



universität
wien

MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

„Die Auswirkungen eines 6-monatigen Krafttrainings
auf Mutationen bei institutionalisierten
PensionistInnen“

Verfasserin

Karin Geider, Bakk.rer.nat.

Angestrebter akademischer Grad
Master of Science (MSc)

Wien, August 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt: Ernährungswissenschaften

Betreuer: Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Wagner

Danksagung

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Laborpartnerin Birgit Koller bedanken, sowie bei unseren Nachfolgerinnen Ariane Cremer und Beatrice Pierson. Dank euch war die Zeit im Labor nicht nur anstrengend, sondern auch immer sehr lustig. Gemeinsam haben wir es geschafft, alle anfänglich schwierigen Hürden gut zu meistern.

Weiters herzlich bedanken möchte ich mich bei unserem Betreuer Mag. Billy Franzke sowie bei Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner. Die Unterstützung und Zusammenarbeit während der gesamten Dauer der Masterarbeit war einfach toll.

Ein ganz besonderes „Danke“ gebührt meiner Familie, die mir das Studium ermöglicht, und mich während der gesamten Studienzeit in allen Bereichen meines Lebens unterstützt hat.

Weiters möchte ich mich auch bei all meinen Freunden bedanken, mit denen ich meine Sorgen, insbesondere bezüglich der Masterarbeit, teilen konnte.

Vielen Dank

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis	VI
1. Einleitung.....	1
2. Literaturübersicht	3
2.1 Sarkopenie und Proteinbedarf im Alter	3
2.2 Mikrokernfrequenz, Alter und Geschlecht.....	5
2.3 Mikrokerne und Krebserkrankungen.....	7
2.4 Mikronährstoffe und chromosomale Veränderungen	9
2.5 Mikrokerne und körperliche Aktivität.....	12
2.6 Mikrokernaufkommen in Abhängigkeit von anderen Lebensstilfaktoren.....	14
2.7 Auswirkungen von körperlichem Training im Alter	16
3. MATERIAL UND METHODEN	19
3.1 Der CBMN-Assay	19
3.1.1 Parameter des Cytokinesis-block micronucleus cytome Assay	20
3.2 Studiendesign	27
3.3 Rekrutierung der Probanden	27
3.4 Interventionsphase	29
3.5 Gruppe Training	30
3.6 Gruppe Training + Ernährung.....	30

3.7 Gedächtnistrainingsgruppe.....	31
4. CBMN-Assay (in Zusammenarbeit mit Birgit Koller)	32
4.1 Verwendete Materialien & Chemikalien	32
4.2 Probenaufbereitung	33
4.3 Zählkriterien.....	37
5. Ergebnisse	41
5.1 Ausgangswerte zum Zeitpunkt T1	42
5.1.1 Vergleich zwischen den Gruppen	42
5.1.2 Anzahl der BNCs mit Mikrokernen und Gesamtmikrokernzahl in Abhängigkeit des Alters	43
5.1.3 Vergleich Nekrosen, Apoptosen, Buds und Bridges in Abhängigkeit des Alters.....	45
5.2 Ergebnisse der Gruppen Training und Gedächtnistrainingsgruppe.....	48
5.2.1 Gruppe Training.....	48
5.2.2 Gedächtnistrainingsgruppe.....	51
5.3 Vergleiche zwischen Training, Training & Ernährung und Gedächtnis- trainingsgruppe.....	56
5.3.1 Anzahl der Apoptosen zu T1, T2, T3.....	56
5.3.2 Anzahl der Nekrosen zu T1, T2, T3.....	57
5.3.3 Anzahl der BNCs mit Mikrokerne.....	58
5.3.2 Anzahl der Gesamtmikrokerne zu T1, T2, T3.....	59
5.3.2 Anzahl der Buds zu T1, T2, T3.....	60
5.3.2 Anzahl der Bridges zu T1, T2, T3.....	61
5.4 Vergleich nach Altersgruppen.....	62

5.4.1 Altersgruppe 65-74.....	62
5.4.2 Altersgruppe 75-84	64
5.4.3 Altersgruppe >85.....	66
6. Diskussion der Ergebnisse.....	68
7. Schlussbetrachtung	72
8. Zusammenfassung	73
9. Summary	75
10. Literaturverzeichnis.....	77

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Zweikernzelle mit Nuclear Bud (eigenes Foto, 2013).	21
Abb. 2: Zweikernzelle mit Nucleoplasmatic Bridge (eigenes Foto, 2013).	22
Abb. 3 : Apoptose (eigenes Foto, 2013).	22
Abb. 4: Nekrose (eigenes Foto, 2013).	23
Abb. 5: Zweikernzelle mit MNi (eigenes Foto, 2013).	24
Abb. 6: Entstehung von MNi, NBUDs, NPBs, Apoptosen und Nekrosen [FENECH et al., 2003]	25
Abb. 7 : Vergleich der BNCs mit Mikrokernen und der Gesamtmikrokernzahl zwischen den Geschlechtern	42
Abb. 8: Anzahl der BNCs mit Mikrokernen zu T1 in Abhängigkeit des Alters	43
Abb. 9: Gesamtmikrokernanzahl zu T1 in Abhängigkeit des Alters	44
Abb. 10: Anzahl der Nekrosen zu T1 in Abhängigkeit des Alters	45
Abb. 11: Vergleich der Apoptosen zu T1 in Abhängigkeit des Alters	45
Abb. 12: Vergleich der BNCs mit Mikrokernen, Gruppe Training	49
Abb. 13 : Vergleich Mikrokerngesamtzahl, Gruppe Training	50
Abb. 14: Vergleich der BNCs mit Mikrokernen, Gedächtnistrainingsgruppe	54
Abb. 15: Vergleich der Mikrokerngesamtzahl, Gedächtnistrainingsgruppe	55
Abb. 16: Gruppenvergleich der Anzahl an Apoptosen	56
Abb. 17: Gruppenvergleich der Anzahl an Nekrosen	57
Abb. 18: Gruppenvergleich der BNCs mit Mikrokernen	58
Abb. 19: Gruppenvergleich der Gesamtmikrokorne	59
Abb. 20: Gruppenvergleich der Anzahl an Buds	60
Abb. 21: Gruppenvergleich der Anzahl an Bridges	61

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Zusammensetzung FortiFit [Nutricia, 2013].....	31
Tab. 2: Übersicht der Ergebnisse Gruppe Training zu allen Testzeitpunkten.....	46
Tab. 3: Prozentuelle Veränderung zwischen T1 und T3, Gruppe Training	48
Tab. 4: Übersicht der Ergebnisse Gedächtnistrainingsgruppe zu allen Testzeitpunkten	521
Tab. 5: Prozentuelle Veränderung zwischen T1 und T3, Gedächtnistrainingsgruppe	532
Tab. 6: Prozentuelle Verbesserung zwischen T1 und T3, Altersgruppe 65-74	63
Tab. 7: Prozentuelle Verbesserung zwischen T1 und T3, Altersgruppe 75-84	65
Tab. 8: Prozentuelle Verbesserung zwischen T1 und T3, Altersgruppe >85	67

Abkürzungsverzeichnis

BNC	Binucleated Cell
BNCs	Binucleated Cells
CBMN	Cytokinesis Block Micronucleus cytome Assay
DMSO	Dimethylsulfoxid
DM2	Diabetes mellitus Typ II
DNA	Desoxyribonucleic Acid
G	Gramm
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
ml	Milliliter
MN	Micronucleus
MNi	Micronuclei
NBUD	Nucleoplasmic Bud
NBUDs	Nucleoplasmic Buds
NDCI	Nuclear Division Cytotoxicity Index
NDI	Nuclear Division Index
NPB	Nucleoplasmic Bridge
NPBs	Nucleoplasmic Bridges
PHA	Phytohaemoglutinin
PBL	periphere Blutlymphozyten
PBS	Phosphat Buffered Saline
RONs	Reactive Oxygen and Nitrogen Species
rpm	revolutions per minute
SPPB	Short Physical Performance Battery
µl	Mikroliter

1. Einleitung

Alte Menschen gehören zu dem am schnellsten wachsenden Segment der Bevölkerung. Bis zum Jahr 2050 wird sich die Zahl der 60+ Generation von 11 auf 22 % verdoppelt haben und somit 2 Milliarden betragen [WHO, 2012].

Demzufolge ist es nötig, einen zunehmenden Schwerpunkt auf Gesundheit zu setzen und neue Möglichkeiten zu entwickeln, die zur Verbesserung des Wohlbefindens beitragen. Ein Hauptaugenmerk muss auf die Prävention von Erkrankungen gelegt werden, sodass die Lebensqualität möglichst lange erhalten bleibt [LAUMANN et al., 2009].

Weltweit sind Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs die Hauptursachen für Mortalität und durch Invalidität verlorene Lebensjahre.

Um die Bevölkerung möglichst gesund, mental sowie physisch altern zu lassen, ist es wichtig, auf die Wirkung von präventiven Maßnahmen, unter anderem Bewegung und Sport und Ernährung, aufmerksam zu machen [LAUMANN et al., 2009].

Sarkopenie ist mit zunehmendem Alter ein besonders häufig auftretendes Problem [MORLEY, 2008].

Körperliches Training ist eine effektive Maßnahme, um diesem Muskelschwund entgegenzuwirken. Da ältere Personen aus gesundheitlichen Gründen jedoch nicht immer fähig sind, regelmäßige körperliche Aktivität auszuüben, ist Sarkopenie in dieser Altersgruppe weit verbreitet [HAMMAR und ÖSTGREN, 2013].

Studien bestätigen, dass die Mikrokernfrequenz im Alter ansteigt [FENECH und BONASSI, 2011].

Diese Masterarbeit befasst sich mit der Frage, inwiefern sich die Anzahl an Mikrokernen bei institutionalisierten Pensionisten¹ nach einem 6-monatigen Krafttraining verändert. Dies wird mit Hilfe des Cytokinesis-Block-Micronucleus-cytome Assays (CBMN-Assay) untersucht. Des Weiteren wird die Anzahl an nucleoplasmatischen Brücken, nucleoplasmatischen Buds, Apoptosen sowie Nekrosen bestimmt.

¹Um einen angenehmen Lesefluss zu gewährleisten, wird in dieser Arbeit durchgehend das generische Maskulinum verwendet. Dieser schließt selbstverständlich alle weiblichen Formen mit ein.

Dies sind alle Parameter des CBMN-Assay, die auf eine Schädigung der DNA hinweisen [FENECH, 2007].

Die Masterarbeit entstand im Rahmen der Forschungsplattform Active Ageing der Universität Wien. Diese Studie hat zum Ziel, die Auswirkungen von Ernährungsoptimierung sowie Krafttraining auf die Gesundheit, Mobilität und Leistungsfähigkeit älterer Menschen in Pensionistenwohnhäusern zu untersuchen.

Es handelt sich dabei um eine randomisierte, doppelblinde, kontrollierte Interventionsstudie.

Die Probanden wurden in 3 Gruppen eingeteilt, Gruppe Training + Ernährung, Gruppe Training und eine Gedächtnistrainingsgruppe.

Mit Hilfe des CBMN-Assay wurden die Effekte auf verschiedene cytogenetische Parameter, insbesondere Mikrokerne, untersucht.

Die Probenaufbereitung sowie die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit meiner Kollegin Birgit Koller.

In dieser Masterarbeit kann es zu textlichen und inhaltlichen Überschneidungen mit anderen Beteiligten der Forschungsplattform Active Ageing kommen.

Ariane Cremer, Bakk.

Bianca Arnold, MSc.

Claudia Traxler, MSc.

Sarah Proppentner, Msc.

Tanja Spitzer, MSc.

Birgit Koller, Bakk.

2. Literaturübersicht

2.1 Sarkopenie und Proteinbedarf im Alter

Unter dem Begriff Sarkopenie versteht man Muskelschwund und den damit zusammenhängenden Kraftverlust, der mit zunehmendem Alter einhergeht.

Sarkopenie ist definiert durch den Abbau an Muskelmasse sowie der Abnahme der Muskelfunktionen im Rahmen des normalen Alterungsprozesses [FIELDING et al., 2011].

Muskelschwund ist bei älteren Personen weltweit verbreitet, es wird eine Prävalenz von 5 bis 13 % bei den 60 bis 70 Jährigen verzeichnet. Bei den über 80 Jährigen beträgt diese schon 11–50 % [MORLEY, 2008].

In Österreich sind etwa 13 % der 60 bis 70 Jährigen von Sarkopenie betroffen [ÖLPM, 2011].

Faktoren, die zu dieser Entwicklung beitragen, sind bei älteren Personen unter anderem das Ausmaß an chronischen Entzündungsprozessen, Atrophie der Motoneuronen, eine unzureichende Eiweißzufuhr sowie zu wenig körperliche Aktivität [HAMMAR und ÖSTGREN, 2013].

Eine weitere wichtige Rolle bei der Entstehung spielen auch die altersbedingte Abnahme an Sexual- und Wachstumshormonen sowie die Reduktion der Aktivität von IGF-1 im Alter [MIYAKOSHI 2013].

Postmenopausale Frauen sind häufig von Sarkopenie betroffen. Die Studie von Fielding et al. zeigte eine Prävalenz von 10 bis 52 % bei postmenopausalen Frauen, die zusätzlich an Osteoporose leiden [FIELDING et al., 2011].

Die Auswirkungen von Muskelschwund reichen von eingeschränkter Mobilität und stark limitierter Beweglichkeit bis hin zu häufigen Frakturen und Knochenbrüchen.

Alte Menschen, die an Sarkopenie in Kombination mit Adipositas leiden, sind noch anfälliger für Probleme mit Mobilität und früh auftretender Invalidität [HAMMAR und ÖSTGREN, 2013].

Körperliches Training wirkt sich positiv auf die Kraft und Muskelmasse bei älteren Erwachsenen aus, jedoch ist dies aufgrund des gesundheitlichen Zustandes bei älteren Menschen nicht immer möglich [HAMMAR und ÖSTGREN, 2013].

Auch wenn bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht nachgewiesen wurde, dass ältere Menschen, die Nahrungsergänzungsmittel zu sich nehmen, einen erhöhten Anteil an Muskelmasse haben, so spricht Vieles dafür, dass vor allem Sarkopenie alle unterernährten Menschen betrifft [ÖLPM, 2011].

Die empfohlene durchschnittliche Proteinzufuhr für Erwachsene über ≥ 60 Jahre liegt bei 0,83 g pro kg KG pro Tag [DGE, 2012].

Ältere Menschen, die schon an Sarkopenie leiden, benötigen jedoch etwa 1,5 g Protein pro kg KG täglich, um die Magermasse sowie die Stickstoffbilanz aufrecht erhalten zu können bzw. Muskelmasse wieder aufzubauen. Der Proteinbedarf zur Bildung von Muskelprotein steigt noch dazu mit zunehmendem Alter an [ÖLPM, 2011].

Der genaue Bedarf der Proteinzufuhr zum Erhalt der Muskelmasse und um einer Sarkopenie vorzubeugen, ist jedoch noch nicht geklärt [VOLKERT und SIEBER, 2011].

