

Universität Ulm

in Kooperation mit der Sportklinik Stuttgart

Chefarzt: Priv.-Doz. Dr. med. habil. Frieder Mauch M.A.

**Individualisiertes
Erholungs- und Beanspruchungsmonitoring
mit Biomarkern im professionellen
Handballsport**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Ulm

Alexander-Stephan Henze

Halle (Saale)

2021

Amtierender Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Frieder Mauch M.A.

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. biol. hum. Gunnar Treff

Tag der Promotion: 21.07.2022

Meiner Familie.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
Vorwort.....	V
1 Einleitung	1
1.1 Hintergrund und Ziele des Monitorings im Spitzensport	1
1.2 Belastung und Beanspruchung im Spitzensport	2
1.3 Der akute Erholungs- und Beanspruchungszustand	3
1.4 Biomarker und ihr Einsatz in Mannschaftssportarten.....	4
1.5 Möglichkeiten zur Individualisierung	6
1.6 Zielsetzung	7
2 Material und Methoden.....	8
2.1 Studienpopulation.....	8
2.1.1 Anthropometrische Merkmale der Studienpopulation.....	8
2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien	9
2.1.3 Abbruchkriterien	9
2.1.4 Informierte Einwilligung, Ethikvotum und Datenschutz	9
2.2 Studientyp	10
2.3 Studienzeitraum	10
2.4 Messverfahren.....	11
2.4.1 Biomarker	11
2.4.2 Psychometrische Verfahren	20
2.5 Software	21
2.6 Klassifizierungsverfahren	22
2.7 Statistische Methoden und grafische Darstellung.....	22
2.7.1 Deskriptive Statistik und explorative Datenanalyse.....	22
2.7.2 Mehrebenenanalyse	23
2.7.3 Vergleich der Klassifizierungsverfahren	25

3	Ergebnisse.....	26
3.1	Merkmale der Studienpopulation.....	26
3.2	Deskriptive Statistik und explorative Datenanalyse.....	27
3.3	Interferenzstatistische Datenanalyse	32
3.3.1	Auswahl eines geeigneten linearen Modells.....	33
3.3.2	Ergebnisse der endgültigen linearen Modelle	38
3.4	Referenzbereiche der Biomarker	41
3.4.1	Gruppenbasierte Referenzbereiche.....	41
3.4.2	Individualisierte Referenzbereiche	43
3.5	Vergleich der Klassifizierungsverfahren	48
4	Diskussion	50
4.1	Methodendiskussion.....	51
4.1.1	Studiendesign	51
4.1.2	Messverfahren.....	54
4.1.3	Statistische Methoden.....	55
4.2	Ergebnisdiskussion	57
4.2.1	Muskuläre Beanspruchung im professionellen Handballsport	57
4.2.2	Metabolische Beanspruchung im professionellen Handballsport	60
4.2.3	Sportspezifische Referenzbereiche der Biomarker.....	63
4.2.4	Klassifikatorische Leistung des Individualisierungsverfahrens	66
4.3	Schlussfolgerungen und Ausblick	68
5	Zusammenfassung.....	71
6	Literaturverzeichnis	73
	Anhang.....	81
	Abbildungsverzeichnis.....	81
	Tabellenverzeichnis.....	82
	Danksagung	83
	Lebenslauf	84

Abkürzungsverzeichnis

ACWR	<u>A</u> cute <u>c</u> hronic <u>w</u> orkload <u>r</u> atio, Verhältnis von akuter und chronischer Trainingsbelastung oder -beanspruchung
ADP	<u>A</u> denosin <u>d</u> iphosphat
AEB	<u>A</u> kutmaß <u>E</u> rholung und <u>B</u> eanspruchung
AIC	<u>A</u> kaike <u>i</u> nformation <u>c</u> riterion
AMP	<u>A</u> denosin <u>m</u> onophosphat
ARSS	<u>A</u> cute <u>r</u> ecovery and <u>s</u> tress <u>s</u> cale, englische Version des AEB
AU	<u>A</u> rbitrary <u>u</u> nits, englischer Begriff für Arbeitseinheit, Einheit für die durch sportliche Belastung verursachte innere Beanspruchung
BIC	<u>B</u> ayesian <u>i</u> nformation <u>c</u> riterion
BUN	<u>B</u> lood <u>u</u> rea <u>n</u> itrogen, englischer Begriff für Harnstoff-N
CK	<u>C</u> reatin <u>k</u> inase
DGKL	<u>D</u> eutsche <u>G</u> esellschaft für <u>k</u> linische Chemie und <u>L</u> aboratoriumsmedizin e. V.
E	<u>E</u> xtinktion
EDTA	<u>E</u> thylend <u>a</u> mintetra <u>a</u> cetat
F	Kalibrationskonstante bei der Berechnung der CK-Aktivität
G6P-DH	<u>G</u> lucose- <u>6</u> -phosphat- <u>D</u> ehydrogenase
h	<u>h</u> ours, Stunde(n), 60 min
Hct	<u>H</u> ämatocrit, Anteil zellulärer Bestandteile des Blutvolumens

HIIT	<u>H</u> och <u>i</u> ntensives <u>I</u> ntervall <u>t</u> rain <u>ing</u>
IFCC	<u>I</u> nternational <u>F</u> ederation of <u>C</u> linical <u>C</u> hemistry and Laboratory Medicine
IUPAC	<u>I</u> nternational <u>U</u> nion of <u>P</u> ure and <u>A</u> ppplied <u>C</u> hemistry
IVD	<u>I</u> n- <u>v</u> itro- <u>D</u> iagnostik <u>u</u> m
KEB	<u>K</u> urzskala <u>E</u> rholung und <u>B</u> beanspruchung
kU/l	<u>K</u> ilo- <u>U</u> nits pro <u>L</u> iter, Enzymeinheit bezogen auf das Volumen
NADP	<u>N</u> icotinsäureamid- <u>A</u> denin- <u>D</u> inukleotid- <u>P</u> hosphat
NFOR	<u>N</u> on- <u>f</u> unctional <u>o</u> ver <u>r</u> eaching, englischer Begriff für eine nicht-funktionelle Anpassungsreaktion nach körperlichem Training
NR	<u>N</u> on- <u>R</u> ecovered, englischer Begriff für den physiologischen Zustand „Ermüdet“
OTS	<u>O</u> ver <u>t</u> raining <u>s</u> yndrom <u>e</u> , englischer Begriff für das Übertrainings-syndrom
R	<u>R</u> ecovered, englischer Begriff für den physiologischen Zustand „Erholt“
REML	<u>R</u> estricted <u>m</u> aximum <u>l</u> ikelihood, englischer Begriff für eine statistische Schätzmethode
RPE	Borg's <u>R</u> ating of <u>p</u> erceived <u>e</u> xertion, englischer Begriff für ein Messinstrument zur Bewertung der subjektiven Anstrengung
SRSS	<u>S</u> hort <u>r</u> eco <u>v</u> ery and <u>s</u> tress <u>s</u> cale, englische Version der KEB
U	<u>U</u> rea, lateinischer und englischer Begriff für Harnstoff
U/min	<u>U</u> mdrehung(en) je Minute
U/l	<u>U</u> nits pro <u>L</u> iter, Enzymeinheit bezogen auf das Volumen
VK	<u>V</u> ariations <u>k</u> oeffizient
VO ₂ max	<u>M</u> aximale Sauerstoffaufnahme, <u>m</u> l <u>O</u> ₂ /min

Vorwort

Die vorliegende Arbeit knüpfte inhaltlich an die Stufe 2 (Interventions-/Feldstudien) der Hauptuntersuchungen des vom Bundesinstitut für Sportwissenschaft geförderten Projekts „Optimierung von Training und Wettkampf: Regenerationsmanagement im Spitzensport (REGman)“ (AZ IIA1-081901/2012-2021) an. Sie war jedoch kein Teil dieses Verbundprojekts, das zum Forschungsprogramm für das Wissenschaftliche Verbundsystem im Leistungssport gehört. Der verwendete und erstmalig im professionellen Handballsport untersuchte Algorithmus zur Normwertindividualisierung von Ermüdungsindikatoren wurde von der Arbeitsgruppe um Herrn Professor Tim Meyer (Institut für Sport- und Präventivmedizin der Universität des Saarlandes) als Open-Source-Spreadsheet der Allgemeinheit zur Verfügung gestellt. Der Verfasser der vorliegenden Arbeit wurde von Frau Priv.-Doz. Dr. Anne Hecksteden, einer Entwicklerin dieses Individualisierungsverfahrens, persönlich in dessen Verwendung unterwiesen. Die grafische Darstellung der individuellen Korridore der Biomarker wurde aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit an die Abbildungen aus der Originalarbeit und der darauf aufbauenden ersten Anwendungsstudie im deutschen Spitzensport angelehnt.

Die der vorliegenden Arbeit zu Grunde liegende klinische Anwendungsstudie im professionellen Handballsport erhielt nach Studienbeginn im Jahr 2019 eine Forschungsförderung durch den eingetragenen Verein Sporthilfe Württemberg.

Allgemeiner Hinweis

In dieser Arbeit wurde auf die Verwendung einer gendergerechten Sprache geachtet. Dennoch wurde aus Gründen der einfachen Lesbarkeit an manchen Stellen die männliche Wortform gewählt, die inhaltlich – sofern nicht anders gekennzeichnet – für die Wortformen aller Geschlechter gleichermaßen gilt.

1 Einleitung

1.1 Hintergrund und Ziele des Monitorings im Spitzensport

Das Monitoring hat in den letzten Jahren sowohl für den Spitzensport als auch in der trainingswissenschaftlichen und sportmedizinischen Forschung zunehmend an Bedeutung gewonnen [96]. Der Begriff des Monitorings bedeutet in diesem Zusammenhang die systematische Erfassung von Parametern, anhand derer die auf die Athleten einwirkenden Belastungen, die dadurch ausgelöste innere Beanspruchung sowie damit einhergehende Ermüdungs- und Erholungsprozesse im zeitlichen Verlauf quantifiziert werden sollen. Zudem sollten auch das subjektive Wohlbefinden und das Auftreten von Verletzungen, Überlastungsschäden und Krankheiten systematisch überwacht werden [30, 85]. Im trainingswissenschaftlichen Kontext sollen Monitoringdaten vor allem dabei helfen, die Trainings- und Belastungssteuerung möglichst optimal zu gestalten, um die Leistungsfähigkeit der Athleten im Training zu steigern und im Wettkampf vollständig zur Verfügung zu stellen. Aus sportmedizinischer Sicht hat die Gesunderhaltung der Athleten höchste Priorität.

Monitoringverfahren sind somit in der Sportbetreuung und in der Forschung von grundlegender Bedeutung, um den Zusammenhang zwischen Belastungen und dem Verletzungs- und Krankheitsrisiko sowie dem Auftreten von leistungsmindernden chronischen Anpassungsreaktionen wie dem nicht-funktionellen Overreaching (NFOR) oder dem Übertrainingssyndrom (OTS, vom englischen Begriff Overtraining syndrome) aufzuzeigen [85]. Hierzu kommen verschiedene physikalische, biologische und psychologische Parameter in Betracht, von denen einige bereits seit Jahrzehnten im Spitzensport genutzt werden [30]. Der technologische Fortschritt in der gerätegestützten Datenerfassung, softwarebasierten Datenauswertung sowie grafischen Darstellung eröffnete auch in Mannschaftssportarten neue Perspektiven, um der Trainingsleitung binnen kürzester Zeit in verständlicher Form Aufschluss über den Zustand der Athleten zu geben [31, 78].

1.2 Belastung und Beanspruchung im Spitzensport

Auf moderne Spitzensportler wirken insbesondere durch Training und Wettkampf Belastungen zu verschiedenen Zeiten und in verschiedenen Formen ein. Dabei ist ein ständig wachsender und zunehmend überlasteter Terminkalender zu beobachten. Neben den sportlichen Belastungen treten im restlichen täglichen Leben einer professionell sporttreibenden Person auch weitere Belastungen auf. Dazu zählen neben Reisen auch alltägliche Tätigkeiten, Probleme im häuslichen Umfeld und mit der Familie, Freizeitaktivitäten sowie anderweitige berufliche oder studienbedingte Verpflichtungen [8, 85, 88]. Bei einer Belastung kann es sich um einzelne oder mehrere physiologische, psychologische oder mechanische Stressoren handeln. Anstrengende Trainingseinheiten und vor allem Wettkampfsituationen sind als eine kombinierte Belastung auf unterschiedlichen Ebenen anzusehen.

Die individuelle psychophysiologische Antwort auf eine Belastung wird im deutschen Sprachraum Beanspruchung genannt [85]. Beide Begriffe werden im alltäglichen Sprachgebrauch häufig synonym verwendet, im wissenschaftlichen Kontext sind sie jedoch klar voneinander abzugrenzen. Die Beanspruchung hängt neben der erfahrenen Belastung von weiteren Faktoren ab. Manche Faktoren wie der Trainingszustand, der Flüssigkeitshaushalt oder das Ernährungs- und Schlafverhalten sind beeinflussbar, andere wiederum sind unveränderlich genetisch festgelegt. Aus diesem Grund kann sich die Beanspruchung bei Athleten auf einem Leistungsniveau, zum Beispiel innerhalb einer Mannschaft, durch dieselbe Belastung unterscheiden [43]. Zudem kann sie trotz identischer Belastung bei einem Individuum zu verschiedenen Zeitpunkten unterschiedlich ausgeprägt sein [8, 22, 24].

Zur Erfassung des akuten Beanspruchungsgrads kommen in der Sportpraxis und in der Forschung seit Jahren verschiedene physiologische, biochemische, psychometrische und auch kombinierte Verfahren zum Einsatz, die häufig apparative Hilfsmittel erfordern [7, 8, 22, 23, 36, 81, 82, 85]. Unter diesen subjektiven oder objektiven Verfahren zur Erfassung der Beanspruchung findet sich bis heute leider kein einzelner Parameter, der das Auftreten einer akuten Verletzung oder Krankheit sowie chronischer Auswirkungen wie Überlastungsschäden, NFOR oder OTS konsistent vorhersagen lässt [24, 60].

1.3 Der akute Erholungs- und Beanspruchungszustand

Belastungen führen im menschlichen Organismus unweigerlich zu Ermüdungsprozessen, die zumindest vorübergehend mit einer reduzierten Leistungsfähigkeit einhergehen. Gleichzeitig setzen abhängig von der ausgelösten Beanspruchung Erholungsprozesse ein, die unter anderem der Wiederherstellung der Leistungsfähigkeit dienen. Die Kombination aus adäquater Belastung und hinreichender Erholung kann zu einem Trainingseffekt im Sinne einer gesteigerten Leistungsfähigkeit und erhöhten Belastbarkeit führen. Erholungs- und Ermüdungsprozesse finden auf verschiedenen physiologischen und psychologischen Funktionsebenen mit unterschiedlicher Geschwindigkeit und Ausprägung statt. Sie können als Kontinuum verstanden werden [21, 41, 62]. Der geplante, zielgerichtete und kontrollierte Prozess, um nach einer Beanspruchung die subjektiv geeignetsten Handlungsvoraussetzungen zur Bewältigung nachfolgender Anforderungen zu schaffen, wird gemäß Renzland und Eberspächer als Regeneration bezeichnet [43].

Regenerationsmaßnahmen sind in den letzten Jahren in den Fokus des Spitzensports und der Forschung gerückt, da viele Protagonisten der Meinung sind, dass die Belastungen zur Erhöhung der Leistungsfähigkeit im modernen leistungssportlichen Training unter Berücksichtigung der zunehmenden Wettkampfdichte kaum noch weiter gesteigert werden können [85]. Um den Regenerationsbedarf zu ermitteln und um mögliche Regenerationsmaßnahmen hinsichtlich ihres tatsächlichen Nutzens für die Athleten untersuchen zu können, ist eine systematische belastungsspezifische Erfassung des akuten Erholungs- und Beanspruchungszustands erforderlich. Aufgrund dessen wurde in der ersten Phase der Hauptuntersuchungen des von 2012 bis 2021 laufenden, vom Bundesinstitut für Sportwissenschaft geförderten Projekts „Optimierung von Training und Wettkampf: Regenerationsmanagement im Spitzensport (REGman)“ (AZ IIA1-081901) zunächst ein Diagnostikinventar entwickelt, das dem vielschichtigen Charakter von Ermüdung und Erholung gerecht werden sollte. Einen wichtigen Teil dieses Diagnostikinventars bildeten zwei sportspezifische, mehrdimensionale Fragebögen, das Akutmaß Erholung und Beanspruchung (AEB) und die daraus abgeleitete Kurzskala Erholung und Beanspruchung (KEB). Solche Fragebögen gelten in der Wissenschaft aufgrund ihres globalen Ansatzes seit vielen Jahren als Goldstandard zur Abbildung von Erholung und Beanspruchung [17, 36, 60, 81]. Darüber

hinaus haben sie einen hohen praktischen Wert, weshalb sie in der Sportpraxis auch tatsächlich eingesetzt werden. Dies belegen mehrere im Spitzensport durchgeführte wissenschaftliche Umfragen aus den letzten Jahren. In Australien und Neuseeland wurden von Personen, die ein Monitoring betreiben, mehrdimensionale Fragebögen mit 84 % als häufigstes Verfahren zur Erfassung von Ermüdung genannt [93]. Im europäischen Spitzenfußball wurden sie 2014 als zweithäufigstes Instrument zur Identifizierung von Verletzungsrisiken genannt, laut einer neueren Umfrage kamen sie bei 68 % der teilnehmenden Vereine im Beanspruchungsmonitoring zum Einsatz [1, 56]. Neben den genannten psychometrischen Verfahren, deren Schwäche die Durchschaubarkeit und die damit einhergehende Manipulierbarkeit durch die Athleten ist, lag ein Hauptaugenmerk der ersten Phase des REGman-Projekts auf der Untersuchung von Biomarkern zur objektiven Erfassung von Ermüdungs- und Erholungsprozessen im Sport [43, 62].

1.4 Biomarker und ihr Einsatz in Mannschaftssportarten

In Körperflüssigkeiten wie Speichel, Urin und Blut bestimmte Biomarker werden aufgrund ihrer Objektivität und Reproduzierbarkeit in der Forschung häufig zur Beurteilung von Ermüdungs- und Erholungsprozessen eingesetzt [17, 31, 62]. Der Begriff eines biochemischen Monitorings kam erstmalig durch Urhausen und Kindermann im Jahr 1992 auf, obwohl einige Biomarker, vor allem Laktat und Harnstoff (U, vom lateinischen Begriff Urea) schon seit Jahrzehnten Bestandteil der Forschung waren. Im Rahmen ihrer Übersichtsarbeiten wies diese Forschungsgruppe auch auf die Möglichkeiten von hormonellen (Testosteron, Cortisol) und immunologischen Biomarkern [97, 99] hin.

Harnstoff gilt als gut untersuchter Indikator für die metabolische Beanspruchung im Sport. Er wird als Endprodukt des Proteinkatabolismus in der Leber gebildet, wenn bei einer intensiven sportlichen Belastung nach Erschöpfen der Glykogenspeicher Aminosäuren zur Energiegewinnung abgebaut werden müssen. Daher kann die im Serum oder Plasma gemessene Harnstoffkonzentration zur Beurteilung dieser Ebene der Erholungs- und Ermüdungsprozesse herangezogen werden [25, 51, 99].

Das dimere Muskelenzym Creatinkinase (CK) ist ein weiterer etablierter Biomarker. Die im Sarkoplasma vorkommenden CK-Isoenzyme werden neben anderen intrazellulären Muskelproteinen bei Mikroschädigungen im Bereich der Z-Scheiben und des Sarkolemm in die interstitielle Flüssigkeit freigesetzt und gelangen über Lymphgefäße in die Blutbahn. Hier kann die Aktivität der Isoenzyme einzeln oder auch gemeinsam als Gesamt-CK gemessen werden [11, 35, 71, 72]. Mit solch einer CK-Freisetzung einhergehende Mikroschädigungen können durch wiederholt auftretende, kraftvolle Kontraktionen bei sportlicher Belastung verursacht werden [3, 70, 100]. Aus diesem Grund sind bei Athleten im Vergleich zu sportlich inaktiven Personen häufig auch nach kurzen Ruhephasen erhöhte CK-Werte zu beobachten, wobei der Anstieg der Aktivität nach sportlicher Belastung neben anderen Faktoren wie der Membranpermeabilität oder der Aktivität des lymphatischen Systems maßgeblich vom Trainingsstatus abhängt [17, 19, 33, 46, 66].

In einer aktuelleren Übersichtsarbeit zur Bedeutung von Biomarkern im Athletenmonitoring haben Lee et al. eine kombinierte Nutzung des Muskelproteins Myoglobin, der CK und des Harnstoffs zur Abbildung von Erholungs- und Ermüdungsprozessen empfohlen. Außerdem wurde die Wichtigkeit einer individualisierten Herangehensweise mit Baseline-Messungen hervorgehoben, da die auf die Allgemeinbevölkerung bezogenen Referenzbereiche für Athleten häufig nicht zutreffen [49]. Diese Schlussfolgerung entsprach größtenteils den Erkenntnissen des REGman-Projekts, dessen Untersuchungen sich zunehmend auf den Einsatz der CK und des Harnstoffs konzentrierten. Dabei wurde die CK vor allem als zuverlässiger Ermüdungsindikator für Mannschaftssportarten vorgeschlagen, wohingegen der Harnstoff für Ausdauersportarten bedeutsam ist [29, 41]. Im Rahmen des REGman-Projekts wurden auch inflammatorische (z. B. C-reaktives Protein und Zytokine wie Interleukin-6), hormonelle (z. B. Cortisol, Testosteron) und metabolische Biomarker (z. B. die Aminosäuren Glutamin und Glutamat) untersucht. Für diese Biomarker fanden sich jedoch noch keine überzeugenden Argumente, die eine Nutzung in der täglichen Routine rechtfertigten [31, 62]. Auch eine kürzlich veröffentlichte Feldstudie von Reichel et al. unterstützte die Verwendung der Creatinkinase als Monitoringinstrument zur Quantifizierung der Beanspruchung nach sportlicher Belastung und im Regenerationsmanagement [77].

Ein bekanntes Problem beim Einsatz der etablierten Biomarker CK und Harnstoff ist deren große inter- und intraindividuelle Variabilität. Sie betrifft im sportlichen Zusammenhang sowohl die sogenannten Baseline-Werte als auch die jeweilige

individuelle Antwort auf sportliche Belastungen [10, 11, 16, 17, 24]. Daher wird seit mehreren Jahren in diesem Forschungsgebiet schwerpunktmäßig nach Ansätzen gesucht, die im Rahmen eines Monitorings mit Biomarkern individualisierte Entscheidungen ermöglichen können.

1.5 Möglichkeiten zur Individualisierung

In der Vergangenheit wurden trotz erheblicher interindividueller Unterschiede bei gleicher Belastungsform und -intensität zumeist gruppenbasierte Mittelwerte herangezogen, um mit Einzelmessungen den Grad der Erholung zu ermitteln. Mit dem Ziel einer genaueren, personalisierten Zuordnung wurde von Hecksteden et al. ein an den „Athlete Biological Passport“ angelehnter Bayes'scher Ansatz zur Normwertindividualisierung anhand der Biomarker Creatinkinase und Harnstoff vorgestellt [28]. Nachfolgende Untersuchungen im deutschen Leistungssport zeigten, dass die so reproduzierbar ermittelten individualisierten Referenzbereiche eine bessere Bewertung des akuten Erholungs- und Beanspruchungszustands erlauben. Durch die damit einhergehende genauere Ermittlung des akuten Regenerationsbedarfs kann die Trainingssteuerung optimiert werden [62]. Die grafische Darstellung der individuellen Korridore in kombinierten Punkt-/Liniendiagrammen wurde von den betreuenden Personen als Entscheidungshilfe positiv bewertet [4].

Als alternative Verfahren zur Individualisierung in einem Mannschaftssportumfeld wurden in den letzten Jahren auch modifizierte z-Scores vorgeschlagen. Diese lassen sich verhältnismäßig unkompliziert aus gemessenen Werten und zuvor definierten Richtwerten für das arithmetische Mittel und die Standardabweichung oder den Standardfehler berechnen. Zur Entwicklung solcher Richtwerte können Daten von ähnlichen Populationen aus der Literatur oder zuvor in derselben oder einer ähnlichen Population empirisch ermittelte Daten herangezogen werden. Ferner können auch gängige Erfahrungen der betreuenden Personen aus der Sportpraxis oder Expertenmeinungen berücksichtigt werden. Zur grafischen Darstellung modifizierter z-Scores als Entscheidungshilfe bieten sich in der Spitzensportbetreuung Netzdiagramme an [57].

1.6 Zielsetzung

Das vorrangige Ziel dieser klinischen Studie war die erstmalige Untersuchung eines Algorithmus zur Berechnung individualisierter Referenzbereiche für die Biomarker Creatinkinase und Harnstoff in der Olympischen Sportart Handball auf höchstem Leistungsniveau. Als Grundvoraussetzung musste für jeden Biomarker getrennt überprüft werden, ob folgende Hypothese für männliche Handballspieler ab einem Alter von 18 Jahren in der höchsten deutschen Spielklasse (Liqui Moly Handball-Bundesliga), die in der aktuellen Rangliste der Europäischen Handballföderation als zweitstärkste Liga geführt wird, zutreffen [18]:

Hypothese 1:

Die CK-Aktivität/Harnstoffkonzentration im venösen Blut nimmt im ermüdeten Zustand statistisch signifikant größere absolute Werte an als im erholten Zustand.

Wenn die Hypothese 1 für beide Biomarker angenommen werden konnte, sollte weiterführend überprüft werden, ob folgende Hypothesen für dieselbe Studienpopulation zutreffen:

Hypothese 2:

Es existieren statistisch signifikante interindividuelle Unterschiede hinsichtlich der CK-Aktivität/Harnstoffkonzentration im venösen Blut.

Hypothese 3:

Eine mit dem untersuchten Algorithmus berechnete individuelle Entscheidungsgrenze für die CK-Aktivität/Harnstoffkonzentration im venösen Blut geht im Vergleich zu einer von den Gruppenmittelwerten derselben Studienpopulation abgeleiteten Entscheidungsgrenze mit statistisch signifikant kleineren Fehlerraten bei der Zuordnung des akuten Erholungs- und Beanspruchungszustands einher.

2 Material und Methoden

2.1 Studienpopulation

In die Studie wurden 16 Probanden aus dem professionellen Leistungssport eingeschlossen. Alle Probanden waren während des gesamten Studienzeitraums als Handballspieler für eine Mannschaft in der höchsten deutschen Spielklasse aktiv. Die Probanden waren als Beobachtungseinheiten hinsichtlich der untersuchten Zielgrößen unabhängig voneinander. Eine etwaige Begleitmedikation wurde nicht verändert.

Die selektive Auswahl der Probanden aus einer professionellen Handballmannschaft ergab sich aus dem Umstand, dass nur die Spieler einer Mannschaft einen für die Studie wichtigen möglichst identischen Trainingsplan aufweisen. Außerdem weist eine komplette Handballmannschaft eine sehr hohe Repräsentativität für die Zielpopulation aller professionellen Handballspieler auf diesem Leistungsniveau auf. Eine Kontrollgruppe war aufgrund des Studiendesigns zur Beantwortung der Fragestellungen nicht notwendig.

2.1.1 Anthropometrische Merkmale der Studienpopulation

Die anthropometrischen Merkmale zur Beschreibung der Studienpopulation wurden im Rahmen der ohnehin durchgeführten Leistungstests zu Studienbeginn durch das Trainerteam erhoben. Diese Merkmale umfassten neben der stehenden Körpergröße und der Körpermasse auch den calipometrisch nach Jackson und Pollock ermittelten Körperfettanteil. Aus Körpermasse und Körperfettanteil wurde die fettfreie Körpermasse mit folgender Formel berechnet [37]:

$$\text{Fettfreie Körpermasse} = \text{Körpermasse in kg} \times \left(1 - \frac{\text{Körperfettanteil in \%}}{100}\right).$$

Die weiteren Merkmale wurden zu Studienbeginn durch den Studienarzt erhoben.

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Einschlusskriterien umfassten die aktive Ausübung der Olympischen Sportart Hallenhandball in der höchsten deutschen Spielklasse, ein Mindestalter von 18 Jahren und eine zuvor durchgeführte orthopädisch-chirurgische und internistisch-allgemeinmedizinische Sporttauglichkeitsuntersuchung. Diese ist für Spieler der höchsten deutschen Spielklasse ohnehin obligat und wird nach den Richtlinien der VBG (Verwaltungs-Berufsgenossenschaft), bei der die bezahlten Sportler in der Bundesrepublik Deutschland gesetzlich unfallversichert sind, jährlich durchgeführt.

Zu den Ausschlusskriterien zählten sowohl internistische Erkrankungen, die eine Kontraindikation für sportliche Belastungen darstellten, als auch orthopädische Erkrankungen oder Verletzungen, die sportliche Belastungen unmöglich machen. Als weiteres Ausschlusskriterium wurde die Einnahme von Medikamenten mit Einfluss auf die Zielgrößen der Studie festgelegt.

2.1.3 Abbruchkriterien

Als Abbruchkriterien galten neben einer mangelnden Compliance mit den Studienvorgaben auch Neuerkrankungen oder Verletzungen, die eine sportliche Belastung im gesamten Studienzeitraum unmöglich machten.

2.1.4 Informierte Einwilligung, Ethikvotum und Datenschutz

Vor Studienbeginn wurden die Probanden durch den Studienarzt auf Deutsch oder Englisch ausführlich mündlich und schriftlich aufgeklärt. Die Studienteilnahme erfolgte freiwillig. Die Zustimmung der zuständigen Ethikkommission (Landesärztekammer Baden-Württemberg) unter Berücksichtigung der Deklaration von

Helsinki aus dem Jahr 1975 in ihrer 2013 revidierten Fassung lag vor Studienbeginn vor (Aktenzeichen: F-2019-055, Bescheid vom 24.06.2019).

