

Aus dem Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin  
der Deutschen Sporthochschule Köln  
Abteilung für molekulare und zelluläre Sportmedizin  
Geschäftsführender Leiter: Universitätsprofessor Dr. med. Wilhelm Bloch

**Wirkung von akuter sportlicher Belastung auf die  
zytotoxische Aktivität von natürlichen Killerzellen**  
—  
**Eine systematische Übersichtsarbeit und  
Metaanalyse**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Christopher Rumpf  
aus Köln

promoviert am 14. Oktober 2022

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln

2022

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. W. Bloch
2. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. B. Braumann

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.<sup>1</sup>

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten: Herrn Proschinger, Herrn Schenk, Herrn Bloch, Herrn Lampit, Herrn Javelle und Herrn Zimmer.

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die Konzeptionierung der Studie wurde von Herrn Zimmer, Herrn Schenk, Herrn Javelle, Herrn Proschinger und mir vorgenommen. Die Literaturrecherche und die dieser Arbeit zugrunde liegende Datenerhebung wurde von mir mit Unterstützung von Herrn Proschinger durchgeführt. Die statistische Datenauswertung wurde ohne meine Mitarbeit durch Herrn Javelle und Herrn Lampit mit den „R“-basierten Softwarepaketen „metaSEM“ und „metafor“ durchgeführt. Das Manuskript wurde von mir selbstständig verfasst und durch Kommentare von Herrn Zimmer, Herrn Javelle, Herrn Schenk und Herrn Bloch ergänzt.

## Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 09. Dezember 2021

Unterschrift: Christopher Rumpf

---

<sup>1</sup> Bei kumulativen Promotionen stellt nur die eigenständig verfasste Einleitung und Diskussion die Dissertationsschrift im Sinne der Erklärung dar.

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>4</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>5</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>6</b>
2.1 Sport und Immunologie	6
2.2 Funktionen von NK-Zellen	8
2.3 Forschungsstand	8
2.4 Forschungsfragen und Ziel der Arbeit	10
<b>3. PUBLIKATION</b>	<b>11</b>
<b>4. DISKUSSION</b>	<b>24</b>
4.1 Diskussion der Studienergebnisse	24
4.2 Limitationen	27
4.3 Ausblick	27
4.4 Fazit	28
<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>30</b>
<b>LEBENS LAUF</b>	<b>33</b>
<b>ANHANG</b>	<b>34</b>

## **Abkürzungsverzeichnis**

CD	Cluster of Differentiation (dt.: immunphänotypisches Oberflächenmerkmal)
DNA	Deoxyribonucleic Acid (dt.: Desoxyribonukleinsäure)
NKCA	Natural Killer Cell Cytotoxic Activity (dt.: zytotoxische Aktivität von natürlichen Killerzellen)
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells (dt.: mononukleäre Zellen des peripheren Blutes)
TNF- $\alpha$	Tumor Necrosis Factor Alpha (dt.: Tumornekrosefaktor-alpha)

## 1. Zusammenfassung

Die Bedeutung von Sport nimmt unter anderem in der Prävention und Therapie von Krebserkrankungen stetig zu. Eine wichtige Rolle wird dabei den natürlichen Killerzellen zugeschrieben, allerdings ist der Forschungsstand zum Einfluss von Sport auf die zytotoxische Aktivität der natürlichen Killerzellen (engl.: Natural Killer Cell Cytotoxic Activity, NKCA) lückenhaft und teilweise widersprüchlich. Vor diesem Hintergrund ist es Ziel der vorliegenden Arbeit, die Wirkung akuter sportlicher Belastung auf die NKCA mit Hilfe einer systematischen Übersichtsarbeit und Metaanalyse differenziert zu untersuchen. Darüber hinaus sollen erstmals Moderationseffekte berücksichtigt werden, um Ergebnisabweichungen zwischen Studien besser erklären zu können und möglicherweise einen Beitrag zur gezielten Trainingssteuerung zu liefern. Schließlich soll im Rahmen dieser Arbeit geprüft werden, ob es in den Stunden nach sportlicher Aktivität zu einer signifikanten Reduktion der NKCA kommt.

Experimentelle Primärdaten wurden auf Basis einer systematischen Literaturrecherche in den Datenbanken MEDLINE (via PubMed), Scopus, und SportDiscus gewonnen. Der Einschluss von Studien erfolgte, sofern der Effekt akuter körperlicher Bewegung unter Berücksichtigung einer passiven Kontrollgruppe getestet wurde und die NKCA jeweils vor und nach der Belastung sowie im Laufe einer zweistündigen Erholungsphase gemessen wurde. Nach Prüfung der methodischen Studienqualität wurden die Daten systematisch aufbereitet und mit Hilfe von zwei separaten Modellen ausgewertet: (1) Vor Belastung vs. nach Belastung und (2) vor Belastung vs. Erholungsphase. Um die Heterogenität zwischen den Studien zu erfassen, wurden anschließend bivariate Moderatoranalysen durchgeführt.

Die Auswertung von 18 Effektgrößen aus zwölf Studien zeigen einen positiven Einfluss von Sport auf die NKCA. Zusätzlich beweisen die Daten, dass der Effekt für Ausdauersport größer ausfällt als für Kraftsport und die Intensität der körperlichen Belastung die NKCA positiv beeinflusst. Dabei kann kein Unterschied zwischen den verwendeten Ausgangsmaterialien festgestellt werden und auch die gemessene Anzahl an NK-Zellen im peripheren Blut zeigt keinen moderierenden Effekt. Während der Erholungsphase fällt die NKCA auf das Ausgangsniveau zurück, d.h. es ist kein signifikanter Unterschied zwischen den NKCA-Werten vor der Belastung und während der Erholungsphase nachzuweisen.

Die vorliegende Arbeit liefert den ersten studienübergreifenden Beweis für eine deutliche Erhöhung der zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen durch körperliche Belastung. Die Werte fallen innerhalb der ersten zwei Stunden nach Belastung wieder ab, allerdings ergibt sich kein Hinweis auf eine immunsupprimierende Auswirkung. Darüber hinaus zeigt sich, dass der NKCA-Effekt unabhängig von der Zellmobilisation Bestand hat. Insgesamt steuert diese Arbeit einen wichtigen Beitrag zur immunologischen Erklärung für die positive Wirkung von Sport bei und bietet konkrete Anknüpfungspunkte für zukünftige Forschung.

## **2. Einleitung**

Regelmäßiges Sporttreiben wirkt sich positiv auf den Gesundheitszustand aus, indem es das Risiko für Herz-Kreislauf-, Stoffwechsel- und Krebserkrankungen senkt. Es gilt als wissenschaftlich gesichert, dass ein körperlich aktiver Lebensstil die mittlere Lebenserwartung signifikant verlängert und in der Krankheitsprävention einen vergleichbaren Stellenwert einnimmt wie ein Nikotinverzicht oder die Vermeidung von Übergewicht <sup>1</sup>. Auch in der Therapie bietet Sport als adjuvante Intervention einen wichtigen Zusatznutzen: In aktuellen Studien wurde beispielsweise gezeigt, dass körperliche Aktivität die Nebenwirkungen einer Krebstherapie abmildert <sup>2</sup>, das Mortalitätsrisiko bei Krebspatienten senkt <sup>3</sup> oder die Rate postoperativer Komplikationen verringert <sup>4</sup>. Trotz zahlreicher wissenschaftlicher Belege für die positiven Effekte des Sports sind die Wirkungsmechanismen insbesondere auf zellulärer und molekularer Ebene noch nicht vollständig verstanden <sup>5</sup>. Es deutet allerdings vieles darauf hin, dass die sportinduzierte Mobilisierung und Aktivierung von Immunzellen hierbei eine zentrale Rolle spielt <sup>6</sup>.

Als Teildisziplin der Sportmedizin beschäftigt sich die Sportimmunologie mit den akuten und chronischen Auswirkungen von Sport auf das Immunsystem. Zahlreiche Studien belegen den Effekt von körperlicher Bewegung auf diverse Immunparameter wie die Anzahl an Immunzellen im Blut oder deren Aktivität <sup>7</sup>. Besonders schnell reagierende Immunzellen – die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) – sind seit über 30 Jahren Gegenstand sportimmunologischer Forschung: Während die Wirkung von Sport auf die Anzahl an NK-Zellen im peripheren Blut vielfach nachgewiesen wurde, ist die Datenlage zum Effekt auf die zytotoxische Aktivität der NK-Zellen widersprüchlich <sup>8</sup>.

Vor diesem Hintergrund ist es Ziel der vorliegenden Arbeit, die Wirkung von Sport und körperlicher Bewegung auf die zytotoxische Aktivität von natürlichen Killerzellen mit Hilfe einer systematischen Übersichtsarbeit und einer Metaanalyse genauer zu untersuchen. Im einleitenden Teil der Arbeit wird zunächst auf das Thema Sport und Immunologie eingegangen, bevor die Funktionen von NK-Zellen näher betrachtet werden. Anschließend soll der Forschungsstand kritisch zusammengefasst und die forschungsleitenden Fragen erläutert werden.

### **2.1 Sport und Immunologie**

Sport und körperliche Bewegung beeinflussen das Immunsystem über eine Veränderung der Anzahl und Aktivität von Immunzellen im peripheren Blut <sup>9</sup>. Die Verbindung zwischen körperlicher Bewegung und dem Immunsystem wird über die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse und das sympathische Nervensystem hergestellt. Durch deren Aktivierung kommt es unter anderem zu einer Steigerung der Hämodynamik und zu einer erhöhten Freisetzung von Stresshormonen, die wiederum regulierend auf das komplexe

Immunsystem wirken <sup>7</sup>. Aktuelle Studien deuten zudem darauf hin, dass Muskelzellen bei erhöhter Anstrengung Myokine sezernieren, die das Immunsystem in seiner Funktion beeinflussen <sup>10,11</sup>.

In Abhängigkeit der Häufigkeit und Intensität des Sporttreibens werden in der Literatur neben vielen positiven Effekten auch immunschwächende Auswirkungen beschrieben. Insbesondere bei Leistungssportlern wurde nach intensiven Trainings- oder Wettkampfphasen eine erhöhte Infektanfälligkeit beobachtet <sup>12</sup>. Die hierauf aufbauende „Open Window“-Theorie geht davon aus, dass wichtige Immunparameter wie die Zytotoxizität von NK-Zellen in den Stunden und Tagen nach intensiver Belastung supprimiert sind und damit Infektionen insbesondere der oberen Atemwege begünstigen. Aus pathophysiologischer Sicht könnte auch ein gereiztes Schleimhautepithel nach intensiver Belastung eine Rolle spielen <sup>5</sup>. Allerdings wird die Plausibilität der „Open Window“-Theorie vermehrt in Zweifel gezogen, da vielen Studien lediglich Selbstberichte von Athleten zugrunde liegen und häufig weder Laborparameter noch klinische Untersuchungsergebnisse zur Objektivierung der Beschwerden erhoben wurden <sup>7</sup>. Zudem ist unklar, ob die Infektionen tatsächlich durch exogene Krankheitserreger verursacht werden oder nicht vielmehr virale Reaktivierungen eine Rolle spielen <sup>9</sup>.

Während die Frage nach einer erhöhten Infektanfälligkeit im Leistungssport nicht eindeutig geklärt ist, gilt es in der Sportimmunologie als bewiesen, dass regelmäßiges Sporttreiben mit moderater Intensität die Immunkompetenz nachhaltig stärkt, eine antiinflammatorische Wirkung erzielt und die Inzidenz vieler chronischer Erkrankungen verringert <sup>5</sup>. Dadurch wirkt Sport nicht nur präventiv hinsichtlich viraler oder bakterieller Infekte, sondern schützt auch vor neoplastischen und chronisch-entzündlichen Erkrankungen. Zudem gibt es wissenschaftliche Belege, dass regelmäßige körperliche Aktivität die Immunoseneszenz, d.h. das Nachlassen der Immunabwehr im Alter, signifikant verlangsamt <sup>13,14</sup>.

Üblicherweise wird in der Sportimmunologie eine Unterscheidung vorgenommen zwischen den akuten Effekten auf das Immunsystem im Sinne einer einzelnen körperlichen Aktivität und den chronischen Effekten von Sport, d.h. Anpassungen des Immunsystems durch regelmäßiges Sporttreiben. Eine akute körperliche Belastung führt in der Regel zu einer Freisetzung von Katecholaminen, Prostaglandinen und Glukokortikoiden. Es erhöht sich die kardiale Auswurfleistung, die Hämodynamik und die Demargination von Leukozyten – insbesondere von CD8-positiven T-Zellen und NK-Zellen <sup>15</sup>. Zusätzlich werden die adrenergen Rezeptoren der Leukozyten stimuliert, wodurch es zu einer Steigerung der Zellfunktion wie Zellproliferation, Zytokinproduktion oder Zytotoxizität kommt <sup>7</sup>.

Bezüglich der chronischen Effekte von Sport ist bekannt, dass regelmäßiges Sporttreiben zu einem reduzierten Glucocorticoidspiegel führt und dadurch die Funktion von Immunzellen wie die zytotoxische Aktivität der NK-Zellen begünstigt <sup>8</sup>. Trotz enormer Fortschritte in der



sportimmunologischen Forschung ist festzuhalten, dass die genauen Wirkmechanismen noch viele Fragen aufwerfen.

## 2.2 Funktionen von NK-Zellen

NK-Zellen zählen zu den Lymphozyten und spielen eine wichtige Rolle bei der Immunabwehr gegen virusinfizierte und neoplastische Zellen. Beispielsweise wird eine erhöhte zytotoxische Aktivität von NK-Zellen (NKCA) mit einem reduzierten Tumorerkrankungsrisiko<sup>16,17</sup> und einer längeren Überlebenszeit von Krebspatienten assoziiert<sup>18,19</sup>. Als Teil des angeborenen Immunsystems sind NK-Zellen in der Lage, pathologische Zielzellen ohne vorherige Immunisierung zu erkennen und abzutöten. Diese Effektorfunktion beruht im Wesentlichen auf der Sekretion von zytotoxischen Granula und der Aktivierung des programmierten Zelltods<sup>20</sup>. Zytotoxische Granula enthalten Effektorproteine wie Perforin und Granzym: Perforin ist ein porenbildendes Protein, das einen Membranangriffskomplex mit der Zielzelle bildet und so deren Zytolyse bewirkt. Das Enzym Granzym zählt zu den Serinproteasen, kann mit Hilfe des Perforins in die Zielzelle eindringen und führt dort zur Apoptose<sup>21</sup>.

Die Aktivierung des programmierten Zelltods wird über eine Rezeptor-Liganden-Bindung eingeleitet. NK-Zellen exprimieren sogenannte Death-Liganden (z.B. FasL), die an entsprechenden Death-Rezeptoren der Zielzelle binden und eine Konformationsänderung im Rezeptor bewirken. Über mehrere Zwischenschritte führt dieser Prozess zu einer Spaltung essenzieller Proteine und schließlich zur Apoptose der Zielzelle<sup>22</sup>.