Da die Ernährung älterer Menschen durch nachlassenden Appetit, langsamerer Magenentleerung, reduzierten Geschmackswahrnehmungen, Schluckbeschwerden etc. oft unzureichend ist, kann eine Supplementierung notwendig sein, um dem Muskelabbau entgegenzuwirken [VOLKERT und SIEBER, 2011].

Vor allem institutionalisierte Senioren erreichen die empfohlenen Proteinreferenzwerte kaum. Eine deutsche Studie untersuchte die Eiweißaufnahme bei 127 Bewohnern eines Pensionistenpflegeheimes.

Die mediane Eiweißzufuhr betrug 0,9 g pro kg KG täglich bei einer medianen Gesamtenergie von 1540 kcal. Bei 35 % der Pensionisten lag die tägliche Eiweißaufnahme unter 0,80 g pro kg KG. 19 % der Pensionisten nahmen weniger als 0,66 g Eiweiß pro kg KG auf [VOLKERT und SIEBER, 2011].

Der Ernährungsbericht 2012 zeigte auf, dass in Österreich die tägliche Eiweißzufuhr sowohl bei Senioren als auch bei Seniorinnen 0,9 g pro kg Körpergewicht beträgt und somit im Bereich der Empfehlung liegt.

Vergleicht man diese Zahlen mit vorhergehenden Daten, so lässt sich eine stabile Aufnahme der Eiweißzufuhr bei den Frauen zwischen 65 und 80 Jahren, sowie eine nur geringfügig sinkende Aufnahme bei den Männern dieser Altersgruppe feststellen [ELMADFA I, 2012].

2.2 Mikrokernfrequenz, Alter und Geschlecht

Alter und Geschlecht sind die wichtigsten Einflussfaktoren auf die Mikrokernfrequenz [ISHIKAWA et al., 2003].

Der Alterungsprozess ist durch eine Abnahme von Körperfunktionen der Organe und Gewebe charakterisiert. Dies geschieht durch eine vermehrte Instabilität des Genoms bezüglich Expression und Struktur [ORTA und GÜNEBAKAN, 2011].

Einer der Hauptfaktoren des Alterungsprozesses ist die jahrelange Ansammlung oxidativer Schäden von Proteinen, Fetten und Nukleinsäuren [ORTA und GÜNEBAKAN, 2011].

Studien des Human MicroNucleus (HUMN) Konsortiums bestätigen den Anstieg der Mikrokernfrequenz mit einem steigenden Alter bei Erwachsenen. Die genauen Mechanismen, die zu diesem altersbezogenen Anstieg führen, sind zum jetzigen Zeitpunkt unbekannt [FENECH et al., 2011].

Ein Grund für die Zunahme der Anzahl an MNi ist die Ansammlung an genetischen Schäden während der Lebensspanne [ISHIKAWA et al., 2003].

Auch Bolognesi et al. beobachtete eine ansteigende Mikrokernfrequenz mit zunehmendem Alter. Ebenso erhöht sich in Kombination mit anderen Lebensstil-Faktoren die Anzahl an Chromosomen-Anomalien [BOLOGNESI et al., 1997].

Das vermehrte Auftreten von MNi ist auf ein Zusammenwirken mehrerer Faktoren zurückzuführen. Zum einen auf die kumulative Wirkung von erworbenen Genmutationen, die bei DNA-Reparaturmechanismen sowie Chromosomensegregation beteiligt sind, und zum anderen auf Chromosomen-Abweichungen (bezüglich Anzahl und Struktur), die durch Einwirkungen von endogenen Genotoxinen, schädlichen Umwelteinflüssen und negativen Lebensstilfaktoren entstehen [FENECH und BONASSI, 2011].

Studien des HUMN-Konsortiums stellten auch Unterschiede im Mikrokernaufkommen zwischen Männern und Frauen fest.

Männliche Probanden ab einem Alter von 40 Jahren wiesen die höchste Mikrokernfrequenz auf [FENECH et al., 2011].

Kinder weisen eine weitaus geringere Anzahl an MNi als Erwachsene auf, es konnte jedoch kein klarer Unterschied zwischen Jungen und Mädchen festgestellt werden [HOLLAND et al., 2011].

Bei Erwachsenen können spontan auftretende Mikrokerne und Nukleoplasmatische Buds auch durch einen Regulationsmechanismus entstehen, bei dem ein bestehendes Ungleichgewicht der DNA von den Zellen eliminiert wird, um den ordnungsgemäßen Zellzyklus wieder herzustellen.

Die Anzahl an Mikrokernen die aus diesen Regulationsmechanismen entstehen, steigt mit zunehmendem Alter. Die Altersgruppe der über 40-jährigen Erwachsenen zeigt dabei die höchsten Werte.

Weiters können an der Bildung von spontan auftretenden Mikrokernen auch Umwelteinflüsse sowie bestimmte genetische Faktoren beteiligt sein [JONES et al., 2012].

Auch die Studie von Catalan et al. kam zu dem Ergebnis, dass bei älteren männlichen Erwachsenen eine höhere Mikrokernfrequenz zu beobachten ist als bei den jüngeren. Weiters konnte auch ein übermäßig hoher Gehalt an Y-Chromosomen in den Mikrokernen bei älteren Männern festgestellt werden. Jüngere Probanden wiesen einen in etwa gleich großen Anteil an Y- sowie X-Chromosomen in den Mikrokernen auf. [CATALAN et al., 1998].

Studien bestätigen, dass Frauen zu einer höheren Mikrokernfrequenz tendieren. Der Hauptgrund dafür ist, dass X-Chromosomen häufiger als Y-Chromosomen zu finden sind. Demnach ist in weiblichen Lymphozyten eine höhere Anzahl an Mikrokernen zu finden, da Frauen zwei X-Chromosomen besitzen [CATALAN et al., 1998].

Auch die Tatsache, dass das X-Chromosom leichter zugunsten von Mikrokernen verloren geht, führt zu einer größeren Mikrokernfrequenz bei Frauen [FENECH und BONASSI, 2011].

2.3 Mikrokerne und Krebserkrankungen

Eine erhöhte Krebsinzidenz im Alter wird durch das vermehrte Aufkommen von Mutationen infolge einer Ansammlung oxidativer Schäden der DNA verursacht [ORTA und GÜNEBAKAN, 2011].

Diese chromosomalen Veränderungen kommen in benignen, malignen sowie in prä-neoplastischen Stadien vor und umfassen strukturelle und zahlenmäßige Veränderungen.

Weichenthal et al. zeigten eine erhöhte Anzahl an Mikrokernen in peripheren Blutlymphozyten und Fibroblasten bei Patienten mit familiärem schwarzem Hautkrebs [WEICHENTHAL et al. 1989].

Bei Patientinnen mit Gebärmutterhalskrebs konnten vermehrt Mikrokerne im Gebärmutter-Epithelium sowie in peripheren Blutlymphozyten nachgewiesen werden [LEAL-GARZA et al, 2002].

Varga et al. untersuchten die Mikrokernfrequenz in PBL im Zusammenhang mit Brustkrebs und stellten eine signifikant erhöhte Anzahl an Mikrokernen bei Brustkrebspatientinnen fest [VARGA et al., 2006].

Auch Patienten, bei denen Leukämie diagnostiziert wurde, wiesen eine erhöhte Anzahl an Mikrokernen auf [HAMURCU et al., 2008].

Eine weitere Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen der Mikrokernfrequenz und dem Krebsrisiko in mehr als 6 700 gesunden Personen aus 10 verschiedenen Ländern. Die Ergebnisse zeigten, dass die Inzidenz, an Krebs zu erkranken, bei Probanden mit mittlerer bis hoher Mikrokernfrequenz signifikant höher war [BONASSI et al., 2011].

Ebenso bestätigten El-Zein et al. den positiven Zusammenhang zwischen einer erhöhten Mikrokernfrequenz und dem Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken.

Bei den Lungenkrebs-Patienten traten auch vermehrt NBUDs und NPBs auf. Weiters war die Anzahl an Mikrokernen in Einkernzellen erhöht. Diese Zellen sind jene, die dem Cytochalasin B entgangen sind oder jene, in denen die replizierte DNA nicht von der Zellteilung betroffen war.

Mikrokerne in Einkernzellen traten des Weiteren auf, wenn es sich um ein sehr frühes Stadium von induziertem Zelltod (Nekrose oder Apoptose) handelte [EL-ZEIN et al., 2008].

Auch in der Studie von Bonassi et al. konnte beobachtet werden, dass Lungenkrebs-Patienten eine vermehrte Anzahl an Mikrokernen und Chromosomenschäden aufwiesen. Weitere Parameter, NBUDS sowie NPBs waren zusätzlich erhöht [BONASSI et al., 2011].

Das Auftreten von Mikrokernen in peripheren Blutlymphozyten ist somit prädiktiv für das Krebsrisiko und eine hohe Mikrokernfrequenz wird mit einem frühen Stadium von Karzinogenese assoziiert.

Weitere Studien sind jedoch nötig, um diese Erkenntnisse für zukünftige Krebsvorsorgeprogramme, insbesondere für Hochrisikogruppen, nutzen zu können [BONASSI et al., 2011].

Milosevic-Djordejevic et al. untersuchte mittels CBMN-Assay die genetischen Schäden in peripheren Blutlymphozyten bei neu erkrankten und noch unbehandelten Krebspatienten. Dabei wurden die Einflussfaktoren Alter, Geschlecht, Rauchstatus und Krebsart in Bezug auf das Mikrokernvorkommen berücksichtigt.

Die Anzahl der Mikrokerne war in Krebspatienten signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Zwischen den Geschlechtern konnte kein signifikanter Unterschied

festgestellt werden. Ebenso nicht bezüglich der unterschiedlichen Krebsarten und zwischen Rauchern bzw. Nicht-Rauchern.

Die Gruppe der unbehandelten Krebspatienten wiesen in den peripheren Blutlymphozyten eine hohe genetische Instabilität auf [MILOSEVIC-DJORDJEVIC et al., 2010].

Die Studie von Iarmoracovai et al. bestätigte ebenfalls den positiven Zusammenhang zwischen dem vermehrten Aufkommen von Mikrokernen und Krebserkrankungen.

Unbehandelte Patienten sowie Patienten mit einer angeborenen Krebserkrankung weisen eine erhöhte Mikrokernfrequenz auf. Es besteht eine starke Assoziation zwischen Karzinogenität und genotoxisch wirkenden, krebsauslösenden Substanzen [IARMARCOVAI et al., 2008].

2.4 Mikronährstoffe und chromosomale Veränderungen

Bestehende Chromosomenschäden können durch die Aufnahme bestimmter Mikronährstoffe positiv beeinflusst werden [THOMAS et al., 2011].

LAL und AMES zeigten einen starken Zusammenhang von Mikronährstoffmängeln und der Entstehung von Krebs. Allem voran ein schlechter Versorgungsstatus an Folsäure, Eisen, Magnesium, Zink, Biotin, Vitamin B6 sowie Vitamin C führt zu einer vermehrten DNA-Schädigung in primären menschlichen Zellkulturen und erhöht die Mikrokernfrequenz [LAL und AMES, 2011].

Ebenso der Mangel an Zink, ein Co-Faktor mehrerer DNA-Reparaturmechanismen, kann DNA-Schäden begünstigen und Einzelstrangbrüche hervorrufen. Diese sind aber reversibel und werden repariert, wenn der Zinkmangel wieder ausgeglichen wird [LAL und AMES, 2011].

Besonders Folsäure und Vitamin B12 spielen eine wichtige Rolle im DNA-Metabolismus [FENECH, 2001].

Die Studie von Iarmarcovai et al. zeigte einen positiven Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Folsäure, Calcium sowie Vitamin E, und einem reduzierten Krebsrisiko [BONASSI et al., 2007].

Hohe Konzentrationen an Kupfer und Eisen im Serum sowie eine geringe Serum-Konzentration an Magnesium und Zink führt zu einer erhöhten Krebsmortalität bei Männern im mittleren Alter. Eine geringe Vitamin B6 Aufnahme korreliert positiv mit einem erhöhten Kolorektalkrebs-Risiko.

Sowohl ein Mangel als auch ein Überschuss an diesen Mikronährstoffen kann Genom-Schäden verursachen.

Liegt ein Folsäuremangel vor, so wird Uracil anstatt von Thymin in die DNA eingebaut, was neben Punktmutationen auch zu Mikrokernbildung, Chromosomenbrüchen, DNA-Einzel- sowie Doppelstrangbrüchen führt.

Auch ein Vitamin B12-Mangel verursacht einen fälschlichen Einbau von Uracil, da dadurch die Synthese von Folsäure eingeschränkt wird, welche für die dTMP (Desoxynukleotid-Thymidinmonophosphat) - Synthese benötigt wird.

Die Synthese von Methionin (durch die Re-Methylierung von Homocystein und die Synthese von Adenosylmethionin) erfordert ebenso einen ausreichend hohen Folsäure- und Vitamin B12-Status. Die Methioninsynthese bestimmt in weiterer Folge die DNA-Konformation und eine intakte Genexpression [THOMAS et al., 2011].

Fenech et al. zeigten, dass ältere Männer eine signifikant höhere Mikrokernfrequenz aufweisen, wenn Folsäure und Vitamin B12 im Serum erniedrigt, und Homocystein gleichzeitig erhöht ist.

Da auch eine alleinige Erhöhung an Homocystein das Auftreten von Mikrokernen begünstigt, kann davon ausgegangen werden, dass vor allem Homocystein verantwortlich für auftretende Chromosomenschäden ist.

Eine 4-monatige Supplementierung mit täglich 0,7 mg bzw. 2 mg Folsäure ergab jedoch nur eine sehr geringe Reduktion des Homocysteins von 11 % mit keiner signifikanten Veränderung in der Mikrokernfrequenz [FENECH et al., 1997].

Fenech und Bonassi zeigten in einer Studie, dass Personen mit einer veganen Ernährungsweise, die keine Vitamin B12 Supplemente einnahmen, einen Mangel an diesem Mikronährstoff aufwiesen. Demnach war auch die Mikrokernfrequenz erhöht [FENECH und BONASSI, 2011].

Bei Diabetes mellitus Typ II – Patienten konnte durch eine Folsäure-Supplementierung einer Verringerung der Mikrokernhäufigkeit erreicht werden [ZUNIGA-GONZALEZ et al., 2007].

Durch eine ausreichend hohe Vitamin C-Aufnahme kann das Auftreten von Einzel und Doppelstrangbrüchen der DNA, verhindert werden. Vitamin C wirkt antioxidativ und reduziert die äußerst reaktiven Hydroxylradikale, welche DNA-Schäden hervorrufen [THOMAS et al., 2011].

In einer Studie von Fenech und Crott wurde der Einfluss einer Vitamin C-Supplementation auf Chromosomenschäden, sowie das Auftreten von Nekrosen und Apoptosen untersucht. In vivo Tests zeigten keine Verringerung dieser Parameter durch Vitamin C.

