



universität
wien

MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

„Einfluss eines 6 monatigen Krafttrainings auf
oxidative DNA Schäden bei institutionalisierten
PensionistInnen“

Verfasserin

Claudia Traxler Bakk. rer. nat

angestrebter akademischer Grad

Master of Science (MSc)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Ernährungswissenschaften

Betreuerin / Betreuer:

Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner

Eidesstaatliche Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen übernommenen Informationen sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch nicht veröffentlicht.

Wien, am 06.02.2013



(Claudia Traxler)

Danksagung

Zunächst einmal möchte ich mich bei allen herzlich bedanken, die mir mit Rat und Tat bei der Erstellung dieser Arbeit geholfen haben. Vor allem bei Mag. Bernhard Franzke, der während der gesamten Zeit eine großartige Unterstützung war.

Ganz besonderer Dank gilt Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner für die Betreuung und der Ermöglichung, als Teil der Forschungsplattform „Active-Ageing“, an dieser Studie mitzuwirken.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Laborpartnerin Bianca Arnold bedanken, durch die die Wartezeiten im Labor wie im Flug vergingen und die mich immer wieder dazu anspornte, meine Slides auszuzählen. ☺

In diesem Zusammenhang auch ein großes Danke an meinen Freund Daniel, der mich in dieser Zeit nur selten zu Gesicht bekam.

Ein großes Dankeschön auch an Anna, Antonia, Elisabeth, Eva, Marion, Sonja und Tina durch die die Studienzeit eine unvergessliche Zeit bleiben wird.

Zum Schluss möchte ich mich noch bei meinen Eltern bedanken, die mich in stressigen Zeiten immer mit leckeren Köstlichkeiten versorgt haben und ohne deren finanzielle Unterstützung dieses Studium gar nicht erst möglich gewesen wäre.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	VI
Abbildungsverzeichnis.....	IX
Tabellenverzeichnis.....	X
Abkürzungsverzeichnis.....	XI
1 Einleitung und Fragestellung	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Oxidativer Stress	2
2.1.1 Endogene und exogene Quellen von ROS	2
2.1.2 Antioxidative Schutzsysteme – enzymatische Antioxidantien	3
2.1.3 Oxidativer Stress und DNA Schäden	3
2.1.4 Reparaturmechanismen oxidierter Basen	4
2.2 Oxidativer Stress als Ursache des Alterungsprozesses	5
2.2.1 Erhöhte Schäden nuklearer DNA im Alter?	6
2.2.2 Gründe für den altersbedingten Anstieg oxidativer DNA Schäden ..	7
2.2.3 Oxidative DNA Schäden und altersassoziierte Erkrankungen.....	8
2.2.3.1 Krebs	8
2.2.3.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen	9
2.2.3.3 Atherosklerose	10
2.2.3.4 Neurodegenerative Erkrankungen	10
2.3 Herausforderung für das Sozialsystem	11
2.4 Einfluss körperlicher Aktivität auf die ROS Produktion	12
2.4.1 Positive Auswirkungen körperlicher Aktivität auf DNA Schäden ...	13
2.4.2 Humane Interventionsstudien - Auswirkungen körperlicher Aktivität auf oxidative DNA Schäden im Alter	14
2.4.2.1 Schlussfolgerung humane Interventionsstudien	15
2.5 Comet Assay	15
2.5.1 Comet Assay und mitochondriale DNA	16
2.5.2 Prinzip	16

3	Material und Methoden	18
3.1	Studiendesign	18
3.2	Trainingsablauf	18
3.3	Untersuchungszeitraum	19
3.4	Ein- und Ausschlusskriterien.....	20
3.5	Materialien und Geräte	21
3.6	Chemikalien	22
3.7	Herstellung der Lösungen.....	23
3.8	Comet Assay – Durchführung.....	25
3.8.1	Objektträger beschichten	25
3.8.2	Lymphozyten Isolation.....	25
3.8.3	Herstellen der Eigenblutkontrollen.....	26
3.8.4	Aufbringen auf Objektträger	26
3.8.5	Behandlung mit H ₂ O ₂	27
3.8.6	Lyse.....	27
3.8.7	Behandlung mit Enzymen	27
3.8.8	Alkalibehandlung	27
3.8.9	Elektrophorese	27
3.8.10	Neutralisation	28
3.8.11	Färben.....	28
3.8.12	Auszählen	28
3.8.13	Statistische Auswertung	28
4	Ergebnisse und Diskussion	29
4.1	Parameter der Studienpopulation vor Interventionsbeginn (T1).....	29
4.1.1	Altersverteilung und BMI	29
4.1.2	Oxidative DNA Schädigung	29
4.1.3	Geschlechterverteilung.....	30
4.2	Ergebnisse der Intervention nach 6 Monaten (T3).....	31
4.2.1	Einfluss der Trainingsintervention auf den Body Mass Index	31
4.2.2	Einfluss der Intervention auf die oxidative DNA Schädigung.....	32

4.2.3	Einfluss der Intervention auf H ₂ O ₂ induzierte DNA Schädigung	34
4.2.4	Einfluss der Intervention auf oxidierte Purine	35
4.2.5	Ursachen für die positiven Effekte in der Kontrollgruppe	37
4.2.6	Zusammenhang von Alter und oxidativen DNA Schäden in der Interventionsgruppe	38
4.2.6.1	Einfluss des Trainings auf H ₂ O ₂ induzierte DNA Schädigung bei Personen ≥ 85 Jahren.....	39
4.2.6.2	Einfluss der Intervention auf oxidative DNA Schäden bei 75 - 79 Jährigen im Vergleich zu 80 - 84 Jährigen	40
5	Schlussbetrachtung	42
6	Zusammenfassung	44
7	Summary	45
	Literaturverzeichnis.....	46

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Bildung von ROS.	2
Abb. 2: Oxidative DNA Schäden und ihre Folgen.	5
Abb. 3: Mechanismen erhöhter DNA Schädigung durch Sport.	13
Abb. 4: Durchführung des Comet Assay.	17
Abb. 5: Trypanblau, Cellcounting chamber slides, Countess	26
Abb. 6: Konstanter BMI in beiden Gruppen nach 6 monatiger Intervention.	32
Abb. 7: Signifikante Steigerung der oxidativen DNA Schädigung in der Kontrollgruppe.....	33
Abb. 8: Signifikante Abnahme H ₂ O ₂ induzierter DNA Schädigung, sowohl in der Kontroll- als auch in der Trainingsgruppe	34
Abb. 9: Konstante, jedoch nicht signifikante Abnahme oxidierteter Basen in der Kontroll- und Interventionsgruppe (T ₁ = vor Studienbeginn, T ₂ = nach 3 Monaten, T ₃ = nach 6 Monaten).....	36
Abb. 10: Stärkere Abnahme oxidativer Schäden H ₂ O ₂ und FPG behandelte Zellen bei Personen ≥ 85, im Vergleich zu jüngeren Personen	39
Abb. 11: Signifikante Abnahme H ₂ O ₂ induzierter DNA Schädigung in der Trainingsgruppe bei Personen ≥ 85 Jahren im Vergleich zur Kontrollgruppe ...	40
Abb. 12: Oxidative DNA Schädigung bei 75 - 79 Jährigen im Vergleich zu 80 - 84 Jährigen	41

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Trainingsaufbau	18
Tab. 2: Studienpopulation gesamt	19
Tab. 3: Probandenanzahl in den Gruppen	20
Tab. 4: Materialien und Geräte	21
Tab. 5: Chemikalien	22
Tab. 6: Altersverteilung und BMI vor Studienbeginn	29
Tab. 7: oxidative DNA Schäden (% DNA im Schweiß) vor Studienbeginn	30
Tab. 8: Geschlechterverteilung der Kontroll- und Interventionsgruppe.	31

Abkürzungsverzeichnis

8-OHdG/8-oxodG	8-Hydroxy-2-deoxyguanosin
8-oxoGua	8-oxo-Guanin
AD	Alzheimer Erkrankung
AF	Aerobe Fitness
AP-	Apurine-/ apyrimidine-
BER	Basen Excisions Reparatur
BMI	Body Mass Index
BSA	Bovines Serum Albumin
CAT	Katalase
Cu	Kupfer
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSB	Doppelstrangbruch
EDTA	Ethylen-diamin-Tetraacetic Acid
ELISA	Enzym-Linked-Immunsorbent Assay
FBS	Fetal Bovine Serum
FPG	Formamidopyrimidin-DNA Glykosylase
GPX	Glutathion Peroxidase
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatografie
KCl	Kaliumchlorid
KOH	Kaliumhydroxid
LDL	Low density Lipoprotein
LMA	Low Melting Agarose
Mn	Mangan
mtDNA	Mitochondriale DNA
NaCl	Natrium Chlorid

NaOH	Natrium Hydroxid
NMA	Normal melting Agarose
$O_2^{\cdot -}$	Superoxid Anion
$OH^{\cdot}$	Hydroxyl Radikal
Ogg1	8-oxoguanin DNA Glykosylase
PBS	Phosphate buffered Saline
PBMC	Mononukleare Zellen des peripheren Blutes
ROS	Reaktive Sauerstoff Spezies
RPM	Rounds per minute
SCGE	Single cell gel elektrophorese
SPPB	Short physical performance battery
SSB	Einzelstrangbruch
Tris	Trizma Base
VO_2 max.	Maximale Sauerstoffaufnahme
Zn	Zink

1 Einleitung und Fragestellung

Nicht zuletzt aufgrund der steigenden Lebenserwartung wird in den kommenden Jahrzehnten die Zahl der Menschen über 65 Jahren drastisch steigen.

Damit verbunden sind erhebliche finanzielle Belastungen für das Sozialsystem. Nicht nur deshalb, sondern auch um weiterhin ein unabhängiges und selbstbestimmtes Leben führen zu können ist es daher entscheidend, die gewonnenen Lebensjahre in guter Gesundheit zu verbringen [Sozialpartner-Österreichs, 2010].

Mit zunehmendem Lebensalter stellt vor allem die Sarkopenie, der Verlust der Muskelmasse und -funktion, einen bedeutenden Faktor der Morbidität und Mortalität dar und trägt entscheidend zur Sturzhäufigkeit und generellen Gebrechlichkeit bei [Koopman et al., 2009].

Weiters zeigen Studien, dass auch oxidativer Stress durch die Schädigung der DNA einen wesentlichen Einflussfaktor für den Alterungsprozess darstellt. Diese oxidativen DNA Schäden werden mit einer Reihe degenerativer Erkrankungen, wie z.B. Krebs, kardiovaskuläre Erkrankungen oder auch Alzheimer und Parkinson in Verbindung gebracht [Kraus et al., 2009; Powers et al., 2011].

Unter der Annahme, dass regelmäßiges Training in Verbindung mit Nahrungsergänzungsmitteln oxidative DNA Schäden sowie den Verlust der Muskelmasse positiv beeinflusst, wurde die Forschungsplattform ACTIVE AGEING der Universität Wien ins Leben gerufen.

Besonderes Augenmerk liegt dabei auf der Nachhaltigkeit, da die Intervention über einen Zeitraum von 1,5 Jahren durchgeführt wird.

Ziel der Studie ist es, die Auswirkung von Training mit und ohne zusätzliche Ernährungssupplementation auf Muskelkraft, -funktion und -masse, oxidative Stressparameter sowie das Immunsystem bei älteren, institutionalisierten Personen zu erfassen.

Die vorliegende Arbeit ist nur ein Teil dieser Studie und beschäftigt sich besonders mit den Auswirkungen der 6 monatigen Trainingsintervention auf die oxidative DNA Schädigung älterer Personen.

2 Literaturübersicht

2.1 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress ist definiert als Ungleichgewicht zwischen Oxidantien (z.B. reaktive Sauerstoffspezies ROS) und antioxidativen Schutzsystemen. Bei mangelndem antioxidativem Schutz oder erhöhter ROS-Produktion kann es in einer Vielzahl von Geweben zu Schäden kommen [Sies, 1997].

Freie Radikale, wie ROS, sind hoch reaktiv und werden als Nebenprodukte des Sauerstoffmetabolismus in vielen biochemischen Prozessen gebildet.

Sie sind gekennzeichnet durch ein oder mehrere ungepaarte Elektronen, die die chemische Reaktivität des Atoms oder Moleküls noch erhöhen.

Vertreter dieser reaktiven Sauerstoffverbindungen sind das Superoxid-Anionenradikal (O_2^-), das Hydroxylradikal ($\cdot\text{OH}$) und das Wasserstoffperoxid (H_2O_2) [Halliwell et al., 2007; Roberts et al., 2009].

Das primär gebildete Sauerstoffradikal ist das Superoxid-Anion (O_2^-). Es wird anschließend zu H_2O_2 und dem hoch reaktiven $\cdot\text{OH}$ abgebaut, das in Folge zu oxidativen Schäden der DNA und anderen Molekülen der Zelle führt [Chan et al., 2011]. Da diese Schäden im Lauf des Lebens zunehmen, spielt oxidativer Stress eine wesentliche Rolle im Alterungsprozess [Ames et al., 1993].

2.1.1 Endogene und exogene Quellen von ROS

Der Großteil der endogen gebildeten ROS entsteht während der aeroben Zellatmung in der mitochondrialen Atmungskette (Abb. 1)

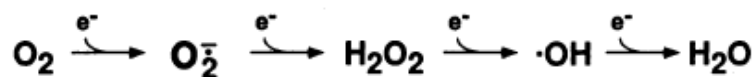


Abb. 1: Bildung von ROS.

Der von den Mitochondrien aufgenommene O_2 wird über mehrere Schritte in H_2O umgewandelt. Dabei entstehen freie Radikale (ROS) [Ames et al., 1993].

Aber auch bei der Immunabwehr (während der Zerstörung von Bakterien und Viren durch Phagozytose) und dem oxidativen Fettsäureabbau in den Peroxisomen werden ROS frei bzw. gezielt eingesetzt.

Exogene Ursachen für die Entstehung von ROS sind vor allem Tabakkonsum und ungesunde Ernährung [Ames et al., 1993].

2.1.2 Antioxidative Schutzsysteme – enzymatische Antioxidantien

Eine Reihe von Schutzsystemen, wie etwa enzymatische Antioxidantien, schützt die Zelle jedoch vor einer Schädigung durch ROS.

Zu erwähnen sind hier vor allem die Superoxiddismutase (SOD), die Katalase (CAT) und die Glutathion Peroxidase (GPX).

Die Superoxiddismutase befindet sich im Cytosol und in den Mitochondrien und ist für den Abbau von Superoxiden in $O_2 + H_2O_2$ verantwortlich. Sie benötigt aber Cofaktoren, wie Kupfer (Cu), Zink (Zn) oder Mangan (Mn).

Die Katalase befindet sich in den Peroxysomen, wo sie H_2O_2 zu $O_2 + H_2O$ verstoffwechselt.

Im Cytoplasma sowie extracellulär in fast allen Geweben findet man die Glutathion Peroxidase mit Selen als Zentralatom, die H_2O_2 zu H_2O abbaut.

Neben diesen enzymatischen Antioxidantien existiert die große Gruppe der nicht-enzymatischen Antioxidantien, wie etwa die Vitamine A, C und E sowie die große Gruppe der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe [Gough et al., 2011].

2.1.3 Oxidativer Stress und DNA Schäden

Durch seine Fähigkeit, sowohl mit Adenin als auch mit Cytosin eine Basenpaarung einzugehen, ist das 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosin (8-OHdG/ 8-OxodG) das am häufigsten zu Mutationen führende Produkt oxidativer DNA Schädigung [Barzilai et al., 2004]. Es entsteht durch Hydroxylierung des Guanins als entsprechendes Nukleosid zum 8-Oxoguanin (8-oxoGua) und wird häufig als biologischer Marker für oxidativen Stress verwendet [Dizdaroglu et al., 2002; Kasai, 1997].

Normalerweise bildet Guanin mit Cytosin und Adenin mit Thymin ein komplementäres Basenpaar. Paart sich 8-OHdG jedoch mit Adenosin, verändert das die Basensequenz der DNA und es kann zum Funktionsverlust des Gens kommen (GC-TA Transversion) [Kasai, 1997; Kuchino et al., 1987].

Eine weitere häufig vorkommende Art der DNA Schädigung, ist ein Bruch der glykosidischen Bindung zwischen Purin- oder Pyrimidinbasen und Kohlenhydraten.

Es kommt zur Bildung von apurinen bzw apyrimidinen Stellen (AP-Stellen), die in der Folge zum Basenaustausch, zu Mutationen des Leserahmens und den daraus resultierenden DNA Brüchen führen [Atamna et al., 2000].

Durch ROS verursachte Einzelstrangbrüche (SSB) treten bis zu 10.000 mal pro Tag in einer Zelle auf [Caldecott, 2008].