Die personenbezogenen Daten wurden während der Studie unter vollständiger Berücksichtigung der Datenschutzgrundverordnung erhoben und verarbeitet. Vor Studienbeginn lagen eine getrennte datenschutzrechtliche Erklärung der Studienleitung sowie Einwilligungserklärungen der Probanden in Schriftform vor. Die personenbezogenen Daten wurden in einer separaten Datenbank gespeichert. Dazu wurde den Probanden bei Studienbeginn eine Probandennummer zugewiesen, die nur den an der Studie beteiligten Personen eine Zuordnung ermöglichen sollte.

2.2 Studientyp

Bei der vorliegenden Arbeit handelte es sich um eine prospektive klinische Längsschnittstudie mit ausschließlich beobachtendem Ansatz. Es wurden somit Primärdaten der Zielgrößen erhoben und statistisch ausgewertet. Außerdem wurden im Rahmen der Aufnahme in die klinische Studie unterschiedliche Merkmale zur Beschreibung der Studienpopulation erhoben.

2.3 Studienzeitraum

Der Studienzeitraum umfasste insgesamt neun Monate und gliederte sich in zwei Phasen: Die Vorbereitungsperiode auf die Saison 2019/2020 wurde als Lernphase für die notwendigen Baseline-Messungen der Biomarker genutzt. Die nachfolgende Wettkampfperiode, die reguläre Saison 2019/2020 mit den Spielen im Ligabetrieb und zusätzlichen Spielen im nationalen Pokalwettbewerb, wurde als Monitoringphase für Einzelmessungen genutzt. Durch den Ausbruch der COVID-19-Pandemie (Coronavirus disease 2019) und der damit verbundenen deutschlandweiten Aussetzung des Handballspielbetriebs wurde die Monitoringphase gekürzt.

2.4 Messverfahren

Die als Indikatoren für die muskuläre beziehungsweise metabolische Beanspruchung geltenden Biomarker Creatinkinase und Harnstoff wurden als Zielgrößen für ein Monitoring ausgewählt und mit standardisierten Messverfahren erhoben.

Zusätzlich wurden die im Rahmen des REGman-Projekts entwickelte und in Anwendungsstudien evaluierte Kurzskala Erholung und Beanspruchung (KEB) beziehungsweise deren englische Version, die Short Recovery and Stress Scale (SRSS) [68], als psychometrische Verfahren zur Erfassung des akuten Erholungs- und Beanspruchungszustands ausgewählt. Die gut untersuchte Session-RPE-Methode wurde für ein begleitendes subjektives Beanspruchungsmonitoring eingesetzt.

2.4.1 Biomarker

Die Zeitpunkte für die Baseline-Messungen der ausgewählten Biomarker wurden anhand des zuvor festgelegten Vorbereitungsplans gemeinsam mit dem verantwortlichen Trainerteam bestimmt. Es wurden jeweils fünf Messzeitpunkte an fünf verschiedenen Tagen festgelegt, an denen die Probanden sicher zu den physiologischen Zuständen „Ermüdet“ (abgekürzt NR, vom englischen Begriff non-recovered) beziehungsweise „Erholt“ (abgekürzt R, vom englischen Begriff recovered) zugeordnet werden konnten.

Die Voraussetzung für eine NR-Messung waren mindestens drei vorausgegangene Tage mit sportarttypischen Belastungen in Form von Training (Athletik-/Krafttraining, handballspezifisches Mannschaftstraining) oder Wettkampf (Testspiele, auch im Rahmen von Turnieren). Außerdem musste dieser Zeitraum mindestens eine Athletik-/Krafteinheit beinhalten, um eine ausreichende Beanspruchung der großen Muskelgruppen zu gewährleisten. Als Voraussetzung für eine R-Messung galt ein vorausgegangener trainings- und wettkampffreier Tag, an dem die Probanden zudem keine anderen körperlich belastenden Tätigkeiten ausüben durften. Die Lernphase wurde mit einer NR-Messung begonnen, da der Einschluss eines R-Messwerts in den Algorithmus zur Normwertindividualisierung den Vergleich mit dem direkt vorausgegangenen NR-Messwert erforderte [28].

In der Monitoringphase fanden die Messungen in Absprache mit dem verantwortlichen Trainerteam unabhängig vom Erholungs- und Beanspruchungszustand statt, beispielsweise bei subjektiven Ermüdungserscheinungen oder auffälliger Psychometrie. Zudem wurde eine Messung am ersten Tag der Vorbereitungsphase als Messzeitpunkt mit unbekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand in die grafische Darstellung aufgenommen. Abb. 1 zeigt den geplanten zeitlichen Studienablauf der vorliegenden Arbeit.

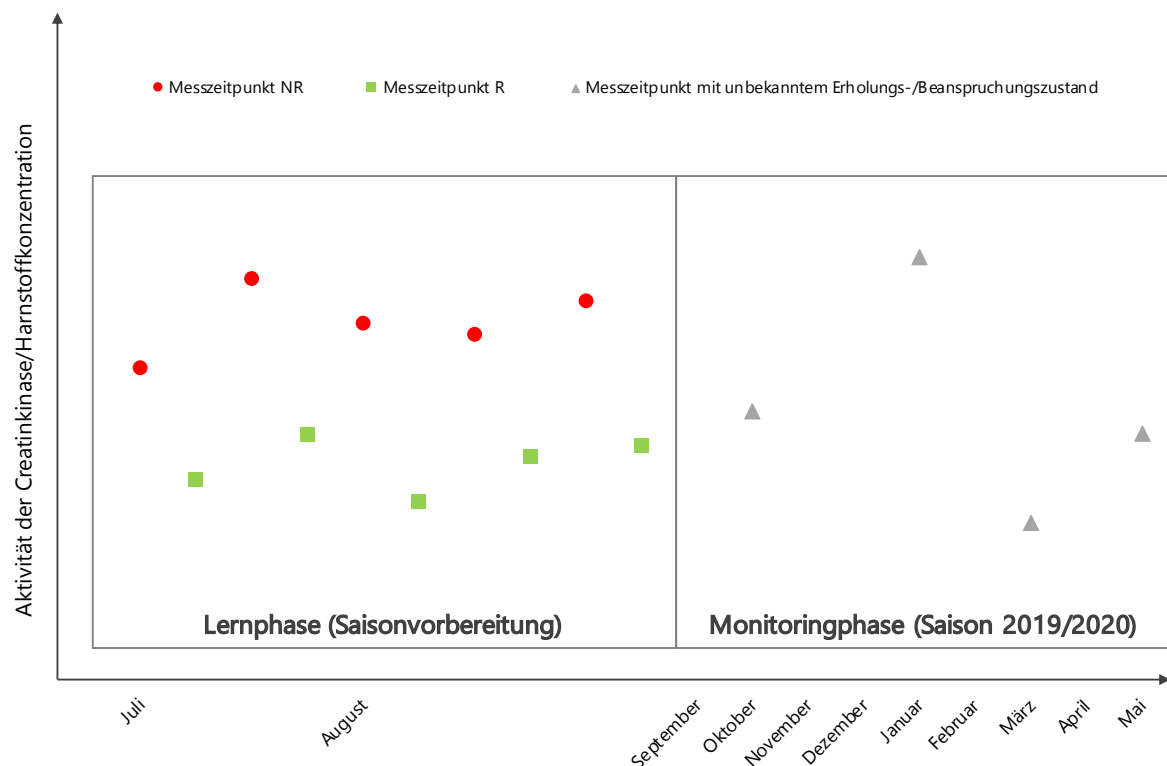


Abb. 1: Zeitlicher Ablauf der Messungen für die Biomarker Creatinkinase und Harnstoff. Abkürzungen: NR Non-Recovered, R Recovered.

Die venösen Blutentnahmen für die Baseline-Messungen der Biomarker im erholteten Zustand erfolgten an den fünf festgelegten Tagen nach Ankunft der Probanden in der Trainingshalle vor der ersten regulären Trainingseinheit des jeweiligen Tags, üblicherweise zwischen 8 Uhr und 9 Uhr morgens. Die venösen Blutentnahmen für die Baseline-Messungen im ermüdeten Zustand erfolgten dementsprechend an fünf festgelegten trainings- und wettkampffreien Tagen im gleichen Zeitfenster in verschiedenen Räumlichkeiten (Trainingshalle, Geschäftsstelle des Vereins oder in der Sportklinik Stuttgart).

Die venösen Blutentnahmen für die Messungen in der Monitoringphase fanden tageszeitunabhängig ebenfalls in einer der vorgenannten Räumlichkeiten statt.

2.4.1.1 Venöse Blutentnahmen

Die venösen Blutentnahmen wurden von den Studienärzten nach hygienischer Händedesinfektion durchgeführt. Im Rahmen der ersten Messung wurde nach einer 15-minütigen sitzenden Ruhephase je nach Befinden der Probanden eine sitzende oder liegende Lagerung zur Blutentnahme festgelegt, die für alle weiteren Blutentnahmen strikt beibehalten wurde.

Zur Blutentnahme wurde nach ausreichend langer Einwirkungszeit des Hautdesinfektionsmittels, gemäß Herstellerangaben mindestens 15 s, und möglichst kurzer Stauungsphase mithilfe eines 5 – 10 cm proximal der Punktionsstelle angelegten Venenstauers eine der großen oberflächlichen Venen der Ellenbeuge oder des körpernahen beugeseitigen Unterarms mit einer speziellen, 21 Gauge messenden Sicherheitskanüle punktiert. Anschließend wurden ungefähr 9 ml Vollblut mit einer passenden Ethylendiamintetraacetat (EDTA)-Monovette in Aspirationstechnik gemäß ihrer Herstelleranleitung entnommen. Nach Öffnen des Venenstauers und vorsichtigem Entfernen des Kanülensystems wurde die Einstichstelle zunächst mit einem handelsüblichen Pflaster durch die Studienärzte bedeckt und anschließend durch die Probanden selbst für mehrere Minuten manuell komprimiert. Die für die venösen Vollblutentnahmen verwendeten Arbeitsmittel sind in Tab. 1 aufgelistet.

Tab. 1: Übersicht der für die venösen Vollblutentnahmen verwendeten Arbeitsmittel.

Artikelbezeichnung	Hersteller, Herkunftsort
Aseptoderm® Alkoholisches Hautdesinfektionsmittel	Dr. Schumacher GmbH, Malsfeld, Deutschland
Curaplast® sensitive, hypoallergenes Injektionspflaster	Lohmann & Rauscher International GmbH & Co. KG, Rengsdorf, Deutschland
Peha-soft® nitrile FINO	PAUL HARTMANN AG, Heidenheim, Deutschland
Pur-Zellin® Zellstofftupfer von der Rolle, steril	PAUL HARTMANN AG, Heidenheim, Deutschland
Safety-Multifly®-Kanüle 21G 200 mm	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
S-Monovette® 9 ml K3E	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Venenstauer	Vivomed Krankenhausbedarfs GmbH, Geislingen an der Steige, Deutschland

2.4.1.2 Fotometrische Bestimmung der Biomarker

Zur quantitativen In-vitro-Bestimmung des Hämatokriten (Hct) und der Biomarker Creatinkinase und Harnstoff aus venösem EDTA-Blut wurde ein für die patientennahe Diagnostik bestimmtes, geeichtes, mobiles Laborgerät der Firma Diaglobal GmbH eingesetzt. Die Verarbeitung und Vorbereitung der Proben erfolgte ebenso wie die Durchführung der fotometrischen Bestimmung ausschließlich durch den Verfasser der vorliegenden Arbeit gemäß den nachfolgend beschriebenen Protokollen der herstellenden Firma. Die Referenzbereiche wurden aufgrund der ausschließlich männlichen Studien- und Zielpopulation nur für männliche Individuen angegeben. Als Maß für die Unpräzision wurde der Variationskoeffizient (VK) verwendet.

Protokoll „Hämatokrit“

Methode: Fotometrische Trübungsmessung
Endpunktmessung: Gemessen wird die Extinktion nach Erreichen des Endpunktes gegen den Reagenzien-Leerwert

Berechnung: $Hct [\%] = \Delta E \times \text{Faktor}$ (E...Extinktion)

Messbedingungen: Messwellenlängen: 365 nm, 520 nm, 546 nm, 560 nm
Messtemperatur: Raumtemperatur

Messbereich: 10 – 70 % (für 365 nm), 10 – 90 % (für 520 – 560 nm)

Unpräzision: Intra-Assay-VK: 0,9 – 1,4 %; Inter-Assay-VK: 1,2 – 1,6 %

Referenzbereich: Athleten 45 (40 – 50) % oder 0,45 (0,40 – 0,50) [47]

Kontrollmaterial: Erythrozyten- und Hämatokritkontrolllösung ERY QS

Reagenz: Gowers'sche Lösung (vorportioniert in Rundküvetten)

Natriumsulfat	194 mmol/l
Essigsäure	2,8 mol/l
pH-Wert	2,5

Durchführung:

- 10 µl frisches venöses EDTA-Blut aus Monovette in geöffnete Rundküvette mit Reagenzlösung pipettieren
- Verschlusskappe aufschrauben und Rundküvette mehrmals über Kopf schwenken
- Test <HCT> am mobilen Laborgerät anwählen
- unbearbeitete Rundküvette in das Fotometer einsetzen (Nullpunkteinstellung) und nach Signalton entfernen
- Rundküvette mit Blutprobe frühestens nach 3 min einsetzen und Ergebnis in % ablesen (unbegrenzte Serienmessung möglich, Messung binnen 20 min nach Mischen der Reagenzlösung mit der Blutprobe)

Protokoll „Creatinkinase“

Methode: 37° C-Standardmethode der IFCC [32]/DGKC modifiziert

Messprinzip: Aktivität der Gesamt-CK im Blut direkt proportional zur NADPH-Zunahme

Berechnung: $CK\text{-Aktivität [U/l]} = F \times (\Delta E) / (1 - 0,01 \times Hct)$

Messbedingungen: Messwellenlängen: 365 nm, 520 nm, 546 nm, 560 nm

Messtemperatur: 37° C

Messbereich: 20 – 2500 U/l

Unpräzision: Intra-Assay-VK: 2,4 – 3,3 %; Inter-Assay-VK: 2,8 – 3,7 %

Referenzbereich: Erwachsene „ambulante Patienten“ < 190 U/l [95]

Kontrollmaterial: Universal-Kontrollseren mit Hct-Wert 0 %

Reagenzien: Blutverdünnungslösung (vorportioniert in Reaktionsgefäßen)

Creatinphosphat 30 mmol/l

Natriumchlorid 3 g/l

Natriumazid < 0,1 %

Pufferlösung (vorportioniert in Rundküvetten)

Imidazol-Puffer	100 mmol/l
pH-Wert	6,0 bei 37° C
Glucose	20 mmol/l
Magnesiumacetat	10 mmol/l
EDTA	2 mmol/l
AMP	5 mmol/l
NADP	2 mmol/l
N-Acetylcystein	20 mmol/l
Diadenosinpentaphosphat	10 µmol/l
Hexokinase	> 4,0 kU/l
Natriumazid	< 0,1 %

Startreagenz (vorportioniert in Startkappen)

ADP	2 mmol/l
G6-PDH	> 2 kU/l

Durchführung:

- 60 µl frisches venöses EDTA-Blut aus Monovette in geöffnetes Reaktionsgefäß mit Blutverdünnungslösung pipettieren
- Verschlusskappe aufschrauben und Rundküvette mehrmals kräftig schütteln
- Reaktionsgefäß in Minizentrifuge 1 min zentrifugieren
- 500 µl Überstand in geöffnete Rundküvette mit Pufferlösung pipettieren (Leerwerte)
- Test <CK 321> am mobilen Laborgerät anwählen
- Kappe mit Startreagenz aufschrauben und Startreagenz durch kräftiges Schütteln lösen

- Rundküvette sofort in 37 °C-Trockenthermostaten stellen und gleichzeitig Messung starten
- der Bedienführung am Display folgen
- nach Beendigung der Messung: Für jede Probe den zugehörigen aktuellen Hct-Wert einstellen
- nach Beendigung der Messungen (bis zu sechs Proben gleichzeitig) Ergebnisse in U/l ablesen

Protokoll „Harnstoff“

<i>Methode:</i>	Modifizierte Berthelot-Reaktion	
<i>Messprinzip:</i>	Bestimmung im verdünnten Plasma nach Abtrennung der Erythrozyten durch Zentrifugation	
<i>Berechnung:</i>	<i>Konzentration</i> $C = \Delta E \times \text{Faktor}$	
<i>Messbedingungen:</i>	Messwellenlängen: 520 nm, 546 nm	
	Messtemperatur: Raumtemperatur	
<i>Messbereich:</i>	0,8 mmol/l (5 mg/dl) – 33,3 mmol/l (200 mg/dl)	
<i>Unpräzision:</i>	Intra-Assay-VK: 3,2 – 5,3 %; Inter-Assay-VK: 2,6 %	
<i>Referenzbereich:</i>	Männer 19 – 50 Jahre: 19 – 44 mg/dl (3,2 – 7,3 mmol/l) [79]	
<i>Kontrollmaterial:</i>	Universal-Kontrollseren	
<i>Reagenzien:</i>	Enzymlösung (vorportioniert in Reaktionsgefäßen)	
	Urease	> 20 kU/l
	Natriumchlorid	9 g/l
	Natriumazid	< 0,1 %
	Pufferlösung (vorportioniert in Rundküvetten)	
	tri-Natriumcitrat	118 mmol/l
	Natriumsalicylat	217 mmol/l
	Natriumhydroxid	32 mmol/l

Startreagenz (vorportioniert in Startkappen)

Dichlorisocyanursäure

Natriumsalz 3,4 mmol/l

Nitroprussid Natrium 2,9 mmol/l

Durchführung:

- 20 µl frisches venöses EDTA-Blut aus Monovette in geöffnetes Reaktionsgefäß mit Blutverdünnungslösung pipettieren
- Verschlusskappe aufschrauben und Rundküvette mehrmals kräftig schütteln
- Reaktionsgefäß in Minizentrifuge 1 min zentrifugieren
- 500 µl Überstand in geöffnete Rundküvette mit Pufferlösung pipettieren (Leerwert-Küvette)
- Test <HST 321> am mobilen Laborgerät anwählen
- Leerwert-Küvette einsetzen (Nullpunkteinstellung)
- gleichzeitig Messung starten
- auf Leerwert-Küvette Kappe mit Startreagenz aufschrauben und kräftig schwenken
- Ergebnis in mmol/l nach 10 min ablesen

Die für die Bestimmung des Hämatokriten und der Biomarker Creatinkinase und Harnstoff verwendeten Fertigtests, Kontrollmaterialien und Universal-Kontrollseren sind in Tab. 2 aufgelistet, die Inhalte der einzelnen Reagenzien der Fertigtests wurden bereits in den jeweiligen Protokollen genannt.

Tab. 2: Übersicht der für die fotometrischen Messungen verwendeten Fertigtests und Kontrollen.

Artikelbezeichnung	Hersteller, Herkunftsort
CK 321 ¹	Diaglobal GmbH, Berlin, Deutschland
ERY QS ²	Diaglobal GmbH, Berlin, Deutschland
HCT 142 ³	Diaglobal GmbH, Berlin, Deutschland
HST 321 ⁴	Diaglobal GmbH, Berlin, Deutschland
PreciControl ClinChem Multi 1	Roche Diagnostics International AG, Mannheim, Deutschland
PreciControl ClinChem Multi 2	Roche Diagnostics International AG, Mannheim, Deutschland

¹⁻⁴Die genannten Abkürzungen sind Eigenbezeichnungen der Hersteller.

Die für die Bestimmung des Hämatokriten und der Biomarker Creatinkinase und Harnstoff verwendeten Arbeitsgeräte und Hilfsmittel sind in Tab. 3 aufgelistet.

Tab. 3: Übersicht der für die fotometrischen Messungen verwendeten Arbeitsgeräte und Hilfsmittel.

Geräte-/Artikelbezeichnung	Hersteller, Herkunftsort
Einkanal-Mikroliterpipette Transferpette® S, Fix, 500 µl, CE-IVD, DE-M	BRAND GMBH & CO KG, Wertheim, Deutschland
Einkanal-Mikroliterpipette Transferpette® S, Variabel, 10-100 µl, CE-IVD, DE-M	BRAND GMBH & CO KG, Wertheim, Deutschland
Küvettenständer, PP	BRAND GMBH & CO KG, Wertheim, Deutschland
Pipettierhilfe für Kapillaren	Diaglobal GmbH, Berlin, Deutschland
S-Monovette®-Rack D17 No. 93.852.174	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Sprout™ Mini Centrifuge	Heathrow Scientific, Vernon Hills, Illinois, USA
Trockenthermostat	Diaglobal GmbH, Berlin, Deutschland
Ultra Low Retention Pipettenspitzen, TipStack, 2-200 µl, PP, CE-IVD, BIO-CERT®	BRAND GMBH & CO KG, Wertheim, Deutschland
Vario Photometer II DP 310, Version V 5.12	Diaglobal GmbH, Berlin, Deutschland

2.4.1.3 Verarbeitung der fotometrischen bestimmten Biomarker

Die mit dem mobilen Laborgerät gemessenen Hct-Rohwerte in Prozent wurden zur genauen Bestimmung der CK-Aktivität benötigt. Sie wurden auf Normalverteilung untersucht und mit den bekannten Referenzbereichen für Athleten verglichen, ansonsten waren sie kein Bestandteil weiterführender Untersuchungen. Die gemessenen Rohwerte der CK-Aktivität in der Einheit U/l waren in dieser Form Bestandteil der statistischen Auswertung. Die Harnstoffkonzentration wurde von dem mobilen Laborgerät nach Herstellereinstellung in der SI-Einheit mmol/l gemessen. Diese Rohwerte wurden vor der statistischen Auswertung nach Herstellerangaben durch Multiplikation mit dem Faktor 5,99 (reziproker Wert des Umrechnungsfaktors 0,167) in die konventionelle Einheit mg/dl umgerechnet, um im Rahmen der Diskussion einen einfacheren Vergleich mit den Ergebnissen vorausgegangener Studien zu ermöglichen. Bei Studien aus dem angloamerikanischen Raum musste dabei auf Angaben als BUN (Blood urea nitrogen, englischer Begriff für Harnstoff-N) geachtet werden. Falls die BUN-Angaben in der konventionellen Einheit mg/dl erfolgten, wurde folgende gängige Umrechnungsformel verwendet [94]:

$$\text{Harnstoff-N} = \frac{\text{Harnstoff}}{2,14}.$$

2.4.2 Psychometrische Verfahren

Zur täglichen mehrdimensionalen Erfassung des Erholungs- und Beanspruchungszustands wurden die Kurzskala Erholung und Beanspruchung (KEB) oder deren englische Version, die Short Recovery and Stress Scale (SRSS) als standardisiertes Selbstbeurteilungsverfahren eingesetzt. Die KEB wurde im Rahmen der ersten Stufe der Hauptuntersuchungen des REGman-Projekts aus dem umfangreicheren Akutmaß Erholung und Beanspruchung (AEB) abgeleitet und durch weitere REGman-Studien als reliables und valides Messinstrument für den Einsatz im Trainingsmonitoring bestätigt. Die interne Konsistenz (Cronbachs Alpha) wurde vom Entwicklerteam zwischen $\alpha = 0,72$ und $\alpha = 0,75$ angegeben. Die Konstruktvalidität der KEB konnte durch therapiekonforme Zusammenhänge mit etablierten psychometrischen Verfahren wie dem von Kellmann und Kallus entwickelten und im Jahr 2000 veröffentlichten Erholungs-Beanspruchungs-Fragebogen für Sportler (EBF-Sport) oder der DOMS (eindimensionales Selbstbeurteilungsverfahren des ermüdungsbedingten muskulären Schmerzes, vom englischen Begriff Delayed onset muscle soreness) in sportartspezifischen Belastungs- und Ruhesituationen gezeigt werden. Durch Interventionsstudien konnte zudem die Veränderungssensitivität belegt werden. Die KEB ist in die Kurzskala Erholung und die Kurzskala Beanspruchung untergliedert, die jeweils vier Items (Kurzskala Erholung: Körperliche Leistungsfähigkeit/Mentale Leistungsfähigkeit/Emotionale Ausgeglichenheit/Allgemeiner Erholungszustand; Kurzskala Beanspruchung: Muskuläre Beanspruchung/Aktivierungsmangel/Emotionale Unausgeglichenheit/Allgemeiner Beanspruchungszustand). Für jedes Item wird anhand einer siebenstufigen Skala vom Likert-Typ der Grad der Zustimmung von 0 (trifft gar nicht zu) bis 6 (trifft voll zu) ermittelt. Als Bearbeitungsdauer wurde eine Zeitspanne von 40 – 60 s angegeben [42].

Als weiteres Monitoringverfahren wurde die von Foster 1998 beschriebene und gemäß einer systematischen Übersichtarbeit aus dem Jahr 2016 auch in zahlreichen Sportarten hinsichtlich ihrer Testgütekriterien untersuchte Session-RPE-Methode (Rating of perceived exertion, englischer Begriff für Bewertung der erfahrenen Anstrengung) verwendet. Dabei bewerteten die Probanden zunächst 10 – 30 min nach Belastungsende die durch eine Trainings-/Wettkampfeinheit verursachte wahrgenommene Anstrengung auf einer modifizierten Category-Ratio-10-Skala.

Anschließend wurde die durch die vorausgegangene sportliche Belastung verursachte Beanspruchung (Session Load) durch die Multiplikation der angegebenen Session-RPE mit der individuellen Belastungsdauer mit der Einheit AU (Arbitrary Unit, englischer Begriff für Arbeitseinheit) ermittelt [20, 23]. Die ACWR (Acute chronic workload ratio, englischer Begriff für das Verhältnis von akuter und chronischer Beanspruchung) wurde aus den Session-RPE-Daten mit einem 1:4-Verhältnis und gleitendem Mittelwert berechnet [22].

Die eingesetzten psychometrischen Verfahren sollten zusätzliche Informationen ermöglichen, um unerwartete individuelle Veränderungen bei den Probanden frühzeitig zu erfassen und durch gezieltes Nachfragen mögliche Störgrößen für die Biomarkermessungen auszuschließen. Die Ergebnisse der Auswertung dieser Monitoringinstrumente waren kein weiterer Bestandteil der vorliegenden Arbeit.

2.5 Software

Für die Erfassung, Verarbeitung und Auswertung der Daten sowie deren grafische Darstellung und die statistischen Methoden wurden die in Tab. 4 aufgeführten Programme verwendet. Die Sportsoftware XPS Network der Firma Sideline Sports á Íslandi ehf wurde bereits vor Studienbeginn für verschiedene Bereiche wie Videoanalyse und Trainingspläne, aber auch Erhebung und Verarbeitung verschiedener Daten im Rahmen der Leistungsdiagnostik und Psychometrie von dem verantwortlichen Trainerteam genutzt. Eine separate Datenschutzerklärung zur Verwendung von XPS Network wurde vom Herstellerteam vorgelegt. Daraufhin erfolgte eine schriftliche Einwilligung von Seiten der Trainer und Spieler.

Tab. 4: Übersicht der verwendeten Software.

Artikelbezeichnung, Versionsnummer	Hersteller, Herkunftsort
Microsoft® Excel für Mac, Version 16.35	Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA
Microsoft® Word für Mac, Version 16.35	Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA
IBM® SPSS Statistics, Version 26.0.0.0	International Business Machines Corporation, Armonk, New York, USA
XPS Network, Version 1.0	Sideline Sports á Íslandi ehf, Reykjavík, Island

2.6 Klassifizierungsverfahren

Um sämtliche einzelne Messwerte der Biomarker Creatinkinase und Harnstoff den beiden Merkmalsausprägungen des physiologischen Erholungs- und Beanspruchungszustands zuzuordnen, wurden mit dem vorgestellten, online frei verfügbaren Algorithmus nach Anleitung des Entwicklerteams individuelle Referenzbereiche berechnet. Dazu wurden die Rohwerte der CK-Aktivität in der Einheit U/l und die umgerechneten Werte der Harnstoffkonzentration in der Einheit mg/dl verwendet. Als Entscheidungsgrenze für die Klassifizierung wurde jeweils der Wert festgelegt, dessen Abstand zum arithmetischen Mittel der jeweiligen Posteriori-Verteilungen denselben Wert annahm. Der zu klassifizierende Wert und der dazugehörige Wert des jeweils anderen Erholungs- / Ermüdungszustands eines Mikrozyklus wurde im Sinne einer Kreuzvalidierung aus der Trainingsmenge ausgeschlossen. Der CK-Wert zum Messzeitpunkt 9 (NR5) wurde beispielsweise durch Einschluss der Werte der Messzeitpunkte 1 bis 8 (NR1, R1, NR2, R2, NR3, R3 und NR4, R4) in die Trainingsmenge des Algorithmus zur Normwertindividualisierung klassifiziert. Analog wurde bei dem auf gruppenbasierten Mittelwerten beruhenden Referenzklassifizierungsverfahren vorgegangen.

2.7 Statistische Methoden und grafische Darstellung

2.7.1 Deskriptive Statistik und explorative Datenanalyse

Die mit Hilfe der vorgenannten Methoden erhobenen Primärdaten wurden mit dem Statistikprogramm IBM® SPSS Statistics in der Version 26.0.0.0 ausgewertet. Im Rahmen der deskriptiven Statistik wurden zur Beschreibung der Studienpopulation für die anthropometrischen Merkmale deren arithmetische Mittel und deren Standardabweichung (abgekürzt: $M \pm SD$) ermittelt. Zur Untersuchung der Fragestellungen wurden auf Gruppenebene und auf individueller Ebene Lage- und Streuungsmaße für den ermüdeten und erholten Zustand in Abhängigkeit vom

Skalenniveau der Rohdaten berechnet. Die Häufigkeitsverteilungen der Rohdaten der metrischen, stetigen Merkmale wurden zunächst in Histogrammen grafisch dargestellt, um einen Überblick zu gewinnen. Im Rahmen der explorativen Datenanalyse wurden sämtliche Häufigkeitsverteilungen mit dem für kleine Stichproben empfohlenen Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung getestet. Der Test erfolgte auf einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$. Da viele biologische und biochemische Prozesse keine Normalverteilung zeigen, jedoch ihr natürlicher Logarithmus normalverteilt ist, wurden die Rohdaten der Biomarker Creatinkinase und Harnstoff mit dem natürlichen Logarithmus (im Folgenden mit dem Zeichen $\log$ dargestellt) transformiert und auf dieselbe Weise auf log-Normalverteilung untersucht. Die log-transformierten Daten wurden dann zur weiterführenden statistischen Auswertung verwendet. Mit Boxplots wurden die Stichproben grafisch dargestellt und auf mögliche Ausreißer untersucht. Als Länge der Whisker wurde dabei der 1,5-fache Interquartilsabstand festgelegt.