Die Regulation von NK-Zellen erfolgt über MHC-spezifische Rezeptoren, die eine Unterscheidung zwischen physiologischen und pathologischen Zellen ermöglichen. Abhängig vom MHC-Status können NK-Zellen deaktiviert werden, um eine Abtötung physiologischer Zellen zu vermeiden. Da virusbefallene und neoplastische Zellen weniger MHC-Moleküle exprimieren, wird die Inhibition aufgehoben und die zytotoxische Funktion der NK-Zellen aktiviert<sup>23</sup>.

NK-Zellen erfüllen nicht nur eine zytotoxische, sondern auch eine immunregulatorische Funktion, indem sie unter anderem Zytokine wie Interferon- $\gamma$  oder TNF- $\alpha$  sezernieren und dadurch die Aktivität anderer Immunzellen beeinflussen. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Funktionen werden NK-Zellen in zwei Untergruppen eingeteilt: NK-Zellen mit überwiegend zytotoxischer Aktivität exprimieren in nur geringem Maße das Oberflächenmolekül CD56 und werden daher als CD56<sup>dim</sup> bezeichnet; NK-Zellen mit regulatorischer Funktion exprimieren hingegen viel CD56 an ihrer Oberfläche und werden daher als CD56<sup>bright</sup> bezeichnet<sup>8</sup>.

## 2.3 Forschungsstand

Hinsichtlich der Wirkung von Sport auf NK-Zellen hat die sportimmunologische Forschung zahlreiche Studien hervorgebracht, die sich in erster Linie mit der Mobilisierung und der zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen befassen. Im Folgenden konzentriert sich die

Darstellung des Forschungsstands auf die akuten Effekte von Sport. Für eine Übersicht der chronischen Effekte wird auf den Review-Artikel von Zimmer et al. <sup>8</sup> verwiesen.

Viele Studienergebnisse zeigen übereinstimmend, dass körperliche Bewegung einen positiven Einfluss auf die Mobilisierung von NK-Zellen hat und die Anzahl an NK-Zellen im peripheren Blut stark mit dem Katecholaminspiegel korreliert <sup>9</sup>. Abhängig von der Intensität einer Sportaktivität fällt die Anzahl der NK-Zellen in den ersten Stunden der Ruhephase wieder ab und kann anschließend für bis zu 24 Stunden erniedrigt bleiben <sup>24</sup>.

Bezüglich der Wirkung von Sport auf die NKCA kamen Shephard und Shek <sup>24</sup> im Rahmen einer Metaanalyse zu widersprüchlichen Ergebnissen. Es wurde dennoch die Tendenz abgeleitet, dass die zytotoxische Aktivität der NK-Zellen nach intensiven sportlichen Belastungen unter den Ausgangswert abfällt <sup>24</sup>. Da die NKCA eine wichtige Abwehrfunktion gegen pathogene Keime im Respirationstrakt erfüllt, diskutieren unter anderem Kakanis et al. <sup>12</sup> einen möglichen Zusammenhang mit dem Auftreten von Atemwegsinfekten im Sinne der „Open Window“-Theorie.

Akute körperliche Belastung führt zu einer Mobilisierung von CD56<sup>dim</sup>-NK-Zellen, die eine starke Zytotoxizität aufweisen <sup>15</sup>. Durch den erhöhten Anteil dieser Untergruppe gegenüber den regulatorischen CD56<sup>bright</sup>-NK-Zellen kommt es zu einer Erhöhung der NKCA <sup>8</sup>. Weiterhin ungeklärt ist daher, ob akute sportliche Belastung tatsächlich zu einer Aktivitätsänderung der NK-Zellen führt oder die festgestellten Schwankungen in der NKCA durch den erhöhten Anteil zytotoxischer CD-56<sup>dim</sup>-NK-Zellen verursacht werden. In der Regel lassen es die Studiendaten nicht zu, Veränderungen in der Aktivität von NK-Zellen unabhängig von der relativen Verteilung der NK-Zellen zu interpretieren.

Darüber hinaus sorgen verschiedene methodische Aspekte für eine begrenzte Vergleichbarkeit der vorhandenen Studien: Erstens weichen die experimentellen Interventionsformen (d.h. die Art, Intensität und Dauer der Sporteinheit) sowie das Alter und der Trainingsstatus der Probanden zwischen den Studien teilweise stark voneinander ab. Zweitens werden die NKCA-Werte zu unterschiedlichen Messzeitpunkten erhoben, wodurch es zu erheblichen Verzerrungen kommen kann, da die NKCA nach der Belastung großen Schwankungen unterliegt. Drittens ist unklar, ob die NKCA-Werte durch die eingesetzte Messtechnik und unterschiedliche Ausgangsmaterialien verzerrt werden. Beispielsweise werden häufig isolierte mononukleäre Zellen des peripheren Bluts (engl. Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC) zur Inkubation der Zielzellen (in den meisten Fällen K562-Tumorzellen) verwendet, ohne mögliche Abweichungen im Vergleich zu Vollblut zu berücksichtigen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Datenlage zum Einfluss von Sport auf die NKCA teilweise widersprüchlich ist. Zwar existiert eine beachtliche Studienanzahl zur Thematik, die direkte Vergleichbarkeit ist aufgrund unterschiedlicher Studiendesigns und Methoden aber

nicht ohne weiteres möglich. Aus diesem Grund erlaubt es der Forschungsstand bislang nur sehr eingeschränkt, allgemeingültige Schlussfolgerungen zur Wirkung von Sport auf die NKCA zu ziehen.

## **2.4 Forschungsfragen und Ziel der Arbeit**

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Wirkungszusammenhänge zwischen Sport und der zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen besser zu erklären, indem experimentelle Primärdaten zu Metadaten zusammengefasst und metaanalytisch ausgewertet werden. Angesichts der steigenden Bedeutung von Sport und Bewegung in der Prävention und Therapie kommt diesem Forschungsziel eine große wissenschaftliche Relevanz zu. Auch wenn sich viele Studien wie oben skizziert hinsichtlich der Interventionsformen, Probandenkollektive und Messinstrumente unterscheiden, eignen sich viele Datensätze grundsätzlich zur Anwendung eines metaanalytischen Verfahrens. Die Metaanalyse hat zum Ziel, unklare oder widersprüchliche Ergebnisse mit statistischen Mitteln zu erfassen und studienübergreifende Erkenntnisse abzuleiten. Darauf aufbauend können neue Forschungshypothesen entstehen sowie neue Präventions- und Therapieansätze entwickelt werden. Vor diesem Hintergrund lautet die erste forschungsleitende Frage:

*(1) Wie und wie stark wirkt sich akute körperliche Belastung auf die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen aus?*

Die vorliegende Arbeit soll einen zusätzlichen Erkenntnisgewinn zum Einfluss individueller (Alter, Geschlecht), sportbezogener (Intensität, Trainingsformen) und methodischer Faktoren (Art des Ausgangsmaterials) liefern. Mit Hilfe von Subgruppenanalysen werden mögliche Moderationseffekte identifiziert, um Rückschlüsse für die gezielte Trainingssteuerung zu ziehen. Zudem soll mit Hilfe einer Metaregressionsanalyse ermittelt werden, ob der Zusammenhang zwischen Sport und NKCA durch die Anzahl der NK-Zellen im peripheren Blut beeinflusst wird. Mit anderen Worten geht es um die Frage, ob Sport eine unmittelbare Wirkung auf die NKCA ausübt oder ob lediglich eine höhere Zellzahl für die Veränderungen in der NKCA verantwortlich ist. Zusammenfassend wird folgende Forschungsfrage formuliert:

*(2) Welche Moderationseffekte beeinflussen den Zusammenhang zwischen akuter körperlicher Belastung und der zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen?*

Der gegenwärtige Forschungsstand zeichnet ein uneinheitliches Bild hinsichtlich einer möglichen, zeitlich begrenzten Reduzierung der NKCA während der ersten Stunden nach der Sportausübung. Angesichts der kontrovers diskutierten „Open Window“-Theorie soll diese Arbeit einen Erkenntnisgewinn zur Rolle der NK-Zellen bzw. deren Aktivität beitragen. Entsprechend lautet die dritte Forschungsfrage:

*(3) Wie wirkt sich akute körperliche Belastung auf die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen in den ersten Stunden der Erholungsphase aus?*

### **3. Publikation**

Rumpf C, Proschinger S, Schenk A, Bloch W, Lampit A, Javelle F, Zimmer P. The effect of acute physical exercise on NK-cell cytolytic activity: A systematic review and meta-analysis. *Sports Med* 2021; **51**: 519-30.



# The Effect of Acute Physical Exercise on NK-Cell Cytolytic Activity: A Systematic Review and Meta-Analysis

Christopher Rumpf<sup>1</sup> · Sebastian Proschinger<sup>2</sup> · Alexander Schenk<sup>3</sup> · Wilhelm Bloch<sup>2</sup> · Amit Lampit<sup>4,5</sup> · Florian Javelle<sup>2</sup> · Philipp Zimmer<sup>3</sup>

Accepted: 28 November 2020 / Published online: 4 January 2021  
© The Author(s) 2020

## Abstract

**Background** Data on changes in natural killer cell cytolytic activity (NKCA) in response to acute physical exercise are contradictory.

**Objective** The aim of this systematic review, meta-analysis and meta-regression is to (1) examine the effect of acute physical exercise on NKCA, (2) shed more light on the moderating factors, and (3) test the assumption of NKCA suppression subsequent to performing sports.

**Methods** Two comparisons of NKCA were performed: (1) pre- versus post-exercise and (2) pre-exercise versus recovery. Data were acquired through a systematic search of MEDLINE (via PubMed), Scopus, and SportDiscus. Studies were eligible for inclusion if the effect of acute physical exercise was assessed including a passive control group and reporting NKCA prior to and immediately after the trial, and during the first 2 h of recovery. To better explain between-study heterogeneity, a moderator analysis was conducted.

**Results** Pooled estimate from 12 studies reporting 18 effect sizes show that NKCA is largely elevated by acute physical exercise (Hedges'  $g = 1.02$ , 95% CI 0.59–1.46,  $p < 0.01$ ). Meta-regressions reveal that this effect is larger for endurance versus resistance exercise and increases with the intensity of exercise (both  $p < 0.01$ ), whereas the blood material used in the assay ( $p = 0.71$ ), and the quantitative change in NK-cell count ( $R^2 = 0\%$ ,  $p = 0.55$ ) do not play a significant role. Physical exercise does not affect the level of NKCA after the recovery period ( $g = 0.06$ , 95% CI  $-0.37$  to  $0.50$ ,  $p < 0.76$ ).

**Conclusions** This work provides solid evidence for elevated NKCA through performing sports which returns to baseline during the first 1–2 h of recovery, but not below the pre-exercise values providing counterevidence to the assumption of temporarily reduced NKCA. Remarkably, the functional change in NKCA exists independently from the quantitative change in NK-cell count.

PROSPERO registration number: CRD42020134257.

---

Florian Javelle and Philipp Zimmer shared senior authorship.

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s40279-020-01402-9>.

---

✉ Philipp Zimmer  
philipp.zimmer@tu-dortmund.de

<sup>1</sup> Faculty of Medicine, University Hospital Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany

<sup>2</sup> Clinical Exercise-Neuro-Immunology Group, Department of Molecular and Cellular Sport Medicine, German Sport University Cologne, Cologne, Germany

<sup>3</sup> Institute of Sport and Sport Science, TU Dortmund University, August-Schmidt-Strasse 1, 44227 Dortmund, Germany

<sup>4</sup> Department of Psychiatry, The University of Melbourne, Melbourne, Australia

<sup>5</sup> Department of Neurology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

## Key Points

Acute physical exercise has a large and positive effect on the level of NK-cell cytolytic activity in the peripheral blood ( $g = 1.02$ , 95% CI 0.59–1.46,  $p < 0.01$ ).

In the first hours after performing sports, NKCA values return to baseline, but do not drop below the pre-exercise values ( $g = 0.06$ , 95% CI  $-0.37$  to  $0.50$ ,  $p < 0.76$ ).

The data suggest the counterintuitive conclusion that the level of NKCA is not significantly altered by the changing numbers of NK-cells ( $k = 11$ ,  $\beta = 0.123$ ,  $R^2 = 0\%$ ,  $p = 0.55$ ).

## 1 Introduction

As part of the cellular innate immune system, Natural Killer cells (NK-cells) play a crucial role in the host defence against virus infected and neoplastic cells. NK-cells are characterized by a detection and killing of target cells without prior immunization and therefore build a first line of defence. The cytotoxic function of NK-cells is described by their cytolytic activity (NKCA), consisting of two major mechanisms. On one hand, NK-cells could provide cytotoxicity by secretion of cytolytic granules, and on the other hand by the induction of cell death receptors [1]. Cytolytic granules include effector proteins such as perforin and granzymes. Perforin is a pore-forming protein. In detail, it builds a membrane-attack-complex on target cells, causing pores, which in turn induce osmotic lysis [2]. Granzymes are serine-proteases inducing apoptosis and mediate cell death [1]. Cell death receptors are expressed on the cell surface and consequence in apoptosis upon ligand binding. NK-cells express the ligand of the cell death receptor FAS (FASL) and the TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) on their surface [3].

Regulation of NK-cell function is achieved by a keen balance of signals of activating and inhibiting receptors that provide a discrimination between healthy and diseased cells. According to their function, NK-cells can be divided into two major subsets based on their surface expression of the cluster molecule CD56 [4]. On one hand, NK-cells with low levels of CD56 (CD56<sup>dim</sup>) that are highly cytotoxic and on the other hand, NK-cells with high levels of CD56 (CD56<sup>bright</sup>) that secrete cytokines and are regulatory.

Research in the field of exercise immunology has proposed both, a mobilization and redistribution as well as alterations in the function of these cells during and after exercise [5]. Today, it is well accepted that NK-cell mobilization

during and shortly after cessation of exercise is mainly driven by epinephrine [6]. In contrast, less is known about NK-cell distribution to different tissues.

Besides NK-cell mobilization and redistribution, exercise was supposed to change NK-cell function in a dose- and time dependent manner. In detail, NK-cell cytolytic activity (NKCA) has been described to increase during various types of acute physical exercise and to decrease after sustained moderate and prolonged exercise [7]. It was speculated that the latter, contributes to an enhanced risk for upper respiratory infections since NK cells serve as “first line defence” against pathogens in the respiratory tract [8]. However, evidence for exercise-induced immune suppression is sparse and opposing opinions are also well accepted by the scientific community [9]. In contrast to the profound and explicit knowledge on exercise induced NK-cell mobilization, data and opinions on changes in NKCA are contradictory.