In Gegenwart von Hydrogenperoxiden konnte jedoch eine signifikante Reduktion von Zellteilungen, Apoptosen und Mikrokernen in Zellen beobachtet werden.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass eine Vitamin C Supplementation unter normalen physiologischen Konditionen weder eine DNA-Schädigung hervorruft, noch Zellen gegen Hydrogenperoxid-induzierte Toxizität schützt [CROTT und FENECH, 1999].

Die Studie von Schneider et al. untersuchte den Einfluss einer Supplementierung mit Vitamin C und Vitamin E auf die Mikrokernfrequenz in Lymphozyten. Die Probanden waren zur Hälfte Raucher bzw. Nicht-Raucher und nahmen über einen Zeitraum von 14 Tagen täglich 1000 mg Vitamin C sowie 225 mg Vitamin E zu sich.

Bei beiden Gruppen konnte nach 7 Tagen der Supplementierung eine Verringerung der Mikrokerne verzeichnet werden. Bei den Rauchern wurde eine noch deutlichere Abnahme der Mikrokernfrequenz in den peripheren Blutlymphozyten beobachtet. Somit wirkt eine kurzzeitige erhöhte Aufnahme von Vitamin C und Vitamin E bei Rauchern einer DNA-Schädigung entgegen [SCHNEIDER et al., 2001].

Auch ein Vitamin D Mangel kann die Entstehung verschiedener Krebsarten fördern. Besonders im Alter ist eine ausreichende Versorgung mit Vitamin D besonders wichtig, da dieser Mikronährstoff bei mangelhaftem Status mit der Entstehung von Osteoporose und Knochenbrüchen einhergeht, sowie Autoimmun- und Herz-Kreislauf-Erkrankungen fördert.

Durch die begrenzte Mobilität älterer Menschen besonders in Wohnorten mit geringerer Sonneneinstrahlung und einer geringen Aufnahme über die Nahrung kommt es oft zu einem Mangel an Vitamin D [HAMMAR und ÖSTGREN, 2013].

2.5 Mikrokerne und körperliche Aktivität

Intensives Training scheint für Anpassungen in der antioxidativen Abwehr sowie in der DNA-Reparatur-Gen-Expression verantwortlich zu sein [REICHHOLDT et al., 2009].

Die Auswirkungen von körperlichem Training auf DNA-Schädigung sind komplex, da Studien unterschiedliche Ergebnisse aufweisen.

Erschöpfendes Training kann zu einer vermehrten Bildung von freien Radikalen durch oxidativen Stress führen. Dieser Mechanismus ist stark von der Dauer und Intensität sowie der Aktivität von DNA-Reparaturmechanismen abhängig [WAGNER et al., 2011].

Nach einem erschöpfenden Ausdauertraining ist sowohl eine DNA-Schädigung, als auch eine systemische Entzündungsreaktion feststellbar.

Jedoch gibt es kaum wissenschaftliche Belege für einen direkten Zusammenhang von körperlicher Aktivität und Entzündungsreaktionen, DNA- bzw. chromosomaler Schädigung. Aktuelle Ergebnisse belegen, dass die wichtigsten Faktoren für diese Schäden RONS (reactive oxygen and nitrogen species) sind und DNA-Effekte in Lymphozyten nicht verantwortlich für erschöpfende Trainings-induzierte Entzündungsreaktionen gemacht werden können.

Die Studie von Neubauer et al. zeigte, dass Entzündungsprozesse keine DNA-Schäden begünstigen, weder direkt noch auf indirektem Weg über eine vermehrte Bildung von RONS.

Oxidativen DNA-Schäden kann jedoch mit Hilfe von Trainings-induzierten antioxidativen Reaktionen entgegen gewirkt werden [NEUBAUER et al., 2008].

Neubauer et al. sowie Reichhold et al. untersuchten die Auswirkungen auf einzelne Parameter des CBMN-Assays bei Ironman-Triathleten.

42 männliche Teilnehmer wurden in die statistische Auswertung eingeschlossen. Während des Rennens (10 h 52 min +/- 1 h) wurde Vitamin C und Vitamin E aufgenommen.

Ausgewertet wurden die Parameter Mikrokernfrequenz, Anzahl Nekrosen, Apoptosen, sowie NBUDs und NPBs.

Die Untersuchung ergab eine signifikante Reduktion der Mikrokerne direkt nach dem Rennen und eine weitere Reduktion 19 Tage später.

Betreffend NPBs und NBUDs konnte nach dem Bewerb keine Verringerung beobachtet werden. Jedoch reduzierte sich die Anzahl an NBUDs signifikant 5 Tage danach.

19 Tage nach dem Rennen normalisierte sich die NBUD-Frequenz wieder und erreichte den Ausgangswert vor dem Rennen. Die Anzahl an NPBs war immer noch signifikant geringer als vor dem Ironman-Bewerb [REICHHOLD et al., 2008].

Die Auswertung der Apoptosen und Nekrosen ergab eine Verringerung direkt nach dem Rennen und eine weitere signifikante Reduktion 19 Tage nach dem Bewerb.

Ebenso wurden nach dem Rennen weniger DNA-Strangbrüche festgestellt als zuvor. 5 Tage danach erreichten diese wieder den Ausgangswert und verringerten sich schließlich nach 19 Tagen nochmals [NEUBAUER et al., 2008].

Umegaki et al. untersuchten den Einfluss eines 30-minütigen Laufbandtrainings bei sowohl trainierten als auch untrainierten Personen bezüglich Chromosomenschäden. Den Testpersonen wurde 30 Minuten vor Trainingsbeginn, gleich nach dem Training sowie 30 Minuten danach Blut abgenommen, um mit Hilfe des CBMN-Assays die chromosomalen Veränderungen in den Lymphozyten zu bestimmen. Die Ergebnisse zeigten, dass spontan auftretende chromosomale Schäden in Lymphozyten weder bei den trainierten noch bei den untrainierten Testpersonen bei der letzten Messung signifikant anstiegen.

Des Weiteren wurden die Blutproben auch in vitro bestrahlt und in Folge die sekundär induzierten Chromosomenschäden untersucht.

Hier zeigte sich eine signifikante Zunahme der chromosomalen Schäden in den Lymphozyten bei den untrainierten Testpersonen, nicht jedoch bei den trainierten Probanden.

Die Messung gleich nach Beendigung des Trainings ergab eine Tendenz zu einem Anstieg in der Gruppe der Untrainierten [UMEGAKI et al., 1998].

Dass erschöpfendes Training aber auch Mutationen in den PBL und somit den Anstieg von Mikrokernen begünstigen kann, zeigten Schifffl et al.

In dieser Studie wurde die Mikrokernfrequenz bei Probanden vor und nach zwei Sprint-Einheiten bei einer Laktat-Konzentrationen zwischen 9,6 und 12,4 mmol/l untersucht. Bei allen Probanden erhöhte sich die Mikrokernanzahl signifikant 24 bis 48 Stunden nach dem Training [SCHIFFFL et al., 1997].

Hartmann et al. zeigte in einer Studie, dass gemessene DNA-Effekte in PBL nach einem Training nicht von oxidierten DNA-Basen stammen und somit in weiterer Folge nicht in Chromosomenschäden resultieren [HARTMANN et al., 1998].

2.6 Mikrokernaufkommen in Abhängigkeit von anderen Lebensstilfaktoren

Ein ungesunder Lebensstil begünstigt das Krebsrisiko, ein vermehrtes Auftreten von DNA-Schäden sowie die Anfälligkeit der Lymphozyten für Mutationen. Weiters steigt dadurch das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen [HUANG et al., 2009].

Huang et al. untersuchten den Zusammenhang von ungünstigen Lebensstileinflüssen und der Mikrokernhäufigkeit bei japanischen Metallarbeitern. Zu wenig Schlaf (< 6 Stunden täglich), anstrengende Arbeit (> 9 Stunden täglich), körperliche Inaktivität führten zu einer erhöhten Mikrokernfrequenz in Lymphozyten. Bei jenen Probanden, die zusätzlich starke Raucher waren, konnte eine signifikant höhere Anzahl an Mikrokernen festgestellt werden.

Andere Faktoren, wie die Alkoholaufnahme oder das Einnehmen eines Frühstücks, hatten keinen Effekt auf die Mikrokernfrequenz [HUANG et al., 2009].

Ein starker Alkoholkonsum ist jedoch ein enormer Risikofaktor für Krebserkrankungen. Studien bestätigten den positiven Zusammenhang zwischen Alkoholismus und einem vermehrten Auftreten von Mikrokernen in peripheren Blutlymphozyten. Meist befinden sich ganze Chromosomen in den Mikrokernen [HUANG et al., 2009].

Miltyk et al. untersuchten die Auswirkungen eines erhöhten Konsums an Isoflavonen auf die Mikrokernfrequenz bei 20 Patienten mit Prostatakrebs. Am Ende der Studie konnte keine Veränderung festgestellt werden [MILTYK et al., 2003].

Bislang gibt es noch keine Studien, die Einflüsse von bestimmten Makronährstoffen oder Lebensmittelgruppen auf die Mikrokernhäufigkeit belegen.

Untersuchungen, die eine vegetarische Ernährungsweise mit einer nicht-vegetarischen in Bezug auf die Anzahl an Mikrokernen in Lymphozyten verglichen, kamen ebenso zu keinen signifikanten Ergebnissen [FENECH und BONASSI, 2011].

Ein weiterer Risikofaktor für die vermehrte Bildung von Mikrokernen ist eine Diabetes mellitus Typ II-Erkrankung.

DM2 wird mit einem erhöhten Ausmaß an DNA-Schäden, einer erhöhten Anfälligkeit für Mutationen und einer verringerten DNA-Reparatur assoziiert.

Diese Erkrankung resultiert oft aus Übergewicht in Kombination mit dem metabolischen Syndrom. Demnach wird letzteres auch mit vermehrten DNA-Schäden assoziiert [ANDREASSI et al., 2011].

Die Studie von Martinez-Perez et al. untersuchte den Zusammenhang von Diabetes und der Mikrokernfrequenz. Dabei wurden 15 Erwachsene mittleren Alters mit Diabetes mellitus Typ II sowie 10 gesunde Erwachsene auf deren Mikrokernhäufigkeit in Lymphozyten untersucht. Jene Probanden mit einer Diabetes mellitus Typ II-Erkrankung, wiesen eine höhere Mikrokernfrequenz auf als die gesunden Testpersonen. Diese DNA-Schäden gehen mit einer genomischen Instabilität und in weiterer Folge mit einem erhöhten Krebsrisiko einher [MARTINEZ-PEREZ et al., 2007].

2.7 Auswirkungen von körperlichem Training im Alter

Der Alterungsprozess ist unter anderem gekennzeichnet durch Muskelschwund und vermehrte Gebrechlichkeit. Um dem entgegenzuwirken, ist körperliches Training unumgänglich.

In den letzten 3 Jahrzehnten wurden die Vorteile von Bewegung im Alter durch epidemiologische Studien und klinische Untersuchungen bestätigt [BATT et al., 2013].

Eine hohe körperliche Fitness verringert die Entstehung von chronischen und kardiovaskulären Erkrankungen und fördert die Aufrechterhaltung eines unabhängigen Lebensstils.

Weitere Effekte regelmäßiger körperlicher Aktivität bei älteren Menschen sind eine Reduktion von Angst und Depression sowie ein geringeres Risiko für Verletzungen durch Stürze.

Darüber hinaus kann Sport auch eine wirksame Behandlung für viele mit dem Alter zunehmende chronische Erkrankungen sein, wie z.B. Bluthochdruck, erhöhte Insulinresistenz, dauerhafte Angina pectoris, chronisch-obstruktive Lungenerkrankungen und Diabetes Typ 2 [BATT et al., 2013].

Regelmäßige körperliche Bewegung im Alter ist ebenso wirksam gegen Osteoporose, einige Krebsarten sowie mentale Störungen [HAMMAR und ÖSTGREN, 2013].

Angevaren et al. bestätigten den positiven Einfluss von körperlichem Training auf kognitive Fähigkeiten, insbesondere auf motorischen Fähigkeiten, akustische Aufmerksamkeit und verzögertes Erinnerungsvermögen. Moderate positive Ergebnisse konnten bezüglich der visuellen Aufmerksamkeit beobachtet werden [ANGEVAREN et al., 2008].

Die Inflamm-Studie konnte verminderte Entzündungsreaktionen im Körper bei Personen, die ein 4-monatiges körperliches Training ausübten, nachweisen. Dieser Effekt stellte sich jedoch nur ein, wenn gleichzeitig auch eine Verringerung des Körpergewichts erzielt wurde [CHURCH et al., 2010].

Ein entsprechend intensives aerobes Training bei Personen über 65 Jahren kann die aerobe Leistung innerhalb eines Zeitraumes von 3 Monaten so stark verbessern, dass das biologische Alter des Sauerstoff-Transportsystems um bis zu 20 Jahre verringert wird.

Aerobes Training wirkt einer frühzeitigen Invalidität entgegen, hat jedoch wenig Einfluss auf die Lebenszeit bei über 80-jährigen Personen [STEPHARD, 1998].

Eine hohe Verbesserung der Muskelkraft durch effektives Training lässt sich sogar noch bei 90 Jahre alten Probanden innerhalb von 8 Wochen erzielen, auch wenn hier die Proteinsynthese langsamer verläuft als bei jüngeren Erwachsenen. Durch stärkere Muskeln werden eine Stabilisierung der osteo-arthritischen Gelenke, eine Verminderung des Risikos von Stürzen und eine Reduktion der Atemnot erreicht [STEPHARD, 1998].

Aus der SENECA-Studie geht hervor, dass ein gesunder Lebensstil mit regelmäßiger körperlicher Aktivität im Alter die Mortalität reduziert.

Regelmäßiges Training nimmt bei älteren Menschen meist jedoch keinen hohen Stellenwert ein [HAVEMAN-NIES, 2003].

Mindestens genauso wichtig wie körperliche Bewegung zur Senkung der Mortalität, ist ein weniger sitzender Lebensstil. Gemeinsam mit gesunder Ernährung sind dies die wichtigsten Faktoren für ein gesundes Älterwerden.

Dabei ist es von großer Wichtigkeit, die Dauer, Frequenz und Intensität des körperlichen Trainings individuell anzupassen, um die positiven Effekte gewährleisten zu können und keine Überbeanspruchung zu riskieren [HAMMAR und ÖSTGREN, 2013].

Körperliches Training wird nicht nur zur Prävention von kardiovaskulären Krankheiten eingesetzt, sondern zeigt auch eine effektive Wirkung bei der Rehabilitation dieser Erkrankungen.

Eine trainingsbasierte Rehabilitation reduziert die Mortalität und das Risiko eines weiteren Infarkts.

Ein möglicher Mechanismus ist die Verringerung von Entzündungsprozessen im Körper durch die körperliche Aktivität bei Patienten mit koronaren Herzkrankheiten.