Zur schriftlichen Darstellung der Ergebnisse der explorativen Datenanalyse wurden die berechneten Maßzahlen mit der zugehörigen Exponentialfunktion auf das Niveau der Rohdaten zurücktransformiert. Auf diesem Niveau erfolgte zudem die grafische Darstellung mit Boxplots und Multivari-Plots.

2.7.2 Mehrebenenanalyse

Zur interferenzstatistischen Untersuchung des Einflusses des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf die Biomarker Creatinkinase und Harnstoff wurde aufgrund der Struktur des Datensatzes eine Mehrebenenanalyse durchgeführt. Dabei stellten die Probanden als Beobachtungseinheiten die höhere Ebene (Ebene 2 bzw. Makroebene) dar, die Probanden-Identität diente somit als Gruppierungsvariable. Die niedrigere Ebene (Ebene 1 bzw. Mikroebene) beinhaltete die Messzeitpunkte, die in die Ebene 2 geschachtelt waren. Die log-transformierten Daten der Biomarker als abhängige Variablen wurden auf der Ebene 1 gemessen. Zunächst wurde kontrolliert, ob der Datensatz die Voraussetzungen für eine Mehrebenenanalyse erfüllte. Zur visuellen Überprüfung der Verteilung der Residuen wurden Histogramme verwendet, zur genauen Überprüfung der Normalverteilung der Shapiro-Wilk-Test. Um zu überprüfen, ob die Anwendung eines Mehrebenenmodells als strukturprüfendes Verfahren grundsätzlich notwendig war, wurden mit einem

Basismodell zunächst die ebenenspezifischen Varianzanteile bestimmt. Dazu wurde der Intraklassenkorrelationskoeffizient ρ (ICC, vom englischen Begriff intra class coefficient) auf Populationsebene mit folgender Formel berechnet:

$$\rho = \frac{\sigma_{v_0}^2}{\sigma_{v_0}^2 + \sigma_{\varepsilon}^2}.$$

Dabei stellte $\sigma_{v_0}^2$ die Varianz der Ebene 2-Residuen beziehungsweise der probandenspezifischen Abweichungen und σ_{ε}^2 die Varianz der Ebene 1-Residuen dar. Der ICC wurde auch benutzt, um den sogenannten Designeffekt des Basismodells mit folgender Formel zu berechnen:

$$D_{eff} = 1 + (m - 1)\rho.$$

Dabei stellte m die Anzahl der Messzeitpunkte für jeden Proband dar. Bei einem Designeffekt < 2 konnte die Schachtelung der Daten ignoriert werden [67]. Basierend auf dem Nullmodell wurden stufenweise komplexere lineare Modelle konstruiert und anhand des Akaike-Informationskriteriums (AIC) und des Bayes-Informationskriteriums (BIC) miteinander verglichen. In jeder Stufe wurde im Sinne der von Hox empfohlenen Vorwärtsselektion ein weiterer Parameter in das vorherige Modell aufgenommen, bis sich anhand der ausgewählten Informationskriterien keine weitere Verbesserung des Modellfits zeigte. In dem letztlich ausgewählten gemischt linearen Modell mit der CK-Aktivität wurden die unabhängige Variable Erholungs- und Beanspruchungszustand als fester Effekt und die Probanden-Identität als zufälliger Effekt definiert. Zudem wurde die Wechselwirkung beider Effekte als weiterer zufälliger Effekt in das Modell aufgenommen. Bei den zufälligen Effekten wurde für die Probanden-Identität der Kovarianztyp der skalierten Identität angenommen, für den Wechselwirkungseffekt eine Varianzkomponenten-Struktur. Als Kovarianztyp der Messwiederholungen wurde eine autoregressive Struktur 1. Ordnung angenommen. Die Parameterschätzung erfolgte durch die für die vorliegende Stichprobengröße empfohlene Restricted-Maximum-Likelihood (REML)-Methode, die Nennerfreiheitsgrade ergaben sich

aus der Kenward-Roger-Approximation. Alle Hypothesentests erfolgten auf einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$. Die Effektgröße Cohen's d wurde zur Beschreibung der Effekte berechnet, als untere Grenzen für kleine, moderate und große Effekte wurde 0,2, 0,5 und 0,8 festgelegt [15]. Zur verständlicheren Darstellung der Ergebnisse wurden die berechneten Maßzahlen mit der zugehörigen Exponentialfunktion auf das Niveau der Rohdaten zurücktransformiert.

2.7.3 Vergleich der Klassifizierungsverfahren

Um die klassifikatorische Leistung des Algorithmus zur Normwertindividualisierung zu prüfen, war ein Referenzklassifizierungsverfahren notwendig. Dazu wurde eine Klassifizierung anhand gruppenbasierter Referenzbereiche vorgenommen, die aus demselben Datensatz der Lernphase gewonnen wurden. Vor der Testung der klassifikatorischen Leistung kam für beide Verfahren eine Kreuzvalidierung zum Einsatz, indem die zu klassifizierenden Werte nicht in die Trainingsmenge einbezogen wurden. Zur Bewertung der klassifikatorischen Leistung des Algorithmus wurden vorab Fehlerraten definiert. Dabei stellte die Test-pass-Fehlerrate den Anteil der fälschlicherweise als R klassifizierten Testergebnisse unter allen R-Testergebnissen dar. Dementsprechend umfasste die Test-fail-Fehlerrate den Anteil der falsch als NR klassifizierten Testergebnisse unter allen NR-Testergebnissen. Die grafische Darstellung der Klassifizierung erfolgte mit kombinierten Linien- und Punktdiagrammen. Mit dem exakten Fisher-Test wurden die beiden Klassifizierungsverfahren getrennt nach Fehlerraten und Biomarkern untersucht. Als Effektgröße wurde der Phi-Koeffizient (ϕ) mit den unteren Grenzen 0,1, 0,3 und 0,5 für kleine, moderate und große Effekte angegeben. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die Analyse der klassifikatorischen Leistung und die grafische Darstellung der Berechnungen des Algorithmus zur Normwertindividualisierung analog zur Originalarbeit von Hecksteden et al. durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Merkmale der Studienpopulation

Die Studienpopulation umfasste 16 männliche Probanden aus einer professionellen Handballmannschaft in der höchsten deutschen Liga. Drei Probanden waren als Torhüter aktiv, die übrigen 13 Probanden als Feldspieler. Diese konnten anhand ihrer Rolle im Positionsangriff in drei Gruppen unterteilt werden: Außenspieler (3 Probanden), Rückraumspieler (7) und Kreisspieler (3). Vier Probanden nutzten für den Torwurf ihren linken Arm, die restlichen zwölf Probanden ihren rechten Arm. Die anthropometrischen Merkmale der Studienpopulation sind mit den dazugehörigen Ergebnissen der Normalverteilungstests in Tab. 5 dargestellt.

Tab. 5: Merkmale der Studienpopulation.

Merkmal	$M \pm SD$	Normalverteilung ^a	p -Wert ^a
Alter (Jahre)	25,38 $\pm$ 4,83	Ja	0,59955
Körpergröße stehend (m)	1,93 $\pm$ 0,08	Ja	0,963
Körpergewicht (kg)	96,56 $\pm$ 14,85	Ja	0,14919
Fettfreie Körpermasse (kg)	85,95 $\pm$ 9,9	Ja	0,41453
Aktive Jahre auf professionellem Leistungsniveau	6,86 $\pm$ 5,4	Ja	0,17029

Anmerkungen: a Shapiro-Wilk-Test auf einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$.
Abkürzungen: M Mittelwert, SD Standardabweichung.

Der wöchentliche Trainingsumfang in der zur statistischen Auswertung herangezogenen Lernphase betrug durchschnittlich 11,36 h, hinzukamen wöchentlich durchschnittlich 1,86 Spiele. Dem erweiterten Kader gehörten noch drei weitere Handballspieler an, wovon zwei Spieler zu Studienbeginn die Einschlusskriterien nicht erfüllten, da sie ein Alter von 18 Jahren noch nicht erreicht hatten. Ein weiterer Spieler erreichte aufgrund einer internistischen Erkrankung nicht die erforderliche Anzahl an Messungen in der Lernphase, weshalb seine Daten aus dem endgültigen Datensatz ausgeschlossen wurden.

Abb. 2 zeigt die Übersicht der Probandenauswahl und des Dateneinschlusses.

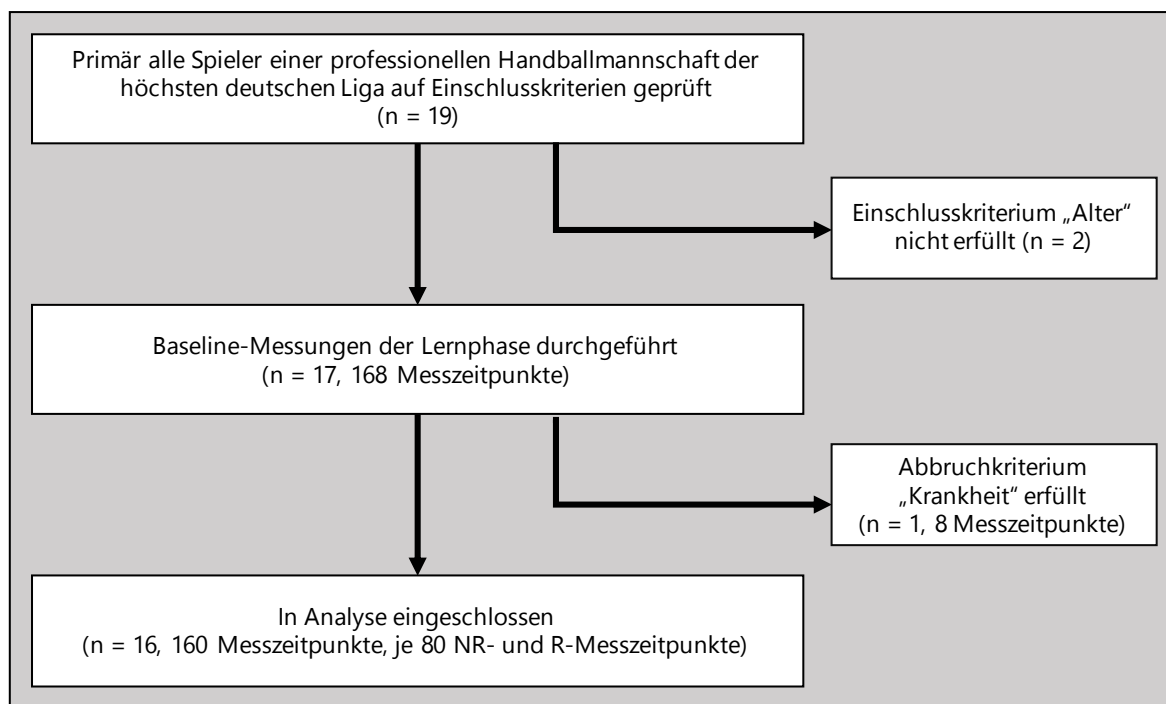


Abb. 2: Übersicht der Probandenauswahl, Datenerhebung und -auswertung im Rahmen der klinischen Studie.

Abkürzungen: NR Non-Recovered, R Recovered.

3.2 Deskriptive Statistik und explorative Datenanalyse

Zur statistischen Auswertung wurde der Datensatz der Baseline-Messungen verwendet. Für alle Probanden lagen fotometrische Messungen der Biomarker Creatinkinase und Harnstoff aus frischem venösem EDTA-Blut zu allen zehn Messzeitpunkten vor, sodass ein balancierter Datensatz mit einer Stichprobengröße von $n = 160$ zur Verfügung stand. Die Rohdaten beider Biomarker waren nicht normalverteilt (CK: $p < 0,001$; U: $p = 0,408$), sondern wiesen in der visuellen Überprüfung mit Histogrammen eine rechtsschiefe Verteilung auf. Es lagen über alle Messzeitpunkte hinweg jedoch keine Ausreißer vor. Nach Transformation mit dem natürlichen Logarithmus zeigte sich für beide Biomarker eine Normalverteilung ohne Ausreißer (Shapiro-Wilk-Test: logCK: $p = 0,161$; logU: $p = 0,377$).

Auf Gruppenebene betrug das arithmetische Mittel und die empirische Standardabweichung ($M \pm SD$) über alle Messzeitpunkte hinweg für die CK-Aktivität $293,32 \pm 1,91$ U/l und für die Harnstoffkonzentration $56,92 \pm 1,19$ mg/dl. Bei der getrennten Betrachtung der beiden Ausprägungen des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf Gruppenebene betrug die durchschnittliche CK-Aktivität im ermüdeten Zustand $435,22 \pm 1,71$ U/l ($M \pm SD$) und im erholten Zustand $197,68 \pm 1,64$ U/l ($M \pm SD$). Im ermüdeten Zustand wurden für die CK-Aktivität Werte von 151,00 bis 1071,00 U/l, im erholten Zustand Werte von 49,60 bis 572,00 U/l gemessen. Im Mittel nahm die CK-Aktivität im ermüdeten Zustand auf Gruppenebene während der Lernphase ab. Eine ähnliche Entwicklung zeigte sich auch im erholten Zustand, bei dem jedoch das arithmetische Mittel am R2-Messzeitpunkt den größten Wert annahm. Die Rohdaten der CK-Aktivität zu sämtlichen Messzeitpunkten der Lernphase sind in Abb. 3 auf Gruppenebene dargestellt.

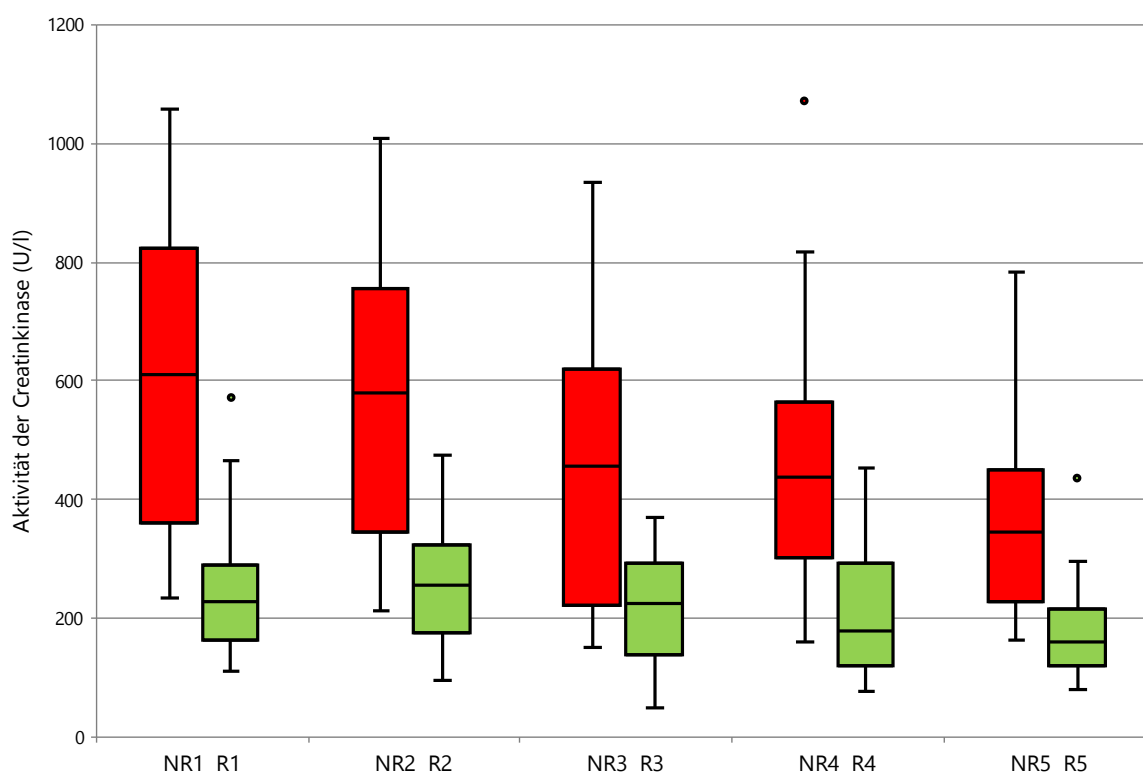


Abb. 3: Der Biomarker Creatinkinase in der Lernphase auf Gruppenebene. Die Aktivität der Creatinkinase von 16 professionellen Handballspielern einer deutschen Erstligamannschaft, gemessen aus venösem EDTA-Blut an zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand im Juli/August 2019. Auf einen Messzeitpunkt im ermüdeten Zustand (Rot: NR1-NR5) folgte nach einem trainings- und wettkampffreien Tag ohne anderweitig körperlich belastende Tätigkeiten jeweils ein Messzeitpunkt im erholten Zustand (Grün: R1-R5). Als maximale Länge der Whisker wurde der 1,5-fache Interquartilsabstand festgelegt. Die Kreise markieren natürliche milde Ausreißer zum jeweiligen Messzeitpunkt. $n = 160$.
Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat, NR Non-Recovered, R Recovered, U/l Enzym-einheit pro Liter.

Für die Harnstoffkonzentration betrug das arithmetische Mittel und die empirische Standardabweichung im ermüdeten Zustand auf Gruppenebene $58,85 \pm 1,19$ mg/dl und im erholten Zustand $55,06 \pm 1,19$ mg/dl. Im ermüdeten Zustand wurden für die Harnstoffkonzentration Werte von 36,24 bis 89,13 mg/dl, im erholten Zustand Werte von 36,6 bis 77,27 mg/dl gemessen. Die Rohdaten der Harnstoffkonzentration zu sämtlichen Messzeitpunkten der Lernphase auf Gruppenebene sind in Abb. 4 dargestellt.

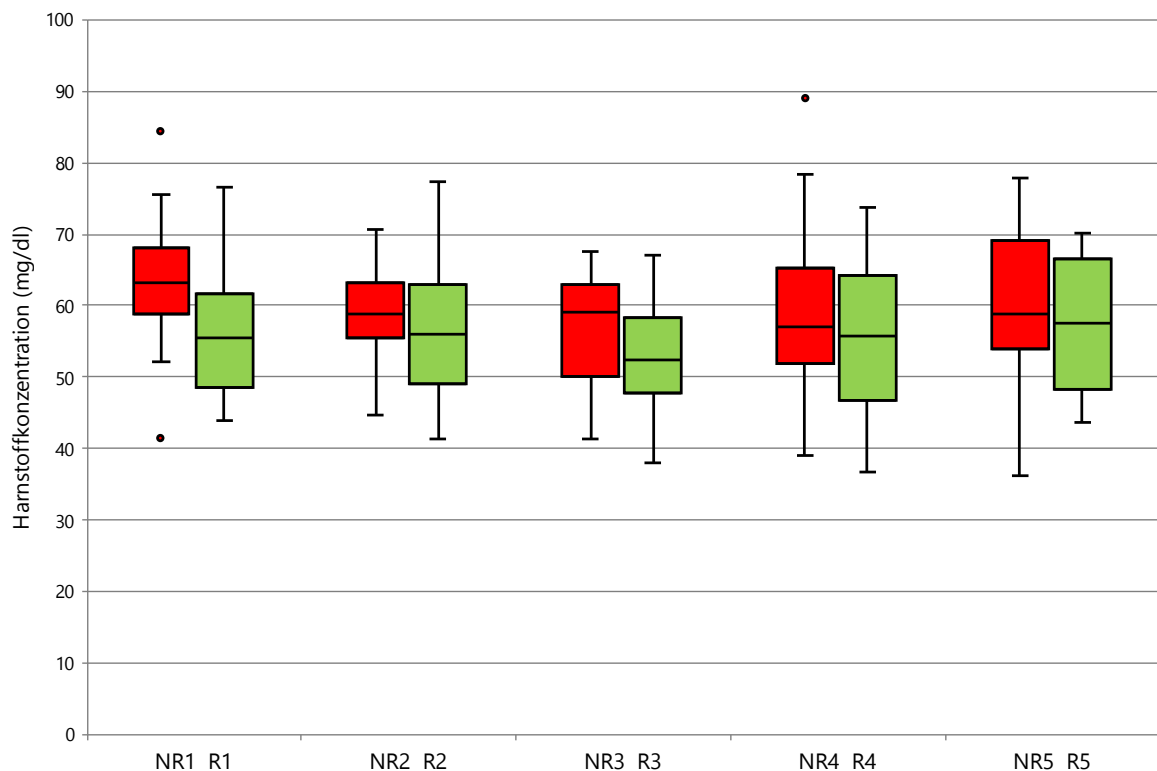


Abb. 4: Der Biomarker Harnstoff in der Lernphase auf Gruppenebene. Die Harnstoffkonzentration von 16 professionellen Handballspielern einer deutschen Erstligamannschaft, gemessen aus venösem EDTA-Blut an zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand im Juli/August 2019. Auf einen Messzeitpunkt im ermüdeten Zustand (Rot: NR1-NR5) folgte nach einem trainings- und wettkampffreien Tag ohne anderweitig körperlich belastende Tätigkeiten jeweils ein Messzeitpunkt im erholten Zustand (Grün: R1-R5). Als maximale Länge der Whisker wurde der 1,5-fache Interquartilsabstand festgelegt. Die Kreise markieren natürliche milde Ausreißer zum jeweiligen Messzeitpunkt. $n = 160$.

Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat, NR Non-Recovered, R Recovered.

Somit war bereits im Rahmen der explorativen Datenanalyse erkennbar, dass das arithmetische Mittel beider Biomarker in der Lernphase auf Gruppenebene an jedem R-Messzeitpunkt einen geringeren Wert annahm als an dem direkt vorausgegangenen NR-Messzeitpunkt. Dieser Umstand wurde für die CK-Aktivität auch auf individueller Ebene beobachtet. Demnach nahm die CK-Aktivität im ermüdeten

Zustand durchschnittlich größere Werte an als im erholten Zustand, wobei inter-individuelle Unterschiede existierten. Für Proband 4 wurde die größte durchschnittliche CK-Aktivität gemessen ($651,2 \pm \text{U/l}$). Demgegenüber wurde die geringste durchschnittliche CK-Aktivität für Proband 7 gemessen ($148,2 \pm \text{U/l}$). Die Differenz zwischen den individuellen arithmetischen Mitteln des jeweiligen Erholungs- und Beanspruchungszustands ($\Delta_{\text{NR-R}}$) zeigte ebenfalls individuelle Unterschiede. Sie nahm bei Proband 16 lediglich einen Wert von $83,2 \text{ U/l}$ an, wohingegen sie bei Proband 12 mit $597,8 \text{ U/l}$ mehr als siebenfach größer war. Durchschnittlich betrug $\Delta_{\text{NR-R}}$ der CK-Aktivität $275,7 \text{ U/l}$. Abb. 5 zeigt die Rohdaten der CK-Aktivität, die individuellen arithmetischen Mittel sowie deren Differenzen.

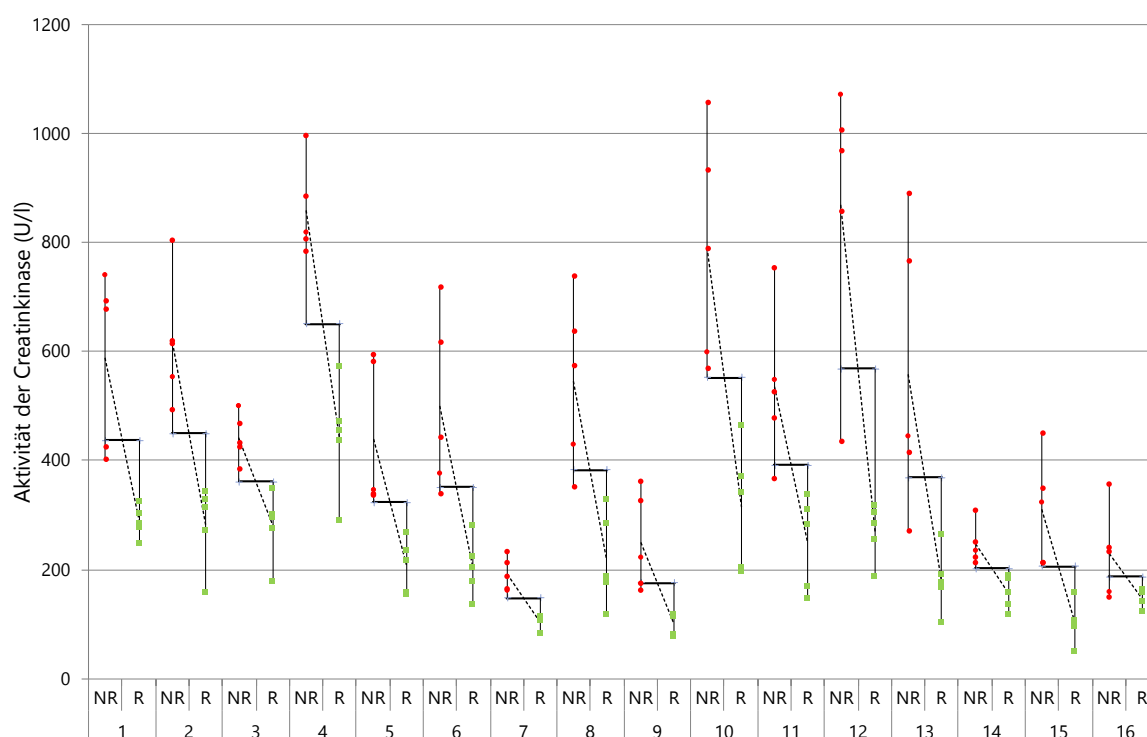


Abb. 5: Der Biomarker Creatinkinase in der Lernphase auf individueller Ebene. Die Aktivität der Creatinkinase von 16 professionellen Handballspielern einer deutschen Erstligamannschaft, gemessen aus venösem EDTA-Blut an zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand im Juli/August 2019. Auf der x-Achse sind die beiden Ausprägungen des Erholungs- und Beanspruchungszustands (NR und R, obere Zeile) für jeden Probanden (1-16, untere Zeile) aufgetragen. Rote Datenpunkte markieren Messungen im ermüdeten Zustand, grüne Datenquadrate Messungen im erholten Zustand. Die vertikalen schwarzen Linien zeigten die Spannweite der individuellen Messungen innerhalb eines Zustands, die horizontalen schwarzen Linien markieren den Mittelwert aller Messungen innerhalb eines Probanden. Die gestrichelten schwarzen diagonalen Linien verbinden die Mittelwerte der NR-Messungen und R-Messungen innerhalb eines Probanden. $n = 160$.

Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat; NR Non-Recovered; R Recovered; U/l Enzym-einheit pro Liter.

Es wurde bereits gezeigt, dass die Harnstoffkonzentration auf Gruppenebene über alle Messzeitpunkte hinweg im ermüdeten Zustand durchschnittlich größere Werte annahm als im erholten Zustand. Dies wurde auch für 75 % der Probanden auf individueller Ebene beobachtet, lediglich bei den Proband 1, 4, 9 und 12 nahm das arithmetische Mittel im erholten Zustand größere Werte an. Die größte durchschnittliche Harnstoffkonzentration wurde für Proband 3 gemessen ($63,79 \pm 1,19$ mg/dl), die geringste durchschnittliche Harnstoffkonzentration für Proband 14 ($50,68 \pm 1,21$ mg/dl). Abb. 6 zeigt die Rohdaten der Harnstoffkonzentration, die individuellen arithmetischen Mittel sowie deren Differenzen.

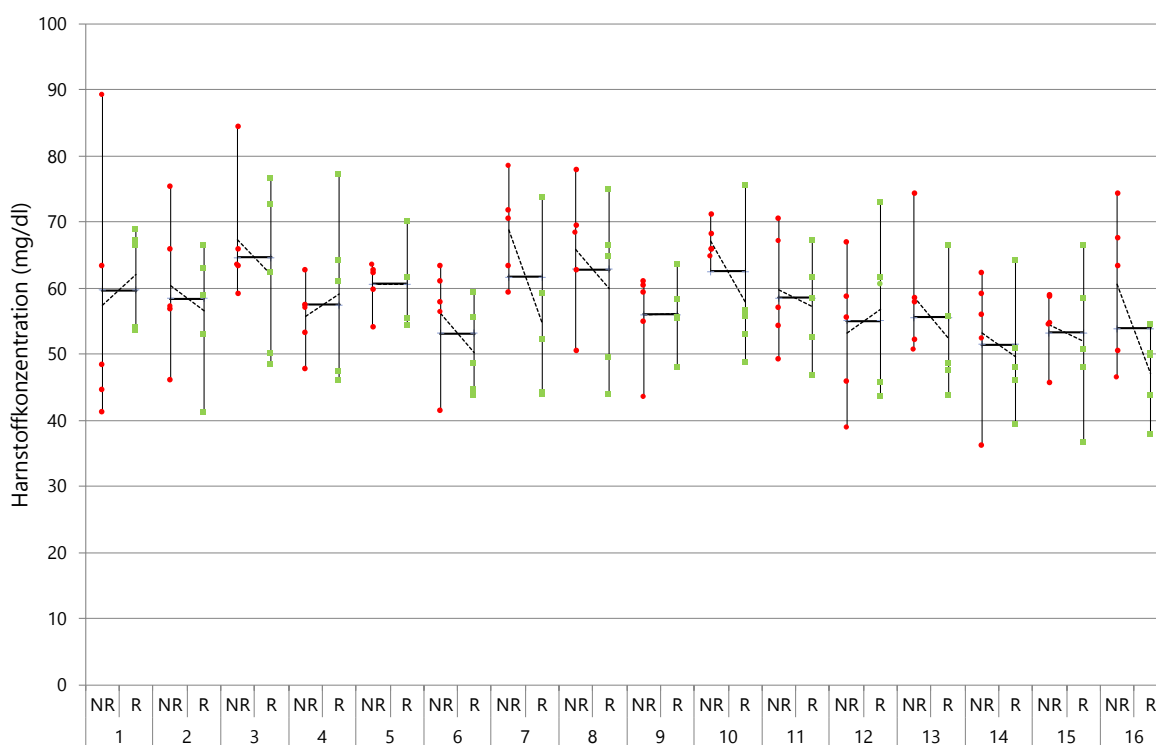


Abb. 6: Der Biomarker Harnstoff in der Lernphase auf individueller Ebene. Die Harnstoffkonzentration von 16 professionellen Handballspielern einer deutschen Erstligamannschaft, gemessen aus venösem EDTA-Blut an zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand im Juli/August 2019. Auf der x-Achse sind die beiden Ausprägungen des Erholungs- und Beanspruchungszustands (NR und R, obere Zeile) für jeden Probanden (1-16, untere Zeile) aufgetragen. Rote Datenpunkte markieren Messungen im ermüdeten Zustand, grüne Datenquadrate Messungen im erholten Zustand. Die vertikalen schwarzen Linien zeigten die Spannweite der individuellen Messungen innerhalb eines Zustands, die horizontalen schwarzen Linien markieren den Mittelwert aller Messungen innerhalb eines Probanden. Die gestrichelten schwarzen diagonalen Linien verbinden die Mittelwerte der NR-Messungen und R-Messungen innerhalb eines Probanden. $n = 160$.

Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat, NR Non-Recovered, R Recovered.

Die Differenz zwischen den individuellen arithmetischen Mitteln des jeweiligen Erholungs- und Beanspruchungszustands (Δ_{NR-R}) zeigte auch für die Harnstoffkonzentration interindividuelle Unterschiede. Sie betrug bei Proband 5 lediglich 0,04 mg/dl, wohingegen sie bei Proband 7 mit 14,87 mg/dl mehr als 370-fach größer war. Durchschnittlich betrug Δ_{NR-R} der Harnstoffkonzentration 3,79 mg/dl.

3.3 Interferenzstatistische Datenanalyse

Um Rückschlüsse von den vorgestellten Ergebnissen der Studienpopulation auf die Zielpopulation aller professioneller Handballspieler ziehen zu können, musste zunächst das Skalenniveau der untersuchten Variablen betrachtet werden. Der Erholungs- und Beanspruchungszustand als unabhängige Variable war nominalskaliert und konnte zwei physiologische Merkmalsausprägungen, „Ermüdet“ (NR) und „Erholt“ (R), annehmen. Die Aktivität der Creatinkinase und die Harnstoffkonzentration erfüllten als metrische und stetige unabhängige Variablen eine grundlegende Voraussetzung strukturprüfender statistischer Verfahren. Die Auswahl eines geeigneten statistischen Modells zur Untersuchung des Effekts des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf die CK-Aktivität beziehungsweise auf die Harnstoffkonzentration wurde maßgeblich durch die natürliche Struktur des vorliegenden Datensatzes bestimmt. Die wiederholten Messungen an denselben Beobachtungseinheiten im zeitlichen Verlauf führten zwangsläufig zu korrelierten Residuen, sodass eine grundlegende Annahme zur Durchführung einer klassischen Varianzanalyse oder eines linearen Regressionsmodells verletzt wurde. Vielmehr bot sich eine Mehrebenenanalyse an, wobei die wiederholten Messungen innerhalb der Probanden die unterste Ebene (Ebene 1 oder Mikroebene) und die Probanden die Ebene 2 (Makroebene) darstellten. Zudem erlaubte die Mehrebenenanalyse im Gegensatz zu klassischen Analysemethoden für wiederholte Messungen die Verarbeitung von Messungen mit ungleichmäßigen Abständen und zu verschiedenen Zeitpunkten.

Zunächst wurde überprüft, ob der balancierte Datensatz die Voraussetzungen für eine Mehrebenenanalyse erfüllte. Diese umfassen die Unabhängigkeit der Ebene 2-Einheiten, die korrekte Spezifizierung des berechneten Modells, die Linearität

zwischen allen unabhängigen Variablen und den abhängigen Variablen, die Homoskedastizität beziehungsweise Varianzhomogenität und eine Normalverteilung der Residuen. Die Unabhängigkeit der untersuchten Probanden als Ebene 2-Einheiten wurde angenommen. Die Frage der korrekten Spezifizierung wurde zunächst zurückgestellt und nach der Modellierung beantwortet. Die lineare Beziehung zwischen dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als unabhängige Variable und der CK-Aktivität beziehungsweise der Harnstoffkonzentration als abhängige Variablen auf der Ebene 1 war bereits in den getrennt nach Biomarker erstellten Multivari-Diagrammen erkennbar (vgl. Abb. 5 auf S. 30 und Abb. 6 auf S. 31). Auf der Ebene 2 wurde keine zusätzliche unabhängige Variable in das Modell aufgenommen. Zur visuellen Überprüfung der Verteilung der Residuen beider Biomarker wurden Histogramme angefertigt und die dort darstellbare Normalverteilung wurde mit dem Shapiro-Wilk-Test bestätigt (Residuen logCK: $p = 0,415$; Residuen logU: $p = 0,211$). Für beide Biomarker konnte jeweils der identische p -Wert berechnet werden, wenn zur Berechnung anstatt der unstandardisierten Residuen die standardisierten Residuen verwendet wurden. Mit Boxplots konnten auch bei den Residuen beider Biomarker Ausreißer ausgeschlossen werden. Sämtliche Voraussetzungen zur Durchführung einer Mehrebenenanalyse waren somit erfüllt.

3.3.1 Auswahl eines geeigneten linearen Modells

Im nächsten Schritt wurde überprüft, ob die Anwendung einer Mehrebenenanalyse als interferenzstatistisches Verfahren für den vorliegenden Datensatz notwendig war. Dazu wurden zunächst mit einem Basismodell die ebenenspezifischen Varianzanteile durch Berechnung des Intraklassenkorrelationskoeffizienten ρ bestimmt, um den sogenannten Design-Effekt zu berechnen. Bei einem Design-Effekt > 2 wurde die vorgenommene Schachtelung der Daten (Messzeitpunkte in Probanden) als sinnvoll erachtet. Für die CK-Aktivität als abhängige Variable wurden auf Populationsebene ungefähr 40 % der Gesamtvarianz durch interindividuelle Unterschiede erklärt (ICC: $\rho = 0,40$). Der Wald Z-Wert von 2,38 war statistisch signifikant ($p = 0,017$), es lag also eine statistisch signifikante Probandenheterogenität hinsichtlich der CK-Aktivität vor und die Nullhypothese dieses Tests konnte abgelehnt werden. Diese besagte, dass keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden bestehen. Der mit dem ICC für

die CK-Aktivität berechnete Designeffekt betrug 4,51, sodass die Notwendigkeit einer Mehrebenenanalyse zur Auswertung des Effektes des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf diesen Biomarker angenommen wurde.

Da die Biomarker bei den Probanden an verschiedenen Tagen im zeitlichen Verlauf gemessen wurden, musste die Varianz-Kovarianzstruktur der wiederholten Messungen berücksichtigt werden. Dazu wurde eine diagonale Varianz-Kovarianz-Matrix als programmspezifische Standardeinstellung für wiederholte Messungen der angenommenen Varianz-Kovarianz-Matrix mit einer autoregressiven Struktur 1. Ordnung gegenübergestellt. Während Ersterer die Annahme einer unterschiedlichen Varianz ohne Kovariation zu Grunde liegt, wird bei Letzterer angenommen, dass das Ausmaß der Korrelation der Werte aufeinander folgender Messzeitpunkte abnimmt, je weiter sie zeitlich voneinander entfernt liegen. Bei diesem Vergleich konnte für die CK-Aktivität als abhängige Variable eine Überlegenheit des Modells mit einer autoregressiven Varianz-Kovarianz-Struktur 1. Ordnung gezeigt werden. Im nächsten Schritt wurde der Erholungs- und Beanspruchungszustand als zeitvariierende unabhängige Variable auf der Ebene 1 mit seinen beiden Ausprägungen „Ermüdet“ (NR) und „Erholt“ (R) in das Modell mit einer bezogen auf die Zeit angenommenen autoregressiven Varianz-Kovarianz-Struktur 1. Ordnung aufgenommen. Dabei wurde zunächst angenommen, dass der Effekt des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf die CK-Aktivität für alle Probanden identisch war. Es handelte sich demnach um ein sogenanntes Random-Intercept-Modell mit festem Effekt, wobei der Random Intercept die Varianz des probanden-spezifischen Ausgangswerts darstellte.

Weniger restriktiv war die Annahme, dass der Effekt des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf die CK-Aktivität zwischen den Probanden unterschiedlich stark ausgeprägt war und somit eine Wechselwirkung des Erholungs- und Beanspruchungszustands mit der Probanden-Identität existierte. Diese auch als Random-Intercept-Random-Slope-Modell bezeichnete Variante der Mehrebenenanalyse erweiterte das zuvor beschriebene Random-Intercept-Modell um ein Residuum der Ebene 2. Um die individuelle Random-Intercept- und Random-Slope-Komponente der Beziehung zwischen der CK-Aktivität und dem Erholungs- und Beanspruchungszustand zu verdeutlichen, wurden die beiden Variablen getrennt nach der Probanden-Identität in einem Streudiagramm in Abb. 7 (s. S. 35) gegeneinander aufgetragen. Das Hauptaugenmerk liegt in dieser Darstellung auf den individuellen linearen Anpassungslinien. Die verschiedenen Schnittpunkte

dieser Geraden mit der Y-Achse (Ordinatenabschnitt = Intercept) verdeutlichen die Random-Intercept-Komponente, die unterschiedlichen Steigungen dieser Geraden die Random-Slope-Komponente.

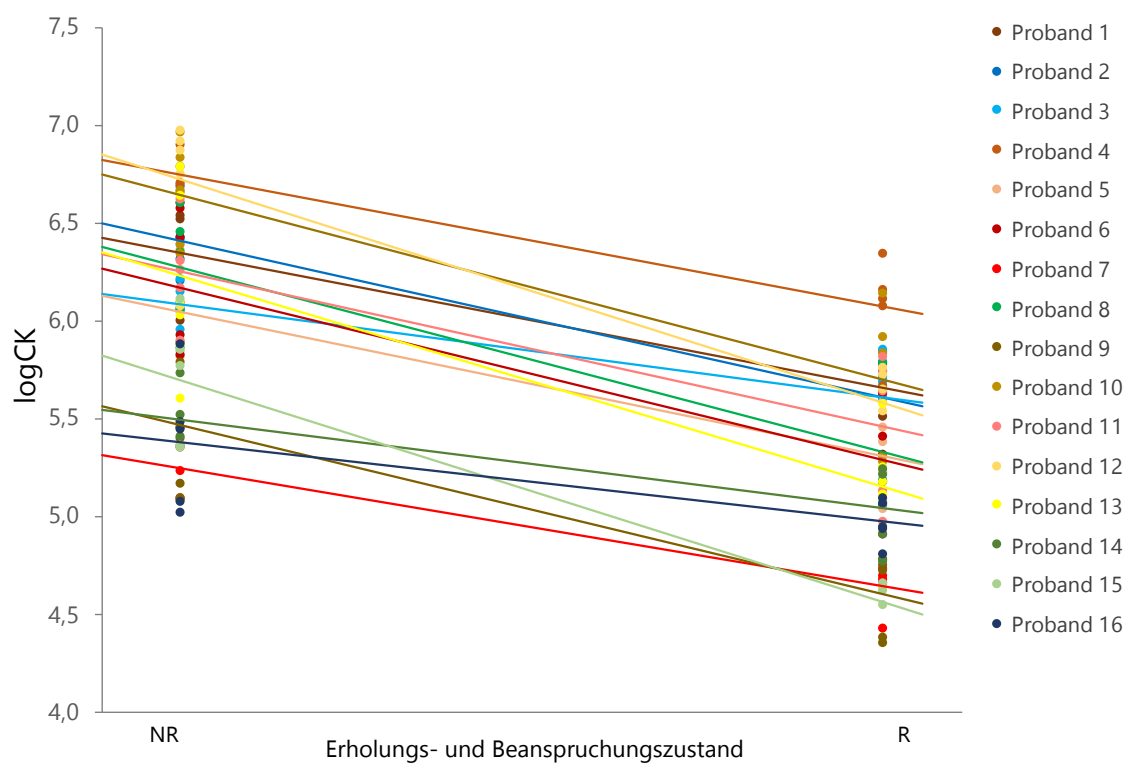


Abb. 7: Random-Intercept und Random-Slope eines gemischt linearen Modells für den Biomarker Creatinkinase. Die Beziehung zwischen der an zehn verschiedenen Tagen im Juli/August 2019 in venösem EDTA-Blut gemessenen Aktivität der Creatinkinase von 16 professionellen Handballspielern einer deutschen Erstligamannschaft und dem jeweiligen Erholungs- und Beanspruchungszustand (NR und R). Die unterschiedlichen Schnittpunkte der probandenspezifischen Anpassungslinien mit der Y-Achse stellen den individuellen Random Intercept dar, die unterschiedliche Steigung dieser Anpassungslinien den Random Slope. $n = 160$.
Abkürzungen: logCK Natürlicher Logarithmus der Creatinkinase-Aktivität, NR Non-Recovered, R Recovered.

Das beschriebene Random-Intercept-Random-Slope-Modell zeigte die vergleichsweise beste Anpassung an den vorliegenden Datensatz mit einer Varianz-Kovarianz-Matrix vom programmspezifischen Typ „Skalierte Identität“ (Modell 6). Die programmspezifische Standardeinstellung „Varianzkomponenten“ als Varianz-Kovarianz-Matrix des Wechselwirkungseffekts führte zu identischen Werten der Informationskriterien im Vergleich zu einer Varianz-Kovarianz-Matrix

vom Typ „Zusammengesetzte Symmetrie“, weshalb beide Modelle in Modell 5 zusammengefasst sind. Bei der Auswahl einer unstrukturierten oder diagonalen Varianz-Kovarianz-Matrix erzielte das Modell keine Konvergenz. Unter Berücksichtigung beider Informationskriterien wurde aufgrund des relevanten Unterschieds der BIC zwischen Modell 5 und 6 letzteres Modell weiter untersucht. Der Einschluss von Kovariaten in das Random-Intercept-Random-Slope-Modell mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als festem Effekt (Modell 6) führte zu keiner relevanten Änderung der Informationskriterien. Als Beispiele sind die stehende Körpergröße als metrische, zeitunabhängige Variable auf der Ebene 2 (AIC: 84,10; BIC: 96,35) oder auch die Zuordnung der Probanden entsprechend ihres Alters zu Studienbeginn in drei Gruppen (Gruppe 1: 18 – 24 Jahre; Gruppe 2: 25 – 31 Jahre; Gruppe 3: 32 – 37 Jahre) als kategoriale, in diesem Fall auch zeitunabhängige Variable auf der Ebene 2 (AIC: 83,91; BIC: 96,16) zu nennen. Aus diesem Grund wurde auf den Einschluss einer Kovariaten in das endgültige Modell verzichtet. Die beschriebenen Modelle sind mit den dazugehörigen Informationskriterien in Tab. 6 aufgeführt. Dabei zeigt ein geringerer AIC- beziehungsweise BIC-Wert eine bessere Anpassung des Modells an den vorliegenden Datensatz an.

Tab. 6: Übersicht der berechneten linearen Modelle für den Biomarker Creatinkinase.

Nr.	Modellbezeichnung	Parameter	AIC	BIC
1	Basismodell (Random-Intercept-Only-Modell)	3	276,19	282,33
2	Random-Intercept-Modell (1) mit diagonalen Varianz-Kovarianz-Matrix für die Messwiederholungen	12	262,18	295,93
3	Random-Intercept-Modell (1) mit autoregressiver Varianz-Kovarianz-Matrix 1. Ordnung für die Messwiederholungen	4	241,68	250,89
4	Modell 3 mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als zusätzlichem festen Effekt	5	104,24	113,43
5	Gemischtes Modell (4) mit zusätzlichem Wechselwirkungseffekt und Varianz-Kovarianz-Matrix „VC“ oder „CS“ für Random Intercept und Random Slope	6	83,91	96,16
6	Gemischtes Modell (4) mit zusätzlichem Wechselwirkungseffekt und Varianz-Kovarianz-Matrix „ID“ für Random Intercept und Random Slope	5	83,96	93,15

Anmerkungen: a Ein geringerer Wert zeigt eine bessere Anpassung des Modells an den Datensatz an. Abkürzungen: AIC Akaike-Informationskriterium; BIC Bayes-Informationskriterium; CS Zusammengesetzte Symmetrie; ID Skalierte Identität; VC Varianzkomponenten

Zur Untersuchung des Effekts des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf die Harnstoffkonzentration wurde zunächst ebenfalls ein Basismodell konstruiert und hiermit der ICC berechnet ($\rho = 0,06$). Demzufolge gingen schätzungsweise lediglich 6 % der Gesamtvarianz dieses Biomarkers auf Populationsebene auf inter-individuelle Unterschiede zurück. Die Nullhypothese musste angenommen werden (Wald $Z = 0,96$, $p = 0,32$). Diese besagte, dass keine Unterschiede zwischen den Probanden hinsichtlich deren durchschnittlichen Harnstoffkonzentration vorliegen. Der berechnete Designeffekt betrug 1,54. Die grafische Darstellung der Beziehung des Erholungs- und Beanspruchungszustands und der Harnstoffkonzentration in Abb. 8 zeigte, dass auch in diesem Fall ein Random Intercept und Random Slope vorlag.

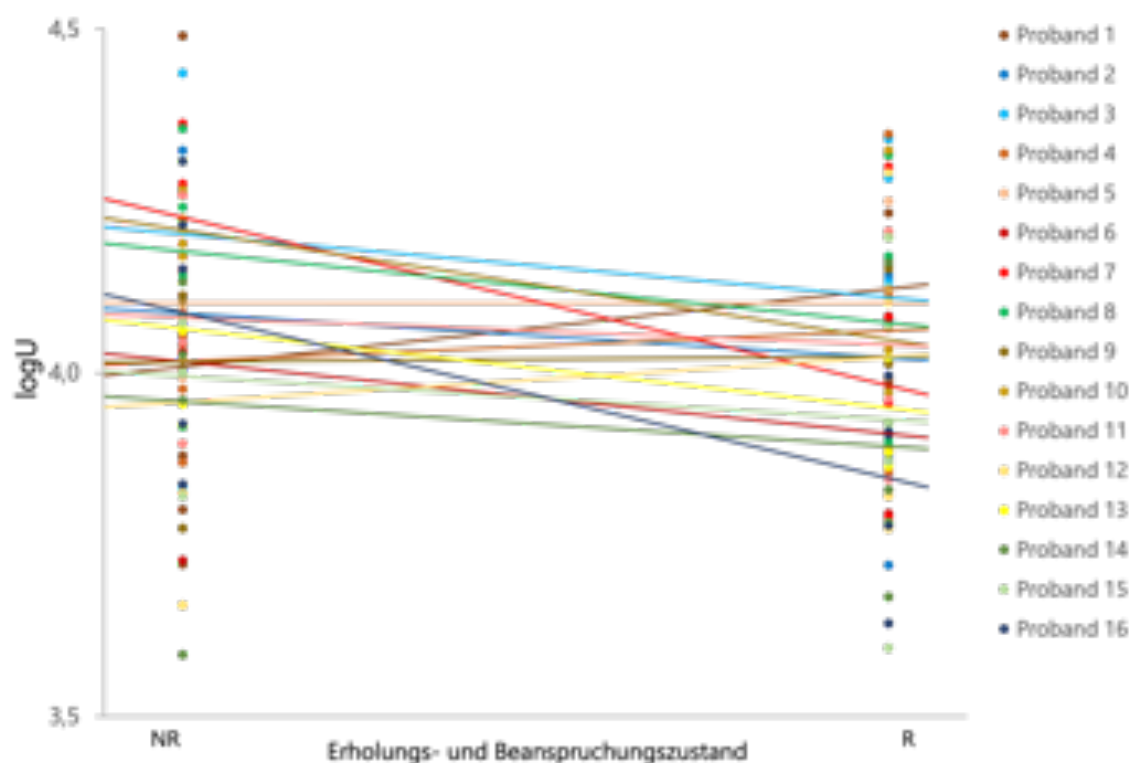


Abb. 8: Random-Intercept und Random-Slope eines gemischt linearen Modells für den Biomarker Harnstoff. Die Beziehung der an zehn verschiedenen Tagen im Juli/ August 2019 in venösem EDTA-Blut gemessenen Harnstoffkonzentration von 16 professionellen Handballspielern einer deutschen Erstligamannschaft und dem jeweiligen Erholungs- und Beanspruchungszustand (NR und R). Die unterschiedlichen Schnittpunkte der probandenspezifischen Anpassungslinien mit der Y-Achse stellen den individuellen Random Intercept dar, die unterschiedliche Steigung dieser Anpassungslinien den Random Slope. $n = 160$.

Abkürzungen: logU Natürlicher Logarithmus der Harnstoffkonzentration (Urea), NR Non-Recovered, R Recovered.

Die beiden Varianzkomponenten erreichten jedoch keine statistische Signifikanz. Daher wurde gemäß dem Sparsamkeitsprinzip auf eine Schachtelung der Messzeitpunkte in den verschiedenen Probanden und auf den Einschluss zufälliger Effekte zur Untersuchung des Effekts des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf die Harnstoffkonzentration verzichtet und ein lineares Modell mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als festem Effekt berechnet. Zum Vergleich sind die berechneten Modelle für den Biomarker Harnstoff in Tab. 7 mit ihren Informationskriterien aufgelistet.

Tab. 7: Übersicht der berechneten linearen Modelle für den Biomarker Harnstoff.

Nr.	Modellbezeichnung	Parameter	AIC	BIC
1	Basismodell (Random-Intercept-Only-Modell)	3	-90,50	-84,36
2	Random-Intercept-Modell (1) mit diagonalen Varianz-Kovarianz-Matrix für die Messwiederholungen	12	-79,56	-45,80
3	Random-Intercept-Modell (1) mit autoregressiver Varianz-Kovarianz-Matrix 1. Ordnung für die Messwiederholungen	4	-89,09	-79,88
4	Modell 3 mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als zusätzlichem festen Effekt	5	-90,37	-81,18
5	Gemischtes Modell (4) mit zusätzlichem Wechselwirkungseffekt und Varianz-Kovarianz-Matrix „ID“ für Random Intercept und Random Slope	5	-90,36	-81,17
6	Random-Intercept-Modell (1) mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als zusätzlichem festen Effekt	4	-91,129	-85,03
7	Lineares Modell mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als festem Effekt	3	-91,20	-88,14

Anmerkungen: a Ein geringerer absoluter Wert zeigt eine bessere Anpassung des Modells an den Datensatz an.
Abkürzungen: AIC Akaike-Informationskriterium; BIC Bayes-Informationskriterium; ID Skalierte Identität.

3.3.2 Ergebnisse der endgültigen linearen Modelle

Das ausgewählte gemischt lineare Modell mit der CK-Aktivität als abhängige Variable beinhaltete fünf Parameter, davon den Erholungs- und Beanspruchungszustand als festen Effekt und die Probanden-Identität sowie die Wechselwirkung zwischen dem Erholungs- und Beanspruchungszustand und der Probanden-Identität als zufällige Effekte. Zunächst konnte gezeigt werden, dass mit der autoregressiven Struktur 1. Ordnung eine passende Varianz-Kovarianz-Matrix für

die wiederholten Messungen ausgewählt wurde (Wald Z (AR1, diagonal) = 3,37, $p = 0,001$; Wald Z (AR1, Rho) = 16,12, $p < 0,001$). Der F-Gesamttest (Typ III) auf feste Effekte zeigte bereits, dass bezogen auf die Studienpopulation der Erholungs- und Beanspruchungszustand einen statistisch hochsignifikanten Effekt auf die CK-Aktivität ausübte ($F(1, 13,09) = 172,03$, $p < 0,001$). Es konnte demnach die Alternativhypothese, dass hinsichtlich der CK-Aktivität ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen ermüdetem und erholtem Zustand besteht, angenommen werden. Auch der in das Modell eingeschlossene Wechselwirkungseffekt zur Aufklärung der Varianz war mit einem Wald Z-Wert von 2,12 statistisch signifikant ($p = 0,034$), sodass angenommen werden konnte, dass eine Wechselwirkung zwischen dem Erholungs- und Beanspruchungszustand und der Probanden-Identität bestand. Diese Wechselwirkung ist durch die unterschiedlichen Steigungen der probandenspezifischen Anpassungslinien in Abb. 7 (s. S. 35) dargestellt.

Nachfolgend sollte die Annahme, dass der ermüdete Zustand mit einer Erhöhung der CK-Aktivität einhergeht, also der nachgewiesene Effekt positiv gerichtet ist, auch mit einem Hypothesentest im Rahmen des gemischt linearen Modells geprüft werden. Es wurde bereits im Rahmen der Ergebnisse der deskriptiven Statistik beschrieben, dass das gruppenbasierte arithmetische Mittel der CK-Aktivität im ermüdeten Zustand einen größeren Wert annahm als im erholten Zustand (s. 3.2 Deskriptive Statistik und explorative Datenanalyse, S. 27). Der Kontrastschätzer war für die Studienpopulation statistisch signifikant ($t(13,09) = 13,12$, $p < 0,001$), wobei sich der p -Wert für einen einseitigen t-Test aus dem Quotienten des programmspezifisch für einen zweiseitigen t-Test berechneten p -Wertes ($p < 0,001$) als Dividenden und der Zahl 2 als Divisor berechnete. Es wurde somit die Annahme bestätigt, dass der ermüdete Zustand mit einer signifikanten Erhöhung der CK-Aktivität bei den Probanden einherging. Dies entsprach nach Cohen einem großen Effekt ($d = 3,49$).

Mit dem gemischt linearen Modell konnte der Gesamtmittelwert und dessen Standardfehler in der Zielpopulation für den Erholungs- und Beanspruchungszustand geschätzt werden. Dieser betrug im ermüdeten Zustand $431,54 \pm 1,12$ U/l (Konfidenzintervall 95 %: Untergrenze 341,9 U/l, Obergrenze 544,69 U/l) und im erholten Zustand $203,53 \pm 1,12$ U/l (Konfidenzintervall 95 %: Untergrenze 161,25 U/l, Obergrenze 256,89 U/l). Der Standardfehler des Kontrastschätzers der Zielpopulation war ebenso statistisch hochsignifikant ($t(1, 13,09) = 13,21$, $p < 0,001$) und nahm mit 1,06 U/l nur einen unwesentlich größeren Wert an als der Standardfehler

des Kontrastschätzers der Studienpopulation (1,02 U/l). Dadurch konnte von einer für die Schätzung der Parameter der Zielpopulation angemessen großen Stichprobe ausgegangen werden.

Bei der Untersuchung des Effekts des Erholungs- und Beanspruchungszustands auf die Harnstoffkonzentration als abhängige Variable hatte bereits das Basismodell gezeigt, dass zwar Unterschiede zwischen den Probanden existieren, diese jedoch nicht statistisch signifikant sind. Bei einem Designeffekt von 1,45 wurde auf die Durchführung einer Mehrebenenanalyse verzichtet und stattdessen ein lineares Modell mit der Harnstoffkonzentration als abhängiger Variable und der unabhängigen Variable Erholungs- und Beanspruchungszustand als festem Effekt berechnet. Dieser übte bezogen auf die Studienpopulation einen statistisch signifikanten Effekt auf die Harnstoffkonzentration aus ($F(1, 158) = 5,76, p = 0,018$). Die Harnstoffkonzentration nahm in der Studienpopulation statistisch signifikant größere Werte an, wenn die Probanden ermüdet waren ($t(158) = 2,40, p = 0,018$), was gemäß Cohen einem kleinen Effekt entsprach ($d = 0,382$).

Die mit dem linearen Modell geschätzten Gesamtmittelwerte und deren Standardfehler in der Zielpopulation betrugen im ermüdeten Zustand $58,85 \pm 1,02$ mg/dl (Konfidenzintervall 95 %: Untergrenze 56,1 mg/dl, Obergrenze 61,17 mg/dl) und im erholten Zustand $55,06 \pm 1,02$ mg/dl (Konfidenzintervall 95 %: Untergrenze 52,97 mg/dl, Obergrenze 57,23 mg/dl). Die Standardfehler der Kontrastschätzer der Studien- und Zielpopulation nahmen mit 1,03 mg/dl denselben Wert an, sodass auch für die Schätzung der Parameter für die Harnstoffkonzentration in der Zielpopulation von einer angemessen großen Stichprobe ausgegangen werden konnte.

Die interferenzstatistische Analyse hat gezeigt, dass professionelle Handballspieler der höchsten deutschen Liga im ermüdeten Zustand statistisch signifikant größere Werte für die Biomarker Creatinkinase und Harnstoff aufweisen als im erholten Zustand. Dabei übte der Erholungs- und Beanspruchungszustand auf die CK-Aktivität einen großen Effekt und auf die Harnstoffkonzentration einen kleinen Effekt aus. Die ausgewählte Stichprobengröße schien ausreichend zu sein, um die Parameter für beide Biomarker im ermüdeten und erholten Zustand in der Zielpopulation möglichst zuverlässig zu schätzen. Die geschätzten Konfidenzintervalle der Gesamtmittelwerte beider Biomarker wurden nachfolgend zur Bestimmung der gruppenbasierten, handballspezifischen Referenzbereiche verwendet.

3.4 Referenzbereiche der Biomarker

3.4.1 Gruppenbasierte Referenzbereiche

Mit dem gemischt linearen Modell konnten gruppenbasierte Referenzbereiche des Biomarkers Creatinkinase für die Zielpopulation geschätzt werden. Hierzu wurden die 95 %-Konfidenzintervalle für den ermüdeten und erholten Zustand genutzt. Die gruppenbasierten Referenzbereiche für die Creatinkinase sind in Abb. 9 dargestellt.