This inconsistency may be explained by numerous factors, such as strongly varying exercise paradigms (type, intensity, duration), measurement time points and populations as well as using different laboratory techniques (flow cytometry, cytochrome release assay, calcein assays, etc.) and biomaterials (whole blood, peripheral blood mononuclear cells or isolated NK-cells; for a review read Zimmer et al. [5]).

Against the backdrop of the increasing relevance of exercise in preventive and rehabilitative settings, it is of interest to quantify the effect of acute and mid-term (recovery phase) exercise-induced alterations in NKCA. Furthermore, this study attempts to identify potential technical and physiological moderators since these have been neglected in a previous meta-analysis [7].

Another critical issue relates to the confounding effect of NK-cell mobilization in response to physical exercise, and thus, many studies cannot reliably differentiate between the functional change in cytotoxicity and the quantitative change in NK-cell numbers. To sum it up, moderating factors on the individual, exercise, and methodological level are indispensable for drawing reliable conclusions on NKCA in response to physical exercise. Given the lack of coherent knowledge this research attempts to reach three major goals: (a) thoroughly examine the immediate effect of acute physical exercise on NKCA, (2) shed more light on the moderating factors, and (3) test the assumption of temporarily reduced NKCA suppression subsequent to performing sports.

## 2 Materials and Methods

This study was conducted in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) [10]. All criteria presented in the PRISMA

checklist were satisfied. The protocol was pre-registered on PROSPERO (registration number CRD42020134257).

## 2.1 Search Strategy

The literature search was conducted using MEDLINE (via PubMed), Scopus, and SportDiscus. Since research on NKCA alterations in response to sports started in the 1980s [5], the literature search was performed over a period of 40 years (January 1980 to December 2019). The search strategy involved Medical Subject Headings (MeSH) and text words combined through Boolean operators (“AND”, “OR”). The search string included common synonyms for the concepts of (1) physical exercise, (2) natural killer cells, and (3) NKCA: (exercise OR “physical activity” OR sport OR training OR cycling OR walking OR swimming OR running) AND (“natural killer cells” OR “natural killer cell” OR “NK-cells” OR “NK-cell”) AND (cytotoxicity OR cytotoxic OR “natural killer cell cytotoxic activity” OR “cytolytic activity” OR NKCA OR “cell activity” OR “NK cell function”). The scope of the search was restricted to peer-reviewed articles published in English. After deduplication and screening for the selection criteria, 74 full-text articles were independently assessed by 2 reviewers (SP and CR). Finally, 12 studies were included in the systematic review and meta-analyses.

## 2.2 Selection Criteria

**Participants:** Studies using adult healthy human participants were included in the analysis.

**Intervention:** All studies comprising a single bout of physical exercise (e.g., running, cycling, resistance training) were eligible for analysis. Any exercise trials including other interventions (e.g., heat exposure) [11] or supplementations (e.g., naltrexone administration) [12] associated to exercise were excluded from the analysis.

### 2.2.1 Comparison

Only studies including passive controls (e.g., resting, sitting) were included in the review.

### 2.2.2 Outcomes

Change in NKCA from pre- to post-exercise (i.e., immediately after) between the experimental and control groups were the primary interest of the analysis. Change in NKCA from pre-exercise to post-recovery, between the experimental and control groups were the secondary interest in the analysis. Studies with unclear data or incompatible outcome measures (e.g., gene expression, dim-bright ratio) were excluded from the analysis.

## 2.2.3 Study design

Only peer-reviewed randomized or non-randomized controlled trials were included in the analysis. Case studies, correlation studies, editorials, reviews, observational research, conference abstracts as well as studies with secondary analyses from subgroups of already existing and published data were excluded from the review.

## 2.3 Data extraction

To accurately extract numerical data from plots if raw data were not reported, the software tool WebPlotDigitizer 4.2 was used. Subject characteristics such as gender and age, study design, exercise paradigm, blood sampling interval, type of NKCA assay, mean values and standard deviations (or standard error of the mean) of NKCA for each group in percent or Lytic Units were extracted. If publications did not report the required data, the corresponding author was contacted to retrieve the missing data.

## 2.4 Quality assessment

Internal validity and risk of bias within included studies were assessed with the Physiotherapy Evidence Database scale (PEDro) [13]. The PEDro scale contains 11 items covering eligibility criteria, random allocation, concealment of allocation, comparability of groups at baseline, blinding of patients, therapists and assessors, analysis by intention to treat, between-group statistical comparisons and point measures and variability data. As exercise training interventions do not provide an opportunity to fully blind participants and therapists, items 5 and 6 from the PEDro scale were excluded from the grading process, meaning that the maximum PEDro score was nine.

Each criterion on the PEDro scale were rated as “yes” (indicating that the criterion has been met) or “no” (indicating that the criterion has not been met). The quality of each study was independently assessed by the same two reviewers (SP and CR) with an intraclass inter-rater correlation coefficient of 92%. In case of disagreement between the two reviewers, a third reviewer (AS or PZ) was consulted. ESM (electronic supplementary material) table A presents the total PEDro score for the included studies.

## 2.5 Statistical analysis

All analyses were performed with the statistical computing software R using the packages metaSEM and metafor. Two separate meta-analyses were performed: (1) post-exercise NKCA versus pre-exercise NKCA for the exercise group versus the control group, and (2) recovery NKCA versus pre-exercise NKCA for the exercise group versus the control

group. As NKCA was expressed in different and nonconvertible units across studies (i.e., cytotoxicity in percent versus Lytic Units), change in NKCA values were converted to standardized mean differences, calculated as Hedges'  $g$  to account for small study sample sizes.

A positive Hedges'  $g$  denotes an increase of NKCA in the exercise group over the control. By convention, a Hedges'  $g$  value of 0.2 is considered a small effect size, 0.5 is considered moderate and 0.8 is considered large [14, 15]. Outcomes across studies were pooled using a random-effects model. The prediction interval was also computed to consider the potential effect of physical exercise when it is applied within an individual study setting, as this may be different from the average effect [16].

Between-study heterogeneity was measured using  $\tau^2$  (variance of true effects) and further assessed using the  $I^2$  statistic which assesses the proportion of between-study variance over total observed variance [17]. An  $I^2$  value of 75% was considered large, of 50% moderate, and of 25% low. Potential small study effect (and potential publication bias) was assessed by visually inspecting funnel plots of standardized mean difference against standard error and using Egger's test [18, 19]. If evidence for asymmetry was found ( $p < 0.1$  on the Egger's test), the Duval and Tweedie trim and fill method was used to quantify the magnitude of small study effect. Cook's distance was used to determine outliers across studies [20].

To detect moderator effects, subgroup analyses were applied to the categorical variables of interest (i.e., gender, age, type of exercise, level of intensity, type of blood sample), while meta-regression was used to analyse the moderating effect of the continuous variable NK-cell count [21]. For this purpose, an NK-cell Hedges'  $g$  effect size was emitted from change in NK-cell count from pre- to post-exercise (i.e., immediately after) between the experimental and control groups. The predictive value of continuous moderators was evaluated by goodness of fit ( $R^2$ ) and was significant at the  $p = 0.05$  level.

### 3 Results

#### 3.1 Overview of the systematic review

The search strategy led to 1469 results in the literature databases. After removing duplicates, 757 studies were screened against the eligibility criteria. By reviewing the titles and abstracts, 683 studies were excluded and 74 were assessed for eligibility. After applying the selection criteria, 62 studies were excluded based on the full-text version. Finally, 12 studies were included into the analysis. A study selection flow chart is provided in Fig. 1.

The 12 studies included in the systematic review were published between 1995 and 2006. Sample sizes varied between 8 and 64 participants. Four of the studies tested only female participants [22–25], seven studies tested only males [11, 12, 26–30], and one study included both genders [31]. The participants' mean age ranged from 21.6 to 72.8 years with ten studies testing young participants (<40 years) [11, 12, 22, 25–31], and two studies testing for effects in older adults (>65 years) [23, 24]. Ten studies used a randomized approach to assign participants into exercise or passive (i.e., sitting or resting) control groups [11, 12, 22, 23, 25–31].

Endurance exercise was used in eight studies [11, 12, 22, 25, 27–29, 31], three studies tested the effect of resistance training [23, 24, 30], and one study used both forms of exercise in a crossover design [26]. Following the terminology used by Norton et al. [32], exercise intensity was light in two [25, 27], moderate in six [11, 22, 26, 30], vigorous in seven [12, 25, 28, 29], and high in three trials [11, 23, 24]. The duration of the exercise trials varied between 5 and 120 min. As indicated in Table 1, blood samples were taken prior to and immediately after the exercise, whereas the timing of the final blood draw differed considerably due varying recovery periods ranging from 45 to 240 min.

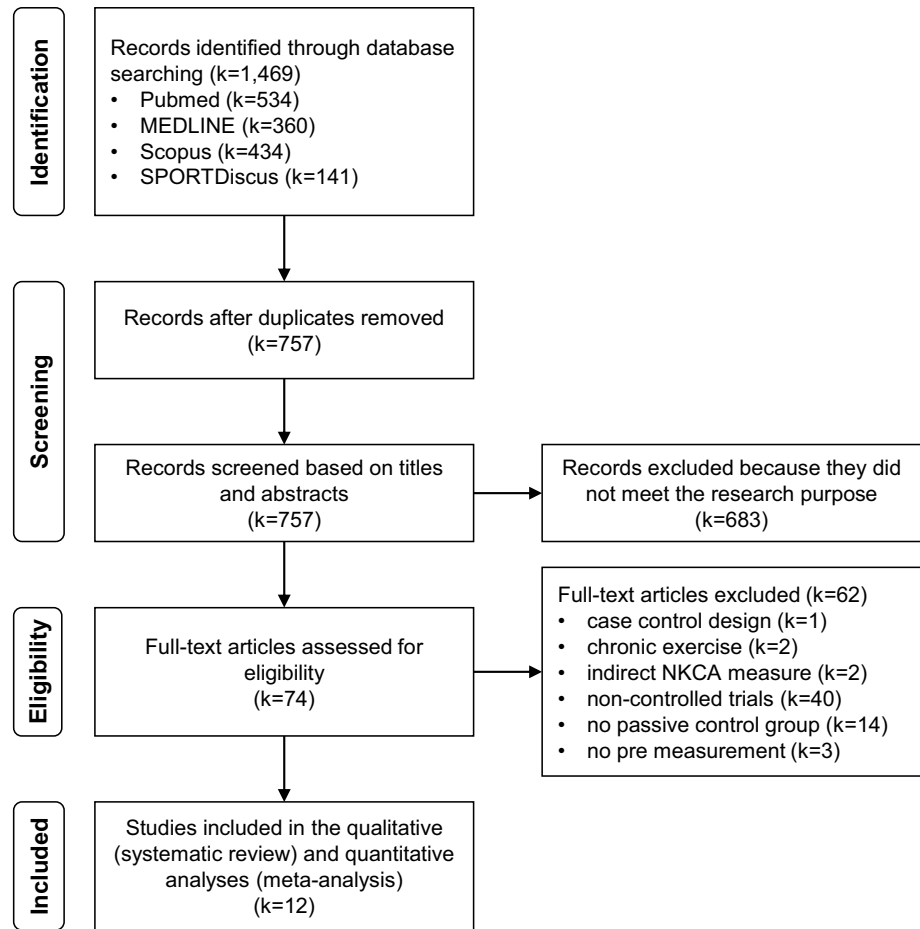
In ten studies [11, 12, 22–28, 30], NKCA was expressed as cytotoxicity in percent (i.e., percentage of target cell lysis) and in two studies NKCA was reported in form of Lytic Units (i.e., number of effector cells required to lyse a certain percentage of target cells) [29, 31]. In half of the 12 studies, whole blood samples were mixed with the target cells (i.e., K562 leukaemia cells) [22–24, 28, 29, 31], while the other half used peripheral blood mononuclear cells (PBMC) [11, 12, 25–27, 30]. The Chromium-51 ( $Cr^{51}$ ) release assay was applied to quantify cytotoxicity in 11 studies [11, 12, 22–26, 28–31], while one study tested for lactate dehydrogenase (LDH) release of the target cells [27]. Moreover, nine studies reported absolute numbers of NK-cell count in response to exercise [11, 12, 22–24, 26, 27, 29, 31]. A summary of the basic characteristics of each study is given in Table 1.

#### 3.2 Meta-analysis of exercise effects

Overall, 12 studies reporting 18 effect sizes were available for the quantitative synthesis. There was a total of 223 participants included in the analysis. The overall Hedges'  $g$  showed a large effect size ( $k = 18$ ,  $g = 1.02$ , 95% CI 0.59–1.46,  $p < 0.01$ ) with large heterogeneity ( $\tau^2 = 0.69$ ,  $p < 0.01$ ,  $I^2 = 91\%$ ). The prediction interval ranged from  $g = -0.79$  to 2.84, meaning that the effect size can substantially vary across settings (Fig. 2).

The visual inspection of the funnel plot suggested asymmetry in the data (Fig. 3). However, this asymmetry was not statistically significant according to Egger's test (slope = 1.35, one-tailed  $p = 0.38$ ). Nevertheless, after



**Fig. 1** Literature search and results

sensitivity analysis two outliers were identified with Cook's Distance larger than 0.45 [20], hence the Moyna study [31] and one out of three effect sizes from the McFarlin study [28] were withdrawn from further analyses.

Rerunning the meta-analysis without outliers revealed a slightly increased effect size ( $k = 16$ ,  $g = 1.08$ , 95% CI 0.69–1.47,  $p < 0.01$ ) and a narrower prediction interval of  $g = -0.49$  to 2.64 (see ESM Figure A) due to lower between-study heterogeneity ( $\tau^2 = 0.50$ ,  $p < 0.01$ ,  $I^2 = 73\%$ ). To further corroborate the results, changes in the experimental and passive control groups were evaluated separately. The effect of physical exercise on NKCA was large and significant in the experimental group ( $k = 16$ ,  $g = 1.59$ , 95% CI 1.14–2.05,  $p < 0.01$ ), whereas no significant deviation was detected in the control groups ( $k = 16$ ,  $g = 0.10$ , 95% CI  $-0.01$  to 0.21,  $p = 0.06$ ), confirming that both conditions worked as expected. The forest plots are available in ESM Figure B and Figure C, respectively.

### 3.3 Moderator Analyses

To better explain the large between-study heterogeneity, a moderator analysis was conducted. Individual-level

moderators (i.e., gender, age), exercise-level moderators (i.e., type, intensity), and a method-level moderator (i.e., type of blood sample) were assessed by subgroups analyses, while meta-regression was applied to examine a confounding effect of NK-cell count.

The effect size was stronger in males ( $k = 10$ ,  $g = 1.29$ , 95% CI 0.72–1.87) than in females ( $k = 6$ ,  $g = 0.72$ , 95% CI 0.18–1.25), however, this difference was not significant ( $\chi^2 = 3.08$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.08$ ). The comparison of young and old subgroups revealed a significant between-subgroup difference ( $\chi^2 = 10.69$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.01$ ) with a large effect size among young participants ( $k = 14$ ,  $g = 1.18$ , 95% CI 0.74–1.61) and a smaller effect size among old participants ( $k = 2$ ,  $g = 0.47$ , 95% CI  $-0.52$  to 1.46). However, this result needs to be considered in caution given that the absolute majority of studies had tested young participants.