Die weitaus gefährlichere Variante oxidativer DNA Schäden bilden Doppelstrangbrüche (DSB), die viel häufiger als SSB bei älteren Personen beobachtet werden konnten. Findet keine Reparatur dieser DSB statt, ist der Verlust ganzer Chromosomensegmente bis hin zum Zelltod möglich. Wohingegen fehlerhaft reparierte DSB eine Umlagerung der Chromosomen bewirkt und zu einer Instabilität im Genom führt [Morgan et al., 1998; Moskalev et al., 2012].

2.1.4 Reparaturmechanismen oxidierter Basen

Oxidierter Basen, apurine und apyrimidine Stellen sowie durch ROS verursachte Strangbrüche, können entweder durch eigene Reparaturmechanismen (z.B. Basenexcisionsreparatur, DNA Glycosylase) wieder behoben werden oder es kommt zur Apoptose (Abb. 2) [Barzilai et al., 2004].

Bei der Basenexcisionsreparatur werden geschädigte oder falsch gepaarte Basen durch spezifische DNA Glykosylasen aus der DNA entfernt und die frei werdende Stelle mit der entsprechenden komplementären bzw intakten Base gefüllt [Wagner et al., 2004].

Eine wichtige Bedeutung bei der Reparatur des 8-Oxoguanins haben die Formamidopyrimidin-DNA-Glykosylase (FPG-Protein) und die 8-oxoguanin-DNA glykosylase (Ogg1). Sie haben die Eigenschaft, spezifisch 8-Oxo-guanin zu erkennen und aus der DNA zu schneiden [Boiteux et al., 1992; Chen et al., 2003].

Oxidierter Pyrimidine wiederum werden durch Endonuklease III erkannt und herausgeschnitten bzw. repariert [Collins et al., 1995].

Damit all diese Vorgänge jedoch stattfinden können, werden in der Zelle sogenannte Zellzyklus-Checkpoints aktiviert, die den Zellzyklus stoppen und so die Teilung geschädigter DNA verhindern [Barzilai et al., 2004].

Findet keine Reparatur statt, kann es durch Änderungen in den Chromosomen zur Aktivierung von Onkogenen bzw. Inaktivierung von Suppressorgen kommen und folglich zur Initiation der Karzinogenese [Emerit et al in Hartmann et al., 2000].

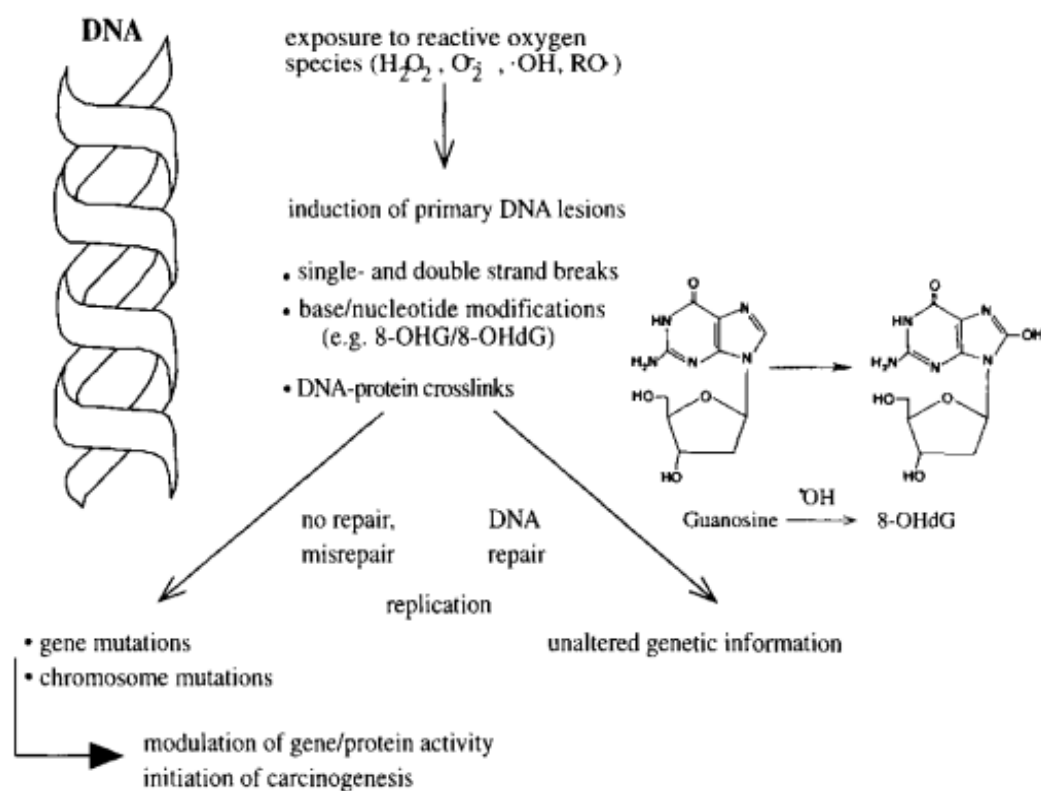


Abb. 2: Oxidative DNA Schäden und ihre Folgen.
[Hartmann et al., 2000].

2.2 Oxidativer Stress als Ursache des Alterungsprozesses

Beim biologischen Prozess des Alterns, kommt es vor allem zu einem allgemeinen Abfall biochemischer und physiologischer Funktionen. Dies führt zu einer verminderten Fähigkeit des Körpers geeignet auf Umweltreize zu reagieren und erhöht so die Anfälligkeit für altersassoziierte Krankheiten bis hin zum Tod [Valle, 2011].

Es gibt viele Theorien, die sich seit jeher mit dem Altern und seinen Ursachen auseinander gesetzt haben.

1956 z.B. erklärte Denham Harman in der „Free Radicals Theory of Aging“, reaktive Sauerstoffspezies zur Ursache des Alterns [Harman, 1956]. 1972 modifizierte er sie dahingehend, dass er den Mitochondrien eine zentrale Rolle zuwies, da diese unverhältnismäßig große Mengen an ROS in den Zellen produzieren [Harman, 1972].

In den Jahren danach entdeckte man schließlich, dass auch Schäden und Punktmutationen der mtDNA auf oxidativen Stress zurückzuführen sind und sich im Alter dramatisch erhöhen [Golden et al., 2001].

Vor allem durch das Fehlen eigener Schutzproteine und ihrer Nähe zu ROS produzierenden Systemen ist die mitochondriale DNA besonders anfällig für oxidative Schäden [Ames et al., 1993].

Diese sogenannte „mtDNA Theorie des Alterns“ lässt vermuten, dass auch Mutationen der mitochondrialen DNA nicht unwesentlich am Alterungsprozess beteiligt sind [Linnane et al., 1989].

Doch die Frage, ob mtDNA Läsionen Ursache oder Folge des Alterns sind, ist nach wie vor kontrovers [Lin et al., 2003].

2.2.1 Erhöhte Schäden nuklearer DNA im Alter?

Auf Basis der in der Literatur vorhandenen Daten, scheint es sehr wahrscheinlich, dass oxidative Schäden nuklearer DNA im Alter zunehmen und durchaus einen Faktor im Alterungsprozess spielen.

Mutlu-Türkoglu et al. untersuchten mittels Comet Assay den Grad der DNA Schädigung von Lymphozyten bei jungen (21-40 Jahre, n = 25) und älteren (61-85, n = 30) Personen. Sowohl bei den unbehandelten, als auch bei den mit H₂O₂ behandelten Zellen konnte, verglichen mit der jüngeren Gruppe, eine Verdopplung der oxidativen Schädigung bei den älteren Personen, nachgewiesen werden [Mutlu-Türkoğlu et al., 2003].

Humphreys et al. unterteilten die ProbandInnen in Altersgruppen: 20 – 35 (n = 40), 63 – 70 (n = 35) und 75 – 82 (n = 22), um anschließend mittels Comet As-

say die oxidative DNA Schädigung zu ermitteln. Es zeigte sich eine signifikant höhere Schädigung im Vergleich zur jüngeren Gruppe. Der Nachweis oxidiert Basen (8-oxoGua) mittels FPG bestätigte diese Ergebnisse und brachte ebenfalls eine signifikant höhere Schädigung bei den Personen über 75 Jahren [Humphreys et al., 2007].

In einer von Siomek et al. 2007 durchgeführten Studie, wurden 255 ProbandInnen in 4 Altersgruppen (A: durchschnittlich 13 Jahre, B: 31 Jahre, C: 50 Jahre, D: 67 Jahre) unterteilt. Mittels HPLC wurde der Gehalt von 8-oxodG in der DNA von Lymphozyten untersucht und ein hoch signifikanter Anstieg von 8-oxodG in der Gruppe D nachgewiesen. Weiters bestand eine signifikant positive Korrelation zwischen dem Alter und dem Gehalt an 8-oxodG [Siomek et al., 2007].

Mecocci et al. entnahmen von 66 Personen im Alter zwischen 25 und 93 Jahren Muskelbiopsieproben, und konnten auch im Skelettmuskel einen altersabhängigen Anstieg oxidativer DNA Schädigung (8-oxodG) nachweisen [Mecocci et al., 1999].

Dass das Thema auch durchaus kontrovers zu diskutieren ist, zeigen folgende Studien. Barnett und King wendeten eine Sandwich ELISA an, um Lymphozyten auf DNA Brüche zu untersuchen. Zwar fanden sie höhere Mengen in der Gruppe der 65 – 69 Jährigen (n=17) im Vergleich zu den 35 – 39 Jährigen (n=20), angewendet auf 75 – 80 Jährige, zeigte sich jedoch kein Unterschied zu den Jüngeren [Barnett et al., 1995]. Hyland et al. verglichen PBMCs 40 – 60 Jähriger mit jenen 86 – 94 Jähriger. Es konnte aber kein signifikanter Unterschied der DNA Schädigung zwischen den Gruppen mittels Comet Assay nachgewiesen werden [Hyland et al., 2002].

2.2.2 Gründe für den altersbedingten Anstieg oxidativer DNA Schäden

Der Gehalt von 8-oxodG in der nuklearen DNA stellt ein Gleichgewicht zwischen der Rate oxidativer DNA Schädigung und DNA Reparatur dar. Eine altersbezogene Zunahme von 8-oxodG kann daher auch durch eine Abnahme

der Reparaturmechanismen oder eine Zunahme, der für die Schädigung verantwortlichen Prozesse, verursacht sein [Olinski et al., 2007].

Chen et al. konnten einen altersbedingten Abfall in der Aktivität von hOgg1 nachweisen, dem Hauptenzym bei der Entfernung von 8-oxodG [Chen et al., 2003].

Ein weiterer Faktor für erhöhte ROS Produktion und damit für oxidativen Stress und DNA Schädigung im Alter ist eine verminderte Funktion der Mitochondrien. Trifunovic et al. gelang es, bei Mäusen einen altersbezogenen Abfall der Atmungskette mit dem damit verbundenen Anstieg in der Produktion von ROS nachzuweisen [Trifunovic et al., 2004].

2.2.3 Oxidative DNA Schäden und altersassoziierte Erkrankungen

Neben ihrer Rolle beim eigentlichen Alterungsprozess, werden oxidative DNA Schäden auch mit degenerativen Erkrankungen im Alter in Verbindung gebracht, wie z.B. Krebs, kardiovaskuläre Erkrankungen oder auch Alzheimer und Parkinson [Powers et al., 2011].

2.2.3.1 Krebs

Obwohl der Einfluss von oxidativem Stress auf die Krebsentstehung als erwiesen gilt, ist das Ausmaß, in dem oxidative DNA Schäden dazu beitragen noch nicht endgültig geklärt. Eine Reihe von Studien bekräftigt die Hypothese, dass oxidative DNA Schäden einen wesentlichen Risikofaktor in der Karzinogenese darstellen, während andere die Anwesenheit von 8-oxodG in der DNA nicht als notwendige Bedingung für die Tumorentstehung ansehen [Cooke et al., 2006].

Gackowski et al. untersuchten in ihrer Kohortenstudie an Lungenkrebspatienten (Raucher) alle Parameter, die bei oxidativer DNA Schädigung eine Rolle spielen.

Neben 8-oxoGua und 8-oxodG im Urin wurde auch der Gehalt von 8-oxodG in den Lymphozyten gemessen. Es zeigten sich signifikant höhere Werte von 8-oxodG in den Lymphozyten der KrebspatientInnen (n=51), als in den 2 Kontrollgruppen (gesunde RaucherInnen n=26, gesunde Nicht-RaucherInnen n=38).

Die Messung im Urin ergab jedoch sowohl für die PatientInnengruppe, als auch für die Kontrollgruppe mit den RaucherInnen, ähnliche Werte, welche signifikant höher als in der NichtraucherInnengruppe ausfielen. Dies lässt vermuten, dass die hohen Konzentrationen in den Lymphozyten auf einen Defekt der DNA Reparaturmechanismen bei den KrebspatientInnen zurückzuführen sind und konnte auch durch die Messung der 8-oxoGua Glycosylase nachgewiesen werden [Gackowski et al., 2003].

Trotzdem scheint eine Schädigung der DNA stark mit Initiationsprozessen assoziiert zu sein, nicht zuletzt aufgrund der ständig entstehenden Vielzahl von mutagenen Läsionen [Cooke et al., 2006].

2.2.3.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Die Rolle oxidativer DNA Schäden bei Kardiovaskulären Erkrankungen ist noch nicht vollständig geklärt. Bis jetzt gibt es relativ wenig Daten, die sich mit diesem Thema auseinander gesetzt haben. Trotzdem werden oxidative DNA Schäden immer wieder damit in Verbindung gebracht. Collins et al. konnten in einer Länderübergreifenden Studie eine starke Korrelation ($r = 0,95$) zwischen dem Auftreten koronarer Herzerkrankungen bei Männern und dem Gehalt von 8-oxodG in Lymphozyten nachweisen [Collins et al., 1998]. Es bleibt jedoch festzustellen, warum erhöhte Werte von 8-oxodG in den Lymphozyten damit in Verbindung stehen könnten, da sie hauptsächlich im peripheren Gewebe zirkulieren und nicht notwendigerweise Schädigungen im Zielgewebe reflektieren [COOKE et al., 2003].

Messungen von 8-OHdG in den Mitochondrien des menschlichen Herzens wiederum zeigen, dass es hier mit zunehmendem Alter zur Anreicherung kommt. Dadurch spielen oxidative Schäden der mtDNA sehr wahrscheinlich eine wichtige Rolle bei der altersassoziierten Verschlechterung der Herzfunktion [Hayakawa et al., 1993].

2.2.3.3 Atherosklerose

Viele Studien geben Anlass zur Vermutung, dass Veränderungen der DNA eine grundlegende Rolle bei der Entstehung dieser Krankheit spielen.

Gackowski et al. verglichen den 8-oxodG Gehalt in den Lymphozyten von PatientInnen mit Atherosklerose und konnten einen signifikant höheren Gehalt, als in der Kontrollgruppe messen [Gackowski et al., 2001].

Und auch De Flora et al. fanden erhöhte Mengen an 8-oxodG in Läsionen der Aortenwand von PatientInnen mit Atherosklerose [De Flora et al., 1997].

Sicher ist, dass oxidiertes LDL eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Atherosklerose spielt.

Chen et al. konnten im Tierexperiment feststellen, dass oxidiertes LDL die Aktivität eines an der BER beteiligten Enzyms herabsetzt. Da die Basen Excisionsreparatur an der Entfernung von 8-oxoGua aus der zellulären DNA beteiligt ist, scheint oxidiertes LDL über die Hemmung der DNA Reparatur auch einen Teil zu den erhöhten 8-oxoGua Werten in den Lymphozyte beizutragen [Chen et al., 2000].

2.2.3.4 Neurodegenerative Erkrankungen

Eine große Anzahl an Studien deutet darauf hin, dass oxidative DNA Schäden auch zur Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen beitragen. Neben Alzheimer (AD) betrifft dies auch Parkinson, bei denen oxidativer Stress eine große Rolle in der Entstehung spielt [Cooke et al., 2006; Lin et al., 2003].

Mecocci et al. stellten in einer mit an Alzheimer erkrankten Personen durchgeführten Studie (n=40), signifikant höhere Werte von 8-oxodG in den Lymphozyten fest, als in der Kontrollgruppe [Mecocci P et al., 2002]. Und auch Migliore et al. konnten mittels Comet Assay signifikant höhere Mengen oxidierter Basen bei den an AD erkrankten Personen nachweisen [Migliore et al., 2005]. Nur wenige Jahre zuvor konnte diese Arbeitsgruppe auch in den Lymphozyten von Parkinson Patienten signifikant höhere DNA Schädigung nachweisen [Migliore et al., 2002].

Den größten Risikofaktor für AD ebenso wie für Parkinson, stellt jedoch das Alter dar. Beinahe die Hälfte der Bevölkerung älter als 85 Jahre, leidet an Alzheimer [Chauhan et al., 2006].

2.3 Herausforderung für das Sozialsystem

Laut einer Bevölkerungsschätzung der Statistik Austria wird die Zahl der Menschen über 65 Jahren in den kommenden Jahrzehnten drastisch steigen.