Messungen ergaben eine geringere Konzentration an Fibrinogen sowie des C-reaktiven Proteins.

Auch nach Herztransplantationen profitieren Patienten von körperlichem Training, da diese die Sauerstoffaufnahme und Muskelstärke positiv beeinflusst [HAMMAR und ÖSTGREN, 2013].

Howe et al. untersuchten den Effekt von körperlichem Training bei älteren Erwachsenen auf Gleichgewicht, Koordination, Muskelstärke und weitere Funktionen. Die Studie zeigte, dass unter anderem Koordinationsübungen und Muskelstärkung den größten Effekt hinsichtlich der Verbesserung der Balance haben. Bezüglich anderer Aktivitäten, wie Rad fahren oder walken, konnte kein positiver Effekt auf die Balance beobachtet werden. Da hier jedoch wenige Daten vorliegen, sind weitere Studien nötig [HOWE et al., 2011].

Windle et al. belegten positive Effekte von körperlichem Training auf die geistige Gesundheit und das mentale Wohlbefinden bei älteren Personen über 65 Jahren. Diese führten zuvor einen sitzenden Lebensstil mit wenig Bewegung. Bei der Interventionsstudie wurden mindestens zweimal wöchentlich Trainingseinheiten zu je 45 Minuten ausgeführt, um Effekte zu erzielen.

Ein weiterer Faktor der zu mehr Wohlbefinden beitrug war eine verbesserte Schlafqualität bei einem Großteil der Probanden durch das regelmäßige Training [WINDLE et al., 2010].

Auch in hohem Alter wirkt sich Krafttraining positiv auf die Muskelproteinsynthese aus. Das Muskelwachstum wird gesteigert und die Muskelfunktion kann durch Training länger erhalten werden als bei einem inaktiven Lebensstil [VOLKERT und SIEBER, 2011].

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Der CBMN-Assay

Der Cytokinesis-block micronucleus cytochrome Assay ist eine sehr gut geeignete Methode, um Mikrokerne in den peripheren Blutlymphozyten (PBL) nachweisen zu können [EL-ZEIN et al., 2011].

Diese sind eine der besten Biomarker für DNA-Schäden in vivo [FENECH und BONASSI, 2011].

Mit Hilfe des CBMN-Assays können genotoxische, zytostatische sowie zytotoxische Informationen gewonnen werden [ALSHEHRI M., 2012].

Zu genotoxischen Vorkommnissen zählen die Anzahl an Mikrokernen (MNI), Nuclear Buds (NBUDs) und Nucleoplasmic Bridges (NPBs).

Zytotoxische Informationen erhält man durch das Bestimmen des Verhältnisses von Apoptosen zu Nekrosen.

Das Verhältnis von Einkern-, Zwei-, und Mehrkernzellen bzw. der Nuclear Division Index (NDI) gibt Hinweis auf zytostatische Parameter [FENECH, 2007].

Das Prinzip basiert dabei auf dem Stopp der Cytokinese durch Cytochalasin B. Da die Zellteilung dadurch angehalten wird, ist es möglich, MNI, NBUDs und NPBs in Zweikernzellen zu messen [EL-ZEIN et al., 2008].

Der CBMN-Assay bietet zahlreiche Vorteile, allem voran die Leichtigkeit des Zählens der Mikrokerne sowie die hohe statistische Power, da für die Auswertung eine größere Anzahl von Zellen verwendet wird, als bei einer herkömmlichen Metaphase-Analyse.

Weiters ist die Methode schnell, kostengünstig, zuverlässig und einfach anzuwenden [EL-ZEIN et al., 2006].

Sie eignet sich sehr gut zum Nachweis von DNA- und Chromosomenschäden sowie Mutationen [ALSHEHRI, 2012].

Genetische Schäden wie MNI, NPBs und NBUDs machen es möglich, falsch reparierte DNA-Bruchstücke, dysfunktionale bzw. fehlende Telomere oder auch die defekte Trennung von Schwesterchromatiden in der Anaphase aufgrund einer Störung der

DNA Amplifikation oder DNA-Reparaturmechanismus zu bestimmen [BONASSI et al., 2011].

3.1.1 Parameter des Cytokinesis-block micronucleus cytome Assay

Nukleoplasmatische Buds (NBUDs)

NBUDs sind seit den letzten Jahrzehnten ein weiterer wichtiger Indikator für Chromosomenschäden sowie Genamplifikationen und können mittels CBMN-Assays bestimmt werden [FENECH, 2007].

Auch durch die Bestimmung der nukleoplasmatischen Buds in Zweikernzellen ist es möglich, das Krebsrisiko einzuschätzen [BONASSI et al., 2011].

NBUDs weisen eine große Ähnlichkeit zu Mikrokernen auf. Ihre Morphologie sowie Aussehen und Farbtintensität sind beinahe gleich [FENECH, 2007].

NBUDs sind mit dem Zellkern entweder durch einen dünnen oder auch breiteren Stil verbunden. Meist ist diese Verbindungsbrücke etwas dünner als der Bud selbst. Dies ist abhängig vom jeweiligen Stadium der Knospung.

Das sogenannte „Budding“ kann ebenso entstehen, wenn eine NPB zwischen zwei Kernen bricht und die Enden bzw. Reste davon in Richtung der Kerne zurückschrumpfen [FENECH et al., 2011].

Beim „Nuclear Budding“ wird überschüssige DNA vom Zellkern entfernt. Dieser Überschuss bildet sich entweder durch eine Knospe um den Mikrokern aus oder wird gänzlich aus der Zelle ausgeschlossen, was in der Bildung eines NBUDs in einer Vakuole im Zytoplasma resultiert [FENECH, 2006].

Die genaue Dauer des „Nuclear Buddings“ sowie die Extrusion der resultierenden Mikrokerne der Zelle ist nach wie vor ungewiss [BONASSI et al., 2011].

Bei interstitieller DNA ohne Telomere ist die Frequenz von NBUDs höher als die der Mikrokerne.

Auch ein Mangel an Folsäure begünstigt die Bildung von Nukleoplasmatischen Buds [FENECH et al., 2011].

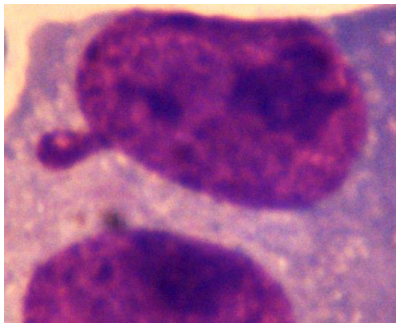


Abb. 1: Zweikernzelle mit Nuclear Bud (eigenes Foto, 2013).

Nukleoplasmatische Brücken (NPBs)

Nukleoplasmatische Brücken stellen ein Messinstrument für eine fehlerhafte DNA-Reparatur sowie Schäden an Chromosomen dar und können in der Anaphase beobachtet werden [FENECH, 2006].

Durch das Zählen von NPBs lässt sich das Krebsrisikos besser einschätzen [BONASSI et al., 2011].

Sie entstehen aus dizentrischen Chromosomen entweder durch fehlerhaft reparierte Chromosomenbruchstücke oder aufgrund der Fusion von durch fehlerhafte Telosom-Proteinstruktur ausgelöste Telomer-Enden [FENECH et al., 2011].

Im Rahmen eines normalen Zellzyklus sind Brücken nicht stabil, sondern würden brechen.

Im CBMN-Assay stoppt jedoch das Zellgift Cytochalasin B den Zellzyklus, sodass NPBs bestehen bleiben und mit Hilfe der Färbung sichtbar gemacht werden [FENECH et al., 2011].

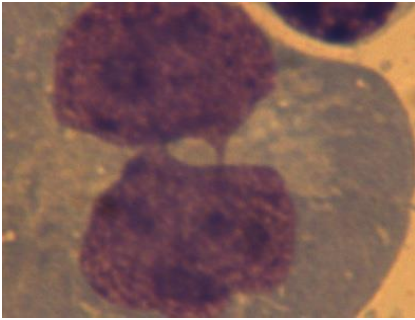


Abb. 2: Zweikernzelle mit Nucleoplasmatic Bridge (eigenes Foto, 2013).

Apoptosen

Bei einer Apoptose handelt es sich um den programmierten Zelltod, der dann hervorgerufen wird, wenn die Kaskade von biochemischen Reaktionen aktiviert wird. Dabei wird die ganze Zelle inklusive dem Zellkern in einzelne Fragmente, sogenannte apoptotische Körperchen, gesplittet. Weiters findet eine Spaltung der DNA statt, während der sich diese in mehrere Teile unterschiedlicher Größe teilt.

Der programmierte Zelltod kann in Folge von Alkoholmissbrauch, oxidativem Stress oder einem gestörten Eisenmetabolismus auftreten [NANJI und HILLER-STURMHÖFEL, 1997].

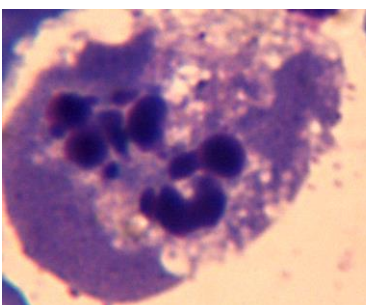


Abb. 3 : Apoptose (eigenes Foto, 2013).

Nekrosen

Unter einer Nekrose versteht man den Zelltod, der aufgrund negativer Bedingungen im Umfeld der Zelle eintritt. Diese können weitreichend sein, zum Beispiel verminderte ATP-Levels, erhöhte IL-8 Werte oder auch ungünstige Bedingungen aufgrund von Alkoholmissbrauch.

Eine nekrotische Zelle ist dadurch gekennzeichnet, dass die Zellwand Läsionen aufweist und der Zellinhalt austritt.

Weiters gehen die metabolischen Zellfunktionen verloren, sodass die Organellen ihre Aufgaben nicht mehr erfüllen können [NANJI und HILLER-STURMHÖFEL, 1997].

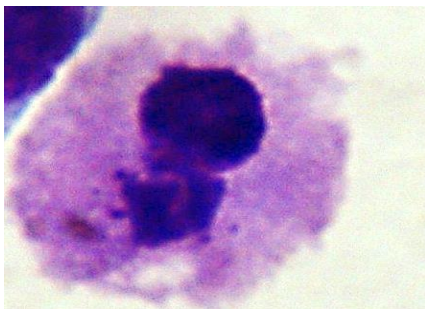


Abb. 4: Nekrose (eigenes Foto, 2013).

Mikrokerne (MNi)

Die Bestimmung der Mikrokernfrequenz ist ein aussagekräftiger Marker der phänotypischen Empfindlichkeit gegenüber Krebs. Studien zu Mutationen bei Patienten mit Lungenkrebs zeigten hier eine erhöhte Anzahl an Mikrokernen [BONASSI et al., 2011].

MNi können in allen kernhaltigen und teilenden Geweben einer jeden Spezies entstehen [ALSHERI, 2012].

Sie bilden sich aus azentrischen Chromosom- bzw. Chromatid-Fragmenten aus [FENECH, 2011].

Chromosomenbrüche und abnorme Chromosomensegregation sind ein Anzeichen von maligner Transformation [LAL und AMES, 2011].

Weiters kann auch eine falsche Abtrennung von ganzen Chromosomen zur Bildung von Mikrokernen führen.

Dabei haben Chromosomen keine Verbindung mehr zum Spindelapparat und bleiben so im Plasma in Form von Mikrokernen.

Gründe dafür können entweder eine Hypomethylierung von zentromeren und perizentromeren Wiederholungssequenzen sein oder auch fehlerhafte Kinetochor-Proteine, eine fehlerhafte Bildung des Spindelapparats oder Defekte von mitotischen Kontrollpunkten [FENECH et al., 2011].

Chromosom- und Chromatid-Fragmente entstehen durch falsch reparierte DNA-Doppelstrangbrüche. Ein kleinerer Teil von Chromosom-Fragmenten bildet sich auch durch nicht reparierte DNA-Doppelstrangbrüche.

Diese resultieren aus falsch bzw. beschädigten Basen, die aus komplementären DNA-Strängen herausgelöst, und nicht ersetzt wurden.

Es bleibt somit eine Lücke enthalten, die in weiterer Folge zu einem Bruch des DNA-Doppelstrangs führt. Die Zelle ist durch einen genotoxischen Defekt nicht in der Lage, den DNA-Doppelstrangbruch zu reparieren.

Aus diesen DNA-Schäden resultieren einzelne Fragmente bzw. folgt daraus die Entwicklung von Mikrokernen [FENECH et al., 2011].

Außerdem können sich auch aus Nukleopasmatischen Brücken Mikrokerne bilden, da hier chromosomales fragmentiertes Material entsteht [FENECH, 2006].

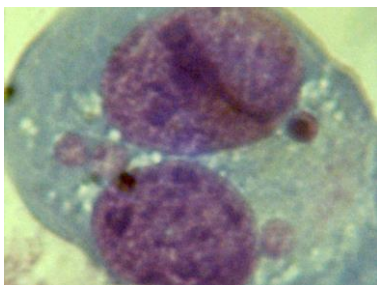


Abb. 5: Zweikernzelle mit MNi (eigenes Foto, 2013).

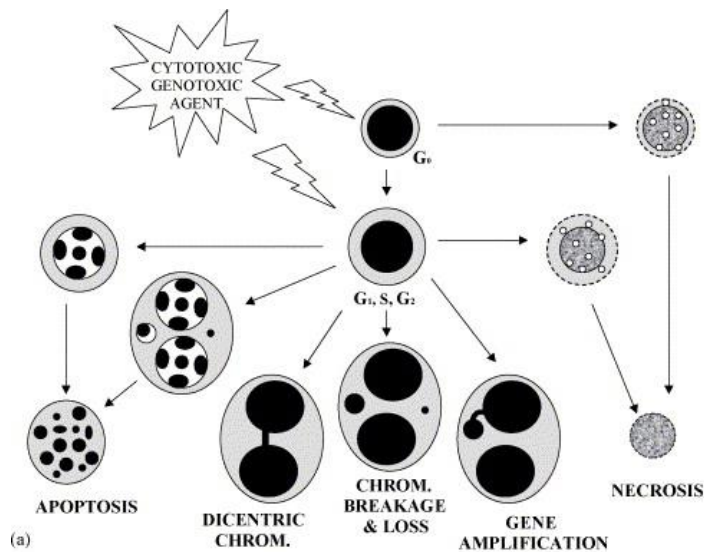


Abb. 6: Entstehung von MNi, NBUDs, NPBs, Apoptosen und Nekrosen [FENECH et al., 2003].

Mikrokerne entstehen in der Anaphase, während die Zellteilung stattfindet. MNi werden nur in Zweikernzellen gezählt, um ungünstige Effekte von Zellteilungsabläufen zu vermeiden, da bei einer weiteren Zellteilung Mikrokerne verloren gehen können [FENECH, 2007].

Nuclear Division Index (NDI)

Der NDI gibt den Proliferationsstatus von lebenden Zellen an und ist somit ein Indikator für zytostatische Effekte. Weiters kann damit die mitogenetische Antwort der Lymphozyten bestimmt werden, die einen wichtigen Biomarker für die Immunfunktion darstellt.