On the exercise level, a significant difference ( $\chi^2 = 12.92$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.01$ ) was detected between studies using resistance ( $k = 4$ ,  $g = 0.48$ , 95% CI 0.33–0.63) compared to endurance exercise ( $k = 12$ ,  $g = 1.30$ , 95% CI 0.81–1.78). Moreover, the intensity of exercise played a significant role ( $\chi^2 = 11.21$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0.01$ ) in the sense that high ( $k = 3$ ,  $g = 1.27$ , 95% CI  $-2.39$  to 4.93) and vigorous intensity

**Table 1** Characteristics of the studies included in the systematic review and meta-analysis

Study	Subjects	n	Study design	Physical exercise	Blood draw	Measurement methods
Bouillon [22] (2006)	Seven female triathletes and seven recreational active females, 32.8 ± 4.5 years	14	RCT, cross-over design (exercise, control)	Cycling, 60 min at 60% $VO_{2max}$ (moderate)	Pre, post, recovery (120 min)	Cytotoxicity in %; whole blood, 51Cr release assay, K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
Brenner [11] (1996)	Moderately fit males, 27.1 ± 3.0 years	11	RCT, cross-over design (23 °C-exercise, 23 °C-control, 40 °C-exercise, 40 °C-control)	Cycling, 2 × 30 min at 50% $VO_{2max}$ (moderate)	Pre, post, recovery (180 min)	Cytotoxicity in %; PBMC; 51Cr release assay, K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
Brenner [26] (1999)	Moderately fit males, 24.9 ± 2.3 years	8	RCT, cross-over-design (all-out, endurance, resistance, control)	Cycling/resistance training, 5 min at 90% (high), 20 min at 60% $VO_{2max}$ (moderate), 5 strength exercises at 60% of 1-RM (moderate)	Pre, post, recovery (45 min)	Cytotoxicity in %; PBMC, 51Cr release assay, K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
Flynn [23] (1999)	Healthy females, 72.8 ± 4.2 years	29	RCT, exercise (n = 15) vs. control (n = 14)	Resistance training, 4 strength exercises at 80% of 1-RM (high)	Pre, post, recovery (120 min)	Cytotoxicity in %; whole blood, 51Cr release assay, K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
Gannon [12] (1998)	Recreational active males, 26.3 ± 5.4 years	10	RCT, cross-over design (exercise, naltrexone, control)	Cycling, 120 min at 65% $VO_{2max}$ (vigorous)	Pre, post, recovery (120 min)	Cytotoxicity in %; PBMC, flow cytometric assay, K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
Lee [27] (2005)	Healthy males, 26.5 ± 1.5 years	18	RCT, exercise (n = 9) vs. control (n = 9)	Qi-training, 60 min exercise (light)	Pre, post, recovery (120 min)	Cytotoxicity in %; PBMC, LDH release of K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
McFarlin [28] (2003)	Healthy males, 21.6 ± 4 years	10	RCT, cross-over design (two bouts, AM-only, PM-only, control)	Cycling, 3 × 20 min at 70% $VO_{2max}$ with each segment initially 5 min at 50% $VO_{2max}$ (vigorous)	Pre, post, recovery (120 min)	Cytotoxicity in %; whole blood, 51Cr release assay, K562 cells; NKCA
McFarlin [24] (2005)	Postmenopausal females, 72.1 ± 6.4 years	25	CT, exercise (n = 19) vs. control (n = 6)	Resistance exercise, 9 strength exercises at 80% of 1-RM (high)	Pre, post, recovery (120 min)	Cytotoxicity in %; whole blood, 51Cr release assay; K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
Miles [29] (2002)	Male runners, 31.2 ± 7.1 years	10	RCT, exercise (n = 6) vs. control (n = 4)	Running, 60 min treadmill at 80% $VO_{2max}$ (vigorous)	Pre, post, recovery (90 min)	Lytic index; whole blood, 51Cr release assay, K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
Moyna [31] (1996)	Healthy males and females, 24.1 ± 2.8 years	64	RCT, exercise (n = 32) vs. control (n = 32)	Cycling, 18 min in total with 6 min at 55% $VO_{2peak}$ , 6 min at 70%, 6 min at 85% (vigorous)	Pre, post, recovery (120 min)	Lytic units; whole blood, 51Cr release assay, K562 cells; NKCA, NK-cell count (via flow cytometry)
Palmo [30] (1995)	Non-trained males, 20–29 years	16	CT, exercise (n = 8) vs. control (n = 8)	Eccentric exercise, 4 × 5 min one-legged exercise (moderate)	Pre, post, recovery (240 min)	Cytotoxicity in %; PBMC, 51Cr release assay; K562 cells; NKCA

Table 1 (continued)

Study	Subjects	<i>n</i>	Study design	Physical exercise	Blood draw	Measurement methods
Strasner (1997) [25]	Healthy females, 24.8 ± 3.9 years	8	RCT, cross-over design (vigorous, light, control)	Cycling, 25 min at 80% VO <sub>2max</sub> (vigorous), 25 min at 40% VO <sub>2max</sub> (light)	Pre, post, recovery (90 min)	Cytotoxicity in %; PBMC, 51Cr release assay, K562 cells; NKCA

( $k = 5$ ,  $g = 1.41$ , 95% CI 0.76–2.06) led to larger effect sizes than moderate ( $k = 6$ ,  $g = 1.01$ , 95% CI 0.37–1.65) and light exercise intensity ( $k = 2$ ,  $g = 0.48$ , 95% CI –1.68 to 2.64).

On the methodological level, no significant difference ( $\chi^2 = 0.14$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.71$ ) was found for the type of blood sample used in the NKCA assay with whole blood ( $k = 7$ ,  $g = 1.01$ , 95% CI 0.45–1.56) compared to PBMC ( $k = 9$ ,  $g = 1.14$ , 95% CI 0.46–1.83).

Finally, it was tested if the effect of physical exercise on NKCA covaried with the number of NK-cells in the peripheral blood. Based on 9 studies reporting 11 effect sizes of NK-cell count along with NKCA values, a meta-regression was applied which did not reveal a significant confounding effect ( $k = 11$ ,  $\beta = 0.123$ ,  $R^2 = 0\%$ ,  $p = 0.55$ ). Thus, NK-cell count could not explain the between-study heterogeneity. The relationship between the effect size and the NK-cell count is displayed on the bubble plot in ESM Figure D.

### 3.4 Meta-analysis of recovery effects

Next, the effect of physical exercise on NKCA after a recovery period was examined. By comparing the pre-exercise NKCA values with the recovery NKCA values in both the exercise and control groups a moderate negative effect size was discovered ( $k = 16$ ,  $g = -0.51$ , 95% CI –0.86 to –0.16,  $p < 0.01$ ). The prediction interval ranged from a huge negative to a large positive effect size ( $g = -1.85$  to 0.83), meaning that the effect size can still substantially vary across settings. As shown in Fig. 4, large between-study heterogeneity ( $\tau^2 = 0.36$ ,  $p < 0.01$ ,  $I^2 = 76\%$ ) became evident.

Finally, the exercise and control groups were analysed separately. Within the exercise groups, no evidence was found for NKCA alterations subsequent to the recovery period ( $k = 16$ ,  $g = 0.06$ , 95% CI –0.37 to 0.50,  $p = 0.76$ ; see ESM Figure E). In the control groups, however, the effect size was significant and moderately positive ( $k = 16$ ,  $g = 0.66$ , 95% CI 0.43–0.89,  $p < 0.01$ ), while the between-study heterogeneity was small and insignificant ( $\tau^2 = 0.02$ ,  $I^2 = 37\%$ ,  $p = 0.07$ ). In other words, physical exercise did not significantly decrease the NKCA after the recovery period in the experimental groups, but the relative comparison with the elevated NKCA levels in the control groups suggested a negative overall effect. Figure 5 presents the forest plot for the control groups.

It can be assumed that the effect on NKCA was altered by the recovery period which varied considerably in length between the studies. Therefore, meta-regression models were run to analyse the impact of the recovery time in the overall sample ( $k = 16$ ,  $\beta = 0.00$ ,  $R^2 = 0\%$ ,  $p = 0.898$ ), exercise groups only ( $k = 16$ ,  $\beta = 0.001$ ,  $R^2 = 0\%$ ,  $p = 0.810$ ), and control groups only ( $k = 16$ ,  $\beta = 0.002$ ,  $R^2 = 0\%$ ,  $p = 0.372$ ). All three meta-regression models turned out to be insignificant, that is, the duration of the recovery period

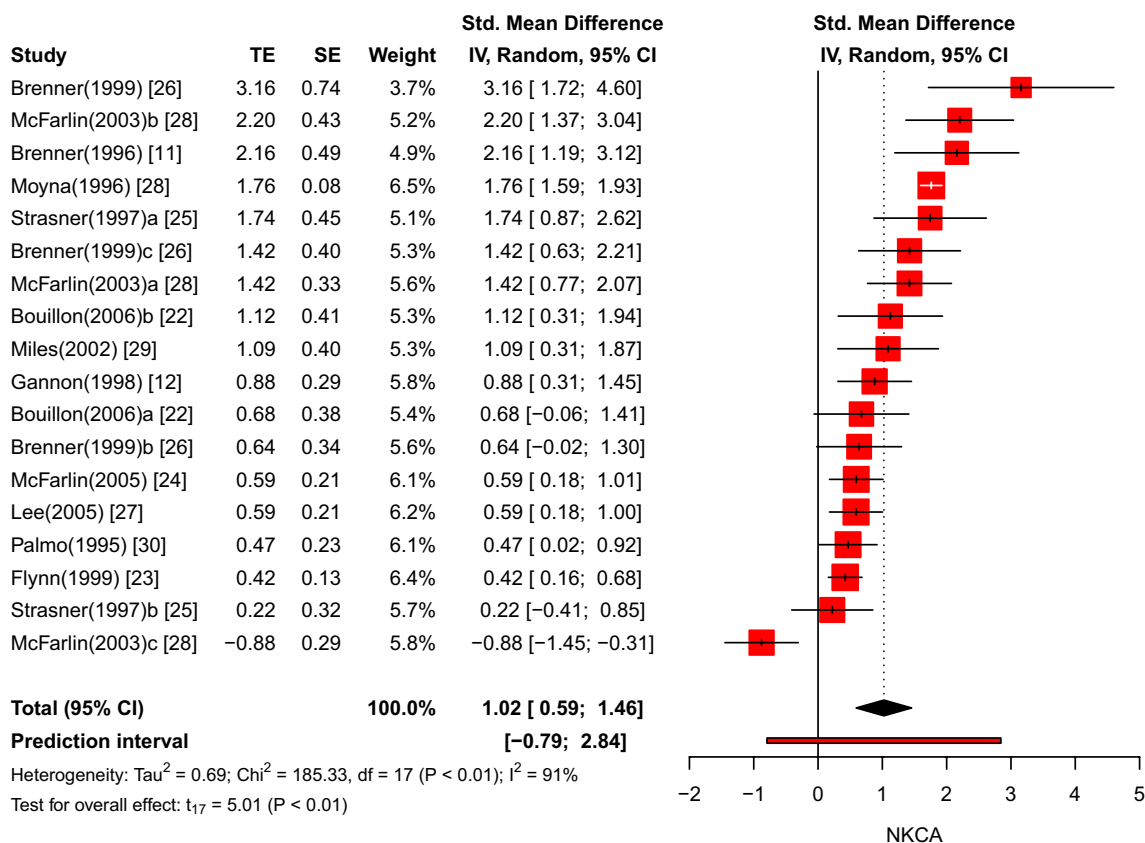


Fig. 2 Forest plot of NKCA results (exercise versus control group) immediately after physical exercise (pre versus post)

did not impact the NKCA values, and thus, could not explain between-study heterogeneity.

## 4 Discussion

This review contributes to the literature as it (a) provides systematic evidence for the positive effect of acute exercise on NKCA, (2) sheds more light on the moderating factors, and (3) contradicts with the widespread assumption of NKCA suppression in the hours after the exercise. These findings are important as they may contribute to evidence-based strategies for the prevention and treatment of virus infections and cancer.

The meta-analysis provides solid evidence for elevated NKCA through performing sports activities which was previously suggested by Zimmer et al. on basis of a systematic review [5]. A large impact on NKCA becomes evident for the comparison of the exercise groups with the control groups, and for the separate analysis of the exercise groups. There is a large dispersion of effect sizes between the studies which can be partly explained by individual factors, such as sex and age, and exercise-related factors, such as type and intensity. On the contrary, the biomaterial used in the

assay (whole blood, PBMC) and the mobilization of NK-cells into the peripheral blood do not significantly explain heterogeneity.

In regards of the individual factors this study potentially suggests a trend towards males being more sensitive to physical exercise in terms of NKCA elevation. So far, investigations on the effect of gender on NKCA are missing. As stated by Klein and Flanagan [33], differences between both genders exist (e.g., higher NK-cell numbers in males) and hormonal differences could be an explanation. Furthermore, age is indicated as an individual factor affecting NKCA. Positive effects of exercise seem to be more evident among younger people which could be explained by a decreased immune response in aged individuals, so called immunosenescence [34]. However, more systematic studies are needed to draw meaningful conclusions since most experiments to date focus on younger adults.

Besides individual factors, clearer implications can be drawn regarding exercise-related factors. Endurance training boosts the NKCA level more effectively than resistance training. This is in line with previous results showing stronger alterations by endurance exercise [35–37]. Furthermore, and in line with a previous meta-analysis [7], more intense forms of exercise cause a higher impact on NKCA.