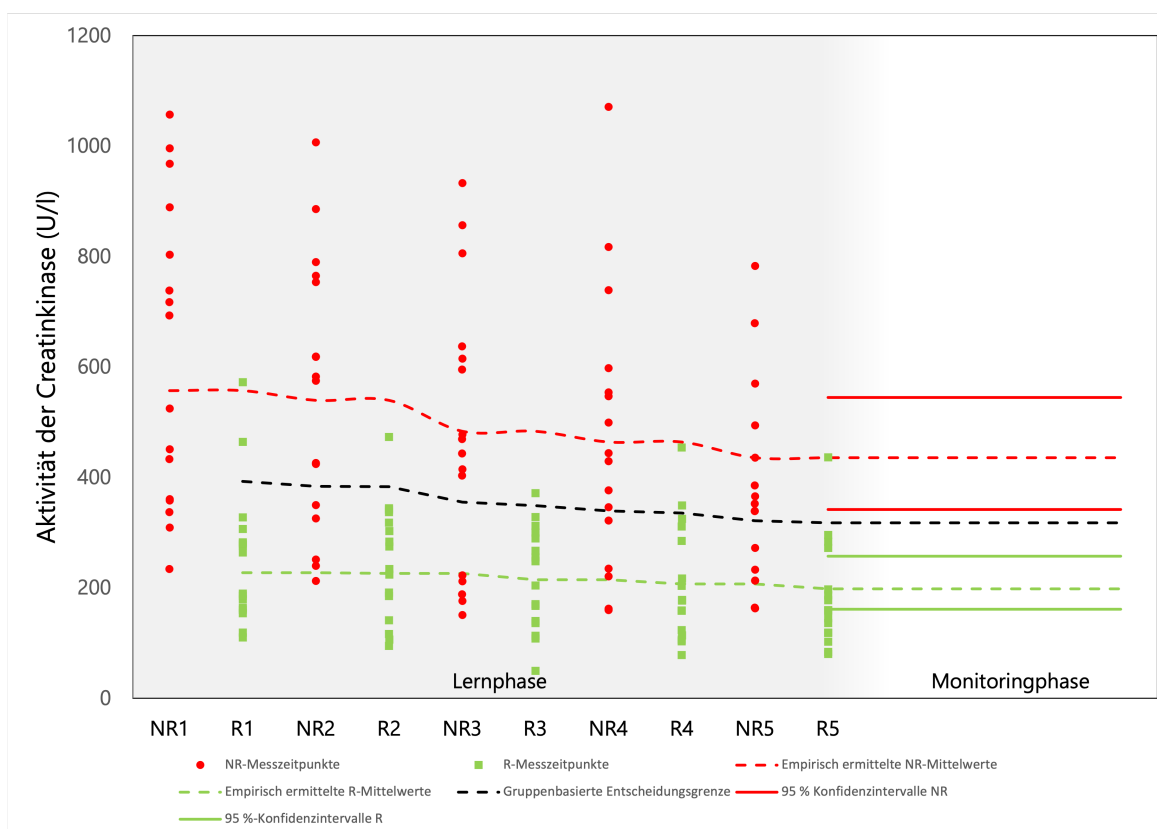


Abb. 9: Gruppenbasierte Referenzbereiche des Biomarkers Creatinkinase für professionelle Handballspieler der höchsten deutschen Spielklasse. Im grau unterlegten Teil der Abbildung ist die Aktivität der Creatinkinase von 16 professionellen Handballspielern einer deutschen Erstligamannschaft auf Gruppenebene, gemessen in venösem EDTA-Blut an zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand in der Lernphase (Juli/August 2019), dargestellt. Aus den empirisch ermittelten Mittelwerten wurde die gruppenbasierte Entscheidungsgrenze zur Klassifizierung berechnet. Die im weiß unterlegten Teil zusätzlich eingefügten horizontalen Linien stellen die mit einem gemischt linearen Modell für die Zielpopulation geschätzten gruppenbasierten 95 %-Konfidenzintervalle als Referenzbereiche für die Monitoringphase (September 2019 – März 2020) dar. $n = 160$.

Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat, NR Non-Recovered, R Recovered, U/l Enzym-einheit pro Liter.

Als Entscheidungsgrenze für das gruppenbasierte Referenzklassifizierungsverfahren wurde der Wert definiert, für den der Abstand zu den empirisch ermittelten Gruppenmittelwerten beider Zustände in der Studienpopulation denselben Wert annahm. Somit betrug die gruppenbasierte Entscheidungsgrenze nach der Lernphase für die CK-Aktivität 316,45 U/l und für die Harnstoffkonzentration 56,96 mg/dl. Die im linearen Modell mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als festem Effekt geschätzten gruppenbasierten Referenzbereiche für die Harnstoffkonzentration sind in Abb. 10 dargestellt.

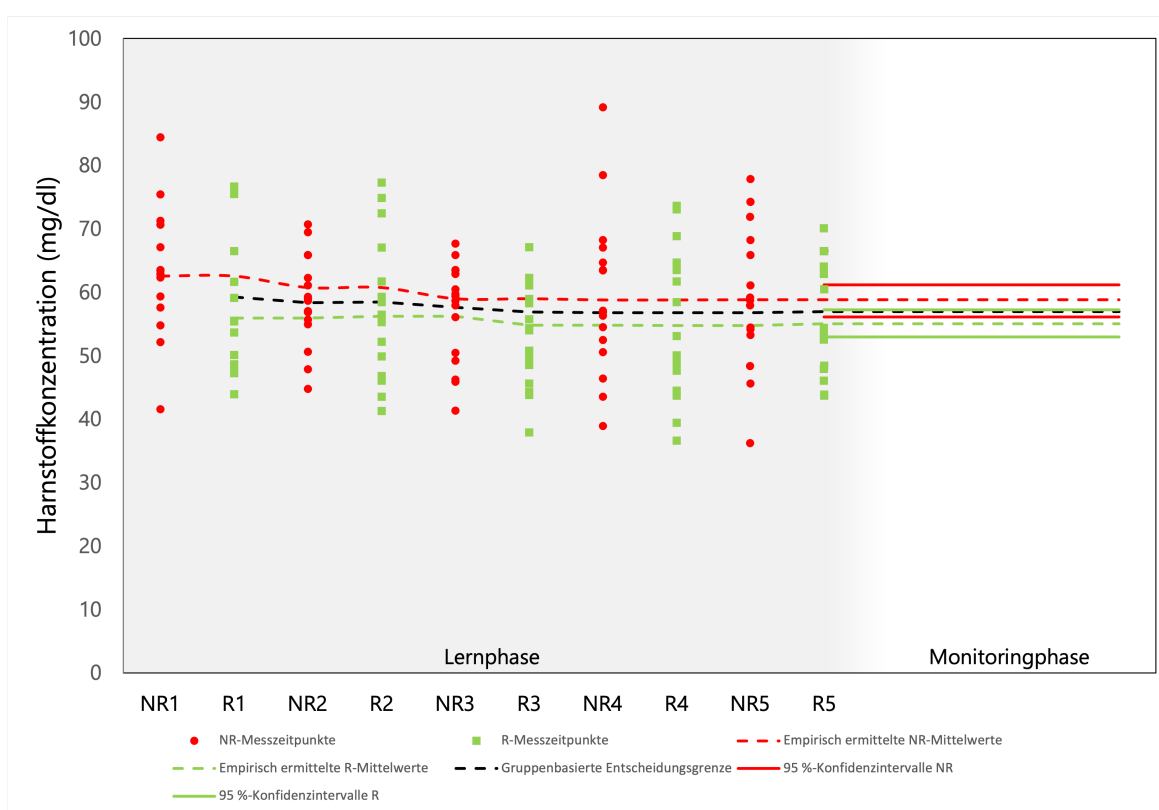


Abb. 10: Gruppenbasierte Referenzbereiche des Biomarkers Harnstoff für professionelle Handballspieler der höchsten deutschen Spielklasse. Im grau unterlegten Teil der Abbildung ist die Harnstoffkonzentration von 16 professionellen Handballspielern einer deutschen Erstligamannschaft auf Gruppenebene, gemessen in venösem EDTA-Blut an zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand in der Lernphase (Juli/August 2019), dargestellt. Aus den empirisch ermittelten Mittelwerten wurde die gruppenbasierte Entscheidungsgrenze zur Klassifizierung berechnet. Die im weiß unterlegten Teil zusätzlich eingefügten horizontalen Linien stellen die mit einem linearen Modell mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als festem Effekt für die Zielpopulation geschätzten gruppenbasierten 95 %-Konfidenzintervalle als Referenzbereiche für die Monitoringphase (September 2019 – März 2020) dar. $n = 160$.

Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat, NR Non-Recovered, R Recovered.

3.4.2 Individualisierte Referenzbereiche

Zur Berechnung der individualisierten Referenzbereiche wurde ein von Hecksteden et al. 2017 veröffentlichter, auf einem bayes'schen Ansatz basierender Algorithmus verwendet. Im vorliegenden balancierten Datensatz lagen für jeden Probanden wie in der Originalpublikation beschrieben je fünf Messzeitpunkte im ermüdeten beziehungsweise erholten Zustand vor. Die Rohdaten dieser Einzelmessungen wurden in chronologischer Reihenfolge für jeden Probanden in das Open-Source-Spreadsheet zur Berechnung der individualisierten Referenzbereiche eingefügt, beginnend mit dem ersten NR-Messzeitpunkt (NR1). Ein NR- und der nachfolgende R-Messzeitpunkt bildeten einen sogenannten Mikrozyklus. Falls der Wert eines R-Messzeitpunkts größer war als der des direkt vorausgegangenen NR-Messzeitpunkts, konnten die Werte dieses Mikrozyklus nicht zur Klassifizierung anderer Werte verwendet werden. Als individualisierte Entscheidungsgrenze wurde der Wert definiert, für den der Abstand zu den posterioren Mittelwerten der NR- und R-Messzeitpunkte des letzten Individualisierungszyklus gleich groß war.

Für die CK-Aktivität konnten für jeden Probanden alle Messwerte der Lernphase zur Berechnung der individualisierten Referenzbereiche verwendet werden. Anders verhielt es sich für die Harnstoffkonzentration, hier erfüllten nur bei den Probanden 7, 13 und 16 alle Mikrozyklen die Voraussetzung, um für den Algorithmus zur Normwertindividualisierung verwendet werden zu können. Bei den Probanden 4, 9 und 12 erfüllten drei von fünf Mikrozyklen die vorgenannte Voraussetzung. Diese Anzahl wurde auf persönliche Empfehlung Frau Dr. Heckstedens als Mindestanforderung für eine sinnvolle Anwendung des Algorithmus festgelegt. Da bei Proband 1 lediglich zwei Mikrozyklen die Voraussetzung erfüllten, konnten für ihn keine individualisierten Referenzbereiche berechnet werden. Vier Mikrozyklen erfüllten die Voraussetzung bei den restlichen Probanden. Die im Rahmen der Lernphase berechneten Referenzbereiche wurden schließlich genutzt, um die Messwerte der Monitoringphase dem jeweiligen Zustand zuzuordnen. Mit den Daten der Lernphase wurde zudem die Leistung dieses Klassifizierungsverfahrens getestet. Die Daten aus der Monitoringphase wurden zusammen mit den Daten einer Testmessung zu Beginn der Saisonvorbereitung nach einer mehrwöchigen Trainingspause zur grafischen Veranschaulichung dieses Monitoringansatzes genutzt. Sie waren jedoch kein Bestandteil der statistischen Auswertung.

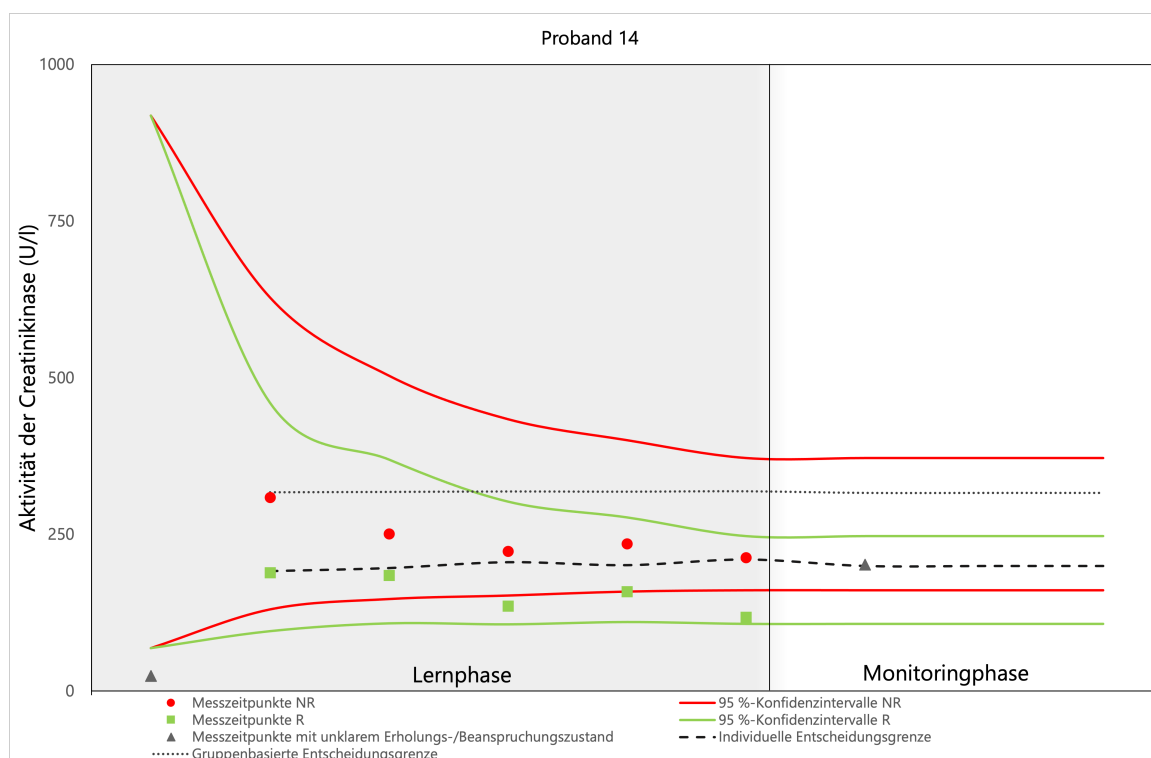


Abb. 11: Individualisierte Referenzbereiche des Biomarkers Creatinkinase eines professionellen Handballspielers einer deutschen Erstligamannschaft in der Saison 2019/2020. Im grau unterlegten Teil der Abbildung ist die Aktivität der Creatinkinase, gemessen in venösem EDTA-Blut an zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand in der Lernphase (Juli/August 2019), dargestellt. Aus diesen wiederholten Messungen wurden mit einem Algorithmus zur Normwertindividualisierung schrittweise die 95 %-Konfidenzintervalle berechnet und die individuelle Entscheidungsgrenze ermittelt. Der weiß unterlegte Teil stellt die Monitoringphase (September 2019 – März 2020) als mögliches Anwendungsbeispiel in der Sportpraxis dar. Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat, NR Non-Recovered, R Recovered, U/l Enzym-einheit pro Liter.

Abb. 11 zeigt die schrittweise berechneten individualisierten Referenzbereiche der CK-Aktivität für die physiologischen Zustände „Ermüdet“ und „Erholt“ sowie die dazugehörigen Entscheidungsgrenzen am Beispiel von Proband 14. Bei ihm überschneiden sich die Referenzbereiche nach Abschluss der Baseline-Messungen um mehr als die Hälfte des R-Referenzbereichs, generell wurde eine Überschneidung für die CK-Aktivität bei 68,75 % der Probanden beobachtet. Für die restlichen fünf Probanden zeigte sich wie bei den empirisch ermittelten gruppenbasierten Referenzbereichen keine Schnittmengen. Weiterhin verdeutlicht Abb. 11, dass die individualisierte Entscheidungsgrenze bei Proband 14 jederzeit einen kleineren Wert annahm als die gruppenbasierte Entscheidungsgrenze, die Differenz betrug nach Abschluss der Lernphase 116,74 U/l.

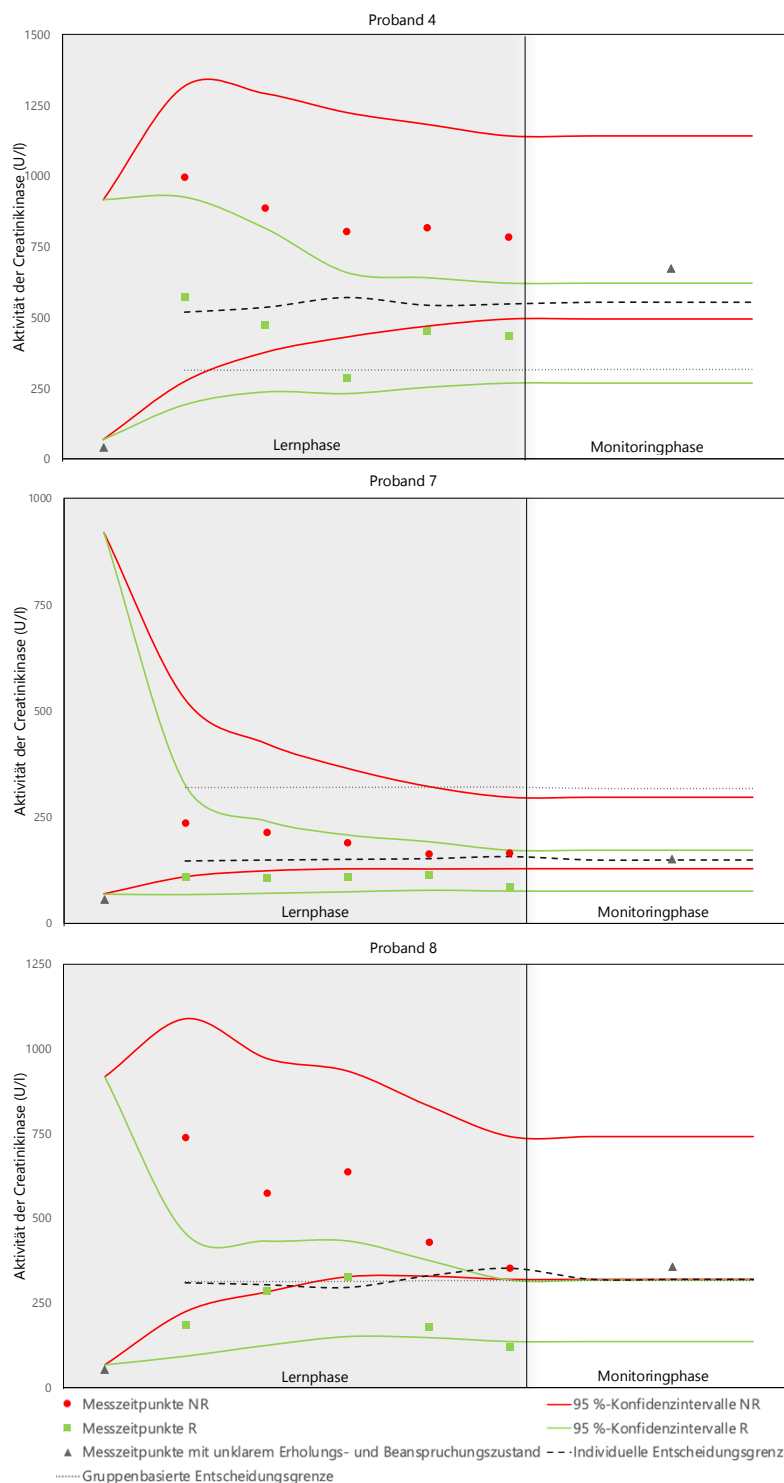


Abb. 12: Individualisierte Referenzbereiche des Biomarkers Creatinkinase verschiedener professioneller Handballspieler einer deutschen Erstligamannschaft in der Saison 2019/2020. In den grau unterlegten Teilen der einzelnen Abbildungen ist die Aktivität der Creatinkinase, gemessen in venösem EDTA-Blut an jeweils zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand in der Lernphase (Juli/August 2019), dargestellt. Aus diesen wiederholten Messungen wurden mit einem Algorithmus zur Normwertindividualisierung schrittweise die 95 %-Konfidenzintervalle berechnet und die individuelle Entscheidungsgrenze ermittelt. Die weiß unterlegten Teile der einzelnen Abbildungen stellen die jeweilige Monitoringphase (September 2019 – März 2020) als mögliches Anwendungsbeispiel in der Sportpraxis dar. Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat, NR Non-Recovered, R Recovered, U/l Enzym-einheit pro Liter.

Bei der Hälfte der Probanden nahm die individualisierte Entscheidungsgrenze kleinere beziehungsweise größere Werte als ihr gruppenbasiertes Pendant an. Die größte Differenz der Entscheidungsgrenzen zeigte sich bei Proband 4 (239,11 U/l), wohingegen die Differenz bei Proband 8 nur 3,53 U/l betrug. Das arithmetische Mittel der Differenzen beider Entscheidungsgrenzen betrug auf Gruppenebene $91,01 \pm 69,25$ U/l. Abb. 12 (s. S. 45) verdeutlicht die interindividuellen Unterschiede anhand der berechneten CK-Referenzbereiche der Probanden 4, 7 und 8.

Für die Harnstoffkonzentration wurden 77,5 % der Messwerte zur Berechnung der individuellen Referenzbereiche verwendet. Diese überschritten sich bei allen Probanden für den ermüdeten und erholten Zustand, bei einem Drittel um mehr als 50 %. Bei zwei Probanden nahm die individuelle Entscheidungsgrenze einen größeren Wert an als die gruppenbasierte Entscheidungsgrenze, bei den übrigen Probanden hingegen einen kleineren Wert. Die Differenz der empirisch ermittelten Entscheidungsgrenzen betrug im Mittel für die 15 Probanden nach Abschluss der Lernphase $4,09 \pm 2,84$ mg/dl. Die kleinste Differenz der Entscheidungsgrenzen wies Proband 7 mit 0,08 mg/dl auf, im Vergleich dazu betrug sie bei Proband 14 mit 8,07 mg/dl ungefähr das Hundertfache. Generell wurden im Rahmen der Testmessung zu Beginn der Vorbereitungsphase im vermeintlich erholten Zustand nach einer mehrwöchigen trainingsfreien Zeit bei 14 von 15 Probanden U-Werte gemessen, die größer als die jeweilige probandenspezifische Entscheidungsgrenze waren. Dieser Umstand ist auch bei den beispielhaft ausgewählten Probanden in Abb. 13 (s. S. 47) zu erkennen. Für die CK-Aktivität war das hingegen für keinen Probanden der Fall.

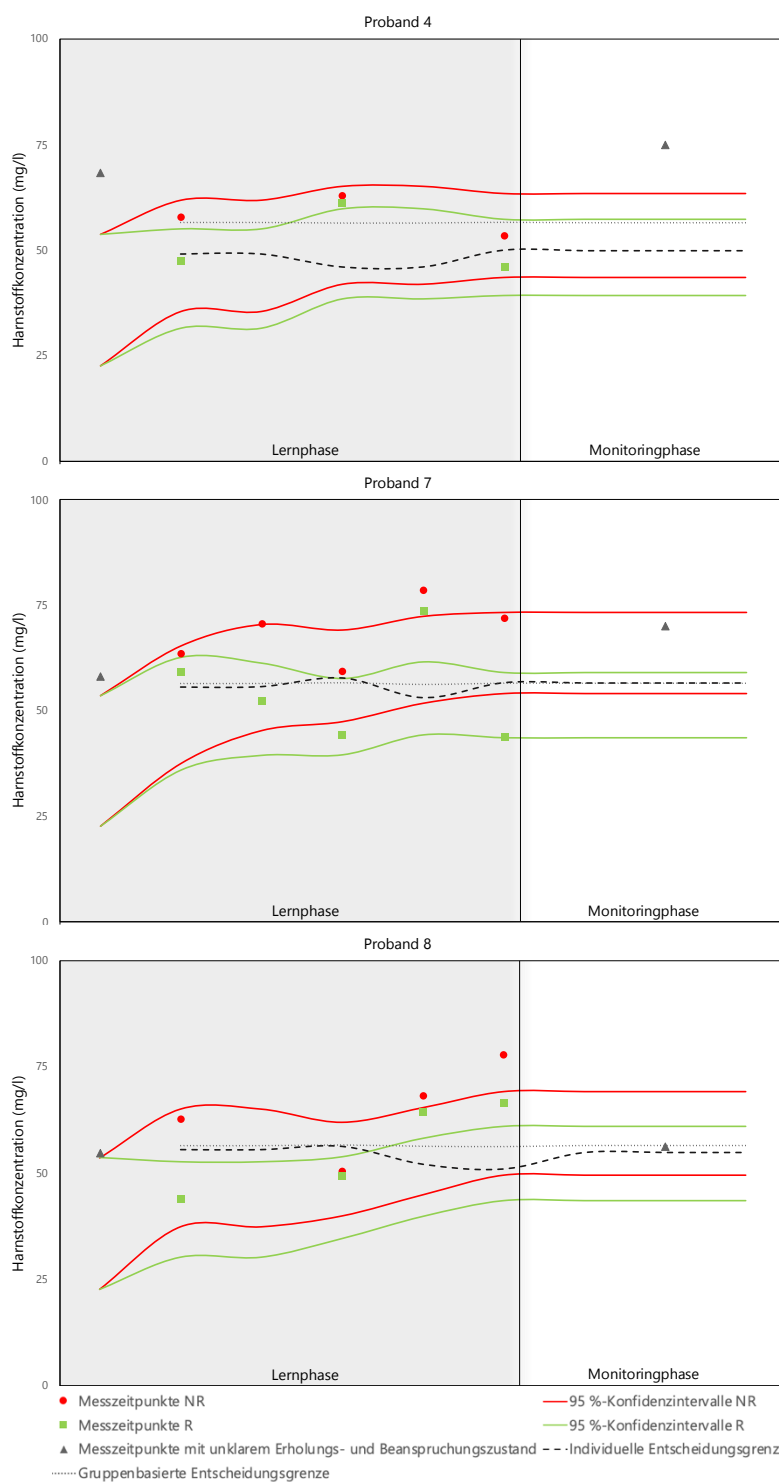


Abb. 13: Individualisierte Referenzbereiche des Biomarkers Harnstoff verschiedener professioneller Handballspieler einer deutschen Erstligamannschaft in der Saison 2019/2020. In den grau unterlegten Teilen der einzelnen Abbildungen ist die Aktivität der Creatinkinase, gemessen in venösem EDTA-Blut an jeweils zehn verschiedenen Tagen mit bekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand in der Lernphase (Juli/August 2019), dargestellt. Aus diesen wiederholten Messungen wurden mit einem Algorithmus zur Normwertindividualisierung schrittweise die 95 %-Konfidenzintervalle berechnet und die individuelle Entscheidungsgrenze ermittelt. Die weiß unterlegten Teile der einzelnen Abbildungen stellen die jeweilige Monitoringphase (September 2019 – März 2020) als mögliches Anwendungsbeispiel in der Sportpraxis dar.

Abkürzungen: EDTA Ethylendiamintetraacetat, NR Non-Recovered, R Recovered.

3.5 Vergleich der Klassifizierungsverfahren

Die Berechnung individualisierter Referenzbereiche sollte die Zuordnung eines neuen Messwerts mit unbekanntem Erholungs- und Beanspruchungszustand zu einer der beiden Merkmalsausprägungen „Ermüdet“ und „Erholt“ ermöglichen. Diese neue Art der Klassifizierung wurde anhand von vorab definierten Fehlerraten mit einem gruppenbasierten Referenzklassifizierungsverfahren verglichen. Im Rahmen beider Methoden wurde eine spezielle Form der Leave-One-Out-Kreuzvalidierung eingesetzt, bei der die Messwerte eines Mikrozyklus aus dem Trainingsdatensatz ausgeschlossen wurden. Dies geschah aufgrund der starken Abhängigkeit eines R-Messwertes von dem direkt vorausgegangenen NR-Messwert. Die probandenspezifischen Entscheidungsgrenzen des zu testenden Klassifizierungsverfahrens wurden mit den posterioren Mittelwerten nach dem letzten Individualisierungszyklus berechnet. Analog dazu wurden die Entscheidungsgrenzen des Referenzklassifizierungsverfahrens mit den gruppenbasierten NR- und R-Mittelwerten berechnet.

Zur Klassifizierung der CK-Messwerte konnten alle Daten aus der Lernphase verwendet werden, sodass jeder Trainingsdatensatz für das gruppenbasierte Klassifizierungsverfahren $n = 158$ Messwerte beinhaltete. Damit wurden insgesamt 73 Messwerte als NR und 87 als R klassifiziert. Unter den 73 als NR klassifizierten Werten befanden sich fälschlicherweise 13 R-Messwerte, die Test-fail-Fehlerrate betrug somit 0,178. Von den 87 als R klassifizierten Werten wurden 20 tatsächlich im ermüdeten Zustand gemessen, daher betrug die Test-pass-Fehlerrate 0,229. Im Mittel wurden je Proband 20,63 % der gemessenen Werte falsch klassifiziert, lediglich bei den Probanden 5, 6 und 11 wurden alle Messwerte dem richtigen Erholungs- und Beanspruchungszustand zugeordnet. Mit dem individualisierten Klassifizierungsverfahren wurden jeweils 80 Messwerte als NR oder R klassifiziert. Darunter waren jeweils sieben falsch klassifizierte Messwerte, sodass beide Fehlerraten 0,088 betrugen. Bei fünf Probanden konnten alle Messwerte korrekt zugeordnet werden (1, 2, 5, 7, 14, 15). Der Vergleich beider Klassifizierungsverfahren zeigte für beide Fehlerraten einen numerischen Unterschied, der im Rahmen der interferenzstatistischen Analyse jedoch nur für die Test-pass-Fehlerrate statistische Signifikanz erreichte (Test-fail: $p = 0,1485$; Test-Pass: $p = 0,0196$). Diese entsprach gemäß Cohen einem kleinen Effekt ($\phi = 0,19$).