Die Bestimmung des NDI erfolgt, indem theoretisch Zellen mit 1-4 Zellkernen gezählt werden und anschließend folgende Formel angewendet wird:

$$\text{NDI} = (M1 + 2M2 + 3M3 + 4M4) / N.$$

M1 bis M4 stellt dabei die Anzahl der Zellkerne dar. N beschreibt die Gesamtanzahl aller lebender Zellen, wobei weder Nekrosen noch Apoptosen miteingerechnet werden.

Bei der Auswertung der Ergebnisse dieser Masterarbeit wurden alle Zellen mit 3 oder mehr Kernen als Mehrkernzellen gewertet. Die Variable M4 fällt so weg.

Der niedrigste Wert, den der NDI annehmen kann, ist 1,0. Dies ist der Fall, wenn in den lebenden Zellen keine Teilung stattfindet und ausschließlich Einkernzellen zu finden sind.

Wenn jedoch mehrere Zellteilungen stattgefunden haben, so erhöht sich der Wert des NDI [FENECH, 2007].

Nuclear Division Cytotoxicity Index (NDCI)

Der NDCI gibt das Ausmaß an zytotoxischen Effekten an und wird mit folgender Formel berechnet:

$$\text{NDCI} = (\text{Apoptosen} + \text{Nekrosen} + M1 + 2 \times M2 + 3 \times M3 + 4 \times M4) / N$$

M1, M2, M3 und M4 geben die Zellen mit der verschiedenen Anzahl an Mikrokernen an. N ist die Gesamtanzahl aller Zellen [EL-ZEIN et al., 2008].

3.2 Studiendesign

Diese Arbeit ist im Rahmen der Forschungsplattform Active Ageing entstanden. Dabei handelt es sich um eine Studie zur Untersuchung der Auswirkungen von Krafttraining und Nahrungsergänzung auf die körperliche Leistungsfähigkeit von Senioren in Pensionistenwohnhäusern.

Die Ernährungssupplementation und die körperliche Aktivität soll dabei die Auswirkungen der Sarkopenie minimieren. Dies führt zu einer gesteigerten Lebensqualität durch mehr Unabhängigkeit, geringere Gebrechlichkeit sowie Sturzhäufigkeit.

Die Interventionsstudie ist randomisiert, beobachter-blind und kontrolliert. Die Probanden wurden vor der Teilnahme in 3 Gruppen eingeteilt. Gruppe Training, Gruppe Training & Ernährung und Gedächtnistrainingsgruppe.

Das Training wurde 6 Monate lang zweimal wöchentlich angeleitet, die nächsten 6 Monate wurde 1x selbstständig und 1x mit geschulten Trainern absolviert und weitere 6 Monate müssen die Probanden das Training selbstständig durchführen.

Bei allen 3 Gruppen wurde mit Hilfe des CBMN-cytome Assays zu 5 verschiedenen Messpunkten (T1, T2, T3, T4, T5) die Mikrokernfrequenz bestimmt.

Diese Masterarbeit behandelt die Testzeitpunkte T1, T2 und T3.

3.3 Rekrutierung der Probanden

Die Pensionistenwohnhäuser wurden gemeinsam mit den Zuständigen des Kuratorium Wiener Pensionistenhäuser (KWP) ausgewählt. Mittels einer Informationsveranstaltung informierte man die Bewohner ausführlich über den Studienablauf, fix teilnehmende Probanden wurden anschließend nochmals zusätzlich aufgeklärt.

Um die Ein- und Ausschlusskriterien, wie z.B. das Vorliegen chronischer oder schwerer kardiovaskulärer Erkrankungen, zu überprüfen, vereinbarte man Einzeltermine mit allen Teilnehmern.

Insgesamt konnten 117 Probanden im Alter von 65 bis 97 Jahren von 5 verschiedenen Pensionistenwohnhäusern rekrutiert werden. Die Teilnehmer waren größtenteils weiblich, da in den Wohnhäusern ein durchschnittlicher Frauenanteil von 90 % verzeichnet wird.

Für die Analysen dieser Arbeit standen zum Startzeitpunkt T1 99 Probanden zur Verfügung.

Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien:

- Alter mindestens 65 Jahre
- Ausreichender geistiger Zustand (Mini-Mental-State > 23)
- Distanz von 10 m muss ohne Hilfsmittel zurückgelegt werden können
- Mindestens 4 Punkte bei der Short Physical Performance Battery (SPPB)

Ausschlusskriterien:

- Chronische Erkrankungen (Kontraindikation für eine medizinische Trainingstherapie)
- Schwere kardiovaskuläre Erkrankungen
- Manifeste Osteoporose
- Diabetische Retinopathie
- Antikoagulantia
- Medikation mit Antikoagulantia oder Cortison Präparaten
- Regelmäßiges Krafttraining (> 2x / Woche) in den letzten 6 Monaten vor Einschluss

- Trainingsgruppe: Teilnahme bei weniger als 70 % der möglichen Trainingseinheiten oder bei weniger als 3 Einheiten in den letzten beiden Wochen jeweils vor den Tests
- Training + Ernährungsgruppe: Einnahme von weniger als 5 Portionen / Woche über den Durchrechnungszeitraum oder weniger als 5 Portionen in jeweils der letzten 2 Wochen vor den Tests

Von allen Probanden wurden anthropometrische Daten, wie Größe, Gewicht und Körperkomposition ermittelt, sowie Krafttests zur Überprüfung der körperlichen Leistungsfähigkeit durchgeführt.

Dazu zählen unter anderem der Chair-Sit & Reach Test zur Erfassung der Beweglichkeit, der Single Leg Balance Test zur Erhebung der Gleichgewichtsfähigkeit, der Chair-Rising Test zur Messung der dynamischen Kraftfähigkeit der Extremitäten, sowie der 6 min Walking Test zur Erfassung der aeroben Ausdauer.

3.4 Interventionsphase

In der Interventionsphase (6 Monate) wurde sowohl mit dem Krafttraining als auch mit der Ernährungsintervention begonnen.

Die Gedächtnistrainingsgruppe änderte ihren momentanen Lebensstil nicht und absolvierte anstatt des Krafttrainings und der Ernährungsintervention ein kognitives Training mit Aufgaben zur Stärkung der Feinmotorik. Ziel dabei war hauptsächlich die positive Einflussnahme auf die Sozialisierung der Probanden.

Alle teilnehmenden Heimbewohner, die alle Ein- bzw. Ausschlusskriterien erfüllten, wurden nach einer Erstuntersuchung in einer der drei Gruppen Training, Training + Ernährung oder Gedächtnistrainingsgruppe eingeteilt.

In der Interventionsphase wurden fünf Blutabnahmen durchgeführt, die erste gleich zu Beginn und dann nach 3, 6, 12 und 15 Monaten der Interventionsphase.

3.5 Gruppe Training

Nach der ersten Blutabnahme begann für die Probanden der Trainingsgruppe ein progressives Krafttraining. Die Intensität wird dabei kontinuierlich dem jeweiligen Leistungsniveau angepasst.

Speziell geschulte Sportwissenschaftler leiteten das zweimal wöchentliche Training über einen Zeitraum von 6 Monaten.

Weitere 6 Monate wurde das Krafttraining einmal pro Woche angeleitet und einmal pro Woche selbstständig von den Probanden durchgeführt. Danach müssen alle Übungen gänzlich alleine durchgeführt werden, wobei jedoch regelmäßige Unterstützung und Hilfe angeboten wird.

Eine Trainingseinheit beträgt zwischen 50 und 60 Minuten, in der neben Übungen mit dem eigenen Körpergewicht und einem Theraband auch Gleichgewichtsübungen durchgeführt wurden.

Wichtig dabei ist ein 10minütiges Aufwärmen mit Balancetraining, sowie ein 10 minütiges Abwärmen zur Entspannung.

Im Hauptteil des Krafttrainings wurden die einzelnen Übungen jeweils zwischen 8 und 12 Mal ausgeübt (2 Sätze). Ein Satz besteht aus acht bis 12 Wiederholungen, die Intensität dabei beträgt 60-80 % des One Repetition Maximums (RM).

Da es sich um ein progressives Krafttraining handelt, wurde die Intensität gesteigert, sobald es den Probanden möglich war, mehr als 12 Wiederholungen bei dem letzten Satz durchzuführen.

3.6 Gruppe Training + Ernährung

Die Gruppe Training + Ernährung führte nicht nur das körperliche Training durch, sondern erhielt nebenbei noch zusätzlich das spezielle Nahrungsergänzungsmittel FortiFit.

FortiFit besteht zu 20,7 % aus Proteinen, die Hälfte davon sind essentielle Aminosäuren. Weiters enthält FortiFit Vitamin D, Calcium, Magnesium, sowie Vitamin B6 und B12.

Das wasserlösliche Nahrungsergänzungsmittel wurde täglich zum Frühstück und zweimal wöchentlich auch nach dem Training eingenommen.

Durch die spezielle Zusammensetzung und die essentiellen Aminosäuren sollen die Kraft und Funktion der Muskeln optimieren und die Muskelproteinsynthese anregen. In weiterer Folge wirkt dies dem Auftreten einer Sarkopenie entgegen [WESSNER et al., 2011].

Zusammensetzung FortiFit:

	100 ml enthalten
Energie	100 kcal
Eiweiß	13,8 g
Molkenprotein	13,1 g
Leucin	2 g
Essentielle Aminosäuren	> 6,6 g
Kohlenhydrate	6,2 g
Fett	2 g
Ballaststoffe	0,8 g
Broteinheiten	0,5 BE

Tab.1 : Zusammensetzung FortiFit [Nutricia, 2013]

3.7 Gedächtnistrainingsgruppe

Diese Gruppe diente zur Kontrolle, um die Ergebnisse des Trainings bzw. der Nahrungssupplementation messen zu können. Die hier zugeteilten Probanden führten zweimal wöchentlich ein kognitives Training durch.

4. CBMN-Assay (in Zusammenarbeit mit Birgit Koller)

4.1 Verwendete Materialien & Chemikalien

Materialien:

- 50 ml Zentrifugenröhrchen
- 15 ml Zentrifugenröhrchen
- Spritzen
- sterile Filter
- elektronische Pipettierhilfe
- Pasteurpipetten
- Glaspipetten
- 5 ml Falcon-Röhrchen
- 12 ml Leucosep-Röhrchen
- Countess cell-counting chamber slides
- Cups
- Objektträger
- Deckelgläser

Chemikalien:

- RPMI 1640 steril
- L-Glutamin steril
- Fetal Bovine Serum (FBS)
- Dulbeccos Phosphate buffered saline steril (PBS)
- Sodium–L–Pyruvat steril
- Cytochalasin B
- Phytohaemagglutinin (PHA)
- Dimethylsulfoxid (DMSO)
- Trypanblau
- Diff Qick, Diff Quick I, Diff Quick II
- Entellan

4.2 Probenaufbereitung

Die Probenaufbereitung wird auf 3 Tage aufgeteilt.

TAG 1:

Zu Beginn erfolgt die Herstellung des Mediums. Dafür werden die benötigten Reagenzien zuerst im Wasserbad erwärmt bzw. aufgetaut und DNA mit einer Pipette vereint. Die Zusammensetzung des Mediums ist wie folgt: 30 ml RPMI, 3,3 ml FBS, 330 µl Sodium-L-pyruvat sowie 330 µl L-Glutamin.

Lymphozytenisolierung:

Die Lymphozytenisolierung wird im Abzug unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Zuerst überführt man das Vollblut mit Hilfe von sterilen Pasteurpipetten in je ein Zentrifugenröhrchen. Dabei werden je zwei Proben (jeweils ca. 7 ml) in ein Röhrchen vermengt. Danach werden die Proben 15 Minuten lang bei 16 °C und 2400 rpm ohne Bremse zentrifugiert.

Nun können die Lymphozyten abgenommen werden, was wiederum mit Pasteurpipetten durchgeführt wird. Die Lymphozyten werden dabei in Röhrchen überführt, die anschließend bis zur 15 ml Marke mit PBS aufgefüllt werden. Durch die PBS Zugabe werden die Lymphozyten gewaschen und gereinigt.

Ab jetzt wird auf Eis gearbeitet, da die Lymphozyten sehr empfindlich sind und ansonsten schnell zerstört werden würden.

Es folgt ein weiterer 15-minütiger Zentrifugierschritt bei 1300 rpm, 4 °C und ab jetzt immer mit Bremse.

Danach wird der Überstand abgesaugt, sodass nur noch das Pellet übrig bleibt. Danach löst man dieses in 1 ml PBS und füllt DNA bis zur 10 ml Marke auf.

Es wird nochmals 10 Minuten zentrifugiert, bei 1300 rpm und 4 °C. Der Überstand wird wiederum abgesaugt.

Danach resuspendiert man die Zellen in 1 ml PBS und löst das Pellet mit Hilfe von leichtem klopfen. 2 Probandenröhrchen werden nun nach vorherigem Schwenken mit Hilfe einer Pipette vereint

Bestimmung der Zellzahl:

20 µl der Zellsuspension wird in je einem Cup mit 40 µl PBS vermischt. Dabei wird die Spitze eingetaucht und einmal gespült.

Davon werden in einem weiteren Cup 10 µl der verdünnten Zellsuspension mit 10 µl Trypanblau vermenget. Man befüllt damit die Neubauer-Zählkammer der Countess und liest die Anzahl der lebenden Zellen pro Milliliter ab.

Mit Hilfe des Excel-Programms kann die benötigte Menge der Zellsuspension und des RPMI berechnet werden.

Die Zellsuspension wird nun nochmals 10 Minuten bei 1300 rpm und 22 °C zentrifugiert. Danach wird der Überstand abgesaugt und mit Medium (1880 ml) aufgefüllt.

Inkubation:

Die Falconröhrchen werden im Doppelansatz laut Excel-Berechnung mit der jeweiligen Menge an Zellsuspension und RPMI befüllt. Danach werden je 15 µl PHA zugegeben, um die mitotische Zellteilung zu stimulieren.

Da der Platz in der Zentrifuge begrenzt ist, werden nur 3 Proben auf einmal mit PHA versetzt.

Nach einer 20 minütigen Pause erfolgt die Zugabe bei den nächsten 3 Proben, die in der Zwischenzeit verschlossen und mit Alufolie abgedeckt im Abzug stehen gelassen werden.

Die mit PHA versetzten Falcons werden bei 37°C, 5% CO₂ für genau 44 Stunden inkubiert.

TAG 2:

Die benötigten Reagenzien Cytochalasin B und RPMI werden im Wasserbad aufgetaut bzw. erwärmt.

In einem Röhrchen vermischt man 180 µl Cytochalasin B mit 1620 µl RPMI, sodass man eine 1:10 Verdünnung des Cytochalasin B erhält.