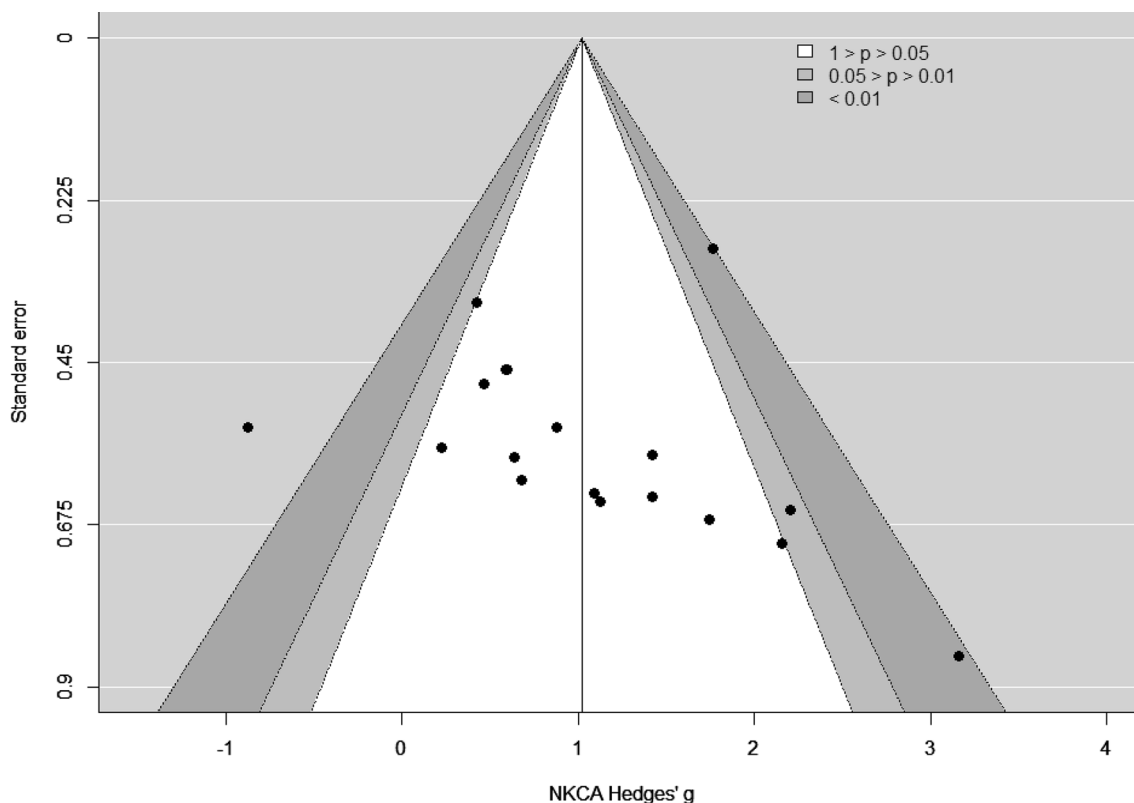


Fig. 3 Funnel plot of NKCA results (exercise versus control group) immediately after physical exercise (pre versus post)

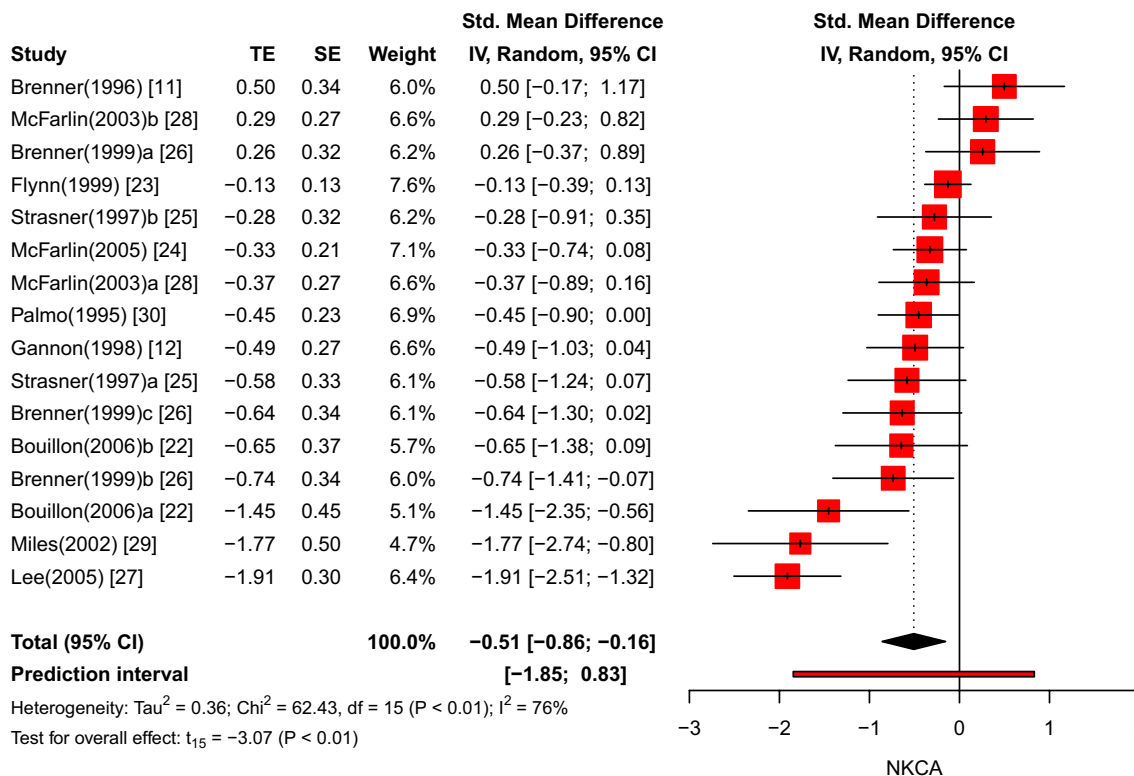


Fig. 4 Forest plot of NKCA results (exercise versus control group) after recovery period (pre versus recovery)

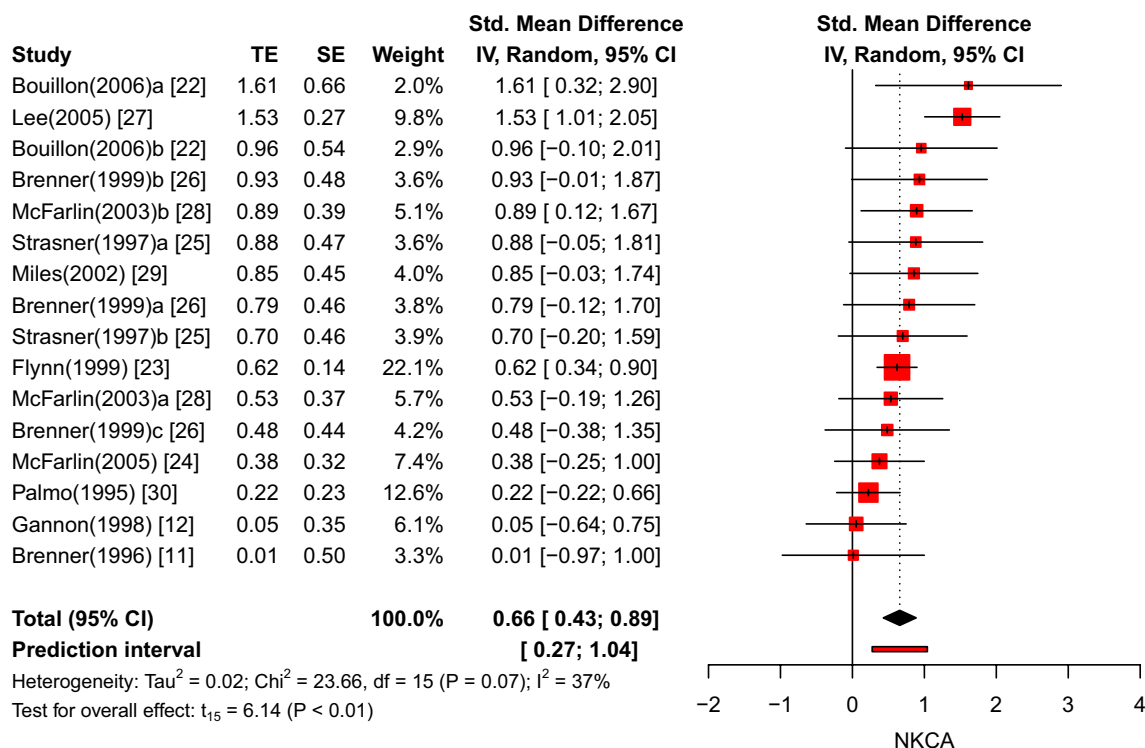


Fig. 5 Forest plot of NKCA results in the control groups after recovery period (pre versus recovery)

From a methodological perspective, the different blood sampling approaches used in NKCA research have been assumed to jeopardize the comparability of study results [5]. As outlined in this systematic review, cytotoxicity assays have been either performed by mixing whole blood samples or PBMC with the target cells. While whole blood sample approaches might reflect the *in vivo* situation more precisely, PBMC approaches might better control for cytokines and hormones which also influence the integrity of target cells. The subgroup analysis finds no significant difference between the use of whole blood and PBMC approaches, thus the results reduce the widespread methodological concern. Nevertheless, combining different biomaterial such as whole blood, PBMCs or isolated NK-cells, and different measurement methods such as  $\text{Cr}^{51}$  release assay or flow cytometry-based measurements, would provide more understanding about the influence of methodological aspects. Particularly with regards to the use of radioactive material in the  $\text{Cr}^{51}$  release assay, it is necessary to identify reliable methods without radioactive or toxic substances for a safe measurement of cytotoxicity.

Another critical issue discussed in the literature relates to the confounding effect of NK-cell mobilization. Since NK-cell counts vary significantly in response to physical activity, it has been assumed that the sport induced elevation of NKCA might simply be due to an absolute and/or proportional increase in NK-cell numbers [7]. The meta-analytical

results provide counterevidence to this assumption. Hence, it should be proceeded from the assumption that the functional change in NKCA exists independently from the quantitative change in NK-cell number. However, this interesting finding needs more research attention, particularly with regards to the distribution of NK-cell subsets which were not considered in this analysis due to a lack of more sophisticated raw data. More precisely,  $\text{CD56}^{\text{dim}}$  NK-cells have a different cytolytic capacity compared to  $\text{CD56}^{\text{bright}}$  NK-cells, and thus, a changing proportion could still be associated with an alteration in NKCA. Unfortunately, most of the included studies did not provide information of changes in NK-cell subsets. Therefore, it remains unclear whether or not changes in NKCA could be due to changes in NK-cell subsets.

A previous review has reported negative changes in NKCA in the hours after performing sports which can be prolonged for up to 24 h [7]. This is relevant as a decreased immune function provides an 'open window' for opportunistic infections. Interestingly, this meta-analysis provides counterevidence to this assumption. In the exercise groups, the elevated NKCA values return to baseline during the first 1–2 h of recovery, but not below the pre-exercise values. In the control groups, however, a significant gain in NKCA becomes evident. This unexpected finding raises questions about the blood sample management during the experiments. Possibly, the NKCA assays were not conducted immediately



after the blood draw, and thus, biochemical processes might have taken place in the meantime.

It remains speculative why NKCA was elevated in the control groups over the course of the experiments. More importantly, this finding provides an explanation for the prevailing opinion that NKCA is suppressed in the hours after the exercise. This conclusion seems to be based on a statistical artefact since the control groups serve as a baseline measure and the NKCA outcomes shift for some unknown reasons. Systematic research is needed to investigate this phenomenon.

The results of the presented meta-analysis should be considered under its limitations. First, only 12 studies were included in the meta-analysis due to the inclusion criteria providing a meaningful data base. Nevertheless, these studies are still heterogeneous regarding their exercise regimens and the measurement of NKCA. These differences were systematically addressed in the meta-analysis, however, in some cases skewed data (e.g., age subgroup analysis) produced underpowered results. Noteworthy, the most recent study meeting the inclusion criteria was published in 2006. Since then, several studies addressed quite specific research questions such as the role of carbohydrate consumption [38], latent virus infection [39] or hypoxia [40] in the context of acute physical exercise and NKCA. Given the essential literature gaps outlined above, this study could once again inspire more fundamental research hypotheses in the field of exercise immunology and sports medicine.

## 5 Conclusion

In conclusion, this work represents an important next step towards a deeper understanding of NKCA in response to physical exercise by identifying the effect size across studies and controlling for the confounding effect of NK-cell mobilization. Whereas the study provides a more coherent picture of the impact of sports on NKCA, future investigations will be required to better explain the moderating factors in play. Of particular importance will be research explaining interindividual heterogeneity as a basis for the development of tailored exercise strategies to supplement with personalized medicine. In addition, the effect of sports on NKCA should be studied in patients suffering from specific cancer types to analyse in how far physical exercise can improve the outcome of immunotherapies.

**Author contributions** CR, SP, AS, FJ, and PZ contributed to the conception of the study and to the development of the search strategy. CR and SP conducted the systematic search and completed the acquisition of data. FJ and AL performed the data analysis. CR took the lead in writing the manuscript. All authors discussed the results and contributed to the final manuscript.

## Declarations

**Funding** This research was conducted in the absence of any external funding. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

**Conflict of interest** Christopher Rumpf (CR), Sebastian Proschinger (SP), Alexander Schenk (AS), Wilhelm Bloch (WB), Amit Lampit (AL), Florian Javelle (FJ), and Philipp Zimmer (PZ) declare that they have no conflicts of interest.

**Ethics approval** According to the PRISMA guidelines, ethical approval is not required in systematic reviews.

**Availability of data and material** Data are available on request from the authors.

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

## References

1. de Armas LR, Podack ER. Natural killer cytolytic activity. In: Lotze MT, Thomson AW, editors. Natural killer cells—basic science and clinical applications. London: Elsevier Science; 2009. p. 215–27.
2. Spicer BA, Conroy PJ, Law RHP, et al. Perforin-A key (shaped) weapon in the immunological arsenal. *Semin Cell Dev Biol.* 2017;72:117–23.
3. Smyth MJ, Cretney E, Kelly JM, et al. Activation of NK cell cytotoxicity. *Mol Immunol.* 2005;42:501–10.
4. Caligiuri MA. Human natural killer cells. *Blood.* 2008;112:461–9.
5. Zimmer P, Schenk A, Kieven M, et al. Exercise induced alterations in NK-cell cytotoxicity—methodological issues and future perspectives. *Exerc Immunol Rev.* 2017;23:66–81.
6. Nagatomi R, Kaifu T, Okutsu M, et al. Modulation of the immune system by the autonomic nervous system and its implication in immunological changes after training. *Exerc Immunol Rev.* 2000;6:54–74.
7. Shephard RJ, Shek PN. Effects of exercise and training on natural killer cell counts and cytolytic activity: a meta-analysis. *Sports Med.* 1999;28:177–95.
8. Kakanis MW, Peake J, Brenu EW, et al. The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exerc Immunol Rev.* 2010;16:119–37.
9. Campbell JP, Turner JE. Debunking the myth of exercise-induced immune suppression: redefining the impact of exercise on immunological health across the lifespan. *Front Immunol.* 2018;9:648.
10. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* 2009;6:e1000097.