Nicht zuletzt aufgrund der steigenden Lebenserwartung wird ein Anstieg von 26% im Jahr 2010 auf 48% im Jahr 2050 erwartet.

Diese Veränderungen werden erhebliche finanzielle Auswirkungen auf alle Teilbereiche des Sozialsystems haben (Pensionsversicherung, Pflegesystem, gesetzliche Krankenversicherung).

Ein entscheidender Faktor für die zukünftige Ausgabenentwicklung ist daher, ob die gewonnenen Lebensjahre in guter Gesundheit verbracht werden können [Sozialpartner-Österreichs, 2010].

Dies ist für ältere Personen unerlässlich, um auch weiterhin ein unabhängiges und selbstbestimmtes Leben zu führen und aktiv am Familienleben teilhaben zu können.

Voraussetzung dafür ist eine lebenslange Gesundheitsvorsorge, um Krankheiten wie Herzinfarkt, Schlaganfall, Krebs oder auch Diabetes zu verhindern.

Großes Augenmerk liegt auch auf dem Erhalt der funktionellen Fähigkeiten, da mit dem Alter ein stetiger Verlust der Skelettmuskelmasse einhergeht (Sarkopenie) und somit auch die Gebrechlichkeit und Sturzhäufigkeit steigt [Koopman et al., 2009]. Bereits im Alter von 50 Jahren beginnt ein kontinuierlicher Verlust der Muskelfasern in den Extremitäten, so dass mit 80 Jahren nur noch 50% der ursprünglichen Muskelmasse vorhanden sind [Faulkner et al., 2007].

Es konnte jedoch in zahlreichen Studien gezeigt werden, dass regelmäßige Bewegung und vor allem Krafttraining diesen Beeinträchtigungen entgegenwirken kann. Nicht nur, dass eine Verbesserung der Lebensqualität damit verbunden ist, sondern auch ein vermindertes Risiko an Kardiovaskulären Krankheiten, Krebs oder Diabetes zu erkranken [Kraus et al., 2009; Powers et al., 2011].

Der wichtigste Faktor besteht dabei im Aufbau von Muskelmasse [Mayer et al., 2011].

Pearson et al. demonstrierten in ihrer Studie eindrücklich, dass kontinuierliches Krafttraining den Abfall der Muskelkraft im Alter um bis zu 20 Jahre verzögern kann [Pearson et al., 2002].

2.4 Einfluss körperlicher Aktivität auf die ROS Produktion

Doch auch bei körperlicher Anstrengung spielt oxidativer Stress eine große Rolle. Neben den Skelettmuskeln, sind Lunge, Herz sowie das Blut an der Produktion von ROS beteiligt. Im arbeitenden Muskel wird Energie in Form von ATP (Adenosintriphosphat) bereitgestellt, das in den Mitochondrien über den Elektronentransport der Atmungskette ständig neu hergestellt wird. In dieser Kette bildet molekularer Sauerstoff das letzte Glied, auf das Elektronen übertragen werden. Hier kommt es immer wieder zur Bildung hoch reaktiver ROS Zwischenprodukte, wodurch Mitochondrien ebenfalls für die Bildung erhöhter Sauerstoffradikale bei oxidativem Stress durch Sport verantwortlich sind.

Weiters kommt es durch den erhöhten Sauerstoffbedarf zu einer verstärkten Atmung, die zu einer vermehrten Aufnahme von Umweltschadstoffen führen kann. Eingeatmetes Ozon z.B. kann die Fettoxidation fördern, die folglich Radikale freisetzt.

Nach der sportlichen Belastung kommt es etwa bei Muskelschädigungen zur Ansammlung von Makrophagen und anderen Phagozyten in den geschädigten Bereichen. Doch obwohl dieser Prozess essentiell für die Heilung ist, bedeutet er gleichzeitig auch die Freisetzung erheblicher Mengen ROS aus den Phagozyten [Hartmann et al., 2000; Powers et al., 2011].

Vor allem bei intensiven und anstrengenden Trainingseinheiten zeigt sich unmittelbar danach ein deutlicher Anstieg an DNA Strangbrüchen, die jedoch bereits einen Tag später wieder deutlich reduziert sind und somit keine dauerhafte DNA Schädigung zur Folge haben [Reichhold et al., 2009].

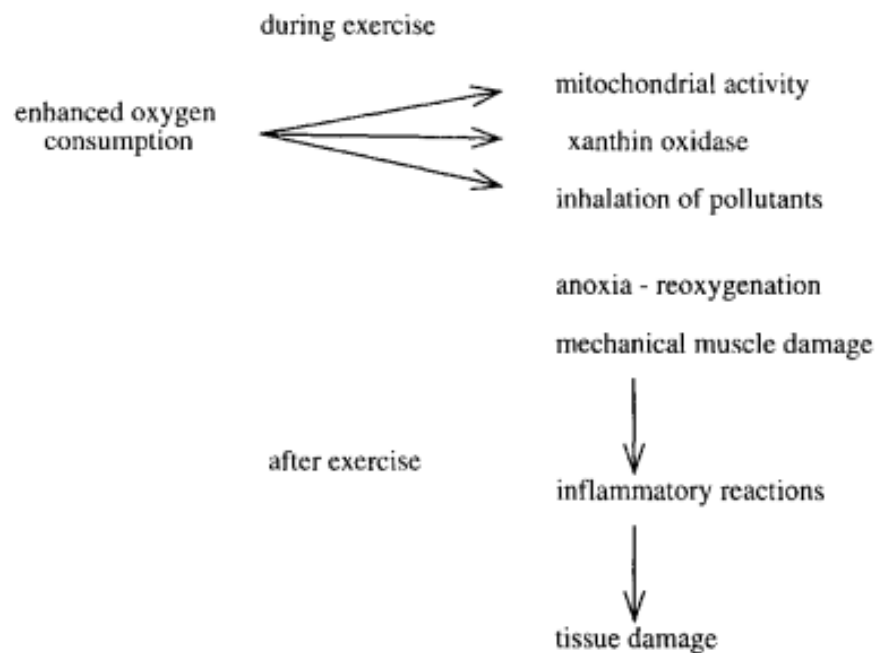


Abb. 3: Mechanismen erhöhter DNA Schädigung durch Sport.

[Hartmann et al., 2000].

2.4.1 Positive Auswirkungen körperlicher Aktivität auf DNA Schäden

Es mag paradox erscheinen, dass Sport gleichzeitig auch den durch ROS verursachten Schädigungen entgegenwirkt.

Doch Studien zeigen, dass regelmäßige Bewegung durch Erhöhung der antioxidativen Kapazität aber auch durch eine Reduktion der ROS Produktion an sich, altersbedingte Fehlfunktionen und oxidative Schäden positiv beeinflussen kann [Ascensão et al., 2005; Chakravarty et al., 2008].

Der Effekt von Bewegung auf die DNA ist stark abhängig von der Häufigkeit des Trainings (regelmäßig oder einmalig) sowie der Aktivität der DNA Reparaturenzyme [Wagner et al., 2011]. Regelmäßige aerobe Bewegung über einen langen Zeitraum vermindert den Anstieg von ROS bei einer erneuten intensiven Belastung. In diesem Fall haben geringe Mengen ROS sogar eine stimulierende Wirkung auf antioxidative Abwehrmechanismen [Shin et al., 2008].

2.4.2 Humane Interventionsstudien - Auswirkungen körperlicher Aktivität auf oxidative DNA Schäden im Alter

Mota et al. stellten in ihrer Studie mittels Comet Assay den Einfluss der aeroben Fitness (AF) auf altersassoziierte DNA Schädigung in Lymphozyten dar. Probanden im Alter zwischen 19 und 59 Jahren wurden in junge Erwachsene (n=21), Erwachsene (n=18) und Erwachsene mittleren Alters (n= 27) eingeteilt, sowie anhand ihrer maximalen Sauerstoffaufnahme ($\text{VO}_2 \text{ max.}$) in Personen mit guter bzw. schlechter Fitness aufgeteilt. Ein altersbezogener Anstieg der DNA Schädigung konnte jedoch nur in der Gruppe mit schlechter Fitness beobachtet werden. Bei den Personen mit guter Fitness wirkt diese Eigenschaft offensichtlich abschwächend auf oxidative Schäden [Mota et al., 2010].

In einer anderen Studie absolvierten 28 Probanden ($\sim 68,5 \pm 5,1$ Jahre) 14 Wochen lang ein Ganzkörper - Kräftigungstraining. Danach konnte ein signifikanter Abfall der 8-OHdG Werte im Urin festgestellt werden. Dies bekräftigt frühere Studien, wonach regelmäßige Bewegung, oxidativem Stress entgegenwirkt [Parise et al., 2005].

Aldred et al. untersuchten den Effekt einer 8 wöchigen moderaten Bewegung auf oxidative Stressparameter bei älteren Personen (n=21, Alter: 65 - 75). Nach der Intervention konnte kein signifikanter Anstieg der Parameter festgestellt werden. Folglich ist Bewegung dieser Intensität in keinem Fall schädlich und erhöht auch nicht das Risiko für Krankheiten, die mit oxidativem Stress verbunden sind [Aldred et al., 2011].

In einer von Mergener et al. durchgeführten Studie wurde ebenfalls mittels Comet Assay das Ausmaß der DNA Schädigung bei regelmäßig Sport treibenden älteren Personen ($66,3 \pm 8$ Jahre) festgestellt. Jeweils vor und nach der sportlichen Betätigung wurde bei 40 ProbandInnen (Walking und Bodybuilding Gruppe) die Schädigung eruiert und es zeigten sich signifikant höhere Werte, als zuvor [Mergener et al., 2009].

2.4.2.1 Schlussfolgerung humane Interventionsstudien

Vorliegende Studien zeigen unterschiedliche Effekte, was den Einfluss von Sport auf oxidative DNA Schäden im Alter betrifft. Dies kann zum einen daran liegen, dass verschiedene Methoden und Parameter verwendet wurden und nur ein geringer Teil der oxidativen DNA Schäden mittels Comet Assay untersucht wurde.

Zum anderen ist die Probandenzahl der meisten Studien mitunter sehr gering. Als weiterer Punkt muss angemerkt werden, dass auch die Dauer der Interventionen nur sehr kurz ist (8 – 14 Wochen) und keine langfristigen Anpassungen gemessen werden.

Außerdem handelt es sich bei den ProbandInnen häufig um Personen unter 70 Jahren.

Daher war das Ziel der Forschungsplattform Active Ageing, mittels Comet Assay die langfristigen Auswirkungen einer regelmäßigen Trainingsintervention (18 Monate) auf oxidative DNA Schäden bei älteren Personen, im Alter über 65 Jahren festzustellen.

Die vorliegende Arbeit stellt nun einen Zwischenbericht der Auswirkungen der Intervention nach 6 Monaten dar.

2.5 Comet Assay

Comet Assay oder auch „single cell gel electrophoresis“ (SCGE) ist eine der gebräuchlichsten und vielseitigsten Methoden, um Einfach- und Doppelstrangbrüche in der DNA zu messen. Sie wurde zum ersten Mal 1984 von Östling und Johanson beschrieben, die damit durch Strahlung induzierte DNA Brüche nachwiesen. Später wurde die Methode durch Singh et al [Singh et al, 1988] und Olive et al [Olive et al, 1990] adaptiert.

Mit dem heute gebräuchlichen „Alkaline Comet Assay“ können Einfach- und Doppelstrangbrüche sowie Alkali labile Stellen (z.B. apurine Stellen) erfasst werden. Um jedoch auch oxidierte Basen nachzuweisen, wird zumeist noch ein zusätzlicher Schritt eingebaut, bei dem die Zellen mit einem speziellen Enzym behandelt werden. Dieses Enzym (in unserem Fall Formamidopyrimidine DNA

Glycosylase) erkennt oxidierte Purine und wandelt diese in zusätzliche Strangbrüche um [Collins, 2004; Collins et al., 2008].

Da sie die einzigen Zellen sind, die leicht zu isolieren sind, werden hauptsächlich Lymphozyten für die Untersuchung mittels Comet Assay verwendet. Das ist zum einen von Vorteil, da sie im ganzen Körper zirkulieren und so den Gesamtstatus der oxidativen Schädigung des Körpers widerspiegeln. Andererseits muss jedoch bedacht werden, dass Lymphozyten kein Zielgewebe für Krebs darstellen. Die ermittelte DNA Schädigung darf also nicht automatisch mit einem Krebsrisiko in Verbindung gebracht werden [Collins et al., 2008].

2.5.1 Comet Assay und mitochondriale DNA

Mitochondriale DNA (mtDNA) befindet sich im Inneren der Mitochondrien und ist in keinsten Weise mit der Matrix im Zellkern verbunden. Eine Erfassung mittels Comet Assay ist fast unmöglich, da sie mit einer Größe von 11×10^6 Da einfach zu klein ist, um detektiert zu werden [Collins et al., 2008].

Zwar erscheint die mtDNA nach dem Einbetten in Agarose noch deutlich sichtbar um den Zellkern, jedoch beginnt sie sich zu zerstreuen sobald die Lyse beginnt, und nach der Elektrophorese können nur noch einige wenige Signale nachgewiesen werden [Shaposhnikov et al., 2006].

2.5.2 Prinzip

Zunächst werden die Zellen auf einem Objekträger in Agarose eingebettet und anschließend mit einer Lyselösung behandelt, um die Zell- und Kernmembran aufzubrechen [Azqueta et al., 2009]. Dadurch treten Cytoplasma und Nucleolus aus der Zelle aus und auch die Histone, um die die DNA gewunden ist, werden entfernt. Noch bleibt die DNA jedoch „supercoiled“.

Um verschiedene Arten der DNA Schädigung zu erfassen, werden die Zellen außerdem mit einem spezifischen Reparaturenzym behandelt. Die Formamido-pyrimidine DNA Glycosylase (FPG) erkennt, wie bereits in Kapitel 2.5 erwähnt, oxidierte Purine (8 oxoGua) und wandelt diese in Strangbrüche um.

In der darauf folgenden Alkali Behandlung kommt es dann zu einer „unwinding-Phase“ und die DNA entspiralisiert sich. Danach werden vorhandene DNA

Schäden mittels Elektrophorese aufgetrennt, indem die geschädigten Bruchstücke im Spannungsfeld zur Anode wandern, während intakte DNA kompakt bleibt. Den dadurch entstehenden Kometen ähnlichen Strukturen verdankt die Methode ihren Namen. Sie können nach der Färbung mit Ethidiumbromid unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden (Abb. 4) [Collins et al., 2008].

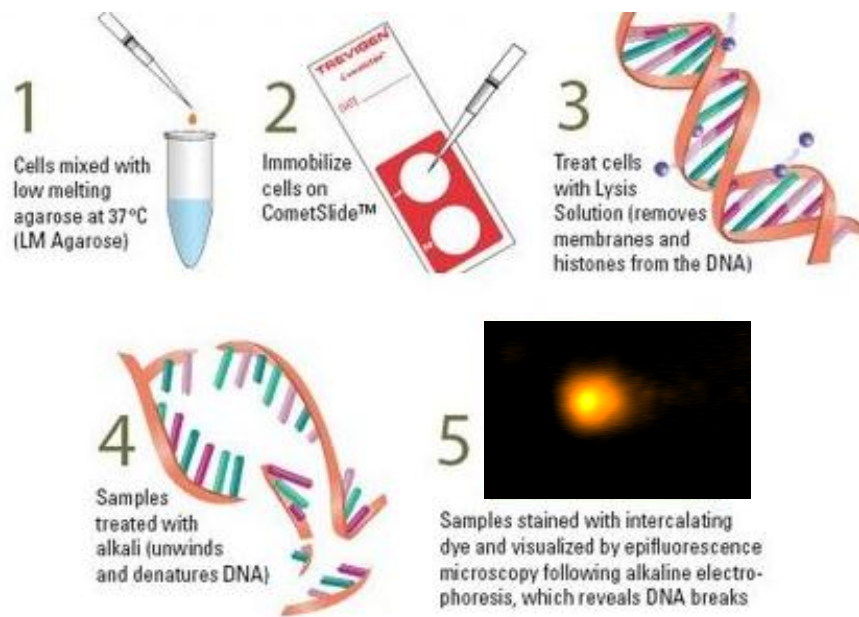


Abb. 4: Durchführung des Comet Assay.

[Biotechnology, <http://www.amsbio.com/Comet-Assays.aspx>]

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Im Zuge dieser randomisierten, Beobachter- blinden und kontrollierten Interventionsstudie wurden BewohnerInnen im Alter über 65 Jahren aus insgesamt 5 Wohnheimen rekrutiert.

Nach einer ersten Vorstellung der Studie in den Häusern konnten sich potentielle Interessenten zu weiteren Informationsveranstaltungen anmelden.

Schließlich erfolgte nach einer Eingangsuntersuchung und Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien die randomisierte Zuordnung zu einer Interventionsgruppe (Training, Training+Ernährung, Kontrolle). Insgesamt starteten 97 ProbandInnen die Studie (Tab. 2+3)

Die Trainingsgruppe erhielt 2x pro Woche ein spezielles Krafttraining, das den Richtlinien der Österreichischen Sportwissenschaftlichen Gesellschaft und den Guidelines des American College of Sports Medicine (ACSM) folgte.