Von jedem Falconröhrchen werden mit Hilfe einer Pipette genau 56,2 µl vom Überstand entfernt und anschließend 56,2 µl der Cytochalasin B / RPMI-Mischung zugeben. Die Pipettenspitze wird dabei nur im Überstand gespült. Durch das Cytochalasin B wird die Zellteilung gestoppt. Die Falcons werden nochmals für weitere 28 Stunden bei 37 °C inkubiert.

TAG 3:

Nach insgesamt 72 Stunden Inkubationszeit erfolgt das Auftragen der Zellen auf die Objektträger. Dabei wird im Doppelansatz und nicht mehr unter sterilen Bedingungen gearbeitet.

Zentrifugieren im Cytospin

Zuerst werden die Objektträger vorbereitet. Dafür befestigt man Filterpapier und Trichter in Klammern, die DNA der Reihe nach im Cytospin eingeordnet werden.

Von der Zellsuspension entfernt man 200 µl vom Überstand und gibt 46 µl DMSO hinzu, das durch leichtes Klopfen mit der Zellsuspension vermischt wird.

Davon werden 120 µl in die Öffnung des Trichters pipetiert. Nach einem 5 minütigen Zentrifugieren bei 600 rpm werden die Objektträger 10 Minuten getrocknet. Diese Zeit darf nicht überschritten werden da sonst die Morphologie der Zellen verändert wird, was das spätere Auszählen erheblich erschwert.

Färben der Objektträger:

Zuerst werden die Wannen zur Färbung vorbereitet, dazu gießt man Diff-Quick Fix, Diff-Quick I und Diff-Quick II in je eine Glaswanne. Bei Diff-Quick Fix handelt es sich um Ethanol, darum muss dies stets zugedeckt werden.

Die Objektträger werden in die Färbekammer Rücken an Rücken geschichtet, dabei finden bis zu zwölf Objektträger Platz.

Man taucht die befüllte Färbekammer für 10 Minuten in Diff-Quick Fix, danach 10 Mal in Diff-Quick I und 8 Mal in Diff-Quick II.

Anschließend werden die Objektträger kurz mit Leitungswasser, dann mit bidestiliertem Wasser abgespült und zum Trocknen 10 bis 15 Minuten auf Papier gelegt.

Die Färbung wird mit Hilfe des Mikroskops kontrolliert, im gegebenen Fall muss nochmals mit Diff-Quick I und Diff-Quick II nachgefärbt werden.

Die Objektträger werden nach einer kurzen Trocknungszeit mit Deckelgläsern verschlossen, um die Lymphozyten haltbar zu machen.

Dazu tropft man Entellan auf den Objektträger neben den Spot und bedeckt diesen mit einem Deckglas.

Über Nacht werden die Objektträger getrocknet und bis zum späteren Auszählen in Boxen geordnet.

4.3 Zählkriterien

Die Zählkriterien wurden anhand der Literatur von M. Fenech (2007) und in Absprache mit Klemens Krejci und Heidemarie Peherstorfer bestimmt.

Es werden Ein-, Zwei- und Mehrkernzellen gezählt, des weiteren MNi, NBUDs, NPBs zur Bestimmung der DNA-Schäden sowie Apoptosen und Nekrosen.

Um gezählt zu werden, müssen die Kerne aller Ein-, Zwei- und Mehrkernzellen eine schöne Morphologie aufweisen und vollständig mit einem intakten Zytoplasma umschlossen sein.

Ein Proband wurde auf jeweils 4 Objektträger aufgeteilt, pro Objektträger wurden 500 Zweikernzellen gezählt.

Folgende Parameter wurden bis 250 Zweikernzellen gezählt:

- Einkernzellen
- Mehrkernzellen
- Nekrosen
- Apoptosen

Folgende Parameter wurden bis 500 Zweikernzellen gezählt:

- BNCs mit MNi
- MNi insgesamt in der BNC
- BNCs mit NBUDs
- BNCs mit NPBs

Laut Literatur von M. Fenech (2007) sind folgende Zählkriterien für den CBMN-Assay zu berücksichtigen:

Zweikernzellen (BNCs):

Zellen mit zwei Zellkernen. Die Kernmembran ist intakt und die Kerne liegen innerhalb des Cytoplasmas.

Die Zellkerne müssen normale Morphologie aufweisen, also etwa die gleich Farbe, Größe und Farbintensität aufweisen.

Die Kerne dürfen sich nicht überlappen, sollte dies doch der Fall sein DNA müssen die zwei Kerne trotzdem klar erkennbar von einander abgegrenzt sein.

Die cytoplasmatische Membran der Zweikernzellen muss klar von benachbarten Zellen abgegrenzt und unterscheidbar sein.

Mikrokerne (MNi): Der Durchmesser der Mikrokerne muss mindestens $\frac{1}{16}$ und maximal $\frac{1}{3}$ des Durchmessers der Hauptkerne betragen.

Mikrokerne müssen die gleiche Farbintensität wie auch die Zellkerne aufweisen, eventuell kann die Färbung etwas stärker ausgeprägt sein.

MNi sind innerhalb des Cytoplasmas und nicht mit den Zellkernen verbunden.

Die Grenze der Mikrokerne muss klar erkennbar sein, eine Überlappung darf nicht gegeben sein. MNi sind weder verbunden noch verknüpft mit den Zellkernen.

Mikrokerne sind rund oder oval und klar unterscheidbar von gefärbten Partikeln, da sie keine Lichtbrechung aufweisen.

MNi sind nicht verknüpft oder verbunden mit dem Hauptkern, aber die MNi können den Hauptkern berühren.

Buds (NBUDs):

NBUDs sind direkt mit dem Zellkern über Brücken verbunden. Diese Brücken sind meist etwas schmaler als der Durchmesser des Bud, können aber auch sehr dünn sein.

Es ist auch möglich, dass NBUDs direkt benachbart zum Hauptkern innerhalb einer Vakuole zu finden sind.

Bezüglich der Färbung besitzen Buds die gleiche Intensität wie auch Mikrokerne.

Brücken (NPBs):

NPBs verbinden die Hauptkerne einer Zweikernzelle miteinander. Eine Brücke kann unterschiedlich dick sein, in der Regel ist sie jedoch maximal so breit wie etwa ein $\frac{1}{4}$ des Durchmessers der Zellkerne einer BNC.

Farblich sind NPBs gleich den Hauptkernen. Kommen innerhalb einer Zelle mehrere Brücken vor, so wird trotzdem nur eine NPB gezählt.

Nekrosen:

Nekrosen sind eine Form des Zelltodes und dadurch gekennzeichnet, dass die Membran des Cytoplasmas nicht mehr intakt ist.

In der frühen Phase erscheint das Cytoplasma hell und es sind zahlreiche Vakuolen zu beobachten. Diese Vakuolen finden sich meist im Cytoplasma, können jedoch auch unter Umständen im Zellkern vorkommen.

Handelt es sich um Nekrosen in der späteren Phase, so kommt es zu einem Verlust des Cytoplasmas zu beobachten. Die Kernmembran ist außerdem beschädigt sowie Kernstruktur nicht mehr voll intakt.

In beiden Fällen weisen Cytoplasma und Zellkern bei nekrotischen Zellen eine geringere Farbintensität auf als bei lebenden Zellen.

Apoptosen:

Apoptosen entstehen im Rahmen des programmierten Zelltodes.

Bei der frühen Phase der Apoptose ist eine Chromatin-Kondensation innerhalb des Zellkerns zu beobachten. Die Membran von Zellkern als auch von Cytoplasma ist intakt.

Handelt es sich um Apoptosen in der späteren Phase, so kommt es zu einer Kernfragmentierung. Sowohl Cytoplasma als auch dessen Membran sind intakt.

Der Zellkern, die Kernfragmente und das Cytoplasma sind intensiver gefärbt und so gut erkennbar.

Vereinbarte Punkte der Auszählung (in Absprache mit Klemens Krejci und Heidemarie Peherstorfer):

Wenn nicht sicher ist, ob es sich um einen NBUD oder aber MN handelt, wird ein MN gezählt.

Ein MN muss eine runde oder ovale Form haben. Er wird nur gezählt wenn die Farbintensität gleich der Hauptkerne oder etwas dunkler ist. Hellere Kerne werden nicht beachtet.

Befindet sich ein Mikrokern genau zwischen zwei Zellkernen einer BNC, so muss darauf geachtet werden, diesen nicht mit einer NPB zu verwechseln.

Der mittlere Durchmesser einer Zweikernzelle wird von der kurzen Seite der BNC gemessen.

Sind innerhalb einer BNC mehrere NBUDs vorhanden, so wird dennoch nur einer gezählt.

NBUDs müssen eine deutliche Abschnürung haben, die Verbindung zum Zellkern muss also etwas dünner als der BUD selbst sein.

Wenn mehrere NPBs in einer Zweikernzelle auftauchen, so wird nur eine NPB gezählt. Berühren sich die Kerne einer BNC und ist die Brücke dadurch nicht eindeutig erkennbar, so wird diese nicht mitgezählt.

Bei Apoptosen gilt dass jene mit hellem Cytoplasma nicht als solche gewertet werden. Handelt es sich um eine frühe Phase der Apoptose, so muss ein Kern mit hellen Vakuolen zu erkennen, und es muss eine deutliche beginnende Auflösung vorhanden sein.

Bezüglich Nekrosen gilt, dass diese nicht gezählt wird, sollte nur mehr das Zellkernmaterial zu erkennen sein.

Das Cytoplasma einer Nekrose muss rosa oder hellblau sein, eventuell sind Vakuolen vorhanden.

Im Zweifelsfall, ob eine Nekrose oder Apoptose vorhanden ist, wird eine Nekrose gezählt.

5. Ergebnisse

Die vorhandenen Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS 19.0 ausgewertet.

Es wurde zwischen drei Messzeitpunkten (T1, T2, T3) unterschieden. Weitere Unterteilungen sind die Gruppen Training, Training & Ernährung und Gedächtnistrainingsgruppe sowie die verschiedenen Alterskategorien und das Geschlecht.

Zu Beginn wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt, um die Daten auf Normalverteilung zu testen.

Es wurden die Mittelwertunterschiede jedes einzelnen Parameters zwischen den Untersuchungszeitpunkten T1 und T2, T1 und T3 sowie T2 und T3 untersucht, jeweils in Abhängigkeit der einzelnen Interventions- sowie Altersgruppen.

Außerdem wurde die Korrelation zwischen Geschlecht, Gruppe und Alter nach Pearson berechnet.

Da nicht alle Gruppen normalverteilt waren, wurde der Wilcoxon-Test, ein nicht parametrischer Test für verbundene Stichproben, verwendet. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ festgelegt.

Das Hauptaugenmerk bei der Auswertung wurde auf die Anzahl von Mikrokernen gelegt. Weitere Parameter des CBMN-Assays, wie Apoptosen und Nekrosen, wurden ebenfalls ermittelt, sowie NDI und NDCI berechnet.

In dieser Masterarbeit werden insbesondere die Veränderungen in der Trainings-Gruppe beleuchtet.

Die Daten der Gruppe Training & Ernährung werden von meiner Kollegin Birgit Koller genauer behandelt.

5.1 Ausgangswerte zum Zeitpunkt T1

5.1.1 Vergleich zwischen den Geschlechtern

Zu Beginn der Untersuchungen wiesen die teilnehmenden weiblichen Probandinnen eine etwas höhere Anzahl an Mikrokernen als die Männer auf, dieser Wert ist jedoch nicht signifikant.

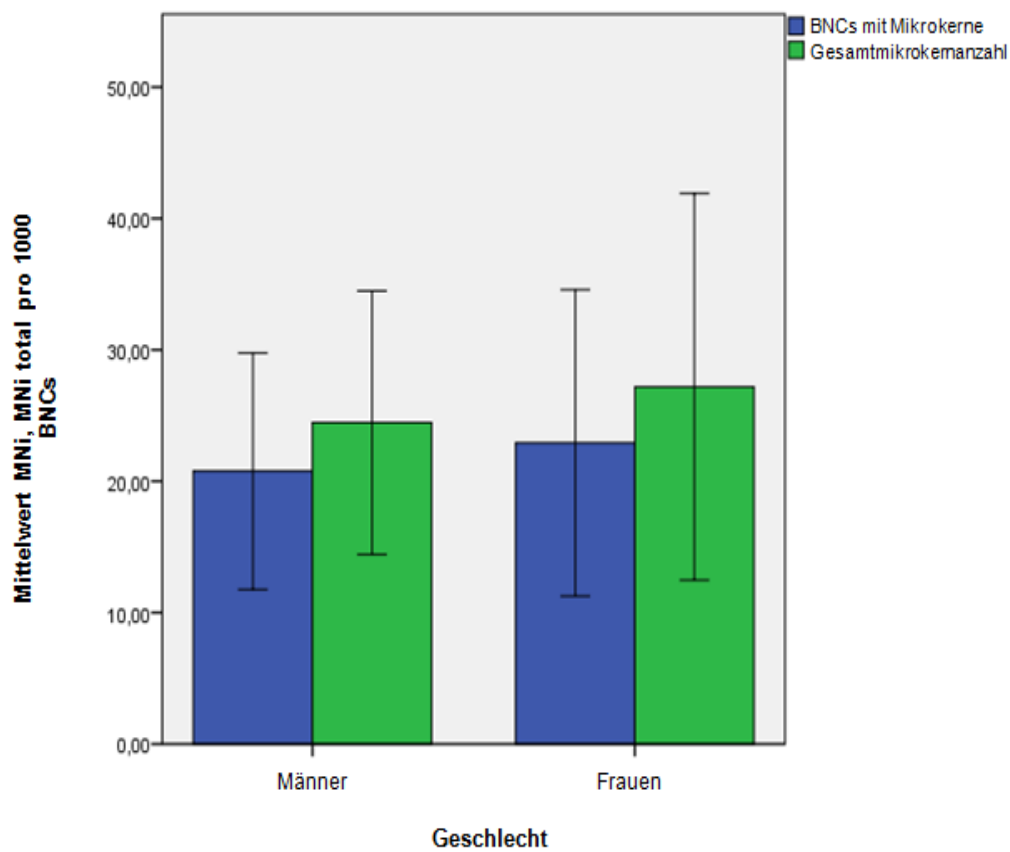


Abb. 7 : Vergleich der BNCs mit Mikrokernen sowie der Gesamtmikrokernanzahl zwischen den Geschlechtern

5.1.2 Anzahl der BNCs mit Mikrokernen und Gesamtmikrokernzahl in Abhängigkeit des Alters

Wie schon Wojda et al. aufzeigten, lässt sich eine leichte Abnahme der Mikrokernanzahl etwa ab dem 70. Lebensjahr feststellen [WOJDA et al., 2007].

Zur Überprüfung dieser These wurde die Korrelation zwischen der Parametern Alter und BNCs mit Mikrokernen bzw. Gesamtmikrokerne untersucht.

Jedoch konnte hier weder bei den BNCs mit Mikrokernen (Abb. 8), noch bei der Gesamtmikrokernanzahl (Abb. 9) ein Zusammenhang festgestellt werden.