11. Brenner IK, Severs YD, Shek PN, et al. Impact of heat exposure and moderate, intermittent exercise on cytolytic cells. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1996;74:162–71.
12. Gannon GA, Rhind SG, Suzui M, et al. Beta-endorphin and natural killer cell cytolytic activity during prolonged exercise. Is there a connection? *Am J Physiol*. 1998;275:1725–34.
13. Physiotherapy Evidence Database. PEDro Scale. <https://www.pedro.org.au/english/downloads/pedro-scale/>. Accessed 12 Dec 2019.
14. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Rev. Hillsdale: Lawrence Erlbaum; 1977.
15. Hedges LV, Olkin I. *Statistical methods for meta-analysis*. New York: Academic Press; 1985.
16. Riley RD, Higgins JPT, Deeks JJ. Interpretation of random effects meta-analyses. *BMJ*. 2011;342:d549.
17. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*. 2003;327:557–60.
18. Duval S, Tweedie R. Trim and fill: a simple funnel-plot-based method of testing and adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics*. 2000;56:455–63.
19. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, et al. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*. 1997;315:629–34.
20. Viechtbauer W, Cheung MW-L. Outlier and influence diagnostics for meta-analysis. *Res Synth Methods*. 2010;1:112–25.
21. Borenstein M, Higgins JPT. Meta-analysis and subgroups. *Prev Sci*. 2013;14:134–43.
22. Bouillon LE, Flynn MG, Lambert CP, et al. Exercise during late-follicular menstrual phase: influence on immune parameters. *J Sports Med Phys Fit*. 2006;46:143–51.
23. Flynn MG, Fahlman M, Braun WA, et al. Effects of resistance training on selected indexes of immune function in elderly women. *J Appl Physiol*. 1999;86:1905–13.
24. McFarlin BK, Flynn MG, Phillips MD, et al. Chronic resistance exercise training improves natural killer cell activity in older women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005;60:1315–8.
25. Strasner A, Davis JM, Kohut ML, et al. Effects of exercise intensity on natural killer cell activity in women. *Int J Sports Med*. 1997;18:56–61.
26. Brenner IK, Natale VM, Vasiliou P, et al. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1999;80:452–60.
27. Lee M, Kang C-W, Ryu H. Acute effect of qi-training on natural killer cell subsets and cytotoxic activity. *Int J Neurosci*. 2005;115:285–97.
28. McFarlin B, Mitchell J, McFarlin M, et al. Repeated endurance exercise affects leukocyte number but not NK cell activity. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35:1130–8.
29. Miles MP, Mackinnon LT, Grove DS, et al. The relationship of natural killer cell counts, perforin mRNA and CD2 expression to post-exercise natural killer cell activity in humans. *Acta Physiol Scand*. 2002;174:317–25.
30. Palmo J, Asp S, Dugaard JR, et al. Effect of eccentric exercise on natural killer cell activity. *J Appl Physiol*. 1995;78:1442–6.
31. Moyna NM, Acker GR, Weber KM, et al. Exercise-induced alterations in natural killer cell number and function. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1996;74:227–33.
32. Norton K, Norton L, Sadgrove D. Position statement on physical activity and exercise intensity terminology. *J Sci Med Sport*. 2010;13:496–502.
33. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:626–38.
34. Duggal NA, Niemi G, Harridge SDR, et al. Can physical activity ameliorate immunosenescence and thereby reduce age-related multi-morbidity? *Nat Rev Immunol*. 2019;19:563–72.
35. Joisten N, Kummerhoff F, Koliymitra C, et al. Exercise and the Kynurenine pathway: current state of knowledge and results from a randomized cross-over study comparing acute effects of endurance and resistance training. *Exerc Immunol Rev*. 2020;26:24–42.
36. Natale VM, Brenner IK, Moldoveanu AI, et al. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. *Sao Paulo Med J*. 2003;121:9–14.
37. Schlagheck ML, Walzik D, Joisten N, et al. Cellular immune response to acute exercise: Comparison of endurance and resistance exercise. *Eur J Haematol*. 2020;105:75–84.
38. Wentz LM, Nieman DC, McBride JE, et al. Carbohydrate intake does not counter the post-exercise decrease in natural killer cell cytotoxicity. *Nutrients*. 2018. <https://doi.org/10.3390/nu10111658>.
39. Bigley AB, Rezvani K, Pistillo M, et al. Acute exercise preferentially redeploys NK-cells with a highly-differentiated phenotype and augments cytotoxicity against lymphoma and multiple myeloma target cells. Part II: impact of latent cytomegalovirus infection and catecholamine sensitivity. *Brain Behav Immun*. 2015;49:59–65.
40. Wang JS, Wu CK. Systemic hypoxia affects exercise-mediated antitumor cytotoxicity of natural killer cells. *J Appl Physiol*. 2009;107:1817–24.



## 4. Diskussion

In diesem abschließenden Kapitel werden die zentralen Studienergebnisse zusammengefasst, Schlussfolgerungen gezogen und der Beitrag für die Sportmedizin diskutiert. Anschließend werden die Limitationen der Arbeit kritisch reflektiert und ein Ausblick auf anknüpfende Forschungsthemen gegeben, bevor ein abschließendes Fazit gezogen wird.

### 4.1 Diskussion der Studienergebnisse

Im Folgenden werden die wichtigsten Erkenntnisse der Arbeit diskutiert und in den aktuellen Forschungsstand integriert. Dabei folgt die Struktur den in Kapitel 2.4 formulierten Forschungsfragen. Die erste Forschungsfrage behandelt die generelle Wirkung akuter körperlicher Belastung auf die NKCA:

*(1) Wie und wie stark wirkt sich akute körperliche Belastung auf die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen aus?*

Die metaanalytische Auswertung bietet statistische Evidenz für eine Erhöhung der NKCA unmittelbar nach einer sportlichen Aktivität. Auch wenn keine Messwerte unmittelbar während des Sporttreibens zur Verfügung stehen, ist anzunehmen, dass die NKCA bereits unter körperlicher Belastung ansteigt. Nachdem eine Metaanalyse von Shephard et al.<sup>24</sup> vor mehr als zwanzig Jahren zu widersprüchlichen Ergebnissen bezüglich sportinduzierter NKCA-Veränderungen kam, beweist die vorliegende Arbeit erstmals studienübergreifend einen großen und positiven Effekt von Sport auf die NKCA. Der dargestellte Effekt bestätigt sich sowohl für den Vergleich zwischen den Trainings- und Kontrollgruppen als auch für den isolierten Vorher-Nachher-Vergleich innerhalb der Trainingsgruppen.

Dieser Erkenntnisgewinn liefert einen weiteren Baustein zur Erklärung der protektiven Wirkung von Sport hinsichtlich der Entstehung von Krebserkrankungen. Mittlerweile wurde in groß angelegten Kohortenstudien gezeigt, dass Sport zum Schutz vor einer Vielzahl von Krebsentitäten beiträgt, darunter Neoplasien mit schlechter Prognose wie das Bronchial- oder das Ösophaguskarzinom<sup>25</sup>. Darüber hinaus wird körperliche Bewegung mit einer verlangsamten Tumorprogression assoziiert<sup>26</sup>. Vieles deutet daraufhin, dass NK-Zellen hierbei eine ausschlaggebende Rolle spielen<sup>17</sup>. Das im Rahmen dieser Arbeit generierte Wissen über die starke positive Wirkung von Sport auf die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen in Verbindung mit dem Wissen über eine erhöhte Tumorperfusion und Transmigration von NK-Zellen ins Tumorgewebe<sup>6</sup> unterstützt die Verankerung von Sport als Bestandteil der antitumoralen Therapie.

Es ist allerdings festzuhalten, dass die Effektstärke von Sport auf die NKCA zwischen den Studien erheblich variiert und bislang wenig darüber bekannt ist, inwiefern zusätzliche

Faktoren die Wirkung von Sport beeinflussen. Angesichts dieser Forschungslücke betrifft die zweite Forschungsfrage die Rolle von Moderationseffekten:

(2) *Welche Moderationseffekte beeinflussen den Zusammenhang zwischen akuter körperlicher Belastung und der zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen?*

Insgesamt zeigt sich, dass die Wirkung von Sport auf die NKCA durch individuelle Faktoren wie das Alter und belastungsabhängige Faktoren wie die Intensität beeinflusst wird. Demgegenüber spielt das verwendete Ausgangsmaterial in den Zytotoxizitätsassays keine signifikante Rolle. Auch die durch Sport hervorgerufene Mobilisierung von NK-Zellen kann die Abweichungen der Effektstärken zwischen den Studien nicht erklären.

In Bezug auf die individuellen Faktoren zeigen die Studienergebnisse, dass das Alter für den Effekt auf die NKCA eine moderierende Rolle spielt. Passend zum Konzept der Immunoseneszenz<sup>13,14</sup> zeigt die Subgruppenanalyse, dass die Effekte in jungen Altersgruppen größer ausfallen als bei älteren Probandengruppen. Allerdings ist kritisch anzumerken, dass die meisten Studien jüngere Probanden rekrutieren und es folglich zu einer schiefen Verteilung der Metadaten kommt. Des Weiteren werden in den Studien mit älteren Probanden eher moderate Interventionen gewählt, weshalb eine eindeutige Unterscheidung zwischen den Moderationsfaktoren Alter und Belastungsintensität nicht ohne weiteres möglich ist.

Für den Faktor Geschlecht ergibt sich zwar kein signifikanter Gruppenunterschied, dennoch zeigen die Daten eine Tendenz zugunsten eines stärkeren Effekts bei Männern. Auch wenn zum möglichen Einfluss des Geschlechts auf die NKCA bislang keine empirischen Daten vorliegen, werden in der Literatur hormonelle Unterschiede als Erklärungsansatz für eine etwas schwächere Immunantwort bei Frauen diskutiert<sup>27</sup>.

Ein klareres Bild ergibt sich hinsichtlich der Rolle der belastungsbezogenen Moderationsfaktoren. So zeigt der Vergleich zwischen Ausdauer- und Krafttraining einen signifikanten Unterschied zugunsten des Ausdauersports. In Übereinstimmung mit mehreren Studien zum Effekt von Sport auf die generelle Immunregulation<sup>28,29,30</sup> zeigt die vorliegende Arbeit, dass Ausdauersport einen größeren Effekt auf die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen hervorruft als Kraftsport. Gleichzeitig lassen die Ergebnisse den Schluss zu, dass die NKCA mit der Belastungsintensität ansteigt. Dieses Ergebnis liefert Hinweise für die optimierte Trainingssteuerung im Rahmen der Bewegungstherapie. Demnach erscheint es sinnvoll, Trainingseinheiten kurz und intensiv zu gestalten, um ein hohes Maß an zytotoxischer Aktivität zu gewährleisten.

Zusätzlich greift die vorliegende Arbeit einen häufig formulierten Kritikpunkt an der uneinheitlichen Forschungsmethodik auf<sup>8</sup>, indem mögliche Ergebnisverzerrungen durch das verwendete Ausgangsmaterial untersucht werden. In den gängigen Zytotoxizitätsassays werden Vollblut oder PBMC eingesetzt, um die NKCA gegenüber den Zielzellen zu bestimmen.

Auf theoretischer Ebene wurde hierzu diskutiert, dass Vollblut in Zytotoxizitätsassays die physiologischen Gegebenheiten besser abbilden könnte, während PBMC eine bessere Kontrolle konfundierender Effekte durch Zytokine und Hormone ermögliche<sup>8</sup>.

Da aber bislang keine gesicherten Erkenntnisse vorlagen, war die Vergleichbarkeit von Studienergebnissen, die auf unterschiedlichen Ausgangsmaterialien beruhten, mit Unsicherheit behaftet. Die Studienergebnisse zeigen nun deutlich, dass die Vergleichbarkeit unabhängig vom eingesetzten Ausgangsmaterial gegeben ist und damit die weitverbreiteten Bedenken methodisch bedingter Ergebnisverzerrungen entkräftet werden. Dennoch erscheint es ratsam, die beiden Ausgangsmaterialien Vollblut und PBMC vergleichend im Rahmen einer experimentellen Studie zu untersuchen, um ein tiefergreifendes methodisches Verständnis zu erlangen.

Es hält sich in der sportimmunologischen Literatur weiterhin die Annahme, dass eine Veränderung der zytotoxischen Aktivität indirekt durch eine veränderte Anzahl an NK-Zellen im peripheren Blut zu Stande kommt<sup>24</sup>. Das Ergebnis der Metaregressionsanalyse widerspricht nun dieser Annahme, da sie keine Kovarianz der Anzahl an NK-Zellen und der NKCA-Veränderung zeigt. Demzufolge ist davon auszugehen, dass die sportinduzierte Mobilisation und die Aktivitätssteigerung von NK-Zellen parallel ablaufende, aber unabhängige Prozesse darstellen. Diese Erkenntnis ist von großer wissenschaftlicher Bedeutung und bietet Anknüpfungspunkte für weiterführende Untersuchungen. Insbesondere die Berücksichtigung der spezifischen Untergruppen (CD56<sup>dim</sup>, CD56<sup>bright</sup>) und deren relative Verteilung nach sportlicher Belastung sind von besonderem Interesse, da CD56<sup>dim</sup>-NK-Zellen eine erhöhte zytotoxische Funktion aufweisen. In der vorliegenden Auswertung konnten aufgrund fehlender Informationen zu den Oberflächenmerkmalen nur die gesamten Zellzahlen, nicht aber die relative Verteilung berücksichtigt werden.

Die dritte Forschungsfrage behandelt eine mögliche Abschwächung der zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen während der Erholungsphase:

*(3) Wie wirkt sich akute körperliche Belastung auf die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen in den ersten Stunden der Erholungsphase aus?*

Nachdem Shephard et al.<sup>24</sup> in ihrer Metaanalyse abgesenkte NKCA-Werte in der Erholungsphase festgestellt hatten, schlussfolgerten die Autoren, dass insbesondere Leistungssportler einer erhöhten Infektanfälligkeit ausgesetzt seien. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit widersprechen dieser Annahme. Zwar fallen die NKCA-Werte in den Trainingsgruppen innerhalb der ersten zwei Stunden nach Belastung ab, allerdings nicht unter das Ausgangsniveau. Interessanterweise steigt im selben Zeitraum die zytotoxische Aktivität der NK-Zellen in den Kontrollgruppen an. Dieser Sachverhalt könnte darauf hindeuten, dass es in den Studien zu einer verzögerten Auswertung von Blutproben gekommen ist und in der Zwischenzeit biochemische Prozesse zu einem Zellerfall geführt haben könnten.

Auch wenn diese Annahme rein spekulativ ist, liefert der unerwartete Befund in den Kontrollgruppen eine plausible Erklärung für die weitverbreitete These, dass es nach sportlicher Belastung zu einer Abnahme der NKCA kommt. Es darf angenommen werden, dass es in vielen Studien zu statistischen Artefakten kam, als man die erhöhten Werte der Kontrollgruppen als Referenz für die Messung der NKCA-Veränderung heranzog. Auch wenn dieses Phänomen einer genaueren Untersuchung bedarf, ist festzuhalten, dass sich in den studienübergreifenden Daten kein immunsupprimierender Effekt von Sport auf die NKCA nachweisen lässt. Damit verstärkt die vorliegende Arbeit die Zweifel an der Plausibilität der „Open Window“-Theorie <sup>13</sup>.