Die Kontrollgruppe, als Best practice Gruppe behielt ihren momentanen Lebensstil bei. Sie erhielt Aufgaben, die keinen unmittelbaren Einfluss auf die Muskelkraft hatten, jedoch die Stärkung der Feinmotorik und kognitiven Fähigkeiten zum Ziel hatten.

3.2 Trainingsablauf

Tab. 1: Trainingsaufbau

Aufwärmen	Krafttraining	Entspannung
10 min	30 min	10 min

50 min

Das Training wurde 2x pro Woche unter Aufsicht durchgeführt und umfasste Übungen mit dem eigenen Körpergewicht und einem Theraband.

Das Aufwärmen beinhaltete neben dem allgemeinen Aktivieren und Mobilisieren auch Übungen zur Schulung des Gleichgewichts.

Beim eigentlichen Krafttraining wurden 6 Muskelgruppen mit 6-8 Übungen trainiert wobei jeweils 2 Durchgänge mit 10-15 Wiederholungen absolviert werden mussten.

Konnten beim letzten Satz einer Übung mehr als 15 Wiederholungen durchgeführt werden wurde die Intensität gesteigert und ein stärkeres Theraband verwendet.

Am Schluss folgte ein kurzes Abwärmen mit Entspannungsübungen.

3.3 Untersuchungszeitraum

Vor Beginn der Trainingsintervention wurde den ProbandInnen das erste Mal Blut abgenommen (T1). Weitere Proben wurden nach 3 Monaten (T2) und 6 Monaten (T3) Intervention genommen.

Tab. 2: Studienpopulation gesamt

	T1 vor Studienbeginn	T2 nach 3 Monaten	T3 nach 6 Monaten
Hohe Warte Untersuchung	n = 21 10/2012 + 4/2012	n = 21 1/2012 + 4/2012	n = 18 4/2012 + 7/2012
Mühlengrund Untersuchung	n = 18 10/2012 + 4/2012	n = 18 1/2012 + 4/2012	n = 16 4/2012 + 7/2012
Trazerberg Untersuchung	n = 13 10/2012 + 4/2012	n = 10 1/2012 + 4/2012	n = 8 4/2012 + 7/2012
Atzgersdorf Untersuchung	n = 17 2/2012	n = 14 5/2012	n = 14 8/2012
Leopoldau Untersuchung	n = 28 4/2012	n = 26 7/2012	-
Σ	97	89	56

Tab. 3: Probandenanzahl in den Gruppen

Trainingsgruppe	Kontrollgruppe	<i>Training & Ernährung</i>
n = 32	n = 35	n = 30

Neben den Blutproben wurden auch Muskelbiopsien entnommen und anthropometrische Daten wie Größe, Gewicht, Körperkomposition und Körperfett erhoben. Tests zur körperlichen Leistungsfähigkeit und Krafttests wurden ebenfalls durchgeführt.

3.4 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien:

- Männer und Frauen über 65 Jahren
- Mini-Mental-State >23, um sicherzustellen, dass den Anweisungen gefolgt werden kann und die Übungen anschließend selbstständig durchführbar sind.
- Fähigkeit, eine 10 m lange Strecke ohne Hilfsmittel zu gehen
- ≥ 4 Punkte bei der Short Physical Performance Battery (SPPB)

Ausschlusskriterien:

- Chronische Erkrankungen, die gegen eine medizinische Trainingstherapie sprechen
- schwerwiegende kardiovaskuläre Krankheiten
 - Dekompensierte chronische Herzinsuffizienz,
 - hochgradige oder symptomatische Aortenstenose,
 - instabile Angina pectoris,
 - nicht behandelte arterielle Hypertonie,
 - Herzrhythmusstörungen
- diabetische Retinopathie
- manifeste Osteoporose
- Antikoagulantia (Bsp.: Marcumar)
- Regelmäßige Einnahme von Cortison haltigen Medikamente

- regelmäßiges Krafttraining (>1x / Woche) in den letzten 6 Monaten vor dem Einschluss
- fehlende schriftliche Einverständnis zur Testung der körperlichen Leistungsfähigkeit
- in der Trainingsgruppe: bei Teilnahme an weniger als 70% der möglichen Trainingseinheiten bzw. bei weniger als 3 Einheiten in den letzten beiden Wochen vor den einzelnen Tests

3.5 Materialien und Geräte

Tab. 4: Verwendete Materialien und Geräte

Material/Gerät	Hersteller	Produktnummer
Countess automated cell counter	invitrogen	C10227
Countess cell counting chamber slide	invitrogen	C10283
Deckgläser 20x20	VWR	631-1568
Deckgläser 22x22	VWR	631-1570
Elektrophorese Power Supply	peqLab	EV231
Fluoreszenzmikroskop (40x/0,65)	Zeiss	038-03241
Leucosepröhrchen 12mL	Greiner Bio One GmbH	163288
Lumen 200 (Lampe für Fluoreszenzmikroskop)	Prior	L200D
Megafuge 1.0R	Thermo	40768330
pH-Meter	Metrohm	
Slides	VWR	631-1551
Vacurette 9mL Lithium Heparin (Heparinröhrchen)	Greiner Bio One GmbH	455084
Zentrifuge 5417R	eppendorf	
Zentrifugenröhrchen, Super Clear 50mL	VWR	525-0159

3.6 Chemikalien

Tab. 5: Verwendete Chemikalien

Substanz	Hersteller	Produktnummer
2-(4-(2-Hydroxyethyl)- 1-piperazinyl) -ethansulfonsäure Hepes (minimum 99,5% titration)	Sigma Life Science	7365-49-9
Bovine Serum Albumin (BSA)	Sigma Life Science	A 2153-50G
Dimethylsulfoxide >99,5% (DMSO)	Sigma Life Science	67-68-5
Dulbecco`s Phosphate buffered Saline (PBS)	Sigma Life Science	D 8537
Ethidiumbromid 10mg/mL	Sigma Life Science	056 K 8907
Ethylenediamine Tetraacetic acid (EDTA)	Sigma Life Science	60-00-4
Fetal Bovine Serum (FBS)	PAA- The cell culture company	A15-101
Glycerol 99%	Sigma Life Science	G 901-2
Hydrochloric Acid $\geq$ 25% (HCL)	Roth	6331.4
Hydrogen peroxide solution, 30% in H ₂ O, stabilisiert (H ₂ O ₂)	Sigma Life Science	H1009
Potassium Chloride (KCL)	Merck	49.360.500
Potassium Hydroxid >86% (KOH)	Sigma Life Science	60370
RPMI-1640 (without L-Glutamine)	PAA- The cell culture company	E15-039
Sodium Chloride (NaCl)	Sigma Life Science	7647-14-5
Sodium hydroxide pellets (NaOH)	Sigma Life Science	1310-73-2
Triton-X-100	Sigma Life Science	9002-93-1
Trizma-base	Sigma Life Science	77-86-1
Trypan blue stain 0,4%	invitrogen	761866
Ultra Pure Agarose (NMA)	invitrogen	16500-100
Ultra Pure LMP Agaraose (low melting point)	invitrogen	16520-050

3.7 Herstellung der Lösungen

Alle Lösungen wurden bis zur Verwendung bei 4°C aufbewahrt bzw. kurz vor der Verwendung gekühlt.

Normal Melting Agarose (NMA)

800 mg NMA gelöst in 80ml bidest. Wasser

Low Melting Agarose (LMA)

200 mg LMA gelöst in 20ml PBS

Lyselösung (pH = 10)

	<u>Menge für 2 Liter</u>
2,5 M NaCl	292,200 g
0,1 M EDTA	58,400 g
10mM Tris	2,422 g

Mit 10M flüssiger NaOH wurde der pH auf 10 eingestellt.

Kurz vor der Verwendung wurde pro 100 ml Lyselösung 1ml Triton X-100 hinzugefügt und am Magnetrührer vermischt.

Elektrophoreselösung (pH = 13)

	<u>Menge für 2 Liter</u>
0,3 M NaOH	24,00 g
0,001 M EDTA	0,58 g

H₂O₂ Stocklösung

Um eine 0,1M Stocklösung zu erhalten, wurden 10,3 µl einer 30 prozentigen Wasserstoffperoxidlösung mit 1 ml bidest. Wasser vermischt.

Für die H₂O₂ – Behandlung wurden 80 µl dieser Stocklösung mit 80ml bidest. Wasser vermengt.

10-fach konzentrierte Enzympuffer - StocklösungMenge für 2 Liter

40 mM HEPES	95,30 g
0,1M KCl	74,56 g
0,5 mM EDTA	1,46 g
0,2 mg/ml BSA	2,00g

Anschließend wurden 50 ml Aliquots gebildet und bei -20°C aufbewahrt.

Für die Verwendung wurden die 50 ml Aliquot jeweils 1:10 verdünnt und der pH mittels 1M KOH auf 8 eingestellt.

FPG-Lösung

1 ml Enzympuffer

100 µl Glycerol

Aus dieser Enzympuffer-Glycerolmischung wurden jeweils 245 µl mit 5 µl FPG Stocklösung vermischt. Daraus wurden Aliquots zu je 30 µl gebildet und bei -80°C aufbewahrt.

NeutralisationspufferMenge für 2 Liter

0,4 M Tris Base	96,88 g
-----------------	---------

Mit konzentrierter HCL wurde anschließend ein pH von 7,5 eingestellt.

Ethidiumbromid

10µl der Ethidiumbromid Stocklösung (10µg/ml) wurden mit 5 ml bidest. Wasser auf eine Konzentration von 20µg/ml verdünnt.

3.8 Comet Assay – Durchführung

Die Durchführung des Comet Assays erfolgte nach dem Protokoll von Azqueta et al [Azqueta et al., 2009].

Pro Proband und Kontrolle wurden jeweils 2 Gele mit Lyse bzw. H_2O_2 sowie je 3 Gele mit FPG behandelt.

3.8.1 Objektträger beschichten

Zum Auftragen auf die Slides wurde die bereits hergestellte NMA in einem Becherglas in der Mikrowelle wieder flüssig gemacht. Anschließend wurden die Objektträger nacheinander in die Agarose getaucht und die Rückseiten gut gesäubert. Die beschichteten Objektträger wurden bei Raumtemperatur gelagert.

3.8.2 Lymphozyten Isolation

Das in Heparin-Röhrchen befindliche Vollblut wurde zuerst auf Leucosep-Röhrchen überführt und bei 1000 rcf/g für 15 min bei 16°C zentrifugiert. Anschließend wurde die Lymphozytensuspension (PBMCs) mit Kreisbewegungen abgenommen, in ein neues Röhrchen überführt und mit kaltem PBS auf 15 ml aufgefüllt. Nach 5 maligem über Kopf schwenken wurde bei 1300 rpm für 15 min bei 4°C zentrifugiert. Es folgte das Absaugen des Überstands und anschließende Zugabe von 1 ml PBS zum Lösen des Zellpellets. Danach wurde mit 10 ml PBS aufgefüllt, weitere 5 Mal über Kopf geschwenkt und bei 1300 rpm, 10 min bei 4°C zentrifugiert. Nach dem Absaugen des Überstandes wurden die Zellen in 1 ml PBS resuspendiert und die Zellzahl mittels „Countess“ bestimmt. Dazu wurden 10 µl Zellsuspension mit 10 µl Trypanblau vermischt und daraus 10 µl in die „Countess cell counting chamber slides“ pipettiert. Die so bestimmte Lebend - Zellzahl und Viabilität wurden notiert und die passende Menge PBS berechnet (Abb.5-7).

Es wurde eine Menge von mindestens 150 µl Zellsuspension mit einer Konzentration von 1×10^6 Zellen/ml benötigt.



Abb. 5: Trypanblau, Cellcounting chamber slides, Countess

3.8.3 Herstellen der Eigenblutkontrollen

Die Lymphozyten der Eigenblutkontrollen wurden nach demselben Prinzip wie in 3.6.2 isoliert. Allerdings mussten diese noch mit einer Nährlösung versetzt werden, um bei -80°C im TK-Schrank überleben zu können.

Diese Nährlösung setzte sich aus 60 % FBS, 30% RPMI und 10% DMSO zusammen und wurde in derselben Menge wie das zuvor abgesaugte PBS zugegeben. Daraus konnte danach die Zellsuspension in Cups gefüllt werden und bis zur Verwendung bei -80°C gelagert werden.

Zur Verwendung mussten die Lymphozyten nur noch gewaschen und die Zellzahl bestimmt werden.

3.8.4 Aufbringen auf Objektträger

Die beschichteten und mit Probandennummer, Untersuchungszeitpunkt sowie Art der Behandlung beschrifteten Objektträger wurden auf gekühlten Edelstahltablets aufgelegt.

Für die Agarosegele wurden 30 μl Zellsuspension mit einer Konzentration von 1×10^6 Zellen/ml in einem Cup mit 140 μl 1% LMA vermischt. Davon wurden 70 μl jeweils links und rechts auf das Slide pipettiert und sofort mit einem 20 mm Deckglas bedeckt. Zum Aushärten der Gele wurden die Tablets für 10 min bei 4°C gekühlt. Nach dieser Zeit wurden die Cover Slips vorsichtig entfernt.

3.8.5 Behandlung mit H₂O₂

Hierfür wurden die Objektträger in Glaskammern für 5 min bei 4°C in der zuvor hergestellten H₂O₂ Lösung inkubiert. Im Anschluss wurde das H₂O₂ durch Waschen mit bidest. Wasser wieder entfernt.

3.8.6 Lyse

Für diese Behandlung wurden die Slides für mindestens 1 h bei 4°C in Glaskammern gesteckt und mit Lyselösung bedeckt. Für die mit H₂O₂ behandelten Objektträger wurden separate Kammern verwendet.

3.8.7 Behandlung mit Enzymen

Vor der Behandlung wurden die mit „FPG“ und „Puffer“ beschrifteten Objektträger 3-mal für 5 min bei 4°C in Enzympuffer gewaschen. Durch Tupfen auf Papier wurde dieser wieder entfernt.

Danach wurden jeweils 50 µl Puffer bzw. FPG auf die entsprechenden Gele pipettiert und mit einem 22 mm Deckglas bedeckt. In einer „moist box“ wurden die Slides bei 37°C für 30 min inkubiert.

Die mit „Lyse“ und „H₂O₂“ beschrifteten Objektträger blieben während dieser Behandlung weiterhin in der Lyselösung.

3.8.8 Alkalibehandlung

Die Elektrophorese wurde in der Kühlkammer aufgestellt, mit einer Wasserwaage tariert und danach mit den Slides befüllt. Leere Objektträger wurden zum Auffüllen der Reihen verwendet. Anschließend wurde der Elektrophorese-puffer zugegeben bis die Slides bedeckt waren. Die Inkubationszeit betrug 20 min.

3.8.9 Elektrophorese

Nach dem Ende der Alkalibehandlung wurde die Elektrophorese für 30 min bei 25 V und rund 300 mA gestartet. Die Stromstärke wurde durch Zugabe oder Entfernung von Puffer eingestellt.

3.8.10 Neutralisation

Zum Waschen wurden die Objektträger in Glaskammern für 5 min bei 4°C mit Neutralisationspuffer behandelt, gefolgt von 5 min Behandlung mit H₂O.

Danach wurden die Slides auf der Rückseite abgewischt und zum Trocknen aufgelegt.

3.8.11 Färben

30 µl der hergestellten Ethidiumbromid-Lösung wurden auf die Mitte des Gels pipettiert und mit einem 22 mm Deckglas bedeckt. Alle an einem Tag gefärbten Gele mussten auch am selben Tag ausgezählt werden.

3.8.12 Auszählen

Zum Auszählen der gefärbten Gele und zur Bestimmung der DNA Schädigung wurde das mit einem Fluoreszenz-Mikroskop verbundene Programm „Comet 5.5“ verwendet. Pro Gel wurden 50 Zellen nach einem festgelegten Schema gezählt (pro Slide 100 Zellen). Dazu wurde jedes Gel in 10 Reihen unterteilt. Pro Reihe wurden 5 Zellen gezählt, wobei nur jede 5. Zelle gezählt wurde.

Mittels Programm wurde der Prozentsatz an DNA im Schweif bestimmt (% tail DNA) und ein Mittelwert berechnet.

3.8.13 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS 19.0. Zu Beginn wurde eine Prüfung der Daten auf Normalverteilung mit dem Kolmogorov-Smirnov Test durchgeführt. Um die Mittelwerte zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten zu vergleichen, wurde ein t - Test bei verbundenen Stichproben durchgeführt. Der Effekt der Trainingsintervention im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde mittels t – Test bei abhängigen Stichproben dargestellt.

Da während des Untersuchungszeitraumes auf ein Enzym geringerer Aktivität gewechselt wurde, mussten anhand der Eigenblutkontrollen zwei Korrekturfaktoren errechnet werden, um den Aktivitätsabfall des neuen Enzyms zu bereinigen.