Für die gruppenbasierte Klassifizierung der U-Messwerte betrug die Größe der Trainingsdatensätze $n = 120$, da analog zum Individualisierungsverfahren wie in Kapitel 3.4.2 Individualisierte Referenzbereiche (s. S. 43) beschrieben mehrere Mikrozyklen von verschiedenen Probanden ausgeschlossen werden mussten. Da bei Proband 1 nur in zwei Mikrozyklen die Harnstoffkonzentration im ermüdeten Zustand einen größeren Wert annahm als im darauffolgenden erholten Zustand, konnte für ihn keine Individualisierung vorgenommen werden. Zur besseren Vergleichbarkeit beider Methoden wurden seine U-Messwerte auch aus dem gruppenbasierten Klassifizierungsverfahren ausgeschlossen. Es wurden insgesamt 64 Messwerte als NR und 56 als R klassifiziert. Die 64 als NR klassifizierten Messwerte umfassten 18 im erholten Zustand gemessene Werte, weshalb die Test-Fail-Fehlerrate 0,281 betrug. Die Test-Pass-Fehlerrate betrug 0,25, da sich unter den 56 als R klassifizierten Messwerten 14 NR-Messwerte befanden. Durch die individualisierte Herangehensweise wurden insgesamt 83 Messwerte als NR und 38 als R klassifiziert, darunter fielen 28 falsch klassifizierte R-Messwerte und fünf falsch zugeordnete NR-Messwerte. Die Test-Fail-Fehlerrate betrug somit 0,337, die Test-Pass-Fehlerrate hingegen 0,132. Die Klassifizierungsverfahren zeigten hinsichtlich der Fehlerraten zwar numerische Unterschiede, die jedoch keine statistische Signifikanz erreichten (Test-Fail: $p = 0,7228$; Test-Pass: $p = 0,197$). Sämtliche Fehlerraten, p -Werte und Effektgrößen sind in Tab. 8 zusammengefasst.

Tab. 8: Fehlerraten des gruppenbasierten und individualisierten Klassifizierungsverfahrens.

Fehlerraten	Gruppenbasiertes Klassifizierungsverfahren	Individualisiertes Klassifizierungsverfahren	p -Werte	Effektgröße (ϕ)
CK				
Test-Fail-Fehlerrate	0,178	0,088	0,1485	-
Test-Pass-Fehlerrate	0,227	0,088	0,0196*	0,19
U				
Test-Fail-Fehlerrate	0,281	0,337	0,7228	-
Test-Pass-Fehlerrate	0,25	0,132	0,197	-

Anmerkungen: Die Test-Fail-Fehlerrate bezeichnet die falsch als „Ermüdet“ klassifizierten Messwerte unter allen als „Ermüdet“ klassifizierten Messwerten. Die Test-Pass-Fehlerrate bezeichnet die falsch als „Erholt“ klassifizierten Messwerte unter allen als „Erholt“ klassifizierten Messwerten. Die berechneten zweiseitigen p -Werte sind Ergebnisse des exakten Fisher-Tests mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$. Dabei wurden die Fehlerraten des gruppenbasierten Klassifizierungsverfahrens als Wahrscheinlichkeiten für die Binomialverteilung angenommen, um daraus die Wahrscheinlichkeiten zu berechnen, mit dem individualisierten Klassifizierungsverfahren diese Fehleranzahl zu erhalten.

Abkürzungen: CK Creatinkinase; U Urea, lateinische und englische Bezeichnung für Harnstoff.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig ein im Rahmen des REGman-Projekts entwickeltes neuartiges Verfahren zur Klassifizierung des akuten Erholungs- und Beanspruchungszustands im professionellen Handball auf höchstem Leistungsniveau untersucht. Das von Hecksteden et al. 2017 veröffentlichte Klassifizierungsverfahren beinhaltet einen Algorithmus, um individualisierte Referenzbereiche für anerkannte Biomarker der muskulären und metabolischen Beanspruchung zu berechnen. Die dadurch erhaltenen „individuellen Effektgrößen“ sollen im Rahmen eines Monitorings eine genauere Zuordnung zu den physiologischen Zuständen „Erholt“ und „Ermüdet“ ermöglichen, um den Regenerationsbedarf der Athleten im sportlichen Alltag besser einschätzen zu können und somit die Trainings- und Belastungssteuerung zu optimieren.

In der Originalarbeit und der darauffolgenden klinischen Anwendungsstudie von Barth et al. wurden die seit vielen Jahren im trainingswissenschaftlichen und sportmedizinischen Kontext eingesetzten Biomarker Creatinkinase (CK) und Harnstoff (U, vom lateinischen und englischen Begriff Urea) als Zielgrößen in verschiedenen Einzel- und Mannschaftssportarten untersucht [4, 28]. In der vorliegenden Arbeit wurden diese Ermüdungsindikatoren bei 16 Handballspielern aus einer Mannschaft der höchsten deutschen Liga saisonbegleitend beobachtet. Dabei konnte durch lineare Modelle gezeigt werden, dass der ermüdete Zustand auf Gruppenebene auch bei professionellen Handballspielern erwartungsgemäß mit einer statistisch signifikant erhöhten CK-Aktivität und Harnstoffkonzentration im venösen Plasma einherging. Die berechneten Modelle erlaubten zudem für beide Biomarker eine Abschätzung handballspezifischer gruppenbasierter Referenzbereiche. Außerdem wurde auch bei professionellen Handballspielern eine signifikante interindividuelle Variabilität der CK-Aktivität bestätigt, wodurch eine individualisierte Herangehensweise bei der Klassifizierung sinnvoll schien. Diese ging nur für die CK-Aktivität mit einer numerischen Senkung vorab definierter Fehleraten einher, die für die Test-pass-Fehlerrate auch statistische Signifikanz erreichte und gemäß Cohen einem kleinen Effekt entsprach.

4.1 Methodendiskussion

In den bisherigen Studien der REGman-Arbeitsgruppe waren für die Datenerhebung mehrfache Messungen an denselben Beobachtungseinheiten notwendig, um die klassifikatorische Leistung des Algorithmus zu untersuchen. Dasselbe galt für die vorliegende Arbeit, weshalb sie als prospektive klinische Längsschnittstudie mit beobachtendem Ansatz konzipiert wurde. Eine prospektive Datenerhebung war erforderlich, da keine geeigneten Datensätze für die untersuchten Zielgrößen zur Verfügung standen. Außerdem bot sie die vielversprechende Möglichkeit, die Untersuchungsbedingungen dem sportartspezifischen Alltag möglichst genau anzupassen. Dieser Alltag sollte durch ein Monitoring und somit auch in Studien zur Untersuchung der dazu eingesetzten Verfahren möglichst wenig beeinträchtigt werden, weshalb der beobachtende Ansatz ein wichtiger Bestandteil des Studiendesigns war [69, 98]. Ferner bot eine in den normalen Trainings- und Wettkampfplan mit seinen sportarttypischen Belastungs- und Regenerationsphasen integrierte Untersuchung gegenüber einer konstruierten Feldstudie abseits des sportlichen Alltags Vorteile bei der späteren Übertragbarkeit in die Sportpraxis. Der Transfer in ein Erholungs-/Beanspruchungsmonitoring mit Biomarkern im professionellen Handballsport stellte schließlich ein übergeordnetes Ziel der vorliegenden Arbeit dar.

4.1.1 Studiendesign

Als Zielpopulation wurden die Handballspieler der höchsten deutschen Spielklasse ausgewählt, da für die Untersuchung dieses neuartigen Klassifizierungsverfahrens bislang ausschließlich Daten von Athleten aus dem Hochleistungssport verwendet wurden [4, 28]. Die deutsche Handball-Bundesliga wurde im internationalen Vergleich für die Saison 2020/2021 von der Europäischen Handballföderation als zweitstärkste Liga geführt, somit gehören deren Spieler zu den leistungsstärksten Athleten in dieser olympischen Sportart [18, 40]. Auf den Einschluss von Handballspielern niedrigerer Leistungsniveaus wurde aus methodischen Gründen verzichtet, da ein derart aufwendiges Erholungs- und Beanspruchungsmonitoring zur Belastungssteuerung üblicherweise in einer Spitzensportumgebung mit täglichem

Training und hoher Wettkampfdichte zum Einsatz kommt. Eine gemeinsame Untersuchung von weiblichen und männlichen Handballspielenden auf höchstem Leistungsniveau war in diesem Zusammenhang nicht sinnvoll, da signifikante geschlechterspezifische Unterschiede in der Ausprägung der untersuchten Biomarker CK und U nicht nur in der Allgemeinbevölkerung [50, 80, 83, 92], sondern auch im Sport existieren [11, 26, 28, 66, 71]. Auf die zusätzliche, getrennte Untersuchung von Handballspielerinnen wurde in der vorliegenden Arbeit aus logistischen Gründen verzichtet. Die Untersuchung des Algorithmus zur Normwertindividualisierung im professionellen Frauenhandball sollte im Rahmen einer weiteren Anwendungsstudie erfolgen.

Als Studienpopulation boten sich Handballspieler einer einzigen Mannschaft an, weil sie insbesondere im Trainingsbetrieb ähnlichen sportlichen Belastungen ausgesetzt sind. Die Belastung im Wettkampf, der neben Test-, Liga- und Pokalspielen auch internationale Pokalspiele sowie zusätzliche Länderspiele für Nationalspieler umfassen kann, hängt neben der Spielposition entscheidend von der effektiven Spielzeit des einzelnen Spielers ab [17, 40, 63, 75]. Sie kann aufgrund der unbegrenzten Wechsellmöglichkeiten im Hallenhandball deutlich interindividuell variieren. Die Rekrutierung aller Probanden aus einer einzigen Mannschaft war auch aus logistischen und ökonomischen Gründen sinnvoll. Dadurch konnten für die Messungen der Biomarker möglichst identische Untersuchungsbedingungen in Bezug auf Ort, Zeit, Untersucher sowie eingesetzte Materialien und Laborgeräte geschaffen werden. Die damit einhergehende Minimierung möglicher Einflussgrößen auf die Zielparameter sollte die Aussagekraft der Studienergebnisse erhöhen. Eine vollständige Mannschaft als Studienpopulation eignete sich zudem als repräsentative Stichprobe, da sie der aus allen Handballspielern dieser Liga bestehenden Zielpopulation sowohl in der Zusammensetzung der Spielpositionen als auch bei den anthropometrischen Merkmalen gleicht. Aus diesen Gründen wurden bei bisherigen klinischen Studien mit Bezug zum professionellen Handballsport häufig Athleten aus einer Mannschaft als Studienpopulation ausgewählt [5, 14, 44, 55, 65, 89]. Auf eine Berechnung der Stichprobengröße vor Studienbeginn wurde aufgrund des Studiendesigns verzichtet, da der Schwerpunkt auf der Überprüfung der klassifikatorischen Leistung des Algorithmus zur Normwertindividualisierung lag. Durch den Einschluss mehrerer oder aller Mannschaften der höchsten Liga im Rahmen einer multizentrischen Studie könnte die Repräsentativität noch erhöht und somit die Aussagekraft der Ergebnisse für die Sportpraxis verstärkt werden.

Zudem könnte ein größeres Kollektiv genutzt werden, um Torhüter und Feldspieler getrennt voneinander zu untersuchen. Letztlich wäre dann auch eine Trennung nach Positionsgruppen (Torhüter, Außen-, Rückraum- und Kreisspieler) möglich, da sich das körperliche Anforderungsprofil positionsabhängig vor allem im Angriffsspiel deutlich unterscheidet und dementsprechend auch Unterschiede in den anthropometrischen Merkmalen der Spieler existieren [40]. Bei dem Einschluss eines solchen Makroregressors in eine Mehrebenenanalyse sollten zur Planung einer weiterführenden Studie die Empfehlungen zum Stichprobenumfang berücksichtigt werden [34]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit könnten dann zur Durchführung einer entsprechenden Poweranalyse genutzt werden.

Als Studienzeitraum bot sich eine Vorbereitungsperiode als Lernphase mit nachfolgender Wettkampfperiode als Monitoringphase an. Diese Zuordnung hatte den Vorteil, dass insbesondere in den ersten Wochen ein möglichst identischer Trainingsplan für alle Probanden galt.

Für die vorliegende Arbeit galten die für Beobachtungsstudien typischen Einschränkungen bei den Studienbedingungen. Da in das untersuchte Spitzensportumfeld so wenig wie möglich eingegriffen werden sollte, wurde der Trainings- und Wettkampfplan durch das verantwortliche Trainerteam beziehungsweise die entsprechende Organisation vorgegeben. Im Rahmen der Trainingseinheiten wurden die Spieler unterschiedlich starken Belastungen ausgesetzt. Diese Unterschiede kamen vor allem im regulären Handballtraining in der Halle durch die verschiedenen Spielpositionen zustande. Bei Wettkämpfen (Testspielen) in der zur statistischen Auswertung herangezogenen Lernphase existierten sportartimmanente Unterschiede bei der effektiven Spielzeit und den damit einhergehenden sportlichen Belastungen. Außerdem wurden die Freizeitaktivitäten der Spieler zwar abgefragt, jedoch nicht aktiv beeinflusst. Ebenso wenig existierten Ernährungsvorgaben. Ein Monitoring der Ernährung, zumindest der täglich aufgenommen Proteinmenge, könnte sich zur Beurteilung der Harnstoffkonzentration als hilfreich erweisen und sollte für kommende Studien mit diesem Biomarker erwogen werden.

4.1.2 Messverfahren

Die im sportmedizinischen und trainingswissenschaftlichen Zusammenhang gut untersuchten Biomarker Creatinkinase und Harnstoff wurden als Zielgrößen zur objektiven Abbildung muskulärer und metabolischer Ermüdungs- und Erholungsprozesse ausgewählt, um die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit primär mit denen der bisherigen Untersuchungen des Algorithmus zur Normwertindividualisierung zu vergleichen [4, 28]. Die sportartimmanente Vielzahl an Kollisionen und körperlichen Kontakten konnte als möglicher Störfaktor angesehen werden und den Nutzen des Muskelenzyms Creatinkinase als Biomarker einschränken, da die durch solch forcierte Kontakte verursachten direkten Muskelverletzungen ebenfalls mit einem Anstieg der CK-Aktivität einhergehen können [40, 59].

Neben den Biomarkern selbst wurden auch die Studienbedingungen für die sterilen Vollblutentnahmen weitestgehend analog zu den bisherigen Untersuchungen des Algorithmus zur Normwertindividualisierung gestaltet, um eine möglichst gute Vergleichbarkeit zu gewährleisten [4, 28]. Daher wurde auch auf eine Verwendung von Kapillarblut, dessen einfacher durchzuführende Gewinnung mit einer geringeren Gewebeverletzung einhergeht und somit die Athleten weniger stark beeinträchtigt [73], verzichtet. Die Vorteile der Kapillarblutentnahme sind jedoch in kommenden Studien zu berücksichtigen [4], zumal vom Hersteller des in der vorliegenden Arbeit verwendeten mobilen Laborgeräts sowie den dazugehörigen Fertigtests bei einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,966$ (für CK 321) sowie $R^2 = 0,925$ (für HST 321) kein signifikanter Unterschied zwischen den Messungen aus venösem Vollblut und Kapillarblut angegeben wurde. Die Angabe wird auch von Vergleichsstudien mit Sportbezug für die untersuchten Biomarker unterstützt, in denen andere Analysegeräte eingesetzt wurden. So fanden Nunes et al. bei 14 Indoor-Fußballspielern (Alter in Jahren, $M \pm SD$: 22 ± 1) und sieben Handballspielerinnen (Alter in Jahren, $M \pm SD$: 18 ± 1) bei drei stichprobenartigen Entnahmen von Kapillarblut und venösem Blut in der Vorbereitungsphase keinen statistisch signifikanten Unterschied bei der Messung der CK-Aktivität und der Harnstoffkonzentration [73]. In einer neueren Arbeit konnten Oliveira et al. an 22 Fußballspielern (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $16,7 \pm 1$) nach einem simulierten Fußballspiel zeigen, dass sich die 24 h und 48 h nach Spielende gemessenen CK-Werte im Kapillarblut und venösem Blut nicht statistisch signifikant (Korrelationskoeffizient $r = 0,85$, $p = 0,01$) unterschieden [16].

Zu diesem Schluss kamen zuvor auch Knoblauch et al. mit ihren Untersuchungen an 15 untrainierten Probanden nach exzentrischen Kraftübungen der oberen Extremität [45].

Ein wichtiger Unterschied im zeitlichen Ablauf der Messungen zwischen der vorliegenden Arbeit und der Originalarbeit von Hecksteden et al. sowie der nachfolgenden Studie von Barth et al. war der Startpunkt der Lernphase. Diese begann in der vorliegenden Arbeit im Gegensatz zu den genannten Untersuchungen mit einem NR-Messzeitpunkt, um die sinnvolle Beurteilung des nachfolgenden R-Messzeitpunkts zu gewährleisten. Der an diesem Zeitpunkt gemessene Wert eines Biomarkers wurde nicht für die Klassifizierung verwendet, wenn er den Wert des vorausgegangenen NR-Messzeitpunktes übertraf. Diese Voraussetzung war in den bisherigen Studien für den ersten R-Messzeitpunkt nicht prüfbar, weshalb das Entwicklerteam des Algorithmus zur Normwertindividualisierung explizit eine NR-Messung als Startpunkt der Lernphase empfohlen hat [4, 28]. Diese zeitliche Struktur sollte auch in zukünftigen Studien berücksichtigt werden.

4.1.3 Statistische Methoden

Die Abhängigkeitsstruktur der erhobenen Primärdaten und ihrer Residuen musste bei der Auswahl der passenden interferenzstatistischen Verfahren beachtet werden. Deshalb bot sich eine Mehrebenenanalyse an, deren Voraussetzungen für die Daten des Biomarkers Creatinkinase (ICC: $\rho = 0,4$) erfüllt wurden. Heck et al. haben ab einer Intraklassenkorrelation von $\rho < 0,05$ die zwingende Anwendung einer Mehrebenenanalyse in Frage gestellt [27]. Auch der berechnete Designeffekt von 4,51 bestätigte die Notwendigkeit einer Schachtelung der Daten und einer damit einhergehenden Mehrebenenanalyse.

Die Mehrebenenanalyse bietet gegenüber der traditionellen Messwiederholungsvarianzanalyse wesentliche Vorteile. So lassen sich auch Längsschnittdaten prüfen, die zu verschiedenen Tageszeiten oder mit ungleichen zeitlichen Abständen erhoben wurden [2]. Diese Flexibilität der individuellen Messzeitpunkte bei der Datenerhebung kann in klinischen Studien mit Bezug zum Spitzensport notwendig sein, wenn aus sportlichen oder ökonomischen Gründen nicht täglich alle Monitoringparameter gemessen werden sollen und von verschiedenen Athleten

unterschiedlich viele Messungen vorliegen. Zur Modellierung der Abhängigkeit zwischen den Messungen eines Probanden beziehungsweise eines Athleten in der Sportpraxis können bei der Mehrebenenanalyse flexible Kovarianzstrukturen angewandt und geprüft werden. Dagegen lässt die Messwiederholungsanalyse nur zwei verschiedene Ansätze zur Modellierung der Abhängigkeit zwischen den Messungen einer Beobachtungseinheit zu. Beim univariaten Ansatz wird die Sphärizität angenommen, wohingegen die Kovarianzmatrix beim multivariaten Ansatz frei geschätzt wird. Zudem können bei der Mehrebenenanalyse im Gegensatz zur Messwiederholungsvarianzanalyse zeitabhängige Kovariaten berücksichtigt werden. Auch die Daten der Harnstoff-Messungen erfüllten die Voraussetzungen für eine Mehrebenenanalyse rein numerisch (ICC: $\rho = 0,06$). Daher wurden zunächst gemäß der von Hox empfohlenen Vorwärtsselektion zunehmend komplexere Modelle berechnet und anhand des AIC und des BIC, die zusätzliche Parameter stärker bestrafen als andere Informationskriterien, miteinander verglichen [34]. Dabei zeigte sich eine relevant bessere Fit-Beurteilung für ein allgemeines lineares Modell mit festem Effekt, weshalb die Entscheidung im Sinne des Sparsamkeitsprinzips zu Gunsten des einfacheren Modells ausfiel und die Schachtelung der Daten ignoriert wurde.

In der vorliegenden Arbeit wurde wie in der Originalarbeit von Hecksteden et al. eine Form der Kreuzvalidierung eingesetzt, um alle Daten der Lernphase für die Testung der klassifikatorischen Leistung des Algorithmus zur Normwertindividualisierung nutzen zu können. Dabei sollte der Ausschluss des zu klassifizierenden Werts aus dem Trainingsdatensatz einer Überschätzung der klassifikatorischen Leistung vorbeugen [28]. Das Vorgehen für das gruppenbasierte Referenzklassifizierungsverfahren wurde dahingehend modifiziert, dass beide Werte eines Mikrozyklus aus dem Trainingsdatensatz ausgeschlossen wurden, wenn einer der beiden Werte klassifiziert werden sollte. Mit dieser Anpassung wurde der Abhängigkeitsstruktur innerhalb eines Mikrozyklus, der sich aus einem NR-Messwert und dem direkt darauffolgenden R-Messwert zusammensetzte, Rechnung getragen. Inwiefern sich dadurch eine realistischere Schätzung der klassifikatorischen Leistung ergab, wurde im Sinne des Sparsamkeitsprinzips nicht getestet. Vermutlich handelte es sich um marginale Unterschiede.

Zum Vergleich der Klassifizierungsverfahren wurde wie in der Originalarbeit und der Anwendungsstudie von Barth et al. der exakte Fisher-Test verwendet. Mit diesem wurden die beiden vorab definierten Fehlerraten als Fehlerwahrschein-

lichkeiten für jeden Biomarker einzeln getestet [28]. Der exakte Fisher-Test zur Hypothesentestung bei 2 x 2-Kontingenztafeln wird vor allem dann eingesetzt, wenn wie in der vorliegenden Arbeit kleine Stichprobengrößen erwartet werden. Vor seiner Anwendung müssen keine Annahmen überprüft werden, zudem liefert er robuste Testergebnisse, indem er den Fehler 1. Art immer unter einem bestimmten Wert hält [39].

4.2 Ergebnisdiskussion

4.2.1 Muskuläre Beanspruchung im professionellen Handballsport

Obwohl der Großteil eines Handballspiels rein prozentual mit 70 – 80 % aus Aktivitäten mit geringer Intensität besteht, wird die Beanspruchung eines Individuums in diesem dynamischen Sportspiel maßgeblich durch wiederkehrende, hochintensive Bewegungsabläufe bestimmt. Hierzu zählen neben Beschleunigungs- und Abbremsbewegungen im typischen Positionsangriff oder bei Sprints auch schnelle Richtungswechsel und verschiedenartige Sprünge [40, 63, 76].

Die sportspezifischen Bewegungsabläufe erfordern von der Arbeitsmuskulatur vor allem im Bereich der unteren Gliedmaßen zahlreiche exzentrische Kontraktionen. Für diese ist seit Jahrzehnten bekannt, dass sie im Vergleich zu konzentrischen Kontraktionen mit stärkeren Anstiegen der CK-Aktivität einhergehen [52, 70-72]. Brancaccio et al. untersuchten 2010 in einer systematischen Übersichtsarbeit neben anderen Biomarkern auch die Creatinkinase und konnten zeigen, dass deren Aktivität im Serum nach einem Training für 2 bis 7 Tage ansteigen kann, wobei der größte Anstieg ungefähr 96 h nach einer exzentrischen Belastung zu beobachten war. Ähnliche Zeitfenster beschrieb auch Mougios drei Jahre zuvor [9, 66]. Dieser bezeichnete die Creatinkinase als den wichtigsten Marker muskulärer Mikroschädigung. Auch Hecksteden et al. betonten die entscheidende Rolle der CK als Ermüdungsindikator für Mannschaftssportarten, wiesen jedoch einschränkend auf die Vielschichtigkeit der Ermüdungsprozesse hin [29]. Diesen Eindruck vermittelten auch die Ergebnisse einer neueren, im Jahr 2018 veröffentlichten

systematischen Übersichtsarbeit. In dieser untersuchten Doeven et al. die Literatur hinsichtlich objektiver Indikatoren zur Abbildung von Regenerationsprozessen nach einem einzigen offiziellen oder simulierten Spiel in Mannschaftssportarten. In 19 von 28 in die finale Auswertung eingeschlossenen Studien wurden die muskulären Regenerationsprozesse anhand des Verlaufs der CK-Aktivität betrachtet. Darunter wurden in 14 Studien 24 h nach Spielende die größten absoluten CK-Werte gemessen, in je zwei Studien nach 18 h beziehungsweise 48 h und in einer Studie bereits nach 14 h. Lediglich sieben Studien berichteten von einer Rückkehr der CK-Aktivität auf das Niveau vor der Belastung innerhalb der beobachteten Zeiträume, davon in vier Studien nach 48 h und in je einer Studie nach 42, 72 und 120 h [17].

Nur eine der von Doeven et al. in ihrer Übersichtsarbeit analysierten Studien bezog sich auf den Handballsport. Auch in dieser interventionellen Studie mit 24 erwachsenen Elite-Handballspielern (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $22,8 \pm 1,4$) stieg die CK-Aktivität im venösen Plasma für 24 h nach Spielende signifikant an [12]. Marin et al. konnten nach einem simulierten Handballspiel bei 14 brasilianischen Elite-Handballspielern (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $25,0 \pm 4,5$) während der regulären Saison ebenfalls einen signifikanten Anstieg der CK-Aktivität im venösen Plasma nach 24 h messen [54]. Dieselbe Arbeitsgruppe beobachtete zudem während einer sechsmonatigen Monitoringphase von zehn Elite-Handballspielern (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $25 \pm 4,5$) in einer hochintensiven Trainingsperiode signifikant erhöhte CK-Werte [53]. Souglis et al. konnten nach einem offiziellen Handballspiel zu Saisonbeginn bei 18 Elite-Handballspielern (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $24,4 \pm 3,5$) einen signifikanten Anstieg der CK-Aktivität im venösen Serum mit einem Maximum 13 h nach Spielende nachweisen. In dieser Beobachtungsstudie wurden zudem 37 h nach Spielende im zeitlichen Verlauf zwar fallende, aber im Vergleich zur Baseline-Messung noch signifikant erhöhte CK-Werte gemessen [89].

Die aus der Literatur bekannten Beobachtungen für die CK-Aktivität bei erwachsenen Elite-Handballspielern nach einer ermüdenden Belastung wurden durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützt. In dieser konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die CK-Aktivität im ermüdeten Zustand (NR, vom englischen Begriff Non-Recovered) nach mehrtägiger sportlicher Belastung bei allen Handballspielern signifikant größere Werte annahm ($t(13,09) = 13,12$, $p < 0,001$, $d = 3,49$) als im erholten Zustand (R, vom englischen Begriff Recovered). Die R-Messungen wurden in der vorliegenden Arbeit zur praxisnahen Abbildung einer typischen Belastungs-

pause nach einem Ruhetag während der trainingsintensiven Saisonvorbereitung durchgeführt. Dies könnte der Grund sein, warum die gemessenen R-Werte ($M \pm SD$: $197,68 \pm 1,64$ U/l) im Vergleich zu den von Chatzinikolaou et al. nach einer auf die reguläre Saison folgenden sechstägigen Belastungspause gemessenen Ruhewerten (fehlende konkrete Angabe, gemäß grafischer Darstellung arithmetisches Mittel zwischen 170 und 190 U/l) etwas größer ausfielen. In einer von Souglis et al. durchgeführten Beobachtungsstudie erfolgten die Messungen im erholten Zustand am Morgen eines offiziellen Spieltags der höchsten griechischen Liga zu Saisonbeginn. Die gemessenen Baseline-Werte betrugen durchschnittlich ungefähr 160 U/l (M gemäß grafischer Darstellung). Dagegen betrugen die von Marin et al. mindestens vier Tage nach dem letzten Punktspiel beziehungsweise zwei Tage nach der letzten Trainingseinheit in der Mitte der regulären Saison gemessenen Ruhewerte im Mittel nur ungefähr 80 U/l (M gemäß grafischer Darstellung). Genauere Angaben zur den tatsächlichen individuellen Ruhephasen fehlten in dieser Interventionsstudie. Die im erholten Zustand in der vorliegenden Arbeit gemessenen, vergleichsweise größeren Ruhewerte können sowohl mit der kürzer gewählten Belastungspause als auch mit der größeren Belastungsintensität während der Saisonvorbereitung zusammenhängen.

Die durchschnittlich gemessenen NR-Werte in der vorliegenden Arbeit ($M \pm SD$: $435,22 \pm 1,71$ U/l) übertrafen die durchschnittlichen Spitzenwerte in den Studien von Chatzinikolaou et al. (M : 350 U/l) und Marin et al. (M : 160 U/l) teilweise deutlich, wofür neben der bekannten Variabilität sowohl die beschriebene größere Belastungsintensität einzelner Trainingseinheiten in der Saisonvorbereitung als auch kumulierende Effekte verantwortlich gewesen sein könnten [12, 54]. Ein weiterer Grund könnte aber auch der zeitliche Abstand des Messzeitpunkts von der letzten sportlichen Belastung sein. Dieser betrug in den Studien von Chatzinikolaou et al. und Marin et al. jeweils 24 h. In der vorliegenden Arbeit lag die letzte sportliche Belastung (Trainingseinheit oder Testspiel) vor einer NR-Messung durchschnittlich 16 h zurück, weshalb der Vergleich der erhobenen Daten mit denen von Souglis et al. deutlich geeigneter schien. In dieser Beobachtungsstudie wurden die maximalen CK-Werte 13 h nach Spielende am Morgen des nächsten Tages gemessen und betrugen durchschnittlich ungefähr 500 U/l (M gemäß grafischer Darstellung) [89]. Diese aktuelleren Ergebnisse deckten sich mit den Daten der vorliegenden Arbeit, insbesondere unter Berücksichtigung der dreistündigen Differenz bei den Abständen des NR-Messzeitpunkts zur letzten vorausgegangenen sportlichen Belas-

tung. Weippert et al. berichteten in einem Kommentar zur Studie von Marin et al. über eine durchschnittliche CK-Aktivität von 347 U/l (SEM: 43 U/l) 12 h nach einem regulären Ligaspiel bei 21 Elite-Handballspielern [101].