## **4.2 Limitationen**

Auch wenn diese Arbeit wichtige Erkenntnisse zur Wirkung von Sport auf die NKCA liefert, ist sie nicht frei von Schwachpunkten. Zum einen wurde mit zwölf eingeschlossenen Studien eine eher kleine Datenbasis für die Metaanalyse generiert, weshalb die Gefahr statistischer Fehler bei der Würdigung der Ergebnisse zu berücksichtigen sind.

Bei der Studienauswahl wurde Wert darauf gelegt, die Einschlusskriterien eng zu definieren, um die Vergleichbarkeit der Daten zu gewährleisten. Dennoch bilden die eingeschlossenen Studien noch eine beachtliche Bandbreite an unterschiedlichen Probandenkollektiven und Interventionsformen ab. Diese Unterschiede konnten mit Hilfe der Moderationsanalyse zwar systematisch untersucht werden, aufgrund der geringen Studienanzahl kam es aber dennoch zu Verzerrungen, zum Beispiel bei der Auswertung nach Altersgruppen.

Aufgrund der geringen Studienanzahl wurden in der Moderationsanalyse ausschließlich bivariate Zusammenhänge untersucht. Tatsächlich erscheint es aber plausibel, dass Interaktionseffekte zwischen den Moderationsfaktoren (z.B. Alter und Belastungsintensität) eintreten, die nur mit Hilfe multivariater Verfahren identifiziert werden können.

Schließlich erscheint es berichtenswert, dass die meisten Studien über zwanzig Jahre alt sind und die jüngste eingeschlossene Studie aus dem Jahr 2006 stammt. Zwar wurde seitdem eine große Anzahl an wissenschaftlichen Aufsätzen zum Thema veröffentlicht, allerdings bieten diese Studien nicht die notwendige Vergleichbarkeit aufgrund von spezifischen experimentellen Bedingungen (z.B. gezielte Zufuhr von Kohlenhydraten <sup>31</sup>, Nachweis latenter Virusinfektion <sup>32</sup> oder Training unter Hypoxie <sup>33</sup>).

## **4.3 Ausblick**

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Verständnis für sportinduzierte Veränderungen der Zytotoxizität von NK-Zellen signifikant erweitert. Nichtsdestotrotz besteht weiterer Forschungsbedarf unter anderem in Bezug auf (1) die chronischen Effekte von Sport, (2) die Redistribution von NK-Zellen im Gewebe, (3) die geeignete Auswahl von Zielzellen (4) die möglichen Mediatoren und (5) epigenetische Anpassungen durch Sport.

Während in der vorliegenden Arbeit ausschließlich akute Effekte berücksichtigt wurden, bietet es sich an, in anknüpfenden Studien die chronischen Auswirkungen von Sport auf die NKCA metaanalytisch zu untersuchen. In einer systematischen Übersichtsarbeit von Zimmer et al.<sup>8</sup> wurde die Annahme aufgestellt, dass regelmäßiger Sport zu reduzierten Glucocorticoidspiegeln führt und dadurch die NKCA nachhaltig erhöhen könnte. Allerdings bedarf es statistischer Mittel, um diesen chronischen Trainingseffekt unter Berücksichtigung möglicher Moderationsfaktoren zu beweisen.

Um ein besseres Verständnis für die Wirkungsmechanismen von sportlichen Interventionen bei Krebserkrankungen zu erlangen, sollten zukünftige Studien die Redistribution von NK-Zellen nach körperlicher Bewegung genauer untersuchen. Es gibt Hinweise darauf, dass Interleukin-6 die Infiltration von NK-Zellen ins Tumorgewebe begünstigt und dadurch die Prognose von Tumorpatienten verbessert<sup>17</sup>. Vor diesem Hintergrund gilt es genauer zu erforschen, wie sich NK-Zellen während und nach sportlicher Belastung in unterschiedliche Gewebe verteilen.

Ein weiteres Thema von wissenschaftlicher Relevanz betrifft die Auswahl der Zielzellen für den Zytotoxizitätstest (i.d.R. Chromium<sup>51</sup>-Freisetzungstest). In den meisten Fällen wird die Leukämiezelllinie K562 verwendet, um in vitro die NKCA zu bestimmen. Da erste Studien darauf hindeuten, dass die Höhe der NKCA von der Art der Zielzelle abhängt, erscheint es sinnvoll, insbesondere in klinischen Studien spezifische Zielzellen (z.B. Brustkrebszelle zur NKCA-Bestimmung bei Brustkrebspatientinnen) einzusetzen<sup>8</sup>.

Es wird davon ausgegangen, dass Stresshormone wie Katecholamine und Glukokortikoide als Mediatoren zwischen Sport und der NKCA fungieren<sup>8</sup>. Vor diesem Hintergrund erscheint es wichtig, die komplexe Kinetik dieser Hormone während und nach verschiedenen Sportinterventionen gezielt zu untersuchen und deren Einfluss auf die NKCA zu bestimmen. Auch auf molekularer Ebene sind noch viele Fragen offen, beispielsweise zur epigenetischen Regulation der NKCA durch Sport. In einer experimentellen Studie konnte kürzlich gezeigt werden, dass es nach akuter körperlicher Belastung zu einer genomweiten DNA-Methylierung kommt<sup>34</sup>. Hieran anknüpfende Forschung sollte untersuchen, welche Rolle diese Modifikationen für die Zellregulation haben und welche Auswirkungen sich auf die NKCA ergeben.

#### **4.4 Fazit**

Die vorliegende Arbeit bietet einen relevanten Erkenntnisgewinn zur Wirkung von Sport auf die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen. So liefern die Ergebnisse einen weiteren Baustein zur Erklärung der protektiven Wirkung von Sport und tragen zur Weiterentwicklung adjuvanter Bewegungsinterventionen im Sinne der evidenzbasierten Medizin bei. Konkrete Implikationen für die Bewegungstherapie wurden aus den Ergebnissen abgeleitet. Für den Leistungssport

ergibt sich die wichtige Erkenntnis, dass die zytotoxische Aktivität der NK-Zellen in der Erholungsphase nicht signifikant abnimmt. Da die NKCA eine zentrale Abwehrfunktion gegen pathogene Keime im Respirationstrakt erfüllt, lassen sich hieraus Schlüsse für die Trainingsplanung ziehen. Für die Sportimmunologie ist insbesondere die systematische Berücksichtigung von Moderationseffekten von Interesse. Daneben zeigt die Studie eine Reihe von Anknüpfungspunkten für die sportimmunologische Forschung auf, um ein noch tiefgreifenderes Verständnis für die komplexen Wirkungsmechanismen zu erlangen.

## Literaturverzeichnis

- 1 Lee I-M, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: An analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet* 2012; **380**: 219–29.
- 2 Sweegers MG, Altenburg TM, Chinapaw MJ, *et al.* Which exercise prescriptions improve quality of life and physical function in patients with cancer during and following treatment? A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Sports Med* 2018; **52**: 505–13.
- 3 Schmid D, Leitzmann MF. Association between physical activity and mortality among breast cancer and colorectal cancer survivors: A systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2014; **25**: 1293–311.
- 4 Steffens D, Beckenkamp PR, Hancock M, Solomon M, Young J. Preoperative exercise halves the postoperative complication rate in patients with lung cancer: a systematic review of the effect of exercise on complications, length of stay and quality of life in patients with cancer. *Br J Sports Med* 2018; **52**: 344.
- 5 Weinhold M, Shimabukuro-Vornhagen A, Franke A, *et al.* Physical exercise modulates the homeostasis of human regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2016; **137**: 1607–10.
- 6 Idorn M, Hojman P. Exercise-dependent regulation of NK cells in cancer protection. *Trends Mol Med* 2016; **22**: 565–77.
- 7 Alack K, Pilat C, Krüger K. Current knowledge and new challenges in exercise immunology. *Dtsch Z Sportmed* 2019; **70**: 250–60.
- 8 Zimmer P, Schenk A, Kieven M, *et al.* Exercise induced alterations in NK-cell cytotoxicity - methodological issues and future perspectives. *Exerc Immunol Rev* 2017; **23**: 66–81.
- 9 Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, *et al.* Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev* 2011; **17**: 6–63.
- 10 Catoire M, Kersten S. The search for exercise factors in humans. *FASEB J* 2015; **29**: 1615–28.
- 11 Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: Skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* 2012; **8**: 457–65.
- 12 Kakanis MW, Peake J, Brenu EW, *et al.* The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exerc Immunol Rev* 2010; **16**: 119–37.
- 13 Campbell JP, Turner JE. Debunking the myth of exercise-induced immune suppression: redefining the impact of exercise on immunological health across the lifespan. *Front Immunol* 2018; **9**: 648.

- 14 Duggal NA, Niemiro G, Harridge SDR, Simpson RJ, Lord JM. Can physical activity ameliorate immunosenescence and thereby reduce age-related multi-morbidity? *Nat Rev Immunol* 2019; **19**: 563–72.
- 15 Dimitrov S, Lange T, Born J. Selective mobilization of cytotoxic leukocytes by epinephrine. *J Immunol* 2010; **184**: 503–11.
- 16 Imai K, Matsuyama S, Miyake S, Suga K, Nakachi K. Natural cytotoxic activity of peripheral-blood lymphocytes and cancer incidence: An 11-year follow-up study of a general population. *Lancet* 2000; **356**: 1795–9.
- 17 Pedersen L, Idorn M, Olofsson GH, *et al.* Voluntary running suppresses tumor growth through epinephrine- and IL-6-dependent NK cell mobilization and redistribution. *Cell Metab* 2016; **23**: 554–62.
- 18 Ishigami S, Natsugoe S, Tokuda K, *et al.* Prognostic value of intratumoral natural killer cells in gastric carcinoma. *Cancer* 2000; **88**: 577–83.
- 19 Villegas FR, Coca S, Villarrubia VG, *et al.* Prognostic significance of tumor infiltrating natural killer cells subset CD57 in patients with squamous cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002; **35**: 23–8.
- 20 Lesley R. de Armas & Eckhard R. Podack. Natural killer cytolytic activity. In: Michael T. Lotze & Angus W. Thomson, ed. *Natural Killer Cells – Basic Science and Clinical Applications*. London: Elsevier Science, 2009: 215–27.
- 21 Spicer BA, Conroy PJ, Law RHP, Voskoboinik I, Whisstock JC. Perforin-A key (shaped) weapon in the immunological arsenal. *Semin Cell Dev Biol* 2017; **72**: 117–23.
- 22 Smyth MJ, Cretney E, Kelly JM, *et al.* Activation of NK cell cytotoxicity. *Mol Immunol* 2005; **42**: 501–10.
- 23 Paul S, Lal G. The molecular mechanism of natural killer cells function and its importance in cancer immunotherapy. *Front. Immunol* 2017; **8**: 1124.
- 24 Shephard RJ, Shek PN. Effects of exercise and training on natural killer cell counts and cytolytic activity: A meta-analysis. *Sports Med* 1999; **28**: 177–95.
- 25 Moore SC, Lee I-M, Weiderpass E, *et al.* Association of leisure-time physical activity with risk of 26 types of cancer in 1.44 million adults. *JAMA Intern Med* 2016; **176**: 816–25.
- 26 Hvid T, Lindegaard B, Winding K, *et al.* Effect of a 2-year home-based endurance training intervention on physiological function and PSA doubling time in prostate cancer patients. *Cancer Causes Control* 2016; **27**: 165–74.
- 27 Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol* 2016; **16**: 626–38.



- 28 Joisten N, Kummerhoff F, Koliymitra C, *et al.* Exercise and the Kynurenine pathway: Current state of knowledge and results from a randomized cross-over study comparing acute effects of endurance and resistance training. *Exerc Immunol Rev* 2020; **26**: 24–42.
- 29 Natale VM, Brenner IK, Moldoveanu AI, Vasiliou P, Shek P, Shephard RJ. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. *Sao Paulo Med J* 2003; **121**: 9–14.
- 30 Schlagheck ML, Walzik D, Joisten N, *et al.* Cellular immune response to acute exercise: Comparison of endurance and resistance exercise. *Eur J Haematol* 2020;**105**: 75–84
- 31 Wentz LM, Nieman DC, McBride JE, Gillitt ND, Williams LL, Warin RF. Carbohydrate intake does not counter the post-exercise decrease in natural killer cell cytotoxicity. *Nutrients* 2018; **10**: 1658.
- 32 Bigley AB, Rezvani K, Pistillo M, *et al.* Acute exercise preferentially redeploys NK-cells with a highly-differentiated phenotype and augments cytotoxicity against lymphoma and multiple myeloma target cells. Part II: Impact of latent cytomegalovirus infection and catecholamine sensitivity. *Brain Behav Immun* 2015; **49**: 59–65.
- 33 Wang J-S, Wu C-K. Systemic hypoxia affects exercise-mediated antitumor cytotoxicity of natural killer cells. *J Appl Physiol* 2009; **107**: 1817–24.
- 34 Schenk A, Koliymitra C, Bauer CJ, *et al.* Impact of acute aerobic exercise on genome-wide DNA-methylation in natural killer cells-a pilot study. *Genes* 2019; **10**: 380.