4 Ergebnisse und Diskussion

Zur Berechnung der Ergebnisse wurden nur jene ProbandInnen herangezogen, von denen sowohl Werte zum Zeitpunkt T1 als auch T2 und T3 vorhanden waren (Tab. 2). Die Ausreißer bereinigten Daten sind in den folgenden Kapiteln dargestellt.

4.1 Parameter der Studienpopulation vor Interventionsbeginn (T1)

4.1.1 Altersverteilung und BMI

Tab. 6 zeigt die Altersverteilung und den BMI der Trainings- bzw. Interventionsgruppe zum Zeitpunkt T1. Dabei sind die ProbandInnen der Kontrollgruppe etwas älter als jene der Trainingsgruppe, jedoch nicht signifikant ($p = 0,33$). Auch der BMI ist nicht signifikant niedriger als jener der Trainingsgruppe ($p = 0,06$).

Tab. 6: Altersverteilung und BMI vor Studienbeginn

	Training	Kontrolle
N	18	18
Alter (Jahren)	83,76 ± 5,01	85,47 ± 5,50
BMI (kg/m ²)	29,65 ± 3,91	26,63 ± 4,56

Die Daten stellen die Mittelwerte (MW) ± Standardabweichung (SD) dar

4.1.2 Oxidative DNA Schädigung

Werte der oxidativen DNA Schädigung, der Widerstandsfähigkeit gegenüber H₂O₂ induzierter DNA Schädigung sowie Werte oxidierten Basen (Purine) vor Interventionsbeginn sind in Tab. 7 aufgeführt. Es zeigt sich hier kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Zwar ist das Ausmaß der DNA Schädigung bei den mit Lyse bzw. H₂O₂ behandelten Zellen in der Trainingsgruppe etwas höher, doch nicht signifikant ($p = 0,17$ bzw $p = 0,67$). Die Werte oxidierten Purine sind in der Kontrollgruppe etwas höher, jedoch ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,18$).

Tab. 7: oxidative DNA Schäden (% DNA im Schweiß) vor Studienbeginn

	Training	Kontrolle
Lyse	7,08 ± 2,71	6,01 ± 1,45
H ₂ O ₂	28,71 ± 7,24	27,72 ± 6,38
FPG	9,40 ± 3,77	11,98 ± 5,26

Die Daten stellen die Mittelwerte (MW) ± Standardabweichung (SD) dar

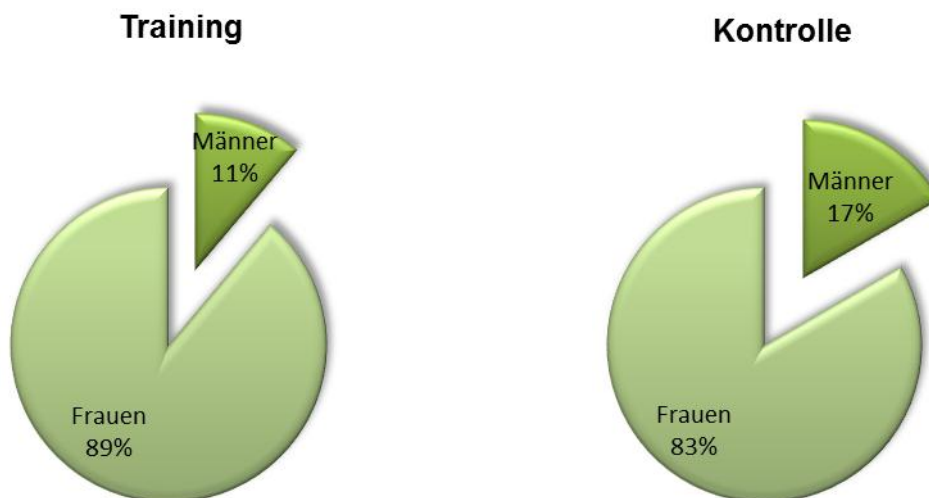
4.1.3 Geschlechterverteilung

Sowohl in der Trainings- als auch in der Kontrollgruppe setzte sich die Studienpopulation zum überwiegenden Teil aus Frauen zusammen (Tab. 8)

Dies steht im Einklang mit einem Bericht des Deutschen Zentrums für Altersfragen, wonach bereits 74% aller Pflegebedürftigen ab 70 weiblich sind.

Auch eine von der Statistik Austria durchgeführte Studie zu geschlechtsspezifischen Unterschieden in Österreich ergab einen Frauenanteil von 74% bei den 85 – 89 Jährigen.

Zu erklären ist dies vor allem durch die durchschnittlich höhere Lebenserwartung der Frauen mit 81,5 Jahren gegenüber jener der Männer mit nur 75,5 Jahren. Doch auch die Tatsache, dass Frauen häufiger von Krankheitsbildern mit langfristigem Pflegebedarf betroffen sind, trägt zu einer signifikant höheren Frauenrate in den Pensionistenheimen bei [Hoffmann et al., 2007; Statistik-Austria, 2007, 2012].



Tab. 8: Geschlechterverteilung der Kontroll- und Interventionsgruppe.

4.2 Ergebnisse der Intervention nach 6 Monaten (T3)

4.2.1 Einfluss der Trainingsintervention auf den Body Mass Index

Wie in Abb. 6 dargestellt, hatte die Intervention keine Änderung der BMI Werte zur Folge. Sowohl in der Trainings- als auch in der Kontrollgruppe blieben die Daten nach 6 Monaten auf demselben Niveau, wie zu Studienbeginn.

Bei Erwachsenen gilt ein BMI von $18,5 - 24,9 \text{ kg/m}^2$ als optimal. Ein BMI von $>25,0 \text{ kg/m}^2$, wie er auch bei den ProbandInnen dieser Studie auftritt, wird dagegen bereits als Übergewicht definiert. Bei Werten $>30,0 \text{ kg/m}^2$ spricht man von Adipositas [DGE, 2006].

Seit einiger Zeit wird jedoch über den idealen BMI Bereich, gerade bei älteren Personen, diskutiert.

Bahat et al. untersuchten in einem Pflegeheim 254 ältere Personen auf ihre körperliche Funktionsfähigkeit und ihren Ernährungszustand. Es stellte sich heraus, dass vor allem höhere BMI Werte mit einer besseren Funktionalität verbunden waren. Weiters wurde selbst noch bei Personen mit einem BMI von $25 - 29,9 \text{ kg/m}^2$ Mangelernährung festgestellt [Bahat et al., 2012].

Bereits Beck et al. schlugen daher in ihrem Review die Anhebung des optimalen BMI Bereiches bei Personen >65 Jahren auf $24 - 29,9 \text{ kg/m}^2$ vor [Beck et al., 1998].

Ausgehend von dieser Empfehlung befand sich also die gesamte Studienpopulation zu jedem Zeitpunkt in einem optimalen BMI Bereich und weder in der Trainings- noch in der Kontrollgruppe war nach 6 Monaten eine Zu- oder Abnahme feststellbar.

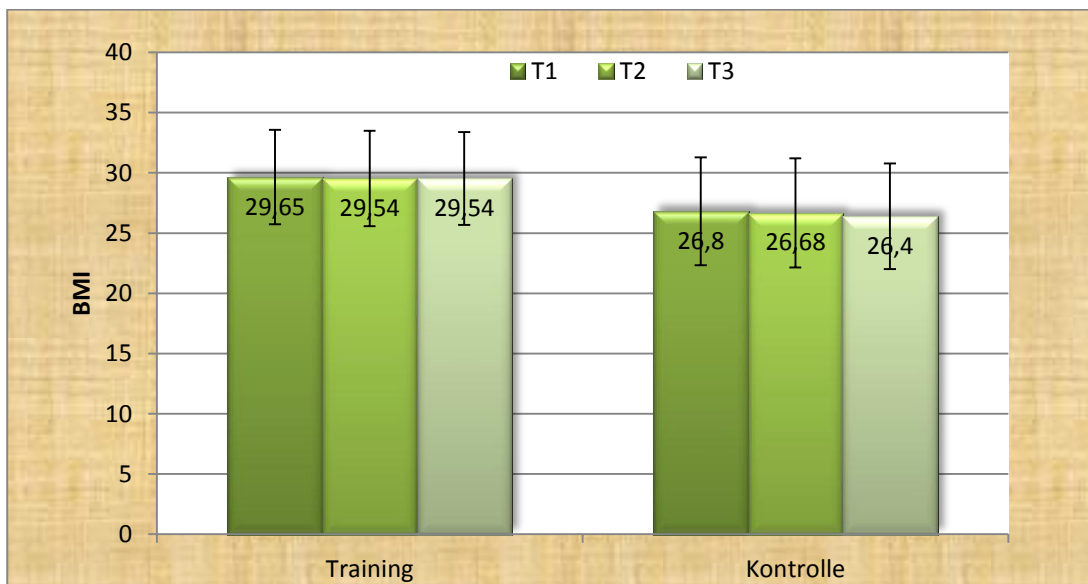


Abb. 6: Konstanter BMI in beiden Gruppen nach 6 monatiger Intervention.

4.2.2 Einfluss der Intervention auf die oxidative DNA Schädigung

Nach 6 monatiger Intervention konnte in der Trainingsgruppe keine signifikante Änderung der oxidativen DNA Schädigung (Abb. 7) nachgewiesen werden (T_1 : $7,08 \pm 2,71$; T_3 : $9,03 \pm 1,63$; $p = 0,074$).

In der Kontrollgruppe, die lediglich Aufgaben zur Stärkung der Feinmotorik und kognitiven Fähigkeiten erhielt, zeigte sich jedoch ein signifikanter Anstieg der oxidativen DNA Schädigung um 39,27% ($p < 0,05$).

Diese Daten stehen nun im Einklang mit jenen von Mota et al. Sie konnten in ihrer Studie eine signifikante Erhöhung der oxidativen DNA Schädigung im Alter nachweisen, jedoch lediglich bei Personen mit geringem Fitnesslevel. Bei den Personen mit hohem Fitnesszustand schwächte dieser Umstand offensichtlich die DNA Schädigung ab [Mota et al., 2010].

Auch Goon et al. untersuchten den Anteil geschädigter DNA. Sie stellten ebenfalls bei den Personen mit regelmäßiger körperlicher Anstrengung (n = 35, Tai Chi) einen signifikant geringeren Anteil mittel bis schwer geschädigter DNA fest, als bei den ProbandInnen mit hauptsächlich sitzendem Lebensstil (n = 35) [Goon et al., 2008].

Da unsere Daten der oxidativen DNA Schädigung in der Trainingsgruppe zwar einen Anstieg zeigen, dieser jedoch im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant ist, liegt die Vermutung nahe, dass durch die sportliche Aktivität die Schädigung nicht so stark ausgeprägt war.

Humphreys et al. weisen jedoch darauf hin, dass es sehr schwer ist, die Hintergrundschädigung der DNA zu interpretieren, da es sich hier sowohl um apurine bzw. apyrimidine Stellen, als auch um Strangbrüche handeln kann, die als Zwischenprodukte bei der DNA Reparatur auftreten. In Lymphozyten können Brüche auch bei der genetischen Rekombination entstehen, die z.B. bei der Stimulierung des Immunsystems eine Rolle spielt [Humphreys et al., 2007].

Es bleibt auf jeden Fall abzuwarten, wie sich die Werte im weiteren Verlauf der Studie entwickeln.

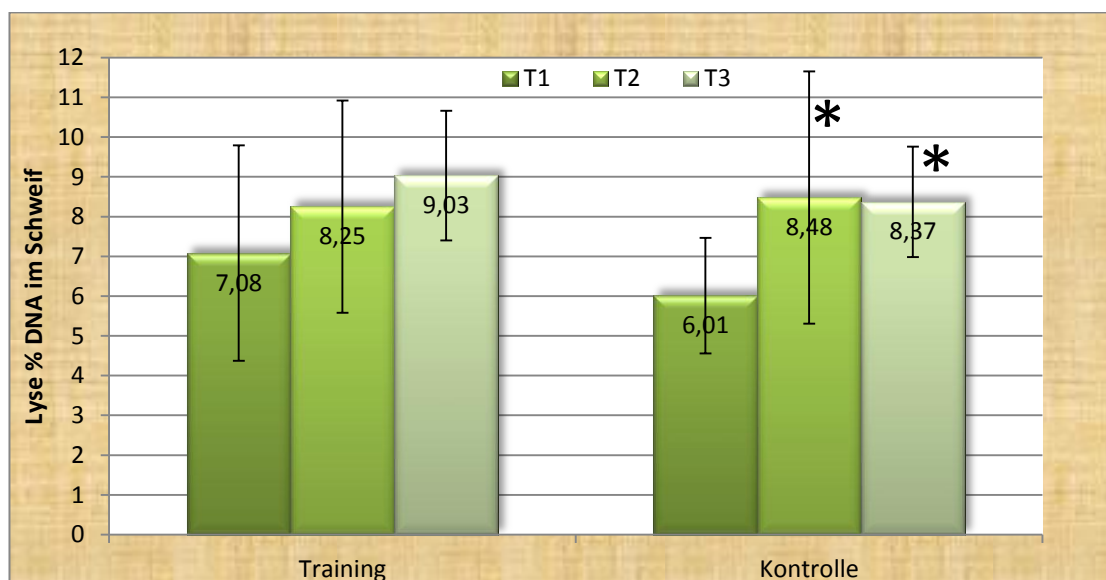


Abb. 7: Signifikante Steigerung der oxidativen DNA Schädigung in der Kontrollgruppe (* zeigt einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu T₁; T₁ = vor Studienbeginn, T₂ = nach 3 Monaten, T₃ = nach 6 Monaten).

4.2.3 Einfluss der Intervention auf H₂O₂ induzierte DNA Schädigung

In Bezug auf H₂O₂ induzierte DNA Schädigung zeigte sich sowohl in der Trainings- als auch in der Kontrollgruppe eine signifikante Änderung der Werte (Abb. 8) Nach 6 monatiger Intervention betrug die Abnahme der Schädigung in der Interventionsgruppe 26,7% ($p = 0,002$). ($T_1: 28,71 \pm 7,24; T_3: 21,06 \pm 4,42$)

In der Kontrollgruppe war eine signifikante Abnahme der Werte um 19,1% feststellbar ($p = 0,016$). ($T_1: 27,72 \pm 6,38; T_3: 22,44 \pm 4,53$)

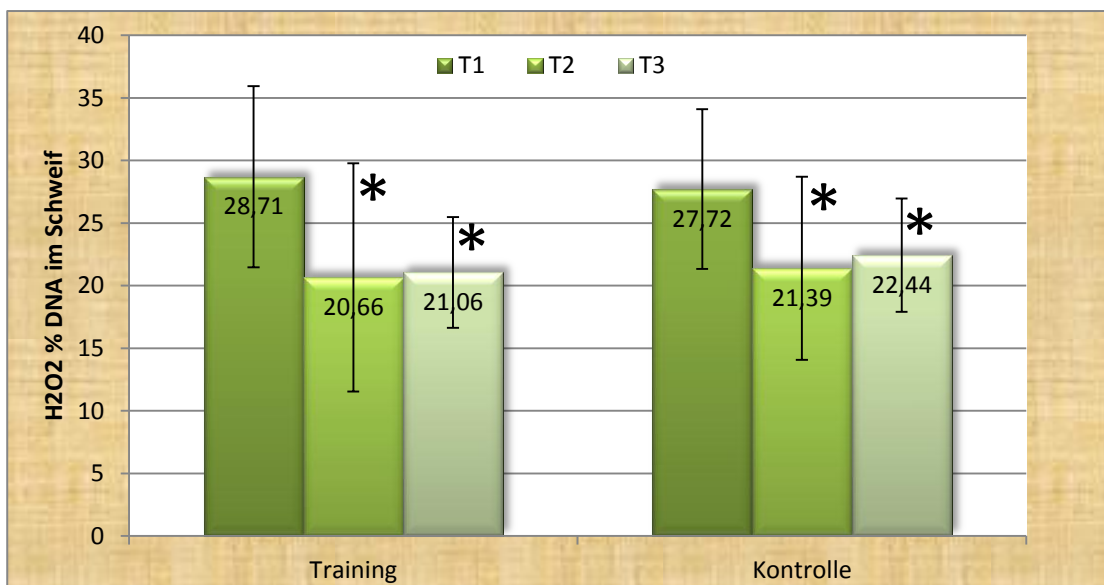


Abb. 8: Signifikante Abnahme H₂O₂ induzierter DNA Schädigung, sowohl in der Kontroll- als auch in der Trainingsgruppe
 (* zeigt einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu T₁; T₁ = vor Studienbeginn, T₂ = nach 3 Monaten, T₃ = nach 6 Monaten).

Dies kann nun zum einen durch eine generelle Abnahme der ROS Produktion resultieren, aber auch eine erhöhte antioxidative Enzymaktivität sowie eine gesteigerte Aktivität der Reparaturenzyme sind ein möglicher Grund für den Anstieg der Resistenz gegenüber H₂O₂.