Auch beim sportartübergreifenden Vergleich mit der hinsichtlich der Studienbedingungen nahezu identisch konzipierten, vorausgegangenen Untersuchung von Barth et al. (15 deutsche Elite-Badminton-Spieler; Alter in Jahren, $M \pm SD$: 22 ± 3) zeigten sich Gemeinsamkeiten. Die in dieser Studie erhobene CK-Aktivität betrug im erholten Zustand durchschnittlich 164 ± 106 U/l ($M \pm SD$) und im ermüdeten Zustand 425 ± 319 U/l ($M \pm SD$). Bei zehn Basketballspielern der höchsten litauischen College-Liga (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $21,5 \pm 1,7$) wurden von Pliauga et al. ebenfalls in einer Saisonvorbereitung nach einer 48-stündigen Belastungspause eine durchschnittliche CK-Aktivität von 196,7 U/l (M) im Kapillarblut gemessen, während diese 24 h nach einem simulierten Basketballspiel ohne Auswechslungen auf 408,6 U/l (M) anstieg [74]. Bei 18 Elite-Basketballer (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $25,1 \pm 2,8$) berichteten Souglis et al. von einer durchschnittlichen CK-Aktivität von ungefähr 150 U/l (M gemäß grafischer Darstellung) in Ruhe und ungefähr 480 U/l (M gemäß grafischer Darstellung) 13 h nach Ende eines offiziellen Ligaspiels zu Saisonbeginn [89].

Der für die CK beschriebene Repeated-bout-Effekt, der den Abfall der CK-Aktivität über die Zeit bei wiederkehrenden ähnlichen sportlichen Belastungen bezeichnet, wurde auch in der vorliegenden Arbeit während der Lernphase beobachtet [13, 58]. Dieser soll neben muskulären Anpassungsvorgängen auch auf die Inaktivierung des Enzyms zurückzuführen sein [6].

4.2.2 Metabolische Beanspruchung im professionellen Handballsport

Ein Anstieg der Harnstoffkonzentration im Blut kommt im sportlichen Zusammenhang aus verschiedenen Gründen vor. Neben einem Flüssigkeitsmangel oder einer vermehrten Proteinzufuhr tritt ein Harnstoffanstieg im Blut typischerweise nach lang andauernden, hochintensiven Belastungsformen auf, bei denen nach Erschöpfen der Glykogenspeicher der Abbau von Struktur- und Funktionsproteinen für die Glukoneogenese notwendig wird [26, 61, 90]. Ab einer Belastungsdauer von 60 – 70 min tritt ein relevanter Proteinkatabolismus zur Energiegewinnung auf,

weshalb Harnstoff als klassischer Ermüdungsindikator für die Ausdauerdisziplinen gilt [25, 97, 98]. Diese Einschätzung konnten Hecksteden et al. mit einer Interventionsstudie im Rahmen des REGman-Projekts bestätigen, in der der Einfluss von drei Belastungsformen – Radfahren als typische Ausdauerbelastung, Grundübungen als Kraftbelastung und hoch intensives Intervalltraining (HIIT) zur Simulation der Belastung in Sportspielen – auf verschiedene Biomarker bei in diesen Disziplinen trainierten Sportlerinnen und Sportlern untersucht wurde. Dabei führte nur die Ausdauerbelastung zu einem signifikanten Anstieg der Harnstoffkonzentration im venösen Serum [29]. Wiewelhoeve et al. wiesen in einer weiteren REGman-Studie keinen signifikanten Harnstoffanstieg im venösen Serum nach HIIT bei Mannschaftssportlern (Fußball, Basketball und Handball; je elf weibliche und männliche Probanden; Alter in Jahren, $M \pm SD$: $23,0 \pm 2,7$) nach [102].

Unter den populären Mannschaftssportarten sind relevante Anstiege der Harnstoffkonzentration am ehesten im Fußball beschrieben. Während eines Fußballspiels müssen aufgrund der begrenzten Anzahl an Wechselmöglichkeiten üblicherweise sieben von zehn in der Startformation stehenden Feldspielern die 90-minütige Spielzeit zuzüglich einer unterbrechungsabhängigen Nachspielzeit im einstelligen Minutenbereich absolvieren. Die durchschnittlich zurückgelegte Strecke eines Feldspielers innerhalb eines Spiels im Spitzenfußball beträgt zwischen 9000 und 12000 m, zudem werden 100 – 200 schnellkräftige Spielaktionen durchgeführt [86]. Dabei wird die geschätzte Sauerstoffaufnahme durchschnittlich mit 75 % der maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_{2max}) angegeben [91]. Im Rahmen einer saisonbegleitenden Beobachtungsstudie in den beiden höchsten deutschen Fußballligen konnten Meyer und Meister zeigen, dass bei 45 % der eingesetzten Spieler (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $24,9 \pm 4,4$) signifikante Veränderungen der Harnstoffkonzentration über die Zeit auftraten [61]. Demgegenüber dauert ein reguläres Handballspiel ohne Unterbrechungen 60 min, dabei dürfen die Spieler unbegrenzt gewechselt werden. Daraus resultieren verschiedene effektive Spielzeiten. Bei der Europameisterschaft 2012 absolvierten nur 3 % aller eingesetzten Spieler mehr als 90 % der möglichen Spielzeit, während 62 % der eingesetzten Spieler ≤ 50 % der möglichen Spielzeit auf dem Feld aktiv waren. Ein professioneller Spieler spielt durchschnittlich zwischen 32 – 53 min und legt je nach Spielposition zwischen 3627 ± 568 m und 4960 ± 640 m ($M \pm SD$) zurück [64, 75, 76]. Die geschätzte durchschnittliche Sauerstoffaufnahme beträgt laut einer Übersichtsarbeit von Karcher und Buchheit zwischen 71 ± 6 % ($M \pm SD$) und 74 ± 10 % ($M \pm SD$) der VO_{2max} [40].

Souglis et al. beobachteten in allen untersuchten Mannschaftssportarten bereits direkt nach Spielende einen maximalen Harnstoffanstieg. Dieser fiel bei Fußballspielern im Vergleich zu den anderen Sportarten am größten aus (Maximum im Fußball: 55 mg/dl, Maximum im Handball: 49 mg/dl; M gemäß Abbildung), obwohl bei den 18 Fußballspielern initial etwas geringere U-Werte in Ruhe gemessen wurden (33 mg/dl, Handball: 35 mg/dl). Dagegen fanden Chatzinikolaou et al. bei Elite-Handballspielern keine Änderung der Harnstoffkonzentration durch ein reguläres Handballspiel [12]. Ruhewerte zwischen 30 und 40 mg/dl wurden von Souglis et al. bei je 18 Elite-Basketballspielern/-Volleyballspielern sowie von Lafay et al. bei 10 Elite-Handballspielern gemessen [48, 89].

Auch sportartübergreifend befanden sich die berichteten Harnstoff-Ruhewerte oft zwischen 25 und 45 mg/dl [38, 48, 102, 103]. Im Rahmen des REGman-Projekts wurden von Hecksteden et al. bei 14 Elite-Junioren-Schwimmern im erholten Zustand eine durchschnittliche Harnstoffkonzentration von $31,6 \pm 4,8$ ($M \pm SD$) und von Barth et al. bei 15 Elite-Badmintonspielern eine durchschnittliche Harnstoffkonzentration von 35 ± 7 ($M \pm SD$) gemessen [4, 28]. In der vorliegenden Arbeit wurde auf Gruppenebene im ermüdeten Zustand eine gering, jedoch signifikant größere Harnstoffkonzentration als im erholten Zustand gemessen ($t(158) = 2,40$, $p = 0,018$, $d = 0,382$). Die im Vergleich zu anderen Studien mit Mannschaftssportlern hohen Harnstoffwerte im erholten Zustand ($M \pm SD$: $55,06 \pm 1,19$ mg/dl) ließen sich gegebenenfalls durch die fehlenden diätetischen Vorgaben und somit sehr eiweißreiche Ernährung der Probanden erklären. Ernährungsvorgaben oder eine Erfassung der Ernährung war für die vorliegende Arbeit nicht relevant, da der sportliche Alltag so realistisch wie möglich abgebildet und so wenig wie möglich gestört werden sollte. Möglicherweise war dadurch aber der Einfluss der individuellen Proteinzufuhr auf die jeweiligen Werte zu groß. Außerdem war der Zeitpunkt der NR-Messung mit durchschnittlich 16 h nach Ende der letzten sportlichen Belastung für die Bestimmung der Harnstoffkonzentration spät gewählt, wenn der größte Anstieg allgemein direkt nach Belastungsende zu erwarten ist. Daher sollte eine erneute Untersuchung dieses Biomarkers mit Messungen direkt nach Belastungsende in Betracht gezogen werden, um seinen Wert für ein individualisiertes Erholungs- und Beanspruchungsmonitoring bei professionellen Handballspielern mit dem untersuchten Verfahren abschließend zu bewerten.

4.2.3 Sportspezifische Referenzbereiche der Biomarker

Die in der Literatur beschriebenen zeitlichen Verläufe der CK-Aktivität nach sportlicher Belastung erklären auch den Umstand, dass Athleten mit täglichem Training im Vergleich zur übrigen Bevölkerung durchschnittlich erhöhte CK-Ruhewerte aufweisen [9-11, 66]. Aus diesem Grund sind die für die Allgemeinbevölkerung geltenden Referenzbereiche der IFCC bei 37° C für die Gruppe der ambulanten Patienten (erwachsene männliche Individuen: < 190 U/l, erwachsene weibliche Individuen: < 170 U/l) zur Beurteilung einzelner Messungen im Rahmen eines Monitorings nicht zielführend [95]. Daher hat Mougios aus einem Kollektiv von 483 gesunden männlichen Athleten aus verschiedenen Einzel- und Mannschaftssportarten (u. a. Fußball, Basketball, Volleyball und Handball) in einer Trainings- und Wettkampfperiode CK-Referenzbereiche gemäß der Richtlinie von Solberg [87] berechnet (untere Grenze des Referenzbereichs/95 %-Konfidenzintervalle in U/l: 82, 73 – 86; obere Grenze des Referenzbereichs/95 %-Konfidenzintervalle in U/l: 1083, 881 – 1479), die im Vergleich zur der aus sportlich inaktiven, jedoch im Alltag körperlich aktiven Probanden bestehenden Kontrollgruppe eine 2-fach erhöhte obere Grenze zeigten. Diese war im Vergleich zu einer weiteren, sowohl sportlich als auch im Alltag körperlich inaktiven Kontrollgruppe sogar 6-fach erhöht. Die in der vorliegenden Arbeit im Rahmen der zu statistischen Auswertung herangezogenen Lernphase gemessenen CK-Werte (Spannweite: 49,6 bis 1071 U/l) deckten sich zu 98,125 % mit den von Mougios für Athleten geschätzten Referenzbereichen. Unter Berücksichtigung der angegebenen Konfidenzintervalle für die Grenzwerte befanden sich sogar 99,375 % der CK-Werte innerhalb der geschätzten Referenzbereiche. Das in der vorliegenden Arbeit empirisch ermittelte arithmetische Mittel und dessen Standardabweichung für die CK-Aktivität über alle Messzeitpunkte hinweg ($293,32 \pm 1,91$ U/l) unterschieden sich nur gering von den von Hecksteden et al. veröffentlichten Parametern der als Referenzpopulation retrospektiv untersuchten männlichen Individuen ($M \pm SD$: 251 ± 2 U/l). Die Daten dieser Referenzpopulation stammten aus Routinemessungen von 673 Kaderathleten verschiedener Sportarten (u. a. auch Mannschaftssportarten) in den Jahren 2013 bis 2015. Von 132 Athleten aus dieser Referenzpopulation lagen mehrere Messwiederholungen vor. Beim Vergleich der vorliegenden Arbeit mit diesem Datensatz ($M \pm SD$: 264 ± 2 U/l) war der Unterschied sogar noch geringer. Bei einer Testmessung vor dem Beginn der Vorbereitungsphase nach einer mehrwöchigen Trainingspause wurden bei

81,25 % der Probanden CK-Werte im aktuell geltenden IFCC-Normbereich (< 190 U/l) gemessen, die übrigen drei Probanden hatten zuvor in Eigenregie Ausdauerläufe absolviert. Dies deutete darauf hin, dass die CK-Aktivität auch bei Athleten nach einer ausreichend langen Ruhephase auf das Niveau von körperlich inaktiven Personen abfallen kann.

In der Originalarbeit von Hecksteden et al. konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Sportarten nachgewiesen werden, weshalb die Schätzung sportspezifischer Verteilungen als nicht notwendig erachtet wurde [28]. Mougios hingegen konnte für Fußballspieler im Vergleich zu Schwimmern deutlich erhöhte Grenzen berechnen und befürwortete deshalb die Berechnung sportartspezifischer Referenzbereiche in weiterführenden Studien [66]. Eine Beobachtungsstudie mit 467 Fußballspielern (Alter in Jahren, $M \pm SD$: $24,9 \pm 4,4$) aus den beiden höchsten deutschen Ligen in der Saison 2008/2009 zeigte mit den von Mougios berechneten fußballspezifischen CK-Referenzbereichen (untere Grenze des Referenzbereichs/95 %-Konfidenzintervalle in U/l: 83, 53 – 84; obere Grenze des Referenzbereichs/95 %-Konfidenzintervalle in U/l: 1492, 924 – 1908) vergleichbaren Werte für die Grenzen der 95 %-Konfidenzintervalle zu den vier Messzeitpunkten. Diese Beobachtung unterstützte eher die Verwendung von sportartspezifischen oder zumindest aus einer der untersuchten Sportart ähnlichen Disziplin abgeleiteten Referenzbereichen.

Der Referenzbereich des Harnstoffs im Serum wird von der IFCC für 19- bis 50-jährige männliche Individuen mit 19,0 bis 44,0 mg/dl angegeben [79]. Im Gegensatz zur CK-Aktivität befanden sich die von Hecksteden et al. berechneten Parameter ($M \pm SD$: 35 ± 1 mg/dl) für die aus 673 Kaderathleten bestehende, als Priori-Verteilung verwendete Referenzpopulation ebenso wie die berechneten Parameter der 132 Athleten mit Messwiederholungen ($M \pm SD$: 37 ± 1 mg/dl) innerhalb des IFCC-Referenzbereichs. Die in der Lernphase der vorliegenden Arbeit empirisch ermittelte, durchschnittliche Harnstoffkonzentration nahm dagegen einen vergleichsweise großen Wert an ($M \pm SD$: $56,92 \pm 1,19$ mg/dl). Durch das berechnete lineare Modell wurden für die Zielpopulation der Wert 61,17 mg/dl (NR) als Obergrenze des 95 %-Konfidenzintervalls und 52,97 mg/dl (R) als Untergrenze des 95 %-Konfidenzintervalls mit einem Standardfehler von 1,03 mg geschätzt. Nikolaidis et al. veröffentlichten bereits 2003 durchschnittliche Harnstoffwerte von 40 ± 10 mg ($M \pm SD$) im venösen EDTA-Blut als Referenz für männliche Athleten, nachdem sie 273 griechische Sportler, u. a. aus den Mannschaftssportarten Fußball,

Basketball, Volleyball und Handball, auf ihr hämatologisches und biochemisches Profil hin untersucht hatten. 2015 berichteten Souglis et al. in ihrer vergleichenden Beobachtungsstudie von einer durchschnittlichen Harnstoffkonzentration von > 50 mg/dl (*M* gemäß Abbildung) bei Fußballspielern direkt nach einem regulären Spiel in der obersten griechischen Liga. Bei den ebenfalls untersuchten 18 Handballspielern wurde ein Anstieg der durchschnittlichen Harnstoffkonzentration von 35 mg/dl in Ruhe auf 49 mg/dl direkt nach einem regulären Spiel der obersten griechischen Liga gemessen. 13 h nach Spielende war die Harnstoffkonzentration mit 41 mg/dl immer noch statistisch signifikant im Vergleich zur Baseline erhöht (jeweils *M* gemäß Abbildung).

Die Harnstoffkonzentration wird hauptsächlich durch die Nierenfunktion, den Proteinkatabolismus und die exogene Proteinzufuhr bestimmt. Letztere wurde bereits als Grund für die erhöhten Harnstoffwerte in der Studienpopulation der vorliegenden Arbeit diskutiert, da sie als naheliegender Störfaktor in Frage kam. Wenn die tägliche Proteinaufnahme den Bedarf an Aminosäuren übersteigt, werden die überschüssigen Aminosäuren vor allem über den Harnstoffzyklus zu Harnstoff abgebaut. Weitere Stoffwechselvorgänge zur Entfernung der nicht benötigten Aminosäuren sind die Glukoneogenese und eine gesteigerte Oxidation. Letztere kann über ihr Endprodukt Ammoniak zusätzlich zur vermehrten Harnstoffbildung führen [84]. Ein systematischer Messfehler war als Ursache für die verhältnismäßig großen Messwerte in der vorliegenden Arbeit nahezu ausgeschlossen, zudem müssten Fehler bei der Lagerung, beim Transport oder bei der Auswertung der Proben erfahrungsgemäß zu geringeren Werten führen. Laut Hersteller war bei der Verarbeitung venöser Blutproben trotz adäquater Lagerung mit einem Konzentrationsabfall von 5 % pro Tag zu rechnen.

Die große Variabilität der untersuchten Biomarker ist ein bekanntes Problem, wenn gemessene Werte in einem sportlichen Zusammenhang bewertet werden müssen. Trotz der Anwendung von athleten- oder sogar sportartspezifischen Referenzbereichen kann gerade die enorme interindividuelle Variabilität der CK-Aktivität die Beurteilung des Erholungs- und Beanspruchungszustands im Einzelfall erheblich erschweren [29, 60, 74]. Deshalb soll auch im Rahmen eines biochemischen Monitorings eine individualisierte Herangehensweise helfen, sinnvolle Entscheidungen für notwendige Belastungsmodifikationen, Ruhezeiten und Regenerationsmaßnahmen zu treffen [28, 38]. In der vorliegenden Arbeit wurden statistisch signifikante interindividuelle Unterschiede der CK-Aktivität festgestellt (Wald Z-Wert:

2,12, $p = 0,034$). Die Schätzung des durch Unterschiede zwischen den Spielern erklärten Anteils der Gesamtvarianz fiel mit 40 % etwas geringer aus als in einer weiteren REGman-Beobachtungsstudie von Julian et al. (45 %). Deutlicher war der Unterschied bei der Betrachtung der Varianzkomponenten für die Harnstoffkonzentration. Für sie wurde der durch interindividuelle Unterschiede erklärte Varianzanteil in der Studienpopulation nur auf 6 % geschätzt, während Julian et al. bei 12 Elite-Schwimmern und -Triathleten von 57 % berichteten. Der geringe, durch interindividuelle Unterschiede verursachte Varianzanteil konnte in der vorliegenden Arbeit dem Vorhandensein der bereits beschriebenen Störfaktoren geschuldet sein.

4.2.4 Klassifikatorische Leistung des Individualisierungsverfahrens

Zur Überprüfung der klassifikatorischen Leistung des von Hecksteden et al. 2017 veröffentlichten Algorithmus zur Normwertindividualisierung bei professionellen Handballspielern wurde dieses Verfahren mit einem gruppenbasierten Referenzklassifizierungsverfahren verglichen. Dabei wurden analog zur Originalarbeit zwei vorab definierte Fehlerraten herangezogen. Beide Verfahren klassifizierten einen Messwert als positiv, wenn sich der Spieler zu diesem Zeitpunkt in einem erholten Zustand (R) befand. Die Test-pass-Fehlerrate wurde als der Anteil der Messwerte von allen als R klassifizierten Messwerten definiert, die fälschlicherweise als R klassifiziert wurden. Diese Messwerte wurden tatsächlich im ermüdeten Zustand (NR) erhoben. Die Test-fail-Fehlerrate wurde demgegenüber als der Anteil der Messwerte von allen als NR klassifizierten Messwerten definiert, die fälschlicherweise als NR klassifiziert und somit tatsächlich im erholten Zustand erhoben wurden [28].

Die in der vorliegenden Arbeit berechneten gruppenbasierten Fehlerraten für die CK-Aktivität (Test-fail: 0,178; Test-pass: 0,227) nahmen ähnlich zu den von Barth et al. berichteten Fehlerraten (Test-fail: 0,25; Test-pass: 0,16) im Vergleich zur Originalarbeit (Test-fail: 0,317; Test-pass: 0,333) deutlich geringere Werte an. Dagegen nahmen die Fehlerraten des individualisierten Verfahrens (Test-fail: 0,088; Test-pass: 0,088) mit den vorherigen Untersuchungen vergleichbar geringe Werte an (Hecksteden et al.: Test-fail: 0,074; 0,18; Barth et al.: Test-fail: 0,18; Test-pass: 0,1). Somit wurde in der vorliegenden Arbeit zunächst bestätigt, dass die Fehlerraten

durch eine individualisierte Herangehensweise bei Elite-Athleten numerisch gesenkt werden können. Der exakte Fisher-Test zur Hypothesentestung lieferte in der vorliegenden Arbeit nur für die Test-pass-Fehlerrate eine statistische Signifikanz ($p = 0,0196$), die gemäß Cohen einem kleinen Effekt entsprach ($\phi = 0,19$). Dieses Ergebnis war aufgrund der ohnehin schon geringen gruppenbasierten Test-fail-Fehlerrate zu erwarten. Aus diesem Grund konnten Barth et al. sogar für beide Fehlerraten keinen statistisch signifikanten Unterschied nachweisen (Test-fail: $p = 0,2907$; Test-pass: $p = 0,2751$) [4]. Dagegen erreichte der Unterschied zwischen den Fehlerraten der CK-Aktivität in der Originalarbeit für beide Fehlerraten statistische Signifikanz (Test-fail: $p < 0,001$; Test-pass: $p = 0,008$), da das Referenzklassifizierungsverfahren mit deutlich größeren Fehlerraten einherging [28]. In der vorliegenden Arbeit war die Verbesserung der Test-fail-Fehlerrate von 0,178 auf 0,088 trotz der fehlenden statistischen Signifikanz als klinisch relevant einzustufen. Deshalb scheint die Verwendung des individualisierten Klassifizierungsverfahrens zur Bewertung des muskulären Erholungs- und Beanspruchungszustands anhand des Biomarkers Creatinkinase für Handballspieler auf höchstem Leistungsniveau sinnvoll zu sein.

Anders verhielt es sich für die Harnstoffkonzentration. Die in der vorliegenden Arbeit berechneten Fehlerraten des gruppenbasierten Referenzklassifizierungsverfahrens (Test-fail: 0,281; Test-pass: 0,25) nahmen ähnliche Werte an wie in der Originalarbeit (Test-fail: 0,279; Test-pass: 0,304). Jedoch berichteten Hecksteden et al. von gering reduzierten Fehlerraten bei Verwendung ihres Algorithmus zur Normwertindividualisierung (Test-fail: 0,25; Test-pass: 0,286), die erwartungsgemäß keine statistische Signifikanz erreichten (Test-fail: 0,601; Test-pass: 0,637), wohingegen in der vorliegenden Arbeit sogar eine numerisch größere Test-fail-Fehlerrate von 0,337 für das individualisierte Verfahren im Vergleich zum gruppenbasierten Referenzklassifizierungsverfahren (0,25) berechnet wurde. Die Test-pass-Fehlerrate des individualisierten Verfahrens betrug 0,132, in der Hypothesentestung (Test-fail: $p = 0,7228$; Test-pass: $p = 0,197$) zeigte sich wie bei Hecksteden et al. keine statistische Signifikanz. Demgegenüber konnten Barth et al. für beide Fehlerraten einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < 0,01$) zu Gunsten des individualisierten Verfahrens nachweisen. Daher kamen Barth et al. auch zu dem Schluss, dass die Verwendung des individualisierten Verfahrens für beide Biomarker bei einem Erholungs- und Ermüdungsmonitoring Vorteile zu bieten scheint [4]. Hecksteden et al. haben ihren Algorithmus trotz der fehlenden statistischen

Signifikanz bei der Untersuchung der Harnstoffkonzentration als „vielversprechendes Werkzeug zur Verbesserung der Genauigkeit eines Monitorings“ bezeichnet [28]. Dieser Eindruck konnte durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit für die CK-Aktivität bestätigt werden. Um die klinische Relevanz der Ergebnisse aus dem Vergleich der beiden Klassifizierungsverfahren für die Harnstoffkonzentration im Zusammenhang mit einer Eignung für die Sportpraxis zu beurteilen, sollten die Erkenntnisse aus der explorativen Datenanalyse und Modellbildung berücksichtigt werden. Für die professionellen Handballspieler wurde zwar im ermüdeten Zustand eine statistisch signifikant größere Harnstoffkonzentration gemessen, der Unterschied auf Gruppenebene betrug im Mittel jedoch nur 3,79 mg/dl. Das berechnete Basismodell zeigte bereits, dass sich auf Populationsebene nur ungefähr 6 % der beobachteten Gesamtvarianz durch interindividuelle Unterschiede erklären ließen und diese Unterschiede keine statistische Signifikanz erreichten. Dadurch musste bereits der Nutzen eines individualisierten Vorgehens in Frage gestellt werden. Die Testung der klassifikatorischen Leistung beider Verfahren bestätigte diese Einschätzung. Somit scheint dieses Individualisierungsverfahren für die Bewertung des Erholungs- und Beanspruchungszustands anhand des Biomarkers Harnstoff bei Elite-Handballspielern einer gruppenbasierten Herangehensweise nicht überlegen zu sein. Letztlich muss der Nutzen eines Monitorings dieses Biomarkers für den Handballsport allgemein in Frage gestellt werden.

4.3 Schlussfolgerungen und Ausblick

Bislang wurde der praktische Wert eines Monitorings mit Biomarkern zur Optimierung der Belastungssteuerung im Spitzensport in mehreren wissenschaftlichen Umfragen als gering eingestuft, nur 8 – 24 % der befragten Personen nutzten diese Form des Monitorings [1, 56, 81, 93]. Ein Hauptgrund dürfte die große inter- und intraindividuelle Variabilität vieler gut untersuchter Biomarker sein. Daher lag ein Schwerpunkt der nationalen Forschung in den vergangenen Jahren auf einer Individualisierung, da sich diese biochemischen Indikatoren für Erholungs- und Ermüdungsprozesse aus mehreren Gründen hervorragend für ein Monitoring im

Spitzensport eignen. Sie gelten als objektiv, gut reproduzierbar und je nach Analyseverfahren auch kostengünstig, zudem beeinträchtigten sie den sportlichen Alltag, insbesondere bei Verwendung von Kapillarblut, kaum. Weiterhin verursacht ihre Erhebung keine zusätzliche Ermüdung [62].

Ein Verfahren zur individualisierten Betrachtung und Bewertung solcher Biomarker wurde von Hecksteden et al. 2017 im Rahmen des vom Bundesinstitut für Sportwissenschaft unterstützten REGman-Projekts veröffentlicht. Ihr auf einem bayes'schen Ansatz beruhender Algorithmus zur Berechnung individualisierter Referenzbereiche sollte eine bessere Zuordnung von im Rahmen eines Athletenmonitorings erhobenen Messwerten zum ermüdeten oder erholten Zustand ermöglichen [28]. Eine erste Anwendungsstudie derselben Arbeitsgruppe im Elite-Badminton konnte bereits eine Verbesserung der Genauigkeit einer Klassifizierung des Erholungs- und Beanspruchungszustands durch dieses Individualisierungsverfahren im Vergleich zu einem gruppenbasierten Klassifizierungsverfahren nachweisen [4]. Basierend auf diesen Erkenntnissen wurde in der vorliegenden Arbeit der Algorithmus aus dem REGman-Projekt erstmalig in einer Mannschaftssportart mit Gegnerkontakt untersucht. Die vorliegende Arbeit stellt zudem die erste Studie dar, in der in diesem Ausmaß Längsschnittdaten der Biomarker Creatinkinase und Harnstoff von Handballspielern auf höchstem Leistungsniveau in ihrem sportlichen Alltag untersucht wurden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützten den Einsatz der als Marker der muskulären Beanspruchung geltenden Creatinkinase im Rahmen eines Monitorings in Mannschaftssportarten wie Handball, insbesondere wenn zur Bewertung des Erholungs- und Beanspruchungszustands das von Hecksteden et al. veröffentlichte Individualisierungsverfahren eingesetzt wurde. Zur genaueren Beurteilung könnte nach einer auf den Erkenntnissen der vorliegenden Arbeit beruhenden Poweranalyse eine multizentrische Studie durchgeführt werden, um die Repräsentativität zu erhöhen. Im Rahmen dieser Studie könnte bei ausreichend großer Probandenzahl auch eine getrennte Untersuchung von Feldspielern und Torhütern oder sogar eine positionsspezifische Untersuchung erfolgen, um den unterschiedlichen körperlichen Anforderungsprofilen und den damit verbundenen positionsspezifischen Trainings- und Wettkampfbelastungen gerecht zu werden. Außerdem wäre eine ergänzende Studie mit Elite-Handballspielerinnen sinnvoll.

Für das zusätzlich untersuchte Stoffwechselendprodukt Harnstoff, als Marker der metabolischen Beanspruchung überwiegend für Ausdauersportarten von Bedeutung, wurden im sportartinternen und -übergreifenden Vergleich neben relativ großen Ruhewerten auch statistisch signifikant größere Werte im ermüdeten Zustand beobachtet. Da die interindividuellen Unterschiede sehr gering ausfielen, schien die Anwendung des Individualisierungsverfahren nicht zwingend notwendig zu sein. Diese Annahme wurde durch die bei der Testung der klassifikatorischen Leistung erhaltenen Ergebnisse bestätigt. Letztlich unterstützten die Erkenntnisse aus der vorliegenden Arbeit die These, dass der Biomarker Harnstoff zumindest für Indoor-Mannschaftssportarten – im Gegensatz zum Fußball – eine untergeordnete Rolle bei der Bewertung von Beanspruchung, Ermüdung und Erholung spielt. Um seinen praktischen Nutzen im Elite-Handballsport und Indoor-Mannschaftssportarten mit ähnlichen Belastungen genauer beurteilen zu können, sollte in nachfolgenden Studien eine systematische Erfassung der täglich aufgenommenen Proteinmenge als möglicher Störfaktor erfolgen.