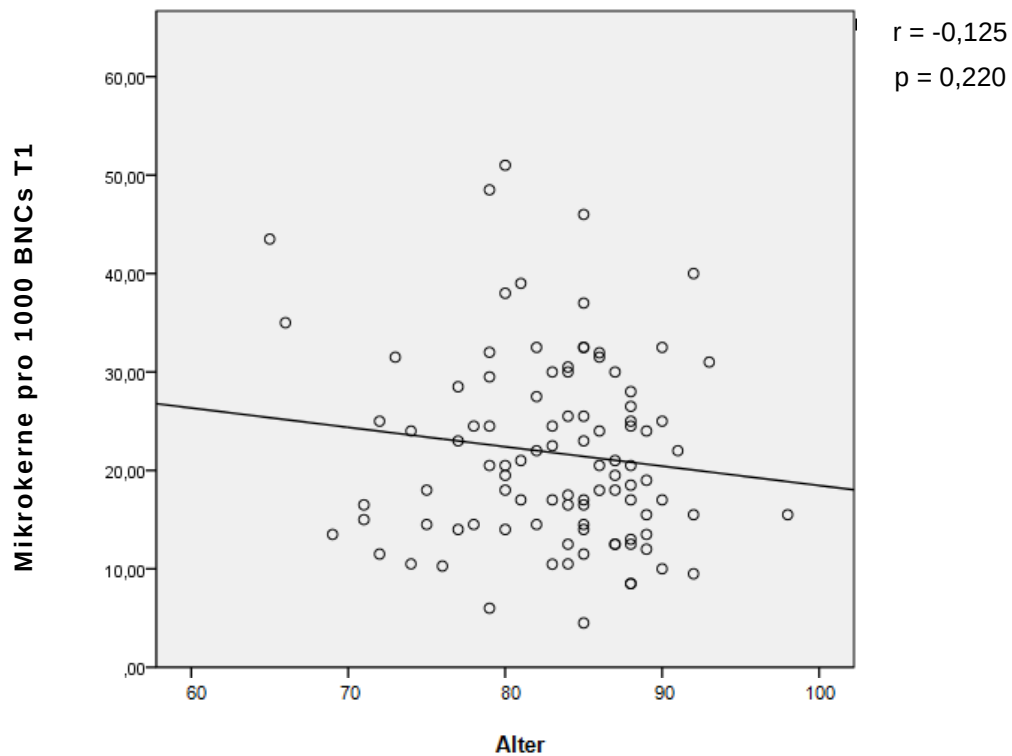


Abb. 8: Anzahl der BNCs mit Mikrokernen zu T1 in Abhängigkeit des Alters

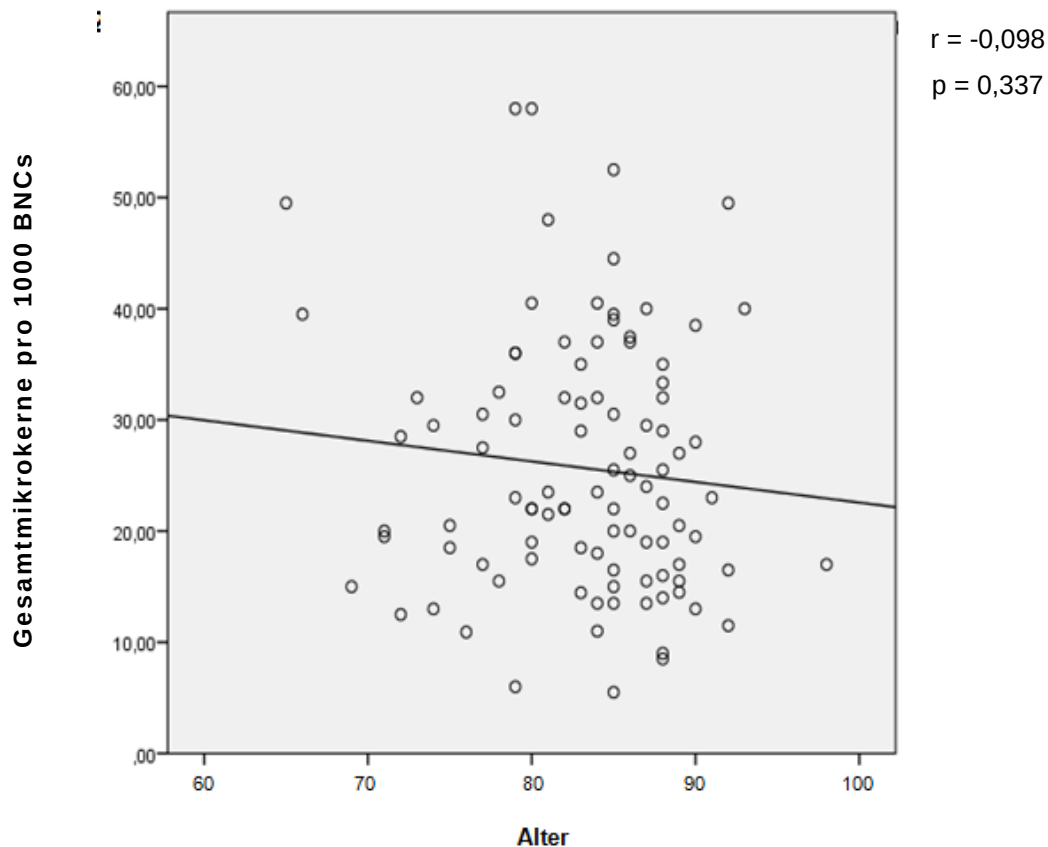


Abb. 9: Gesamtmikrokernanzahl zu T1 in Abhängigkeit des Alters

5.1.3 Vergleich der Anzahl an Apoptosen, Nekrosen, Buds und Bridges in Abhängigkeit des Alters

Neben der Mikrokernanzahl wurde auch die Korrelation zwischen den Parametern Alter und Nekrosen (Abb. 10), Apoptosen (Abb. 11), Bridges bzw. Buds untersucht.

Jedoch konnte auch hier nirgends ein Zusammenhang festgestellt werden, darum wurde nur die nicht signifikante Korrelation zwischen Alter und Apoptosen bzw. Nekrosen grafisch dargestellt.

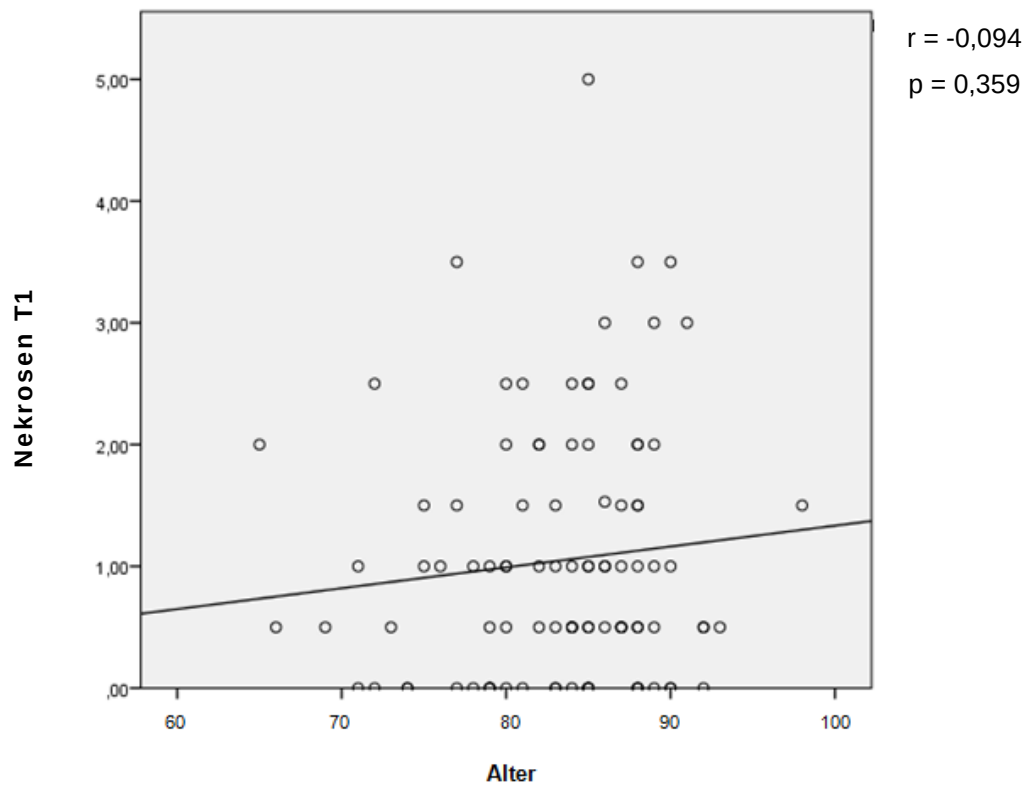


Abb. 10: Anzahl der Nekrosen zu T1 in Abhängigkeit des Alters

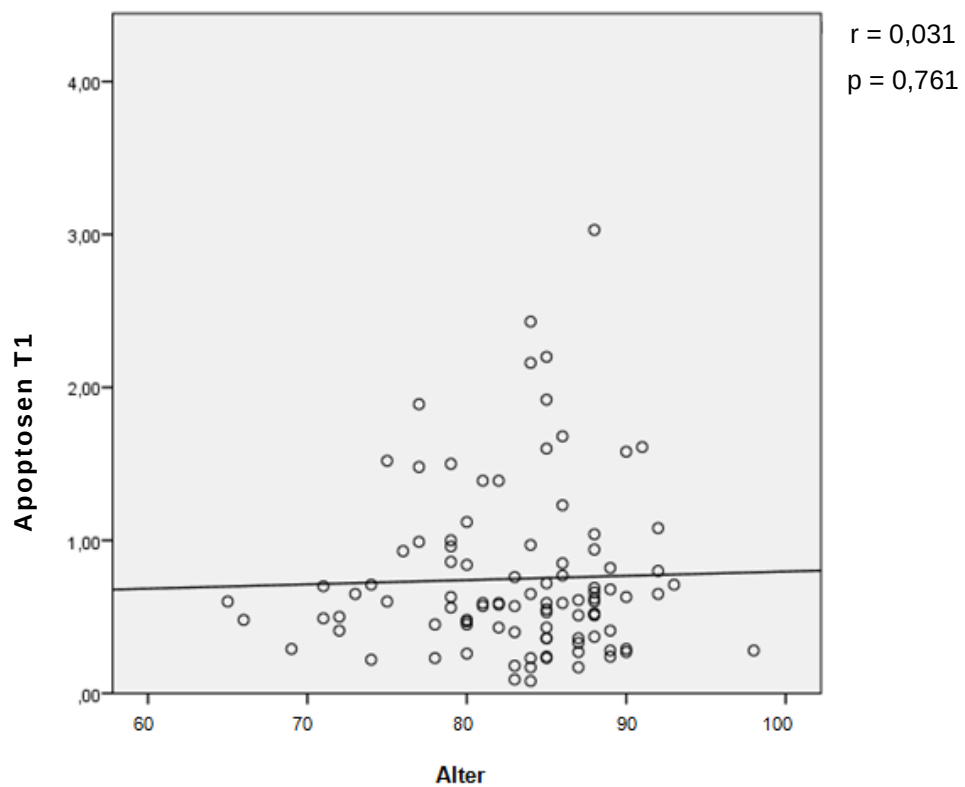


Abb. 11: Vergleich der Apoptosen zu T1 in Abhängigkeit des Alters

5.2 Ergebnisse der verschiedenen Gruppen Training, Training + Ernährung und Gedächtnistrainingsgruppe

5.2.1 Gruppe Training

Die Gruppe Training beinhaltete zum Startzeitpunkt T1 35 Probanden. Bis zum Zeitpunkt T2 (nach 3 Monaten) reduzierte sich die Anzahl auf 23, T3 (nach 6 Monaten) beinhaltete 17 Probanden.

Alle Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

		<i>Mittelwert</i>	<i>Standardabweichung</i>
T1	BNCs mit Mikrokernen	23,94	12,31
	Mikrokerne gesamt	28,11	15,23
	Apoptosen	0,83	0,64
	Nekrosen	0,73	0,47
	Buds	3,55	2,75
	Bridges	1,13	1,14
T2	BNCs mit Mikrokernen	18,26	10,44
	Mikrokerne gesamt	21,89	12,61
	Apoptosen	0,57	0,28
	Nekrosen	0,54	0,37
	Buds	3,24	2,33
	Bridges	0,53	0,72
T3	BNCs mit Mikrokernen	15,74	9,32

Mikrokerne gesamt	19,65	12,23
Apoptosen	0,57	0,36
Nekrosen	0,55	0,22
Buds	2,07	1,37
Bridges	0,38	0,38

Tab. 2: Übersicht der Ergebnisse Gruppe Training zu allen Testzeitpunkten

Vergleich zwischen den Testzeitpunkten T1 & T2

(Details werden in den späteren Kapiteln dargestellt.)

Sowohl die Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, Gesamtmikrokernen, Apoptosen, Nekrosen, Buds und Bridges haben in der Zeitspanne zwischen T1 und T2 abgenommen, signifikant war diese Abnahme jedoch nur bei den Apoptosen ($p=0,08$). Signifikante Reduktionen gab es auch bei den Parametern NDI ($p=0,005$) sowie NDCI ($p=0,004$).



Apoptosen ($p=0,08$), NDI ($p=0,005$), NDCI ($p=0,004$)

Vergleich zwischen den Testzeitpunkten T2 & T3

Zwischen den Testzeitpunkten T2 und T3 haben sich ebenfalls alle gemessenen Parameter verringert, eine signifikante Reduktion ($p=0,028$) konnte jedoch nur bei der Anzahl an Buds beobachtet werden.



Buds ($p=0,028$)

Vergleich zwischen den Testzeitpunkten T1 & T3

Vergleicht man T1 mit T3, so ist ersichtlich, dass sich die Anzahl an BNCs mit Mikrokernen ($p=0,001$), Gesamtmikrokerne ($p=0,003$), Apoptosen ($p=0,047$), Nekrosen ($p=0,025$), Buds ($p=0,004$) und Bridges ($p=0,008$) signifikant verringert hat.

Signifikant gesunken sind des Weiteren der NDI ($p=0,018$) und NDCI ($p=0,015$).

↓ BNCs mit Mikrokerne ($p=0,001$), Gesamtmikrokerne ($p=0,003$), Apoptosen ($p=0,047$), Nekrosen ($p=0,025$), Buds ($p=0,004$), Bridges ($p=0,008$), NDI ($p=0,018$), NDCI ($p=0,015$)

	Abnahme in %
BNCs mit Mikrokerne	34,3
Gesamtmikrokerne	30,1
Apoptosen	31,3
Nekrosen	21,7
Buds	41,8
Bridges	66,4

Tab. 3: Prozentuelle Veränderung zwischen T1 und T3 in der Gruppe Training

Vergleich der Anzahl an BNCs mit Mikrokerne zu T1, T2, T3 in den Altersgruppen

Altersgruppe 65-74

Da hier die Probandenzahl zu gering ist, konnten die Daten nicht ausgewertet werden.