Shin et al. konnten zum Beispiel nach einem 6 monatigen aeroben Training einen Anstieg der Superoxiddismutase bei Frauen mittleren Alters feststellen und zeigen, dass ein langfristiges aerobes Training zur Erhöhung der antioxidativen Schutzsysteme führt [Shin et al., 2008].

Eine ebenfalls in diesem Zusammenhang erwähnenswerte Studie, wurde von Humphreys et al. durchgeführt. Bei 97 Personen, aufgeteilt auf 3 Altersgruppen

(20-35, 63-70 und 75-82), wurde nach Behandlung der Lymphozyten mit H_2O_2 , das Ausmaß der DNA Schädigung festgestellt. Als einzigen Unterschied muss jedoch angemerkt werden, dass diese ProbandInnen keiner körperlichen Belastung ausgesetzt waren. Trotzdem stellte sich die Gruppe der 75-82 Jährigen als jene, mit der größten antioxidativen Widerstandsfähigkeit gegenüber H_2O_2 heraus [Humphreys et al., 2007].

Auch Tierstudien haben sich mit dem Einfluss einer Trainingsintervention auf antioxidative Mechanismen auseinandergesetzt.

Lambertucci et al. untersuchten in ihrer an Ratten durchgeführten Studie, den Effekt eines aeroben Trainings auf antioxidative Enzymaktivitäten bei jungen (2 Monate alt) und alten (21 Monate alt) Tieren. Nach 13 wöchiger Intervention konnte bei den älteren Tieren aber keine Zunahme der Enzymaktivität festgestellt werden, jedoch eine signifikante Abnahme des oxidativen Stress im Musculus soleus (Schollenmuskel) [Lambertucci et al., 2007].

Die Ergebnisse unserer Studie spiegeln nun die in der Literatur vorhandenen Daten und zeigen eine signifikante Verbesserung der antioxidativen Widerstandsfähigkeit gegenüber H_2O_2 .

4.2.4 Einfluss der Intervention auf oxidierte Purine

Bei den oxidierten Purinen (Abb. 9) war ebenfalls in der Trainings- wie auch in der Kontrollgruppe eine konstante Abnahme der Werte nachweisbar. Der Rückgang von 35,96% in der Interventionsgruppe bzw. 23,28% in der Kontrollgruppe war jedoch in beiden Gruppen nicht signifikant ($p = 0,091$ bzw. $p = 0,199$). Ein Grund dafür sind vor allem die hohen Standardabweichungen (Training: T_1 : $9,40 \pm 3,77$; T_3 : $6,02 \pm 4,11$; Kontrolle: T_1 : $11,98 \pm 5,26$; T_3 : $9,19 \pm 6,22$).

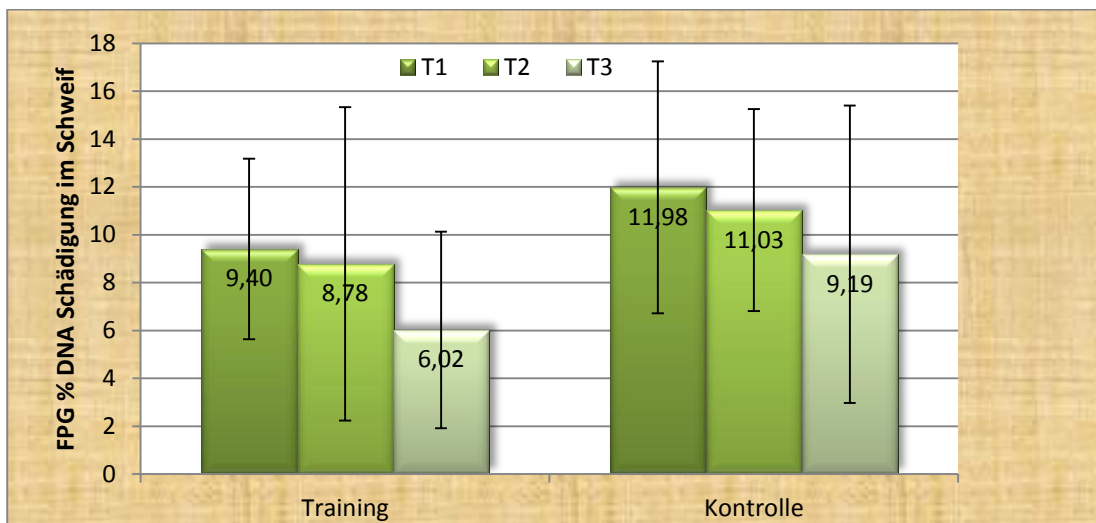


Abb. 9: Konstante, jedoch nicht signifikante Abnahme oxidierter Basen in der Kontroll- und Interventionsgruppe (T₁ = vor Studienbeginn, T₂ = nach 3 Monaten, T₃ = nach 6 Monaten).

Noch gibt es kaum Humanstudien über die Auswirkungen von Sport auf oxidierte Purine bei älteren Personen.

Mota et al. hatten zum Ziel, den Einfluss der aeroben Fitness auf die altersbezogene Schädigung der DNA zu untersuchen. Eine Zunahme der oxidierten Purine konnte jedoch nur bei den Probanden mit geringem Fitnesszustand festgestellt und ein Zusammenhang zwischen Training und Abnahme oxidierter Basen dargestellt werden [Mota et al., 2010].

Die zuvor schon erwähnte Studie von Humphrey et al. untersuchte ebenfalls mittels FPG das Ausmaß der geschädigten Basen im Alter, ohne Einfluss sportlicher Aktivität. Im Gegensatz zur H₂O₂ Schädigung wies hier jedoch die Gruppe der 75-82 Jährigen die höchste Schädigung auf. Bei der Aktivitätsmessung des DNA-Reparaturenzyms OGG1 (8-oxoguanin-DNA Glykosylase) zeigte sich aber eine signifikante Zunahme mit dem Alter [Humphreys et al., 2007].

Auch einige Tierstudien, haben sich mit diesem Thema auseinandergesetzt.

Radak et al. gelang es, nach einem 8 wöchigen regelmäßigem Training eine gesteigerte Aktivität von OGG1 im Skelettmuskel von Ratten nachzuweisen und somit einen verstärkten Abbau oxidierter Guanine [Radak et al., 2009].

Unsere Studie liefert nun ähnliche Ergebnisse. Zwar sind die Werte aufgrund der hohen Standardabweichung nicht signifikant, die kontinuierlich abnehmende Schädigung deutet jedoch auf einen Abbau der oxidierten Purine durch OGG1 hin, der mit zunehmender Trainingsdauer einhergeht. Somit bestätigen diese Werte auch jene der H_2O_2 induzierten DNA Schädigung und bekräftigen die Notwendigkeit körperlicher Bewegung für ein langes und gesundes Leben.

4.2.5 Ursachen für die positiven Effekte in der Kontrollgruppe

Sowohl bei den mit H_2O_2 , als auch mit FPG behandelten Lymphozyten der ProbandInnen der Kontrollgruppe, war ein ähnlich positiver Effekt, wie bei der Interventionsgruppe zu erkennen. Es stellt sich nun die Frage, worauf diese Verbesserung in der DNA Schädigung zurückzuführen ist.

Humphreys et al. vermuten, dass Personen, die bereits zu einem früheren Zeitpunkt in ihrem Leben eine hohe antioxidative Abwehr und eine gesteigerte Aktivität der DNA Reparaturenzyme besessen haben, dadurch auch im hohen Alter, besser auf erhöhte DNA Schädigung reagieren können [Humphreys et al., 2007].

Eine andere Möglichkeit besteht darin, dass es im Alter grundsätzlich zu einer Stimulierung der antioxidativen Abwehr und der DNA Reparatur kommt, ausgelöst durch ein höheres Maß an oxidativem Stress. Hierzu existieren in der Literatur jedoch unterschiedliche Daten.

Während Humphreys et al. einerseits einen Anstieg in der Grundschädigung der DNA und der oxidierten Purine feststellten, sowie einen Abfall in der H_2O_2 induzierten Schädigung, konnten Mutlu-Türkoglu auch bei den H_2O_2 Werten einen Anstieg verzeichnen [Humphreys et al., 2007; Mutlu-Türkoglu et al., 2003].

Studien von Holmen et al. und Tomaka et al. geben jedoch noch eine dritte Möglichkeit vor. Sie zeigen, wie wichtig im Alter ein funktionierendes soziales Netzwerk für das subjektive Wohlbefinden und der Genesung bei Krankheit sind. Gerade im Alter ist der Verlust des/r Partner/in keine Seltenheit und die Betroffenen ziehen sich in der Folge oftmals zurück. Nicht selten mit dem Er-

gebnis einer Verschlechterung des Gesundheitszustandes. [Holmén et al., 2002; Tomaka et al., 2006].

Folglich kann das Mitwirken an einer Studie, wie unserer, allein schon durch das regelmäßige Treffen in der Gruppe und der Beschäftigung mit einfachen Gedächtnisaufgaben zu einer Verbesserung des subjektiven Wohlbefindens führen. Durch den Einfluss auf das Immunsystem trägt dieser Effekt schließlich auch zur Verbesserung des objektiven Gesundheitszustandes bei und wie die Daten zeigen, offensichtlich auch zu einer verbesserten Resistenz gegenüber oxidativen Einflüssen.

4.2.6 Zusammenhang von Alter und oxidativen DNA Schäden in der Interventionsgruppe

Personen unter 85 Jahren zeigten keine signifikante Änderung oxidativer DNA Schäden ($p = 0,583$; T1: $7,73 \pm 3,19$; T3: $8,58 \pm 1,62$), während bei den älteren Probanden (≥ 85 Jahren) ein signifikanter Anstieg von 61,16% im Vergleich zu T1 festgestellt werden konnte ($p = 0,003$; T1: $6,05 \pm 1,40$; T3: $9,75 \pm 1,52$).

Jedoch wiesen Personen über 85 Jahren eine signifikant niedrigere H_2O_2 induzierte DNA Schädigung auf (35,39%; $p = 0,022$), als vor Studienbeginn (T1: $31,45 \pm 8,38$; T3: $20,32 \pm 4,61$).

Bei den Probanden unter 85 Jahren zeigte sich ebenso eine verminderte DNA Schädigung durch H_2O_2 , allerdings nicht signifikant (18,33%; $p = 0,051$; T1: $26,51 \pm 5,69$; T3: $21,65 \pm 4,42$).

Weiters war eine Abnahme oxidiert Purine feststellbar, die bei den Personen über 85 Jahren mit 49,78% (T1: $11,25 \pm 4,48$; T3: $5,65 \pm 4,64$) weitaus stärker ausfiel, als bei den etwas Jüngeren (< 85 Jahren). Hier betrug die Abnahme lediglich 19,70% (T1: $7,87 \pm 2,48$; T3: $6,32 \pm 4,04$). In beiden Fällen waren die Werte jedoch nicht signifikant ($p = 0,088$ bzw. $p = 0,568$), was hier vor allem auf die hohen Standardabweichungen zurückzuführen ist (Abb. 10).

Insgesamt stimmen diese Ergebnisse mit den Werten der gesamten Interventionsgruppe überein und bestätigen den positiven Einfluss der Trainingsintervention auf die oxidative DNA Schädigung bei älteren Personen. Zwar ist die oxida-

tive Grundscheidung der DNA bei den >85Jährigen signifikant höher, es zeigt sich aber ebenso ein signifikanter Anstieg des antioxidativen Schutzes und ein Abfall der oxidierten Purine um 49,78%.

Aufgrund der sehr geringen Datenlage über die Auswirkungen einer Trainingsintervention auf oxidative DNA Schäden in dieser Altersgruppe, sollten jedoch in jedem Fall noch weitere Studien folgen, um eine sichere wissenschaftliche Aussage treffen zu können.

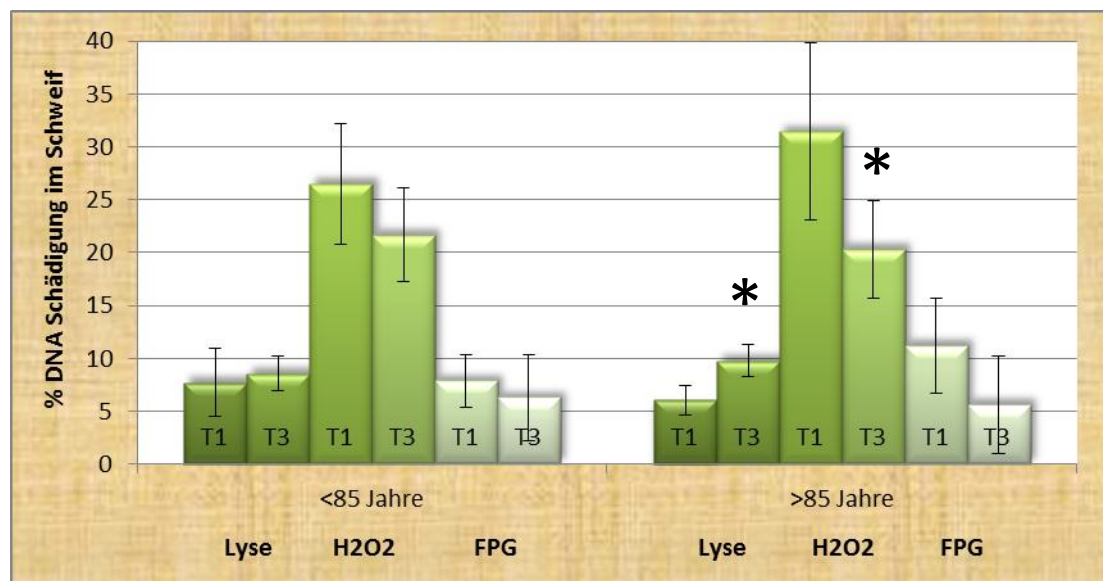


Abb. 10: Stärkere Abnahme oxidativer Schäden H_2O_2 und FPG behandelter Zellen bei Personen ≥ 85 , im Vergleich zu jüngeren Personen
 (* zeigt einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu T_1 ; T_1 = vor Studienbeginn, T_3 = nach 6 Monaten).

4.2.6.1 Einfluss des Trainings auf H_2O_2 induzierte DNA Schädigung bei Personen ≥ 85 Jahren

Abb. 11 hebt nun den positiven Effekt der 6 monatigen Trainingsintervention auf H_2O_2 induzierte DNA Schädigung bei den über 85 Jährigen, im Vergleich zur Kontrollgruppe noch einmal hervor. Die Abnahme der Schädigung betrug in der Interventionsgruppe 35,39% ($p = 0,022$; T_1 : $31,45 \pm 8,38$; T_3 : $20,32 \pm 4,61$) während sie in der Kontrollgruppe nur um 14,05% sank ($p = 0,173$; T_1 : $26,56 \pm 5,38$; T_3 : $23,45 \pm 4,93$).

Diese Daten unterstreichen erneut, dass selbst bei Personen ≥ 85 Jahren, Sport und Bewegung positive Effekte auf die Gesundheit haben. Die dargestell-

ten Werte zeigen eine deutliche, signifikante Verbesserung der antioxidativen Widerstandsfähigkeit gegenüber H_2O_2 in dieser Altersgruppe.

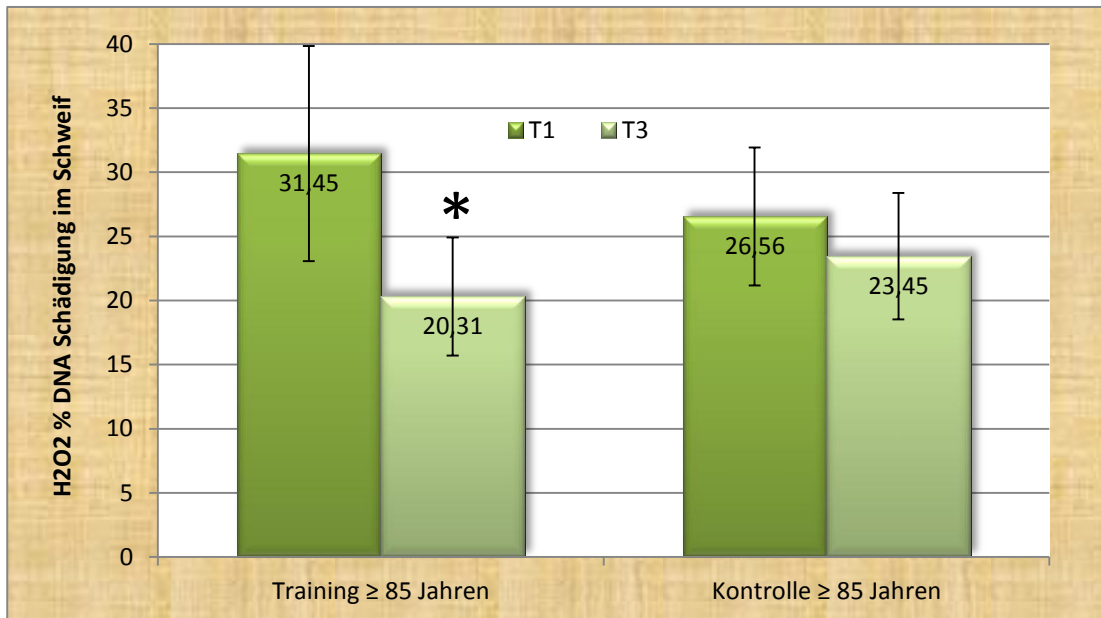


Abb. 11: Signifikante Abnahme H_2O_2 induzierter DNA Schädigung in der Trainingsgruppe bei Personen ≥ 85 Jahren im Vergleich zur Kontrollgruppe
 (* zeigt einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu T_1 ; T_1 = vor Studienbeginn, T_3 = nach 6 Monaten).