Ein interessanter Aspekt bei der Zusammenstellung eines an die jeweilige Sportart angepassten Monitorings ist die Kenntnis von Zusammenhängen zwischen objektiven Zielgrößen wie den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Biomarkern und subjektiven Instrumenten, die dieselben Ebenen der Erholungs-/Ermüdungsprozesse abbilden sollen. Als subjektives Äquivalent der Creatinkinase kann neben dem englischsprachigen DOMS auch der Item 5 der KEB (Muskuläre Beanspruchung) angesehen werden. Weiterhin wäre auch eine Korrelationsanalyse mit dem Item 8 (Allgemeiner Beanspruchungszustand) und dem entgegengesetzten Item 4 (Allgemeiner Erholungszustand) der KEB sinnvoll. Diese beiden Items könnten zudem als subjektive Zielgrößen für eine Korrelationsanalyse mit dem Biomarker Harnstoff herangezogen werden, für den im Gegensatz zur CK-Aktivität kein eindeutig entsprechendes Item in den gängigen psychometrischen Messverfahren existiert.

5 Zusammenfassung

Ein Monitoringkonzept sollte in Mannschaftssportarten auf höchstem Leistungsniveau zur Optimierung der Belastungssteuerung mehrere Zielgrößen beinhalten, um die verschiedenen Ebenen der Beanspruchung und der damit verbundenen Ermüdungs- und Erholungsprozesse möglichst genau abzubilden. Neben psychometrischen Verfahren, die aufgrund ihres multimodalen Ansatzes als Goldstandard im Erholungs- und Beanspruchungsmonitoring gelten, können auch objektive Parameter wie Biomarker betrachtet werden. Im Spitzensport und in der Forschung kommen das Muskelenzym Creatinkinase (CK) als Marker für die muskuläre Beanspruchung und das Stoffwechselendprodukt Harnstoff als Marker für die metabolische Beanspruchung häufig zum Einsatz. Die große interindividuelle Variabilität dieser Biomarker hat deren Nutzen für ein engmaschiges Monitoring im Rahmen der Belastungssteuerung bislang stark eingeschränkt, weshalb in den letzten Jahren zunehmend Ansätze zur Erstellung individualisierter Profile oder Referenzbereiche in den Fokus der Forschung gerückt sind. Im Rahmen des vom Bundesinstitut für Sportwissenschaft geförderten REGman-Projekts wurde 2017 ein Verfahren zur Individualisierung veröffentlicht, das wie der „Athlete Biological Passport“ auf einem bayes’schen Ansatz beruht.

In der vorliegenden Arbeit sollte dieses Individualisierungsverfahren für die Biomarker Creatinkinase und Harnstoff erstmalig im Spitzenhandball untersucht werden. Dazu wurden die Biomarker in einer prospektiven Beobachtungsstudie an 16 Handballspielern einer Mannschaft aus der höchsten deutschen Spielklasse in der Vorbereitungsphase auf die reguläre Saison 2019/2020 wiederholt erhoben. Die venösen Blutentnahmen erfolgten analog zur Originalarbeit an jeweils fünf vorab festgelegten Tagen morgens im ermüdeten oder erholten Zustand. Zur Erfassung möglicher Störfaktoren wurde kontrollierend die ebenfalls im REGman-Projekt entwickelte und validierte Kurzskala Erholung und Beanspruchung (KEB) oder deren validierte englische Version (SRSS) beantwortet. Die gut untersuchte Session-RPE-Methode wurde zudem als weiteres Kontrollinstrument für ein subjektives Beanspruchungsmonitoring eingesetzt. Die Biomarker wurden mit einem geeichten mobilen Laborgerät fotometrisch bestimmt. Eine Grundvoraussetzung für die

Testung des Individualisierungsverfahrens war die Annahme, dass beide Biomarker im ermüdeten Zustand größere Werte annahmen als im erholten Zustand. Zur Untersuchung dieser Hypothese wurde unter Berücksichtigung der Abhängigkeitsstruktur der Längsschnittdaten eine Mehrebenenanalyse durchgeführt, die zunächst nur für die Creatinkinase statistisch signifikante interindividuelle Unterschiede zeigte. Mit dem berechneten gemischt linearen Modell, das den Erholungs- und Beanspruchungszustand als festen Effekt und die Probanden-Identität sowie deren Wechselwirkung als zufällige Effekte enthielt, konnte gezeigt werden, dass die CK-Aktivität im ermüdeten Zustand statistisch signifikant größere Werte ($p < 0,001$; $d = 3,49$) annahm. Für die Harnstoffkonzentration wurde unter Berücksichtigung des Sparsamkeitsprinzips ein lineares Modell mit dem Erholungs- und Beanspruchungszustand als festem Effekt berechnet, in dem die größeren Werte im ermüdeten Zustand ebenfalls statistische Signifikanz ($p = 0,018$; $d = 0,382$) erreichten. Der Individualisierungsalgorithmus wurde zur Testung seiner klassifikatorischen Leistung mit einem gruppenbasierten Referenzklassifizierungsverfahren verglichen. Dazu wurden zwei vorab definierte Fehlerraten mit dem exakten Fisher-Test für beide Biomarker getrennt überprüft. Für die Creatinkinase wurde durch den individualisierten Ansatz eine numerische Senkung beider Fehlerraten beobachtet, die nur für die Test-pass-Fehlerrate statistische Signifikanz ($p = 0,0196$; $\phi = 0,19$) erreichte. Dagegen zeigten sich bezüglich der Harnstoffkonzentration keine signifikanten Unterschiede.

Die Ergebnisse der linearen Modelle entsprachen den bisherigen Erkenntnissen zum Verhalten der Biomarker nach sportlicher Belastung, wobei die bedeutende Rolle der Creatinkinase für Mannschaftssportarten wie Handball bestätigt werden konnte. Die Senkung der Fehlerraten durch das untersuchte Individualisierungsverfahren wurde als klinisch relevant eingeordnet, daher sollte im Rahmen eines biochemischen Monitorings ein individualisierter Ansatz gewählt werden. Als interessanter Aspekt für kommende Studien kann die Untersuchung von positionsspezifischen Unterschieden angesehen werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Akenhead R, Nassis GP: Training Load and Player Monitoring in High-Level Football: Current Practice and Perceptions. *Int J Sports Physiol Perform*, 11: 587-593 (2016)
2. Baayen RH, Davidson DJ, Bates DM: Mixed-effects modeling with crossed random effects for subjects and items. *J Mem Lang*, 59: 390-412 (2008)
3. Banfi G, Colombini A, Lombardi G, Lubkowska A: Metabolic markers in sports medicine. *Adv Clin Chem*, 56: 1-54 (2012)
4. Barth V, Käsbauer H, Ferrauti A, Kellmann M, Pfeiffer M, Hecksteden A, Meyer T: Individualized Monitoring of Muscle Recovery in Elite Badminton. *Front Physiol*, 10: 778 (2019)
5. Bautista IJ, Chiroso IJ, Robinson JE, van der Tillaar R, Chiroso LJ, Martín IM: A new physical performance classification system for elite handball players: cluster analysis. *J Hum Kinet*, 51: 131-142 (2016)
6. Behringer M, Montag J, Kilian Y, Mccourt M, Mester J: The repeated bout effect: is the blunted creatine kinase response an effect of an altered enzyme inactivation kinetic? *J Sports Med Phys Fitness*, 55: 1431-1437 (2015)
7. Borresen J, Lambert MI: The quantification of training load, the training response and the effect on performance. *Sports Med*, 39: 779-795 (2009)
8. Bourdon PC, Cardinale M, Murray A, Gastin P, Kellmann M, Varley MC, Gabbett TJ, Coutts AJ, Burgess DJ, Gregson W, Cable NT: Monitoring Athlete Training Loads: Consensus Statement. *Int J Sports Physiol Perform*, 12: S2161-S2170 (2017)
9. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N: Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med*, 48: 757-767 (2010)
10. Brancaccio P, Maffulli N, Buonauro R, Limongelli FM: Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clin Sports Med*, 27: 1-18, vii (2008)
11. Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM: Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull*, 81-82: 209-230 (2007)
12. Chatzinikolaou A, Christoforidis C, Avloniti A, Draganidis D, Jamurtas AZ, Stampoulis T, Ermidis G, Sovatzidis A, Papassotiriou I, Kambas A, Fatouros IG: A microcycle of inflammation following a team handball game. *J Strength Cond Res*, 28: 1981-1994 (2014)

13. Chen TC, Yang T, Huang M, Wang H, Tseng K, Chen H, Nosaka K: Damage and the repeated bout effect of arm, leg, and trunk muscles induced by eccentric resistance exercises. *Scand J Med Sci Sports*, 29: 725-735 (2019)
14. Clemente FM, Oliveira H, Vaz T, Carriço S, Calvete F, Mendes B: Variations of perceived load and well-being between normal and congested weeks in elite case study handball team. *Res Sports Med*, 27: 412-423 (2019)
15. Cohen J: Statistical power analysis for the behavioral sciences. 2nd Edition, Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale, New Jersey, 24-27 & 223-226 (1988)
16. de Oliveira, Donizete CX, Frisselli A, de Souza EG, Stanganelli LCR, Deminice R: Venous versus capillary sampling for total creatine kinase assay: Effects of a simulated football match. *PLOS ONE*, 13: (2018)
17. Doeven SH, Brink MS, Kosse SJ, Lemmink KAPM: Postmatch recovery of physical performance and biochemical markers in team ball sports: a systematic review. *BMJ Open Sport Exerc Med*, 4: e000264 (2018)
18. EHF: EHF CLUB RANKING LIST CHANGES FOR 2020/21. [Homepage of European Handball Federation], [Online] Jul 5, 2019-last update. Available: <https://www.eurohandball.com/en/news/en/ehf-club-ranking-list-changes-for-2020-21/> [Zugriff: 20.11.2020]
19. Fallon KE, Sivyer G, Sivyer K, Dare A: The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. *Br J Sports Med*, 33: 264-269 (1999)
20. Foster C: Monitoring training in athletes with reference to overtraining syndrome. *Med Sci Sports Exerc*, 30: 1164-1168 (1998)
21. Fry RW, Morton AR, Keast D: Overtraining in athletes. An update. *Sports Med*, 12: 32-65 (1991)
22. Gabbett TJ: The training-injury prevention paradox: should athletes be training smarter and harder? *Br J Sports Med*, 50: 273-280 (2016)
23. Haddad M, Stylianides G, Djaoui L, Dellal A, Chamari K: Session-RPE Method for Training Load Monitoring: Validity, Ecological Usefulness, and Influencing Factors. *Front Neurosci*, 11: 612 (2017)
24. Halson S: Monitoring Training Load to Understand Fatigue in Athletes. *Sports Med*, 44: 139-147 (2014)
25. Haralambie G, Berg A: Serum urea and amino nitrogen changes with exercise duration. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 36: 39-48 (1976)
26. Hartmann U, Mester J: Training and overtraining markers in selected sport events. *Med Sci Sports Exerc*, 32: 209-215 (2000)
27. Heck RH, Thomas SL, Tabata LN: Multilevel and Longitudinal Modeling with IBM SPSS. 1st, Routledge, New York, 6-74 (2010)

28. Hecksteden A, Pitsch W, Julian R, Pfeiffer M, Kellmann M, Ferrauti A, Meyer T: A New Method to Individualize Monitoring of Muscle Recovery in Athletes. *Int J Sports Physiol Perform*, 12: 1137-1142 (2017)
29. Hecksteden A, Skorski S, Schwindling S, Hammes D, Pfeiffer M, Kellmann M, Ferrauti A, Meyer T: Blood-Borne Markers of Fatigue in Competitive Athletes - Results from Simulated Training Camps. *PLOS ONE*, 11: e0148810 (2016)
30. Heidari J, Beckmann J, Bertollo M, Brink M, Kallus W, Robazza C, Kellmann M: Multidimensional Monitoring of Recovery Status and Implications for Performance. *Int J Sports Physiol Perform*, 1-24 (2018)
31. Henze A, Mauch F: Monitoring und Belastungssteuerung im Handball. *Sportverletz Sportschaden*, 34: 136-146 (2020)
32. Hørder M, Elser RC, Gerhardt W, Mathieu M, Sampson EJ: International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Division Committee on Enzymes: approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7. IFCC method for creatine kinase (ATP: creatine N-phosphotransferase, EC 2.7.3.2). *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 29: 435-456 (1991)
33. Hortobágyi T, Denahan T: Variability in creatine kinase: methodological, exercise, and clinically related factors. *Int J Sports Med*, 10: 69-80 (1989)
34. Hox JJ: *Multilevel Analysis. Techniques and Applications*. 1st, Routledge, New York, 56-103 (2010)
35. Hyatt JP, Clarkson PM: Creatine kinase release and clearance using MM variants following repeated bouts of eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 30: 1059-1065 (1998)
36. Impellizzeri FM, Marcora SM, Coutts AJ: Internal and External Training Load: 15 Years On. *Int J Sports Physiol Perform*, 14: 270-273 (2019)
37. Jackson AS, Pollock ML: Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr*, 40: 497-504 (1978)
38. Julian R, Meyer T, Fullagar HHK, Skorski S, Pfeiffer M, Kellmann M, Ferrauti A, Hecksteden A: Individual Patterns in Blood-Borne Indicators of Fatigue-Trait or Chance. *J Strength Cond Res*, 31: 608-619 (2017)
39. Jung S: Stratified Fisher's Exact Test and its Sample Size Calculation. *Biom J*, 56: (2014)
40. Karcher C, Buchheit M: On-court demands of elite handball, with special reference to playing positions. *Sports Med*, 44: 797-814 (2014)
41. Kellmann M, Bertollo M, Bosquet L, Brink M, Coutts AJ, Duffield R, Erlacher D, Halson SL, Hecksteden A, Heidari J, Kallus KW, Meeusen R, Mujika I, Robazza C, Skorski S, Venter R, Beckmann J: Recovery and Performance in Sport: Consensus Statement. *Int J Sports Physiol Perform*, 13: 240-245 (2018)

42. Kellmann M, Koelling S: Die Kurzsкала Erholung und Beanspruchung. In: Bundesinstitut für Sportwissenschaft (Hrsg) Das Akutmaß und die Kurzsкала zur Erfassung von Erholung und Beanspruchung für Erwachsene und Kinder/Jugendliche, Bd 2020, 01, SPORTVERLAG Strauß, Hellenthal, S. 69-82 (2020)
43. Kellmann M, Koelling S, Hitzschke B: Theoretischer Hintergrund. In: Bundesinstitut für Sportwissenschaft (Hrsg) Das Akutmaß und die Kurzsкала zur Erfassung von Erholung und Beanspruchung im Sport - Manual, 1. Auflage, SPORTVERLAG Strauß, Hellenthal, S. 13-19 (2016)
44. Kniubaite A, Skarbalius A, Clemente FM, Conte D: Quantification of external and internal match loads in elite female team handball. *Biol Sport*, 36: 311-316 (2019)
45. Knoblauch MA, O'Connor DP, Clarke MSF: Capillary and venous samples of total creatine kinase are similar after eccentric exercise. *J Strength Cond Res*, 24: 3471-3475 (2010)
46. Kratz A, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Chun KY, Flood JG, Van Cott EM, Lee-Lewandrowski E: Effect of marathon running on hematologic and biochemical laboratory parameters, including cardiac markers. *Am J Clin Pathol*, 118: 856-863 (2002)
47. Kujala UM, Peltonen JE, Elovainio RO: Hemoglobin and packed-cell volume in endurance athletes prior to rhEPO. *Int J Sports Med*, 21: 228-230 (2000)
48. Lafay S, Jan C, Nardon K, Lemaire B, Ibarra A, Roller M, Houvenaeghel M, Juhel C, Cara L: Grape extract improves antioxidant status and physical performance in elite male athletes. *J Sports Sci Med*, 8: 468-480 (2009)
49. Lee EC, Fragala MS, Kavouras SA, Queen RM, Pryor JL, Casa DJ: Biomarkers in Sports and Exercise: Tracking Health, Performance, and Recovery in Athletes. *J Strength Cond Res*, 31: 2920-2937 (2017)
50. Lev EI, Tur-Kaspa I, Ashkenazy I, Reiner A, Faraggi D, Shemer J, Argov Z: Distribution of serum creatine kinase activity in young healthy persons. *Clin Chim Acta*, 279: 107-115 (1999)
51. Lorenz R, Gerber G: Harnstoff bei körperlichen Belastungen: Veränderungen der Synthese, der Blutkonzentration und der Ausscheidung. *Med Sport*, 19: 240-248 (1979)
52. Malm C, Sjödin TLB, Sjöberg B, Lenkei R, Renström P, Lundberg IE, Ekblom B: Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *J Physiol*, 556: 983-1000 (2004)
53. Marin DP, Bolin AP, Campoio TR, Guerra B A, Otton R: Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: implications for sport training monitoring. *Int Immunopharmacol*, 17: 462-470 (2013)

54. Marin DP, Macedo dos Santos, Rita de Cassia, Bolin AP, Guerra BA, Hatanaka E, Otton R: Cytokines and Oxidative Stress Status Following a Handball Game in Elite Male Players. *Oxid Med Cell Longev*, 2011: (2011)
55. Marques MC, Saavedra FJ, Abrantes C, Aïdar FJ: Associations between rate of force development metrics and throwing velocity in elite team handball players: a short research report. *J Hum Kinet*, 29A: 53-57 (2011)
56. McCall A, Carling C, Nedelec M, Davison M, Le Gall F, Berthoin S, Dupont G: Risk factors, testing and preventative strategies for non-contact injuries in professional football: current perceptions and practices of 44 teams from various premier leagues. *Br J Sports Med*, 48: 1352-1357 (2014)
57. McGuigan MR, Cormack SJ, Gill ND: Strength and Power Profiling of Athletes: Selecting Tests and How to Use the Information for Program Design. *Strength Cond J*, 35: 7-14 (2013)
58. McHugh MP: Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports*, 13: 88-97 (2003)
59. McLellan CP, Lovell DI, Gass GC: Biochemical and endocrine responses to impact and collision during elite Rugby League match play. *J Strength Cond Res*, 25: 1553-1562 (2011)
60. Meeusen R, Duclos M, Foster C, Fry A, Gleeson M, Nieman D, Raglin J, Rietjens G, Steinacker J, Urhausen A: Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: joint consensus statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine. *Med Sci Sports Exerc*, 45: 186-205 (2013)
61. Meyer T, Meister S: Routine blood parameters in elite soccer players. *Int J Sports Med*, 32: 875-881 (2011)
62. Meyer T, Ferrauti A, Kellmann M, Pfeiffer M: Messung von Erholtheit, Ermüdung und Regenerationsbedarf. In: Bundesinstitut für Sportwissenschaft (Hrsg) Regenerationsmanagement im Spitzensport. REGman - Ergebnisse und Handlungsempfehlungen, 1. Auflage, SPORTVERLAG Strauß, Köln, S. 17-30 (2016)
63. Michalsik LB, Aagaard P: Physical demands in elite team handball: comparisons between male and female players. *J Sports Med Phys Fitness*, 55: 878-891 (2015)
64. Michalsik LB, Aagaard P, Madsen K: Locomotion characteristics and match-induced impairments in physical performance in male elite team handball players. *Int J Sports Med*, 34: 590-599 (2013)
65. Molina-López J, Molina JM, Chirrosa LJ, Florea DI, Sáez L, Planells E: Effect of folic acid supplementation on homocysteine concentration and association with training in handball players. *J Int Soc Sports Nutr*, 10: 10 (2013)
66. Mougios V: Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med*, 41: 674-678(2007)

67. Muthén BO, Satorra A: Complex Sample Data in Structural Equation Modeling. *Sociol Methodol*, 25: 267-316 (1995)
68. Nässi A, Ferrauti A, Meyer T, Pfeiffer M, Kellmann M: Development of two short measures for recovery and stress in sport. *Eur J Sport Sci*, 17: 894-903 (2017)
69. Nederhof E, Lemmink KAPM, Visscher C, Meeusen R, Mulder T: Psychomotor speed: possibly a new marker for overtraining syndrome. *Sports Med*, 36: 817-828 (2006)
70. Newham DJ, Jones DA, Edwards RH: Plasma creatine kinase changes after eccentric and concentric contractions. *Muscle Nerve*, 9: 59-63 (1986)
71. Noakes TD: Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. *Sports Med*, 4: 245-267 (1987)
72. Noakes TD, Kotzenberg G, McArthur PS, Dykman J: Elevated serum creatine kinase MB and creatine kinase BB-isoenzyme fractions after ultra-marathon running. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 52: 75-79 (1983)
73. Nunes LAS, Gandra PG, Alves AA, Kubota LT, de Macedo DV: Adequacies of skin puncture for evaluating biochemical and hematological blood parameters in athletes. *Clin J Sport Med*, 16: 418-421 (2006)
74. Pliauga V, Kamandulis S, Dargevičiūtė G, Jaszczanin J, Klizienė I, Stanislovaitienė J, Stanislovaitis A: The Effect of a Simulated Basketball Game on Players' Sprint and Jump Performance, Temperature and Muscle Damage. *J Hum Kinet*, 46: 167-175 (2015)
75. Póvoas SCA, Ascensão AAMR, Magalhães J, Seabra AF, Krstrup P, Soares JM C, Rebelo ANC: Physiological demands of elite team handball with special reference to playing position. *J Strength Cond Res*, 28: 430-442 (2014)
76. Póvoas SCA, Seabra AFT, Ascensão AAMR, Magalhães J, Soares JMC, Rebelo ANC: Physical and physiological demands of elite team handball. *J Strength Cond Res*, 26: 3365-3375 (2012)
77. Reichel T, Boßlau TK, Palmowski J, Eder K, Ringseis R, Mooren FC, Walscheid R, Bothur E, Samel S, Frech T, Philippe M, Krüger K: Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers. *Sci Rep*, 10: (2020)
78. Robertson S, Bartlett JD, Gatin PB: Red, Amber, or Green? Athlete Monitoring in Team Sport: The Need for Decision-Support Systems. *Int J Sports Physiol Perform*, 12: S273-S279 (2017)
79. Rodger RS, Laker MF, Fletcher K, White TF, Heaton A, Ward MK, Kerr DN: Factors influencing normal reference intervals for creatinine, urea, and electrolytes in plasma, as measured with a Beckman Astra 8 Analyzer. *Clin Chem*, 31: 292-295 (1985)
80. Sarkar R: Establishment of Biological Reference Intervals and Reference Curve for Urea by Exploratory Parametric and Non-Parametric Quantile Regression Models. *EJIFCC*, 24: 61-67 (2013)

81. Saw AE, Main LC, Gastin PB: Monitoring the athlete training response: subjective self-reported measures trump commonly used objective measures: a systematic review. *Br J Sports Med*, 50: 281-291 (2016)
82. Schneider C, Hanakam F, Wiewelhove T, Döweling A, Kellmann M, Meyer T, Pfeiffer M, Ferrauti A: Heart Rate Monitoring in Team Sports-A Conceptual Framework for Contextualizing Heart Rate Measures for Training and Recovery Prescription. *Front Physiol*, 9: 639 (2018)
83. Schumann G, Klauke R: New IFCC reference procedures for the determination of catalytic activity concentrations of five enzymes in serum: preliminary upper reference limits obtained in hospitalized subjects. *Clin Chim Acta*, 327: 69-79 (2003)
84. Schutz Y: Protein turnover, ureagenesis and gluconeogenesis. *Int J Vitam Nutr Res*, 81: 101-107 (2011)
85. Schwellnus M, Soligard T, Alonso J, Bahr R, Clarsen B, Dijkstra HP, Gabbett TJ, Gleeson M, Hägglund M, Hutchinson MR, Janse Van Rensburg C, Meeusen R, Orchard JW, Pluim BM, Raftery M, Budgett R, Engebretsen L: How much is too much? (Part 2) International Olympic Committee consensus statement on load in sport and risk of illness. *Br J Sports Med*, 50: 1043-1052 (2016)
86. Silva JR, Rebelo ANC, Marques F, Pereira L, Seabra AFT, Ascensão AAMR, Magalhães J: Biochemical impact of soccer: an analysis of hormonal, muscle damage, and redox markers during the season. *Appl Physiol Nutr Metab*, 39: 432-438 (2014)
87. Solberg HE: The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program. *Clin Chem Lab Med*, 42: 710-714 (2004)
88. Soligard T, Schwellnus M, Alonso J, Bahr R, Clarsen B, Dijkstra HP, Gabbett TJ, Gleeson M, Hägglund M, Hutchinson MR, Janse van Rensburg C, Khan KM, Meeusen R, Orchard JW, Pluim BM, Raftery M, Budgett R, Engebretsen L: How much is too much? (Part 1) International Olympic Committee consensus statement on load in sport and risk of injury. *Br J Sports Med*, 50: 1030-1041 (2016)
89. Souglis A, Bogdanis GC, Giannopoulou I, Papadopoulos C, Apostolidis N: Comparison of inflammatory responses and muscle damage indices following a soccer, basketball, volleyball and handball game at an elite competitive level. *Res Sports Med*, 23: 59-72 (2015)
90. Steinacker JM, Lormes W, Reissnecker S, Liu Y: New aspects of the hormone and cytokine response to training. *Eur J Appl Physiol*, 91: 382-391 (2004)
91. Stølen T, Chamari K, Castagna C, Wisløff U: Physiology of soccer: an update. *Sports Med*, 35: 501-536 (2005)
92. Strømme JH, Rustad P, Steensland H, Theodorsen L, Urdal P: Reference intervals for eight enzymes in blood of adult females and males measured in accordance with the International Federation of Clinical Chemistry reference system at 37 degrees C: part of the Nordic Reference Interval Project. *Scand J Clin Lab Invest*, 64: 371-384 (2004)

93. Taylor K, Chapman D, Cronin J, Newton M, Gill N: Fatigue Monitoring in High Performance Sport: A Survey of Current Trends. *J Aus Strength and Cond*, 20: 12-23 (2012)
94. Thomas L: Harnstoff und Harnstoff-N. [Labor und Diagnose 2020, elektronische Ausgabe], 2020-last update. Available: https://www.labor-und-diagnose-2020.de/k12.html#_idTextAnchor4678 [Zugriff: 20.11.2020]
95. Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G, Klein G, Lunau S, Pick K H, Sonntag O: Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. *J Lab Med*, 29: 301-8 (2005)
96. Thorpe RT, Atkinson G, Drust B, Gregson W: Monitoring Fatigue Status in Elite Team-Sport Athletes: Implications for Practice. *Int J Sports Physiol Perform*, 12: S227-S234 (2017)
97. Urhausen A, Gabriel H, Kindermann W: Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sports Med*, 20: 251-276 (1995)
98. Urhausen A, Kindermann W: Diagnosis of overtraining: what tools do we have? *Sports Med*, 32: 95-102 (2002)
99. Urhausen A, Kindermann W: Biochemical Monitoring of Training. *Clin J Sport Med*, 2: 52–61 (1992)
100. Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB: Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med*, 27: 43-59 (1999)
101. Weippert M, Stoll R, Rieger A, Kreuzfeld S: Comment on “Cytokines and Oxidative Stress Status following a Handball Game in Elite Male Players”. *Oxid Med Cell Longev*, 2012: (2012)
102. Wiewelhove T, Raeder C, Meyer T, Kellmann M, Pfeiffer M, Ferrauti A: Markers for Routine Assessment of Fatigue and Recovery in Male and Female Team Sport Athletes during High-Intensity Interval Training. *PLOS ONE*, 10: e0139801 (2015)
103. Zinner C, Pelka M, Ferrauti A, Meyer T, Pfeiffer M, Sperlich B: Responses of low and high compression during recovery after repeated sprint training in well-trained handball players. *Eur J Sport Sci*, 17: 1304-1310 (2017)

Anhang

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Zeitlicher Ablauf der Messungen für die Biomarker Creatinkinase und Harnstoff.....	12
Abb. 2: Übersicht der Probandenauswahl, Datenerhebung und -auswertung im Rahmen der klinischen Studie.....	27
Abb. 3: Der Biomarker Creatinkinase in der Lernphase auf Gruppenebene.	28
Abb. 4: Der Biomarker Harnstoff in der Lernphase auf Gruppenebene.....	29
Abb. 5: Der Biomarker Creatinkinase in der Lernphase auf individueller Ebene..	30
Abb. 6: Der Biomarker Harnstoff in der Lernphase auf individueller Ebene.	31
Abb. 7: Random-Intercept und Random-Slope eines gemischt linearen Modells für den Biomarker Creatinkinase.	35
Abb. 8: Random-Intercept und Random-Slope eines gemischt linearen Modells für den Biomarker Harnstoff.	37
Abb. 9: Gruppenbasierte Referenzbereiche des Biomarkers Creatinkinase für professionelle Handballspieler der höchsten deutschen Spielklasse.	41
Abb. 10: Gruppenbasierte Referenzbereiche des Biomarkers Harnstoff für professionelle Handballspieler der höchsten deutschen Spielklasse.....	42
Abb. 11: Individualisierte Referenzbereiche des Biomarkers Creatinkinase eines professionellen Handballspielers einer deutschen Erstligamannschaft in der Saison 2019/2020.	44
Abb. 12: Individualisierte Referenzbereiche des Biomarkers Creatinkinase verschiedener professioneller Handballspieler einer deutschen Erstligamannschaft in der Saison 2019/2020.....	45
Abb. 13: Individualisierte Referenzbereiche des Biomarkers Harnstoff verschiedener professioneller Handballspieler einer deutschen Erstligamannschaft in der Saison 2019/2020.....	47

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht der für die venösen Vollblutentnahmen verwendeten Arbeitsmittel.	13
Tab. 2: Übersicht der für die fotometrischen Messungen verwendeten Fertigtests und Kontrollen.....	18
Tab. 3: Übersicht der für die fotometrischen Messungen verwendeten Arbeitsgeräte und Hilfsmittel.....	19
Tab. 4: Übersicht der verwendeten Software.	21
Tab. 5: Merkmale der Studienpopulation.	26
Tab. 6: Übersicht der berechneten linearen Modelle für den Biomarker Creatinkinase.	36
Tab. 7: Übersicht der berechneten linearen Modelle für den Biomarker Harnstoff.	38

Danksagung

Die Danksagung wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.