schmerztypen in diejenige Spalte, die Ihrer gefühlten Schmerzstärke/Intensität entspricht.

|               |                      | keine<br>(0) | gering/leicht<br>(1) | mäßig<br>(2) | stark<br>(3) |
|---------------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|--------------|
| <b>Ia</b>     | klopfend             |              |                      |              |              |
|               | einschießend         |              |                      |              |              |
|               | stechend             |              |                      |              |              |
|               | scharf               |              |                      |              |              |
|               | klemmend             |              |                      |              |              |
|               | nagend               |              |                      |              |              |
|               | heiß/brennend        |              |                      |              |              |
|               | schmerzend           |              |                      |              |              |
|               | schwer               |              |                      |              |              |
|               | empfindlich          |              |                      |              |              |
| durchtrennend |                      |              |                      |              |              |
| <b>Ib</b>     | ermüdend/erschöpfend |              |                      |              |              |
|               | Übelkeit erregend    |              |                      |              |              |
|               | beängstigend         |              |                      |              |              |
|               | bestrafend/grausam   |              |                      |              |              |

### II. Momentane Schmerzintensität – Visuelle Analogskala (VAS)

Markieren Sie auf der untenstehenden Skala Ihre Schmerzintensität.

0 \_\_\_\_\_ 100

schmerzfrei

denkbar schlimmster Schmerz

### III. Beurteilung der Intensität der gesamten Schmerzerfahrung:

Setzen Sie ein Kreuz (x) in die passende Zeile

| Beurteilung |               |
|-------------|---------------|
| 0           | schmerzfrei   |
| 1           | gering/leicht |
| 2           | unangenehm    |
| 3           | belastend     |
| 4           | fürchterlich  |
| 5           | qualvoll      |

## 10. Publikationen und Studien

Eine Verwendung der Daten der Enzy-MagIC-Studie findet sich ebenfalls in den Publikationen:

„The effects of oral hydrolytic enzymes and flavonoids on inflammatory markers and coagulation after marathon running: study protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial”, Grabs, V., Niemann, D.C., Haller, B., Halle, M., Scherr, J., *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation* (Feb 2014); 22;6(1): 8.

„Decreased prevalence of cardiac arrhythmias during and after vigorous and prolonged exercise in healthy male marathon runners“, Grabs, V., Peres, T., Zelger, O., Haller, B., Pressler, A., Braun, S., Halle, M., Scherr, J., *American Heart Journal* (Jul 2015); 170(1):149-55.

„Rutoside and Hydrolytic Enzymes Do Not Attenuate Marathon-Induced Inflammation.“, Grabs, V., Kersten, A., Haller, B., Braun, S., Niemann, D.C., Halle, M., Scherr, J., *Medicine and Science in Sports and Exercise* (2017); 39(1): 387–395.

„Running multiple marathons is not a risk factor for premature subclinical vascular impairment.“, Pressler, A., Suchy, C., Friedrichs, T., Dallinger, S., Grabs, V., Haller, B., Halle, M., Scherr, J., *European Journal of Preventive Cardiology* (Aug 2017); 24(12): 1328-1335.

„Changes of Intima-Media Thickness in Marathon Runners: a mid-term follow-up.“, Müller J, Dahm V, Lorenz ES, Pressler A, Haller B, Grabs V, Halle M, Scherr J., *European Journal of Preventive Cardiology* (Aug 2017); 24(12): 1336-1342.

„Prolonged and Strenuous Exercise does not influence Serum Relaxin Levels in Healthy Male Marathon Runners“, Schoenefeld, J., Haller, B., Weichenberger, M., Loreny, E., Grabs, V., Halle, M., Scherr, J., *European Journal of Preventive Cardiology* (Dec 2020); 27(19): 2351-2353.

„Amendment on the findings of two previously published articles“, Scherr, J., Halle, M., *European Journal of Preventive Cardiology*, (Mar 2018); 25(5): 558.

„Metabolite Shifts Induced by Marathon Race Competition Differ between Athletes Based on Level of Fitness and Performance: A Substudy of the Enzy-MagIC Study.“, Schader, J.F., Haid, M., Cecil, A., Schoenfeld, J., Halle, M., Pfeufer, A., Prehn, C., Adamski, J., Nieman, D.C., Scherr, J., *Metabolites* (2020); 10(3): 87.

Ergebnisse dieser Arbeit wurden bereits präsentiert bei der DGSP (Deutsche Gesellschaft für Sportmedizin und Prävention) 2015 “Muskuläre Marker und Schmerzen nach einem Marathon sind abhängig von der Trainingsvorbereitung” Grabs, V., Lindner, N., Haller, B., Pressler, A., Halle, M., Scherr, J., *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 66. Jahrgang 7-8/2015, sowie beim Deutschen Olympischen Sportärztekongress Hamburg 2018 und dem 21. ECSS (European College of Sport Science) Congress Wien 2016 “Rutoside and hydrolytic enzymes enhance antioxidant capacity after vigorous exercise” von Grabs, V., Lindner, N., Haller, B., Pressler, A., Nieman, D.C., Halle, M., Scherr, J..

Ebenfalls beteiligt an der Planung, Ausführung, Datenerhebung und Analyse der Enzy-MagIC-Studie aus dem Jahr 2013 waren die Doktoranden Dahm, V. (Follow-Up der Vorgänger-Studie aus dem Jahr 2009), Kersten, A. (Inflammationsparameter), Lapp, N. (Gerinnungs- und oxidative Parameter), Peres, T. (Herzrhythmus-Störungen), Röper, T. (Myokardschaden), sowie Trommler, A..

Durch diese Doktoranden finalisierte Dissertationen:

„Prolongiert erhöhtes kardiales Troponin als Nachweis eines myokardialen Schadens nach Marathon“, Röper, T., Dissertation 2019, TUM, Fakultät für Medizin, Betreuer Halle, M. (Prof. Dr.)

„Langzeit-Follow-up von Marathonläufern im Hinblick auf das vaskuläre System“, Dahm, V., Dissertation 2020, TUM, Fakultät für Medizin, Betreuer Halle, M. (Prof. Dr.)

Die Studiendesigns wurden bereits im Kapitel 3 näher beschrieben.