4.2.6.2 Einfluss der Intervention auf oxidative DNA Schäden bei 75 - 79 Jährigen im Vergleich zu 80 - 84 Jährigen

Betrachtet man nun das Ausmaß der oxidativen DNA Schädigung in der Gruppe der 75 – 79 Jährigen (Abb. 12), so erkennt man hier einen deutlichen Abfall der Werte, die jedoch aufgrund der hohen Standardabweichung nicht signifikant sind (25,94%; $p = 0,525$). Auch das Maß der H_2O_2 induzierten DNA Schädigung ist in dieser Altersgruppe mit 26,25% ($p = 0,027$) signifikant reduziert. Bei den oxidierten Purinen zeigt sich wiederum ein nicht signifikanter Anstieg von 37,21% ($p = 0,566$).

In der Altersgruppe der 80 – 84 Jährigen konnte ein signifikanter Anstieg der oxidativen Schädigung nachgewiesen werden (42, 79%; $p = 0,007$). Dagegen sinken die Werte der H_2O_2 induzierten DNA Schädigung um 8,68% ($p = 0,583$) und jene der oxidierten Purine um 58,23% ($p = 0,124$).

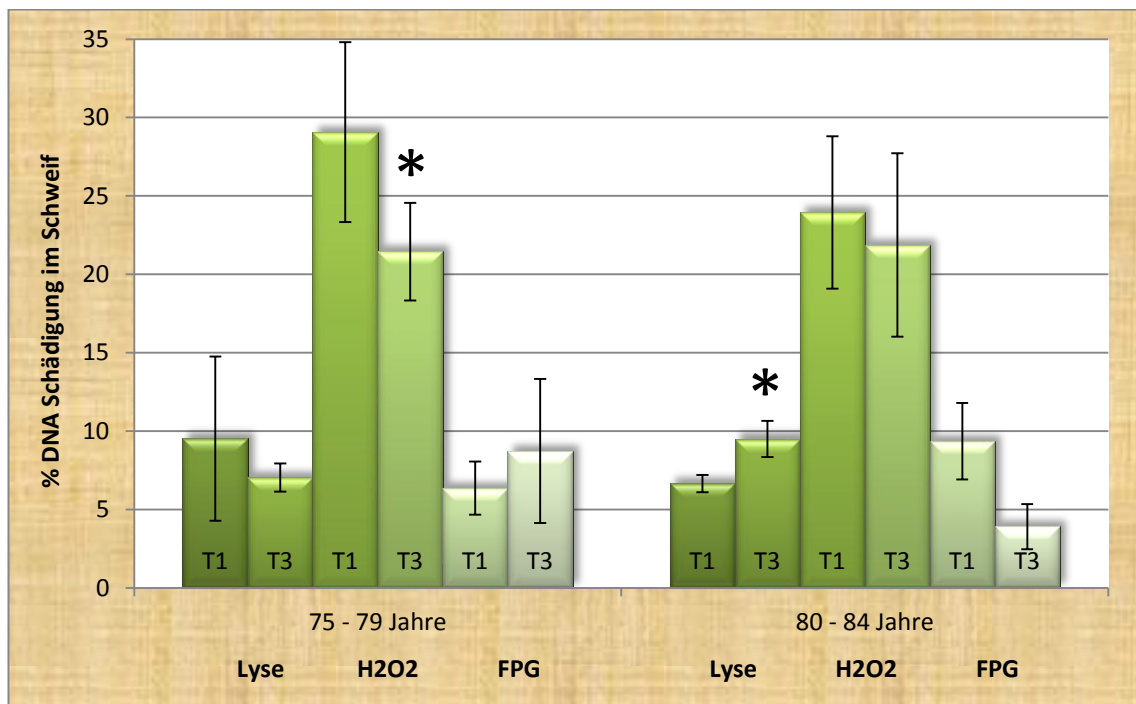


Abb. 12: Oxidative DNA Schädigung bei 75 - 79 Jährigen im Vergleich zu 80 - 84 Jährigen (* zeigt einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu T₁; T₁ = vor Studienbeginn, T₃ = nach 6 Monaten).

Was diese Daten betrifft, so müssen auch hier noch weitere Studien folgen, um eine sichere Aussage treffen zu können. Vor allem durch die sehr geringe Probandenzahl in den einzelnen Altersgruppen, fällt eine eindeutige Interpretation der Ergebnisse sehr schwer.

Anhand der Resultate in der gesamten Studienpopulation, kann jedoch der positive Effekt dieser Intervention auf die oxidative DNA Schädigung im Alter nur noch einmal unterstrichen werden.

5 Schlussbetrachtung

Ein bei institutionalisierten PensionistInnen durchgeführtes Krafttraining, resultierte nach einer Dauer von 6 Monaten in einer signifikanten Änderung der oxidativen DNA Schädigung. Diese Änderungen waren sowohl in der Interventions- als auch in der Kontrollgruppe zu beobachten.

Vor Beginn der Intervention wiesen beide Gruppen ein vergleichbares Maß an oxidativer DNA Schädigung auf.

Nach 6 Monaten zeigte sich in der Trainingsgruppe kein Unterschied der oxidativen Grundschädigung, während in der Kontrollgruppe ein signifikanter Anstieg festgestellt werden konnte.

Betrachtet man die Ergebnisse der H_2O_2 induzierten DNA Schädigung, konnte sowohl in der Trainings- als auch in der Kontrollgruppe, mit 26,7% bzw. 19,1%, Reduktion eine signifikante Verbesserung der antioxidativen Widerstandsfähigkeit gegenüber H_2O_2 nachgewiesen werden.

Besonders in der Altersklasse über 85 Jahren konnte der positive Effekt der Trainingsintervention noch einmal deutlich veranschaulicht werden.

Bei den oxidierten Purinen waren in beiden Gruppen, aufgrund der hohen Standardabweichungen, keine signifikanten Änderungen nachweisbar. Die kontinuierliche Abnahme der Werte deutet jedoch auf eine, mit fortdauerndem Training einhergehende, Reduktion der oxidierten Purine.

Diese Ergebnisse bekräftigen daher zweifellos die positiven Auswirkungen von körperlicher Bewegung auf das Ausmaß oxidativer DNA Schädigung, besonders für Personen über 65 Jahre.

Gleichzeitig lässt die Verbesserung der Werte in der Kontrollgruppe auf eine Stimulierung der antioxidativen Abwehr und der DNA Reparatur im Alter an sich schließen. Aber auch das regelmäßige Treffen in der Gruppe und die Beschäftigung mit einfachen Gedächtnisaufgaben könnten zu einer Verbesserung des subjektiven Wohlbefindens und schließlich auch des objektiven Gesundheitszustandes mit einer verbesserten Resistenz gegenüber oxidativen Einflüssen von außen führen.

Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse sind, aufgrund der schlechten internationalen Datenlage, noch weitere Studien notwendig, um diese Resultate zu bestätigen.

6 Zusammenfassung

Um die Auswirkungen eines 6 monatigen Krafttrainings auf oxidative Schäden der DNA bei älteren, institutionalisierten Personen zu erfassen, wurde im Zuge der Forschungsplattform Active Ageing eine randomisierte, Beobachterblinde und kontrollierte Interventionsstudie durchgeführt.

Insgesamt konnten 97 ProbandInnen über 65 Jahren aus 5 Pensionistenheimen rekrutiert und zufällig der Interventions- und Kontrollgruppe zugeordnet werden. Die Trainingsgruppe erhielt 2x pro Woche ein spezielles Krafttraining, während die Kontrollgruppe ihren momentanen Lebensstil beibehielt und lediglich Aufgaben zur Stärkung der Feinmotorik und kognitiven Fähigkeiten erhielt.

Zur Untersuchung der oxidativen DNA Schädigung wurde den ProbandInnen vor Beginn der Intervention und anschließend alle drei Monate Blut abgenommen.

Die aus diesem Blut isolierten Lymphozyten wurden anschließend für die Detektion der Einzel- und Doppelstrangbrüche, sowie der Widerstandsfähigkeit gegenüber H_2O_2 , mittels Comet Assay herangezogen. Zusätzlich wurde mittels FPG auch noch das Ausmaß oxidierter Purine untersucht.

Die Ergebnisse zeigen keine signifikante Änderung der oxidativen Grundschädigung in der Interventionsgruppe, jedoch einen signifikanten Anstieg der Schädigung von 39,27% in der Kontrollgruppe.

Bei der Widerstandsfähigkeit gegenüber H_2O_2 induzierter DNA Schädigung konnte sowohl in der Interventions- als auch in der Kontrollgruppe eine signifikante Verbesserung der Werte von 26,7% bzw. 19,1% festgestellt werden.

Vor allem bei Personen über 85 Jahren konnte die Abnahme der Schädigung durch die Trainingsintervention mit 61,16% verglichen mit den Ausgangswerten noch einmal deutlich demonstriert werden.

In Bezug auf die oxidierten Purine war in beiden Gruppen eine konstante, jedoch nicht signifikante Abnahme der Werte feststellbar.

Zusammenfassend bekräftigen diese Ergebnisse die positiven Auswirkungen von körperlicher Bewegung auf das Ausmaß oxidativer DNA Schäden bei Personen über 65 Jahren.

7 Summary

To detect the effects of six-month strength training on oxidative DNA damage in elderly subjects, a double blind, randomized, controlled intervention study was conducted within the research platform Active Ageing.

A total of 97 participants aged 65 years and older were recruited from 5 retirement homes and randomly assigned to control or intervention group.

In the Intervention group special strength training was carried out twice a week while the control group maintained their current lifestyle and only strengthened their fine motor skills and cognitive abilities.

For oxidative DNA damage analysis with the comet assay blood samples were taken before intervention and every three months.

These samples were then used to isolate lymphocytes in order to measure single- and double strand breaks as well as resistance to H_2O_2 .

Furthermore FPG was used to detect oxidised purines.

The results of the study showed no significant changes in oxidative DNA damage in the intervention group but a significant increase by 39,27% in the control group.

Resistance to H_2O_2 induced oxidative DNA damage showed a significant improvement in both groups. Levels decreased by 26,7% in the intervention group and by 19,1% in the control group.

Especially in subjects aged 85 years and older the positive effect of the trainings intervention was clearly demonstrated. There was a significant decrease of H_2O_2 induced oxidative DNA damage by 61,16% compared to baseline.

Oxidised purines remained constant.

In conclusion our results confirm the positive effects of physical activity on oxidative DNA damage, particularly in subjects which are 65 years and older.

Literaturverzeichnis

- Aldred, Sarah, & Rohalu, Manjit. (2011). A moderate intensity exercise program did not increase the oxidative stress in older adults. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 53(3), 350-353. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archger.2010.12.002>
- Ames, B N, Shigenaga, M K, & Hagen, T M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922.
- Ascensão, António, Magalhães, José, Soares, José M. C., Ferreira, Rita, Neuparth, Maria J., Marques, Franklim, . . . Duarte, José A. (2005). Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced in vivo mitochondriopathy and reduces the development of cardiac apoptosis. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 289(2), H722-H731. doi: 10.1152/ajpheart.01249.2004
- Atamna, Hani, Cheung, Ivana, & Ames, Bruce N. (2000). A method for detecting abasic sites in living cells: Age-dependent changes in base excision repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(2), 686-691. doi: 10.1073/pnas.97.2.686
- Azqueta, A., Shaposhnikov, S., & Collins, A. R. (2009). DNA oxidation: investigating its key role in environmental mutagenesis with the comet assay. *Mutat Res*, 674(1-2), 101-108. doi: 10.1016/j.mrgentox.2008.10.013
- Bahat, Gulistan, Tufan, Fatih, Saka, Bulent, Akin, Sibel, Ozkaya, Hilal, Yucel, Nurullah, . . . Karan, Mehmet Akif. (2012). Which body mass index (BMI) is better in the elderly for functional status? *Archives of Gerontology and*

Geriatrics, 54(1), 78-81. doi:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.archger.2011.04.019>

Barnett, Y. A., & King, C. M. (1995). An investigation of antioxidant status, DNA repair capacity and mutation as a function of age in humans. *Mutation Research/DNAging*, 338(1–6), 115-128. doi:
[http://dx.doi.org/10.1016/0921-8734\(95\)00017-Z](http://dx.doi.org/10.1016/0921-8734(95)00017-Z)

Barzilai, Ari, & Yamamoto, Ken-Ichi. (2004). DNA damage responses to oxidative stress. *DNA Repair*, 3(8–9), 1109-1115. doi:
 10.1016/j.dnarep.2004.03.002

Beck, A. M., & Ovesen, L. (1998). At which body mass index and degree of weight loss should hospitalized elderly patients be considered at nutritional risk? *Clinical Nutrition*, 17(5), 195-198. doi:
[http://dx.doi.org/10.1016/S0261-5614\(98\)80058-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0261-5614(98)80058-7)

Biotechnology, AMS. Standardised DNA Damage quantitation with the CometAssay® Electrophoresis System, from
<http://www.amsbio.com/Comet-Assays.aspx>

Boiteux, Serge, Gajewski, Ewa, Laval, Jacques, & Dizdaroglu, Miral. (1992). Substrate specificity of the *Escherichia coli* Fpg protein formamidopyrimidine-DNA glycosylase: excision of purine lesions in DNA produced by ionizing radiation or photosensitization. *Biochemistry*, 31(1), 106-110. doi: 10.1021/bi00116a016

Caldecott, Keith W. (2008). Single-strand break repair and genetic disease. [10.1038/nrg2380]. *Nat Rev Genet*, 9(8), 619-631.

- Chakravarty, Ef, B., Hubert H., B., Lingala V., & F., Fries J. (2008). Reduced disability and mortality among aging runners: A 21-year longitudinal study. *Archives of Internal Medicine*, 168(15), 1638-1646. doi: 10.1001/archinte.168.15.1638
- Chan, Sam W., Nguyen, Phuong-Nam, Ayele, David, Chevalier, Simone, Aprikian, Armen, & Chen, Junjian Z. (2011). Mitochondrial DNA damage is sensitive to exogenous H₂O₂ but independent of cellular ROS production in prostate cancer cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 716(1-2), 40-50. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.07.019
- Chauhan, Ved, & Chauhan, Abha. (2006). Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Pathophysiology*, 13(3), 195-208. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pathophys.2006.05.004>
- Chen, Hsieh, Wanhua Annie, Tsai, Mong-Hsun, Chen, Chien-Chih, Hong, Antonio Ic, Wei, Yau-Huei, & Chang, Wushou P. (2003). Age-associated Decrease of Oxidative Repair Enzymes, Human 8-Oxoguanine DNA Glycosylases (hOgg1), in Human Aging. *Journal of Radiation Research*, 44(1), 31-35.
- Chen, Kuang-Hua, Srivastava, Deepak K., Singhal, Rakesh K., Jacob, Sam, Ahmed, Ahmed E., & Wilson, Samuel H. (2000). Modulation of base excision repair by low density lipoprotein, oxidized low density lipoprotein and antioxidants in mouse monocytes. *Carcinogenesis*, 21(5), 1017-1022. doi: 10.1093/carcin/21.5.1017
- Collins, A. R. (2004). The Comet Assay for DNA Damage and Repair: Principles, Applications, and Limitations. *Molecular Biotechnology*, 26, 249-261.

-
- Collins, A. R., Oscoz, A. A., Brunborg, G., Gaivao, I., Giovannelli, L., Kruszewski, M., . . . Stetina, R. (2008). The comet assay: topical issues. *Mutagenesis*, 23(3), 143-151. doi: 10.1093/mutage/gem051
- Collins, Andrew R., Ai-guo, Ma, & Duthie, Susan J. (1995). The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cells. *Mutation Research/DNA Repair*, 336(1), 69-77. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0921-8777\(94\)00043-6](http://dx.doi.org/10.1016/0921-8777(94)00043-6)
- Collins, Andrew R., Gedik, Catherine M., Olmedilla, Begoña, Southon, Susan, & Bellizzi, Mary. (1998). Oxidative DNA damage measured in human lymphocytes: large differences between sexes and between countries, and correlations with heart disease mortality rates. *The FASEB Journal*, 12(13), 1397-1400.
- COOKE, MARCUS S., EVANS, MARK D., DIZDAROGLU, MIRAL, & LUNEC, JOSEPH. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 17(10), 1195-1214. doi: 10.1096/fj.02-0752rev
- Cooke, Marcus S., Olinski, Ryszard, & Evans, Mark D. (2006). Does measurement of oxidative damage to DNA have clinical significance? *Clinica Chimica Acta*, 365(1-2), 30-49. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2005.09.009>
- De Flora, S, Izzotti, A, Walsh, D, Degan, P, Petrilli, G L, & Lewtas, J. (1997). Molecular epidemiology of atherosclerosis. *The FASEB Journal*, 11(12), 1021-1031.