# Lebenslauf

## Akademischer Werdegang

---

2015 - 2021	Studium der Humanmedizin <i>Universität zu Köln</i>
2009 - 2013	Promotion zum Dr. Sportwiss. <i>Deutsche Sporthochschule Köln</i> Betreuer: Univ.-Prof. Dr. Breuer
2003 - 2008	Studium der Sportwissenschaften (Dipl.-Sportwiss.) <i>Deutsche Sporthochschule Köln</i>
2002	Abitur <i>Kreisgymnasium Halle/Westf.</i>

## Berufstätigkeit

---

2021 - heute	Assistenzarzt <i>Klinikum Bielefeld, Klinik für Innere Medizin, Gastroenterologie und Geriatrie</i>
2009 - 2020	Wissenschaftlicher Mitarbeiter <i>Deutsche Sporthochschule Köln, Institut für Sportökonomie und Sportmanagement</i>
2005 - 2008	Werksstudent <i>NetCologne, Köln</i>

## Zivildienst

---

2002 - 2003	Zivildienstleistender <i>Raphaelsklinik, Münster</i>
-------------	---------------------------------------------------------

Köln, den 09. Dezember 2021

Christopher Rumpf

# Anhang

## Inhaltsverzeichnis des Anhangs

Anhang 1: PEDro Skala (ESM Table A) .....	35
Anhang 2: Forest Plot der NKCA-Ergebnisse (Trainings- vs. Kontrollgruppen) unmittelbar nach körperlicher Belastung ohne Ausreißer (ESM Figure A)...	36
Anhang 3: Forest Plot der NKCA-Ergebnisse in den Trainingsgruppen unmittelbar nach körperlicher Belastung (ESM Figure B) .....	37
Anhang 4: Forest Plot der NKCA-Ergebnisse in den Kontrollgruppen unmittelbar nach körperlicher Belastung (ESM Figure C).....	38
Anhang 5: Blasendiagramm der Metaregression unmittelbar nach körperlicher Belastung (ESM Figure D) .....	39
Anhang 6: Forest Plot der NKCA-Ergebnisse in den Trainingsgruppen während der Erholungsphase (ESM Figure E) .....	40

Anhang 1: PEDro Skala (ESM Table A)

Study	Eligibility criteria	Random allocation	Concealed allocation	Similar at baseline	Subjects blinded	Therapists blinded	Assessors blinded	>85% follow-up	intention-to-treat analysis	Between-group comparisons	Point and variability measures	Total PEDro score
Bouillon (2006)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
Flynn (1999)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
Gannon (1998)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
Lee (2005)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
Moyna (1996)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
Strasner (1997)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
McFarlin (2003)	1	0	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	5
Palmo (1995)	1	0	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	5
Brenner (1999)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
Brenner (1996)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
McFarlin (2003)	1	1	0	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	6
Miles (2002)	1	1	1	1	n/a	n/a	0	1	1	1	1	7

Criteria (2-11) were used to calculate the total PEDro score. Each criterion was scored as either 1 or 0 according to whether the criteria was met or not. n/a = not applicable

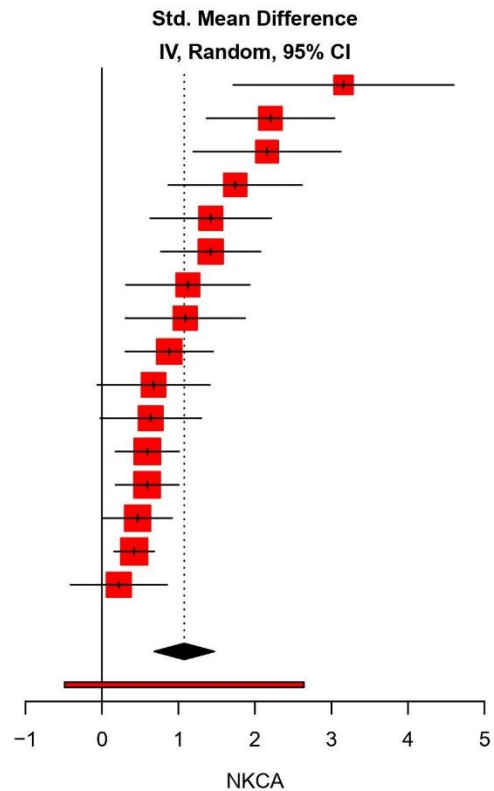
Anhang 2: Forest Plot der NKCA-Ergebnisse (Trainings- vs. Kontrollgruppen) unmittelbar nach körperlicher Belastung ohne Ausreißer (ESM Figure A)

Study	TE	SE	Weight	Std. Mean Difference	
				IV, Random, 95% CI	
Brenner(1999)a [26]	3.16	0.74	3.8%	3.16	[ 1.72; 4.60]
McFarlin(2003)b [28]	2.20	0.43	5.8%	2.20	[ 1.37; 3.04]
Brenner(1996) [11]	2.16	0.49	5.3%	2.16	[ 1.19; 3.12]
Strasner(1997)a [25]	1.74	0.45	5.6%	1.74	[ 0.87; 2.62]
Brenner(1999)c [26]	1.42	0.40	6.0%	1.42	[ 0.63; 2.21]
McFarlin(2003)a [28]	1.42	0.33	6.5%	1.42	[ 0.77; 2.07]
Bouillon(2006)b [22]	1.12	0.41	5.9%	1.12	[ 0.31; 1.94]
Miles(2002) [29]	1.09	0.40	6.0%	1.09	[ 0.31; 1.87]
Gannon(1998) [12]	0.88	0.29	6.7%	0.88	[ 0.31; 1.45]
Bouillon(2006)a [22]	0.68	0.38	6.2%	0.68	[ -0.06; 1.41]
Brenner(1999)b [26]	0.64	0.34	6.4%	0.64	[ -0.02; 1.30]
McFarlin(2005) [24]	0.59	0.21	7.3%	0.59	[ 0.18; 1.01]
Lee(2005) [27]	0.59	0.21	7.3%	0.59	[ 0.18; 1.00]
Palmo(1995) [30]	0.47	0.23	7.1%	0.47	[ 0.02; 0.92]
Flynn(1999) [23]	0.42	0.13	7.6%	0.42	[ 0.16; 0.68]
Strasner(1997)b [25]	0.22	0.32	6.5%	0.22	[ -0.41; 0.85]

**Total (95% CI)** 100.0% **1.08 [ 0.69; 1.47]**  
**Prediction interval** **[-0.49; 2.64]**

Heterogeneity:  $\tau^2 = 0.50$ ;  $\text{Chi}^2 = 55.49$ ,  $\text{df} = 15$  ( $P < 0.01$ );  $I^2 = 73\%$

Test for overall effect:  $t_{15} = 5.86$  ( $P < 0.01$ )

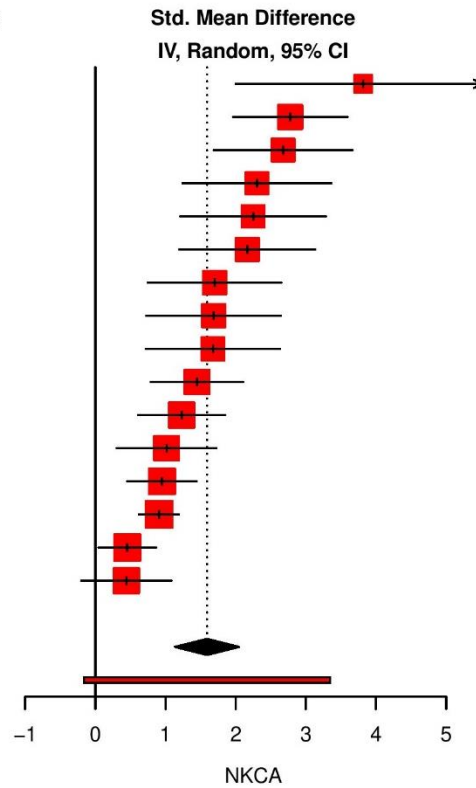


Anhang 3: Forest Plot der NKCA-Ergebnisse in den Trainingsgruppen unmittelbar nach körperlicher Belastung (ESM Figure B)

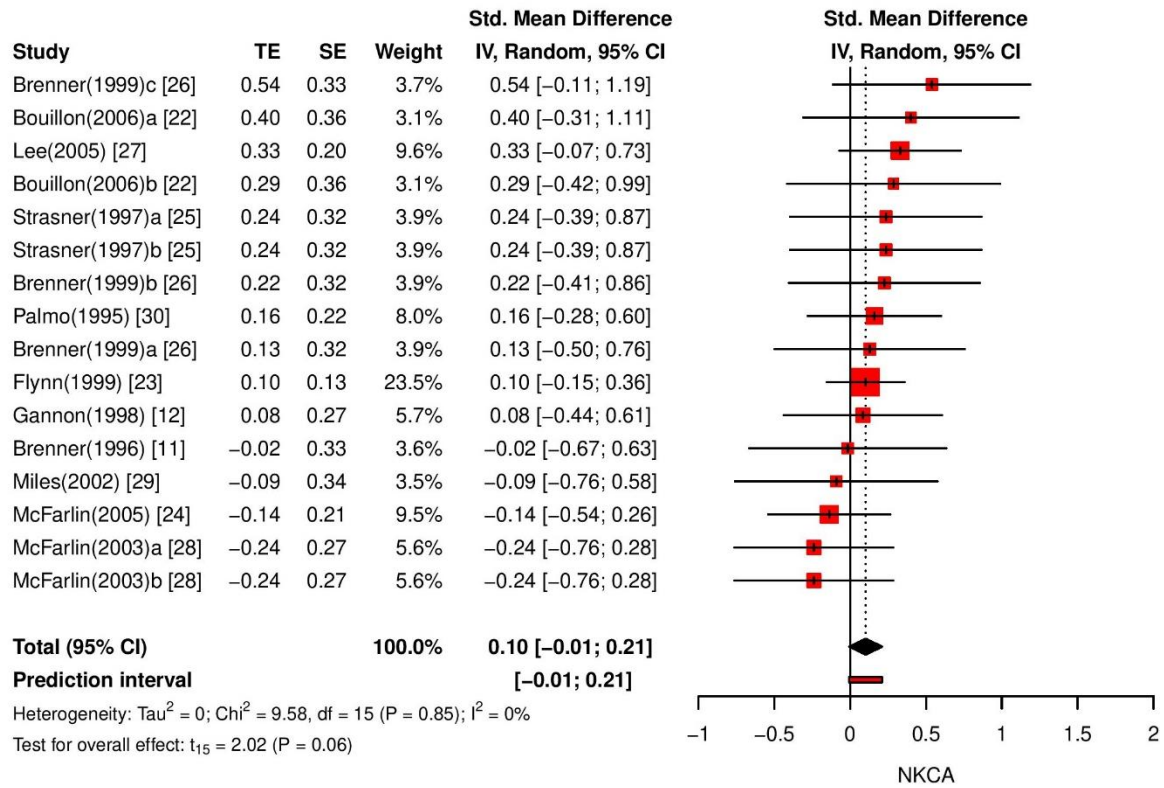
Study	TE	SE	Weight	Std. Mean Difference	
				IV, Random, 95% CI	
Brenner(1999)a [26]	3.82	0.93	3.4%	3.82	[ 2.00; 5.63]
Lee(2005) [27]	2.78	0.42	6.3%	2.78	[ 1.96; 3.59]
McFarlin(2003)b [28]	2.68	0.50	5.7%	2.68	[ 1.69; 3.66]
Strasner(1997)a [25]	2.30	0.54	5.5%	2.30	[ 1.24; 3.36]
Brenner(1999)c [26]	2.25	0.53	5.6%	2.25	[ 1.21; 3.29]
Brenner(1996) [11]	2.17	0.49	5.8%	2.17	[ 1.20; 3.13]
Miles(2002) [29]	1.70	0.48	5.9%	1.70	[ 0.75; 2.65]
Bouillon(2006)a [22]	1.69	0.49	5.8%	1.69	[ 0.73; 2.65]
Bouillon(2006)b [22]	1.68	0.49	5.8%	1.68	[ 0.72; 2.63]
Gannon(1998) [12]	1.45	0.34	6.8%	1.45	[ 0.79; 2.11]
McFarlin(2003)a [28]	1.23	0.32	7.0%	1.23	[ 0.61; 1.85]
Brenner(1999)b [26]	1.02	0.36	6.7%	1.02	[ 0.30; 1.73]
Palmo(1995) [30]	0.95	0.25	7.3%	0.95	[ 0.46; 1.44]
Flynn(1999) [23]	0.91	0.14	7.8%	0.91	[ 0.62; 1.19]
McFarlin(2005) [24]	0.46	0.21	7.6%	0.46	[ 0.05; 0.86]
Strasner(1997)b [25]	0.44	0.33	6.9%	0.44	[ -0.20; 1.09]

**Total (95% CI)** 100.0% 1.59 [ 1.14; 2.05]  
**Prediction interval** [-0.16; 3.35]

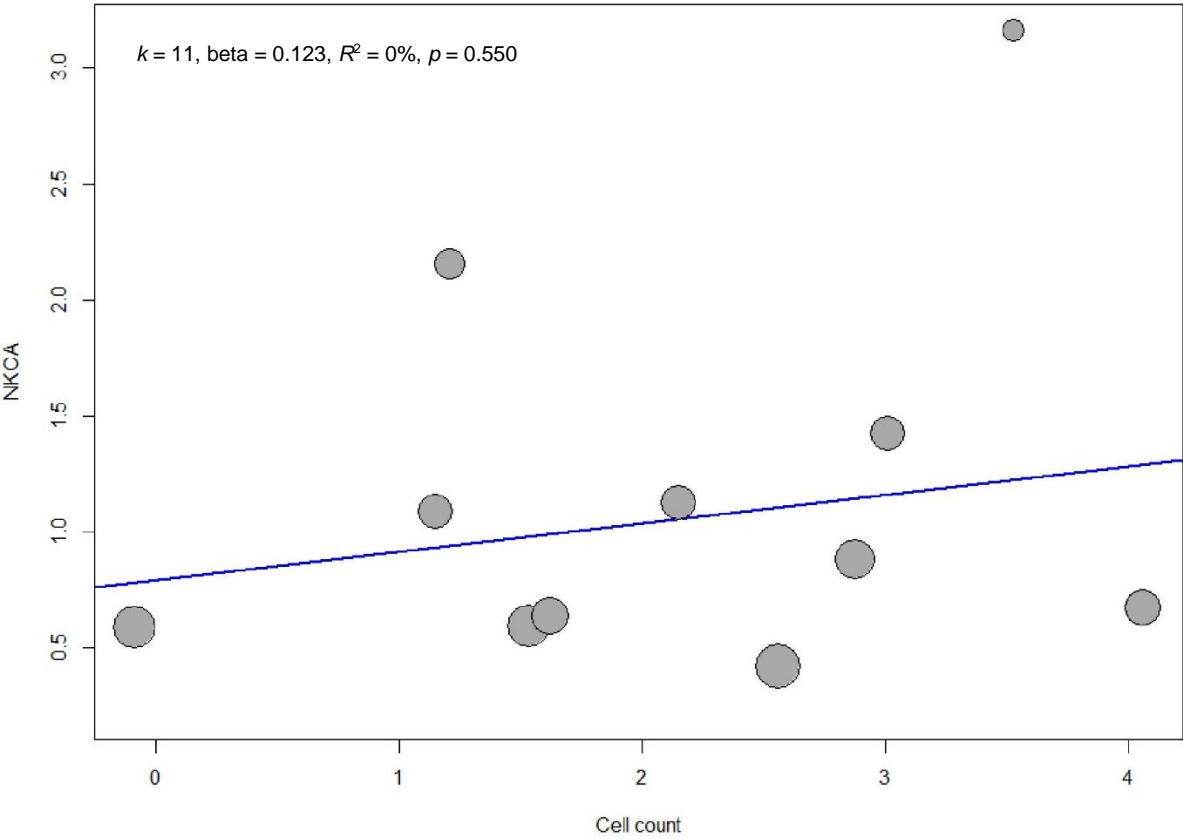
Heterogeneity:  $\tau^2 = 0.62$ ;  $\text{Chi}^2 = 69.56$ ,  $\text{df} = 15$  ( $P < 0.01$ );  $I^2 = 78\%$   
 Test for overall effect:  $t_{15} = 7.44$  ( $P < 0.01$ )



Anhang 4: Forest Plot der NKCA-Ergebnisse in den Kontrollgruppen unmittelbar nach körperlicher Belastung (ESM Figure C)



Anhang 5: Blasendiagramm der Metaregression unmittelbar nach körperlicher Belastung (ESM Figure D)





Anhang 6: Forest Plot der NKCA-Ergebnisse in den Trainingsgruppen während der Erholungsphase (ESM Figure E)