DGE, Deutsche Gesellschaft für Ernährung E.V. (2006). Die Deutschen werden immer dicker Retrieved 10.01.2013, 2013, from <http://www.dge.de/modules.php?name=News&file=article&sid=576>

Dizdaroglu, Miral, Jaruga, Pawel, Birincioglu, Mustafa, & Rodriguez, Henry. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1102-1115. doi: 10.1016/s0891-5849(02)00826-2

Faulkner, John A., Larkin, Lisa M., Claflin, Dennis R., & Brooks, Susan V. (2007). AGE-RELATED CHANGES IN THE STRUCTURE AND FUNCTION OF SKELETAL MUSCLES. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34(11), 1091-1096. doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04752.x

Gackowski, Daniel, Kruszewski, Marcin, Jawien, Arkadiusz, Ciecierski, Marek, & Olinski, Ryszard. (2001). Further evidence that oxidative stress may be a risk factor responsible for the development of atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(4), 542-547. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00614-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00614-1)

Gackowski, Daniel, Speina, Elzbieta, Zielinska, Maja, Kowalewski, Janusz, Rozalski, Rafal, Siomek, Agnieszka, . . . Olinski, Ryszard. (2003). Products of Oxidative DNA Damage and Repair as Possible Biomarkers of Susceptibility to Lung Cancer. *Cancer Research*, 63(16), 4899-4902.

Golden, Tamara R., & Melov, Simon. (2001). Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 122(14), 1577-1589. doi: 10.1016/s0047-6374(01)00288-3

- Goon, J A PhD, A H Noor Aini, MMedSc, M Musalmah, PhD, M Y Yasmin Anum, PhD, & W Z Wan Ngah, PhD. (2008). Long Term Tai Chi Exercise Reduced DNA Damage and Increased Lymphocyte Apoptosis and Proliferation in Older Adults. *Med J Malaysia Vol 63* (No 4), 319 - 324.
- Gough, D. R., & Cotter, T. G. (2011). Hydrogen peroxide: a Jekyll and Hyde signalling molecule. *Cell Death and Dis*, 2, e213.
- Halliwell, B. , & Gutteridge, J.M.C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine* (4th ed.). New York: Oxford University Press.
- Harman. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry *J Gerontol*, 11(3), 298-300. doi: 10.1093/geronj/11.3.298
- Harman. (1972). The biologic clock: the mitochondria? *Journal of the American Geriatrics Society*, 20(4), 145-147.
- Hartmann, Andreas, & Niess, Andreas M. (2000). Chapter 9 - Oxidative DNA damage in exercise. In M. D. Ph D. Osmo O.P. Hänninen (Ed.), *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise* (pp. 195-217). Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Hayakawa, Mika, Sugiyama, Satoru, Hattori, Kazuki, Takasawa, Masaaki, & Ozawa, Takayuki. (1993). Age-associated damage in mitochondrial DNA in human hearts. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 119(1-2), 95-103. doi: 10.1007/bf00926859
- Hoffmann, Elke, & Nachtmann, Juliane. (2007). Alter und Pflege. In Deutsches Zentrum für Altersfragen (Ed.), *Report Altersfragen* (Vol. 03).

- Holmén, Karin, & Furukawa, Hidetochi. (2002). Loneliness, health and social network among elderly people—a follow-up study. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 35(3), 261-274. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4943\(02\)00049-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4943(02)00049-3)
- Humphreys, Vikki, Martin, Richard M., Ratcliffe, Brian, Duthie, Susan, Wood, Sharon, Gunnell, David, & Collins, Andrew R. (2007). Age-related increases in DNA repair and antioxidant protection: A comparison of the Boyd Orr Cohort of elderly subjects with a younger population sample. *Age and Ageing*, 36(5), 521-526. doi: 10.1093/ageing/afm107
- Hyland, Paul, Duggan, Orla, Turbitt, Julie, Coulter, James, Wikby, Anders, Johansson, Boo, . . . Barnett, Yvonne. (2002). Nonagenarians from the Swedish NONA Immune Study have increased plasma antioxidant capacity and similar levels of DNA damage in peripheral blood mononuclear cells compared to younger control subjects. *Experimental Gerontology*, 37(2–3), 465-473. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5565\(01\)00216-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5565(01)00216-9)
- Kasai, Hiroshi. (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 387(3), 147-163. doi: 10.1016/s1383-5742(97)00035-5
- Koopman, René, & van Loon, Luc J. C. (2009). Aging, exercise, and muscle protein metabolism. *Journal of Applied Physiology*, 106(6), 2040-2048. doi: 10.1152/jappphysiol.91551.2008
- Kraus, William E., & Slentz, Cris A. (2009). Exercise Training, Lipid Regulation, and Insulin Action: A Tangled Web of Cause and Effect. *Obesity*, 17(S3), S21-S26. doi: 10.1038/oby.2009.384

- Kuchino, Y., Mori, F., Kasai, H., Inoue, H., Iwai, S., Miura, K., . . . Nishimura, S. (1987). Misreading of DNA templates containing 8-hydroxydeoxyguanosine at the modified base and at adjacent residues. [10.1038/327077a0]. *Nature*, 327(6117), 77-79.
- Lambertucci, Rafael H., Levada-Pires, Adriana Cristina, Rossoni, Luciana V., Curi, Rui, & Pithon-Curi, Tania C. (2007). Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, 128(3), 267-275. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2006.12.006>
- Lin, Michael T., & Flint Beal, M. (2003). The oxidative damage theory of aging. *Clinical Neuroscience Research*, 2(5–6), 305-315. doi: 10.1016/s1566-2772(03)00007-0
- Linnane, A. W., Marzuki, S., Ozawa, T., & Tanaka, M. (1989). Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to ageing and degenerative diseases. *Lancet*, 1(8639), 642-645.
- Mayer, F., Scharhag-Rosenberger, F., Carlsohn, A., Cassel, M., Muller, S., & Scharhag, J. (2011). The intensity and effects of strength training in the elderly. *Dtsch Arztebl Int*, 108(21), 359-364. doi: 10.3238/arztebl.2011.0359
- Mecocci P, Polidori M. Cherubini A., & et al. (2002). LYmphocyte oxidative dna damage and plasma antioxidants in alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 59(5), 794-798. doi: 10-1001/pubs.Arch Neurol.-ISSN-0003-9942-59-5-noc10282

Mecocci, Patrizia, Fanó, Giorgio, Fulle, Stefania, MacGarvey, Usha, Shinobu, Leslie, Polidori, M. Cristina, . . . Beal, M. Flint. (1999). Age-dependent increases in oxidative damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3–4), 303-308. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00208-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00208-1)

Mergener, Michelle, Martins, Maclóvia Rosso, Antunes, Marina Venzon, da Silva, Caroline Calice, Lazzaretti, Camilla, Fontanive, Tiago Oselane, . . . Gamaro, Giovana Duzzo. (2009). Oxidative stress and DNA damage in older adults that do exercises regularly. *Clinical Biochemistry*, 42(16–17), 1648-1653. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.08.001

Migliore, L., Fontana, I., Trippi, F., Colognato, R., Coppedè, F., Tognoni, G., . . . Siciliano, G. (2005). Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes of mild cognitive impairment and AD patients. *Neurobiology of Aging*, 26(5), 567-573. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2004.07.016>

Migliore, L., Petrozzi, L., Lucetti, C., Gambaccini, G., Bernardini, S., Scarpato, R., . . . Bonuccelli, U. (2002). Oxidative damage and cytogenetic analysis in leukocytes of Parkinson's disease patients. *Neurology*, 58(12), 1809-1815. doi: 10.1212/wnl.58.12.1809

Morgan, William F., Corcoran, James, Hartmann, Andreas, Kaplan, Mark I., Limoli, Charles L., & Ponnaiya, Brian. (1998). DNA double-strand breaks, chromosomal rearrangements, and genomic instability. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 404(1–2), 125-128. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0027-5107\(98\)00104-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0027-5107(98)00104-3)

Moskalev, Alexey A., Shaposhnikov, Mikhail V., Plyusnina, Ekaterina N., Zhavoronkov, Alex, Budovsky, Arie, Yanai, Hagai, & Fraifeld, Vadim E.

(2012). The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria. *Ageing Research Reviews*(0). doi: 10.1016/j.arr.2012.02.001

Mota, MariaPaula, Peixoto, FranciscoM, Soares, JorgeF, Figueiredo, PedroA, Leitão, JoséC, Gaivão, Isabel, & Duarte, JoséA. (2010). Influence of aerobic fitness on age-related lymphocyte DNA damage in humans: relationship with mitochondria respiratory chain and hydrogen peroxide production. *AGE*, 32(3), 337-346. doi: 10.1007/s11357-010-9138-8

Mutlu-Türkoğlu, Ümit, İlhan, Ebru, Öztezcan, Serdar, Kuru, Alev, Aykaç-Toker, Gülçin, & Uysal, Müjdat. (2003). Age-related increases in plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in elderly subjects. *Clinical Biochemistry*, 36(5), 397-400. doi: 10.1016/s0009-9120(03)00035-3

Olinski, Ryszard, Siomek, Agnieszka, Rozalski, Rafal, Gackowski, Daniel, Foksinski, Marek, Guz, Jolanta, . . . Tudek, Barbara. (2007). Oxidative damage to DNA and antioxidant status in aging and age-related diseases. *Acta Biochimica Polonica*, 54(1), 11-26.

Olive, Peggy L., Banáth, Judit P., & Durand, Ralph E. (1990). Heterogeneity in Radiation-Induced DNA Damage and Repair in Tumor and Normal Cells Measured Using the "Comet" Assay. *Radiation Research*, 122(1), 86-94. doi: 10.2307/3577587

Parise, Gianni, Brose, Andrea N., & Tarnopolsky, Mark A. (2005). Resistance exercise training decreases oxidative damage to DNA and increases cytochrome oxidase activity in older adults. *Experimental Gerontology*, 40(3), 173-180. doi: 10.1016/j.exger.2004.09.002

- Pearson, S. J., Young, A., Macaluso, A., Devito, G., Nimmo, M. A., Cobbold, M., & Harridge, S. D. (2002). Muscle function in elite master weightlifters. *Medicine and science in sports and exercise*, 34(7), 1199-1206.
- Powers, Scott K., Nelson, W. Bradley, & Hudson, Matthew B. (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 942-950. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.009>
- Radak, Zsolt, Atalay, Mustafa, Jakus, Judit, Boldogh, István, Davies, Kelvin, & Goto, Sataro. (2009). Exercise improves import of 8-oxoguanine DNA glycosylase into the mitochondrial matrix of skeletal muscle and enhances the relative activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 46(2), 238-243. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.10.022>
- Reichhold, Stefanie, Neubauer, Oliver, Hoelzl, Christine, Stadlmayr, Barbara, Valentini, Judit, Ferk, Franziska, . . . Wagner, Karl-Heinz. (2009). DNA damage in response to an Ironman triathlon. *Free Radical Research*, 43(8), 753-760. doi: doi:10.1080/10715760903040628
- Roberts, Christian K., & Sindhu, Kunal K. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, 84(21–22), 705-712. doi: 10.1016/j.lfs.2009.02.026
- Shaposhnikov, Sergey, Larsson, Chatarina, Henriksson, Sara, Collins, Andrew, & Nilsson, Mats. (2006). Detection of Alu sequences and mtDNA in comets using padlock probes. *Mutagenesis*, 21(4), 243-247. doi: 10.1093/mutage/gel022
- Shin, Yun- A., Lee, Jun-Hyoup, Song, Wook, & Jun, Tae-Won. (2008). Exercise training improves the antioxidant enzyme activity with no changes of

telomere length. *Mechanisms of Ageing and Development*, 129(5), 254-260. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2008.01.001>

Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82, 291-295.

Singh, Narendra P., McCoy, Michael T., Tice, Raymond R., & Schneider, Edward L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1), 184-191. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](http://dx.doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)

Siomek, Agnieszka, Gackowski, Daniel, Rozalski, Rafal, Dziaman, Tomasz, Szpila, Anna, Guz, Jolanta, & Olinski, Ryszard. (2007). Higher leukocyte 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine and lower plasma ascorbate in aging humans? *Antioxidants & Redox Signaling*, 9(1), 143-150. doi: 10.1089/ars.2007.9.143

Sozialpartner-Österreichs. (2010). Auswirkungen der demographischen Entwicklung auf Arbeitsmarkt und soziale Systeme Retrieved 16.12.2012, from http://www.sozialpartner.at/sozialpartner/badischl_2011/2011-10-07Studie%20konsolidiertEndg.pdf

Statistik-Austria. (2007). Frauen und Männer in Österreich - Statistische Analysen zu geschlechtsspezifischen Unterschieden. <http://www.frauen.bka.gv.at/DocView.axd?CobId=26402>

Statistik-Austria. (2012). Retrieved 27.12.2012, from http://www.statistik.at/web_de/statistiken/bevoelkerung/demographische_masszahlen/sterbetaeln/index.html

- Tomaka, Joe, Thompson, Sharon, & Palacios, Rebecca. (2006). The Relation of Social Isolation, Loneliness, and Social Support to Disease Outcomes Among the Elderly. *Journal of Aging and Health*, 18(3), 359-384. doi: 10.1177/0898264305280993
- Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J. N., Rovio, A. T., Bruder, C. E., . . . Larsson, N. G. (2004). Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature*, 429(6990), 417-423. doi: 10.1038/nature02517
- Valle, Lizette Gil del. (2011). Oxidative stress in aging: Theoretical outcomes and clinical evidences in humans. *Biomedicine & Aging Pathology*, 1(1), 1-7. doi: 10.1016/j.biomag.2011.03.001
- Wagner, & Jahreis, Gerhard. (2004). Nachweis von DNA-Schäden mittels Analyse von oxidierten Nukleosiden und deren Anwendung als Biomarker. *Ernährungs-Umschau*, 51(5), 178-186.
- Wagner, Karl-Heinz, Reichhold, Stefanie, & Neubauer, Oliver. (2011). Impact of endurance and ultraendurance exercise on DNA damage. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1229(1), 115-123. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06106.x

LEBENS LAUF

ANGABEN ZUR PERSON

Name	CLAUDIA TRAXLER
Titel	Bakk.rer.nat
Staatsbürgerschaft	Österreich
Geburtsdatum und -ort	19.02.1988 in Steyr

SCHUL- UND BERUFS AUSBILDUNG

Datum	<i>seit März 2010</i>
	Teilnahme an Kongressen/Tagungen im Bereich Food Quality/Public Health
Datum	<i>seit März 2010</i>
Institution	Universität Wien
Studienrichtung	Masterstudium Ernährungswissenschaften Zweig: Lebensmittelqualität- und Sicherheit
Datum	<i>2006 – 2010</i>
Institution	Universität Wien
Studienrichtung	Bakkalaureatsstudium Ernährungswissenschaften
Datum	<i>1998 – 2006</i>
Institution	Bundesgymnasium Werndlpark - Steyr
Abschluss	Matura
Datum	<i>1994 -1998</i>
Institution	Volksschule Dietach

Berufserfahrung

seit Jänner 2011	16h/Woche bei: Eurofins – ofi Lebensmittelanalytik GmbH Bereich: Probenlogistik, Probenaufnahme
August/September 2010	Eurofins – ofi Lebensmittelanalytik GmbH Bereich: Probenlogistik, Probenaufnahme

Juli 2010

AGES Linz - Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH
Bereich: Lebensmitteluntersuchung, Abteilung Getränke und andere Lebensmittel

Februar 2010

AKH Wien - Adipositasambulanz der Klinik für Innere Medizin 3
Durchführung von 24h Recalls,
Bioimpedanzanalysen, Literaturrecherchen,
Dateneingabe - und Auswertung mit SPSS

Jänner 2010

MA 38 – Lebensmitteluntersuchungsanstalt der Stadt Wien
Bereich: Organoleptik, Mikrobiologie und Chemie 1

**PERSÖNLICHE
FÄHIGKEITEN**

Muttersprache	Deutsch
Sonstige Sprachen	Englisch: fließend in Wort und Schrift Spanisch: Gut
Computerkenntnisse	Microsoft Office -Word, -Excel, -Power Point, - Outlook Internet, SPSS, Photoshop, Adobe Illustrator
Führerschein	B
Interessen	Sport, Kochen, Lesen (Krimis), Klavier spielen