Altersgruppe 75-84

In der Altersgruppe 75-84 sinkt die Anzahl an BNCs mit Mikrokernen sowohl im Zeitraum zwischen T1 und T3 ($p=0,05$) sowie zwischen T2 und T3 ($p=0,041$) signifikant.

Altersgruppe >85

Bei den >85-Jährigen verringert sich die Anzahl zwischen T1 und T2, und erhöht sich wieder geringfügig zwischen den Testzeitpunkten T2 und T3. Die Veränderungen sind jedoch nicht signifikant.

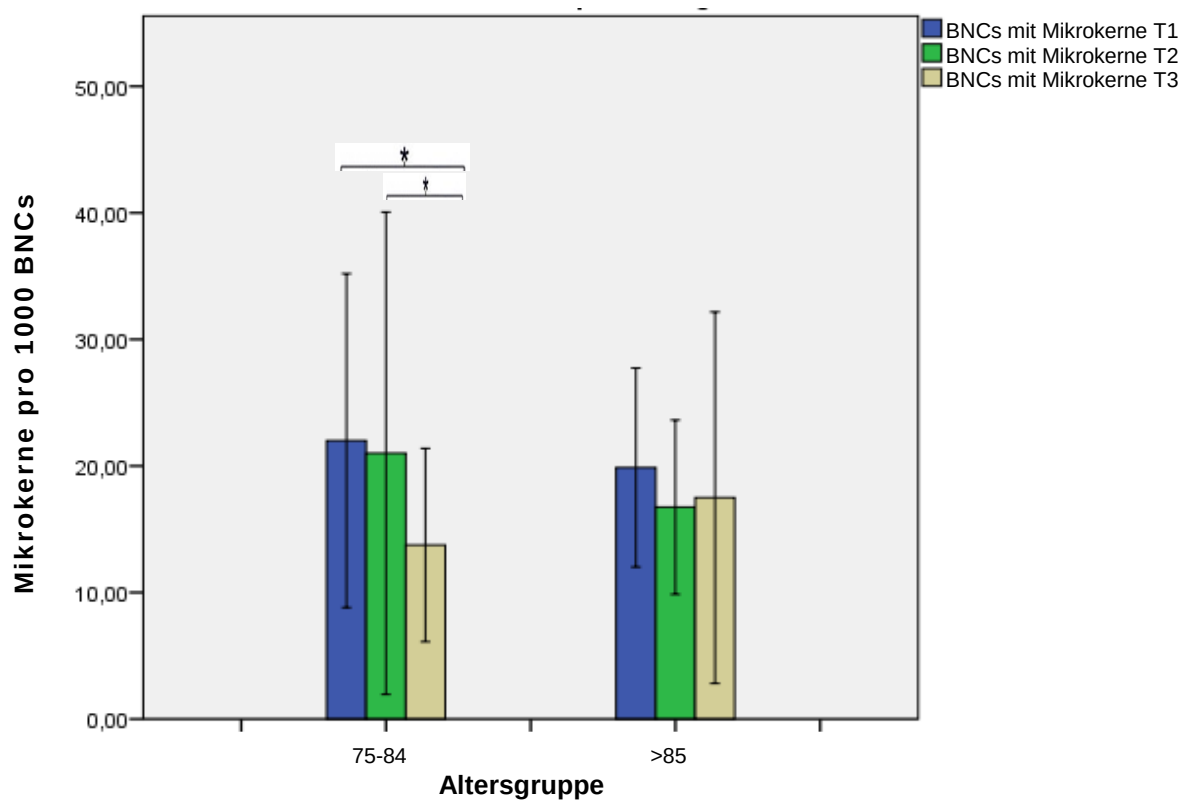


Abb. 12 : Vergleich der BNCs mit Mikrokernen in Abhängigkeit des Alters

(*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

Vergleich der Gesamtmikrokernzahl zu T1, T2, T3 in den Altersgruppen

Altersgruppe 65-74

Hier konnten wiederum keine Daten aufgrund der zu geringen Probandenzahl ausgewertet werden.

Altersgruppe 75-84

In der Altersgruppe 75-84 nimmt die Anzahl an Gesamtmikrokernen zwischen T1 und T3 ($p=0,005$), sowie zwischen T2 und T3 ($p=0,046$) signifikant ab.

Altersgruppe >85

In der Gruppe >85 steigt die Anzahl an Gesamtmikrokernen zum Zeitpunkt T3 wieder etwas an. Ein signifikanter Unterschied ist jedoch nicht gegeben.

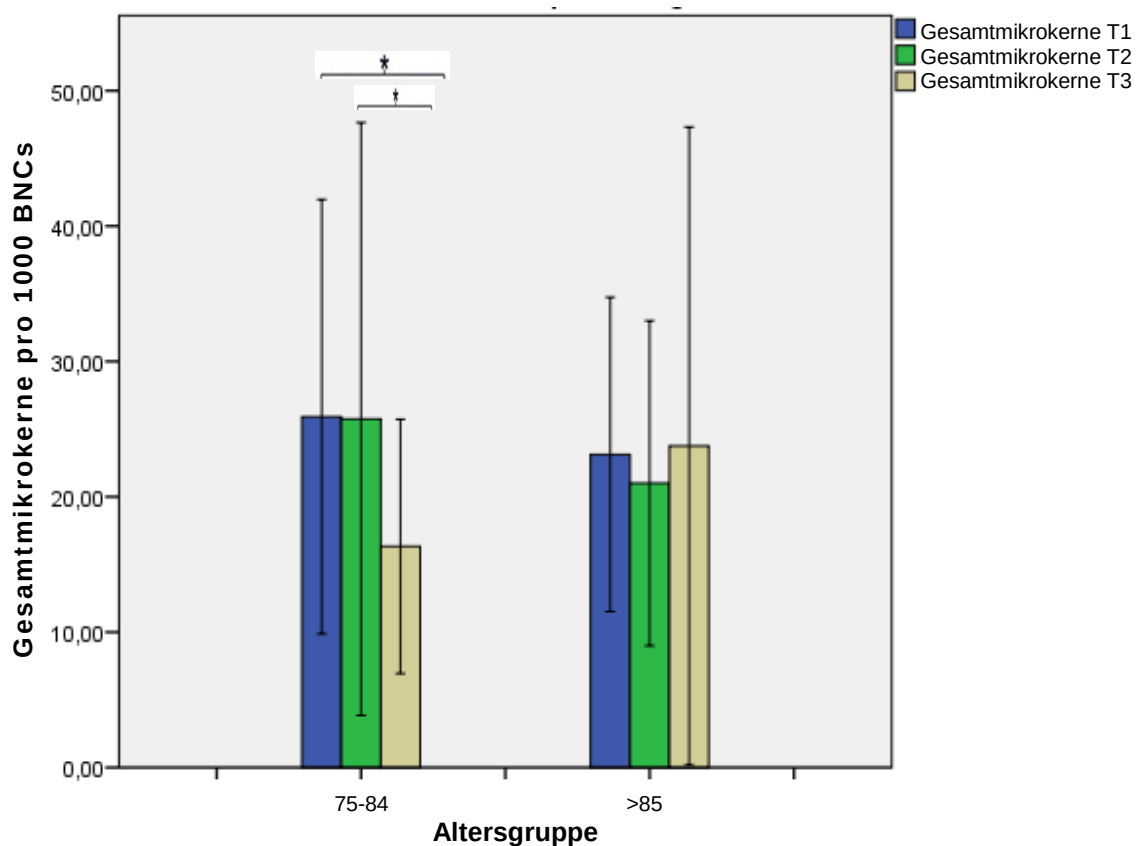


Abb. 13 : Vergleich Mikrokerngesamtzahl in Abhängigkeit des Alters

(*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

5.2.2 Gedächtnistrainingsgruppe

Die Gedächtnistrainingsgruppe beinhaltete zum Startzeitpunkt T1 32 Probanden. Bis zum Zeitpunkt T2 reduzierte sich die Anzahl auf 22, T3 beinhaltete 16 Probanden.

Alle Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

		<i>Mittelwert</i>	<i>Standardabweichung</i>
T1	BNCs mit Mikrokernen	21,53	9,17
	Mikrokerne gesamt	25,52	11,07
	Apoptosen	0,68	0,52
	Nekrosen	0,57	0,40
	Buds	4,30	4,63
	Bridges	1,25	1,05
T2	BNCs mit Mikrokernen	16,26	6,23
	Mikrokerne gesamt	19,41	7,64
	Apoptosen	0,62	0,35
	Nekrosen	0,54	0,38
	Buds	3,53	3,82
	Bridges	0,57	0,63
T3	BNCs mit Mikrokernen	17,33	9,78
	Mikrokerne gesamt	21,78	13,26
	Apoptosen	0,39	0,20
	Nekrosen	0,51	0,29
	Buds	1,79	1,20

Bridges	0,39	0,50
---------	------	------

Tab. 4: Übersicht der Ergebnisse der Gedächtnistrainingsgruppe zu allen Testzeitpunkten

Vergleich zwischen den Testzeitpunkten T1 & T2

Sowohl die Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, Gesamtmikrokernen, Apoptosen, Nekrosen, Buds und Bridges haben in der Zeitspanne zwischen T1 und T2 abgenommen.

Eine signifikante Abnahme ($p=0,041$) konnte jedoch nur bei den Bridges beobachtet werden.



Bridges ($p=0,041$)

Vergleich zwischen den Testzeitpunkten T2 & T3

Zwischen T2 und T3 haben sich alle erfassten Parameter verringert, signifikant reduziert hat sich jedoch nur die Anzahl an Apoptosen ($p=0,08$) und Buds ($p=0,05$).



Apoptosen ($p=0,08$), Buds ($p=0,05$)

Vergleich zwischen den Testzeitpunkten T1 & T3

Vergleicht man T1 mit T3, so gab es eine Verringerung der Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, Gesamtmikrokernen, Apoptosen, Nekrosen, Buds und Bridges. Eine signifikante Reduktion ist bei der Zahl an Bridges ($p=0,005$), Buds ($p=0,044$) sowie Apoptosen ($p=0,003$) ersichtlich.



Apoptosen ($p=0,003$), Buds ($p=0,044$), Bridges ($p=0,005$)

	Abnahme in %
BNCs mit Mikrokerne	19,5
Gesamtmikrokerne	14,7
Apoptosen	44,1
Nekrosen	10,5
Buds	58,3
Bridges	68,8

Tab. 5: Prozentuelle Veränderung zwischen T1 und T3 in der Gedächtnistrainingsgruppe

Vergleich der Anzahl an BNCs mit Mikrokernen zu den Testzeitpunkten T1, T2, T3 in den Altersgruppen

Altersgruppe 65-74

Hier gibt es zu wenig Probanden, sodass eine Auswertung der Daten nicht möglich ist.

Altersgruppe 75-84

In der Altersgruppe 75-84 sinkt die Zahl der BNCs mit Mikrokernen zwischen T1 und T2, jedoch steigt diese bis zum Testzeitpunkt T3 wieder an. Keine der Veränderungen ist jedoch signifikant.

Altersgruppe >85

In der Altersgruppe >85 reduziert sich die Anzahl signifikant zwischen T1 und T2 ($p=0,045$).

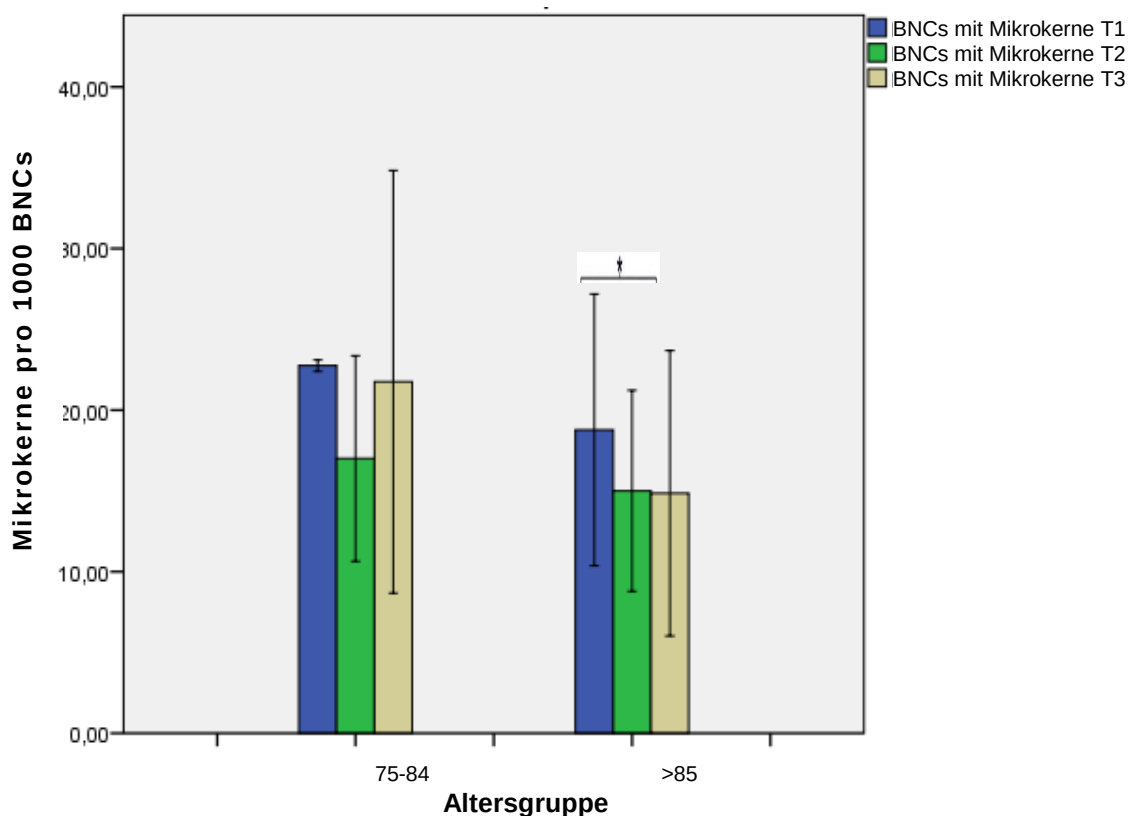


Abb. 14: Vergleich der BNCs mit Mikrokernen in Abhängigkeit des Alters

(*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

Vergleich der Anzahl der Gesamtmikrokernzahl zu den Testzeitpunkten T1, T2, T3 in den Altersgruppen

Altersgruppe 65-74

Die Probandenzahl ist zu gering, um die Daten auswerten zu können.

Altersgruppe 75-84

Auch die Gesamtanzahl an Mikrokernen nimmt in der mittleren Altersgruppe 75-84 zwischen T1 und T2 ab, und steigt zu T3 wieder an.

Altersgruppe >85

Ein ähnliches Bild liefert die Alterskategorie >85. Auch hier steigt die Mikrokernanzahl zu T3 wieder leicht an.

Hier ist keine der Veränderungen signifikant.

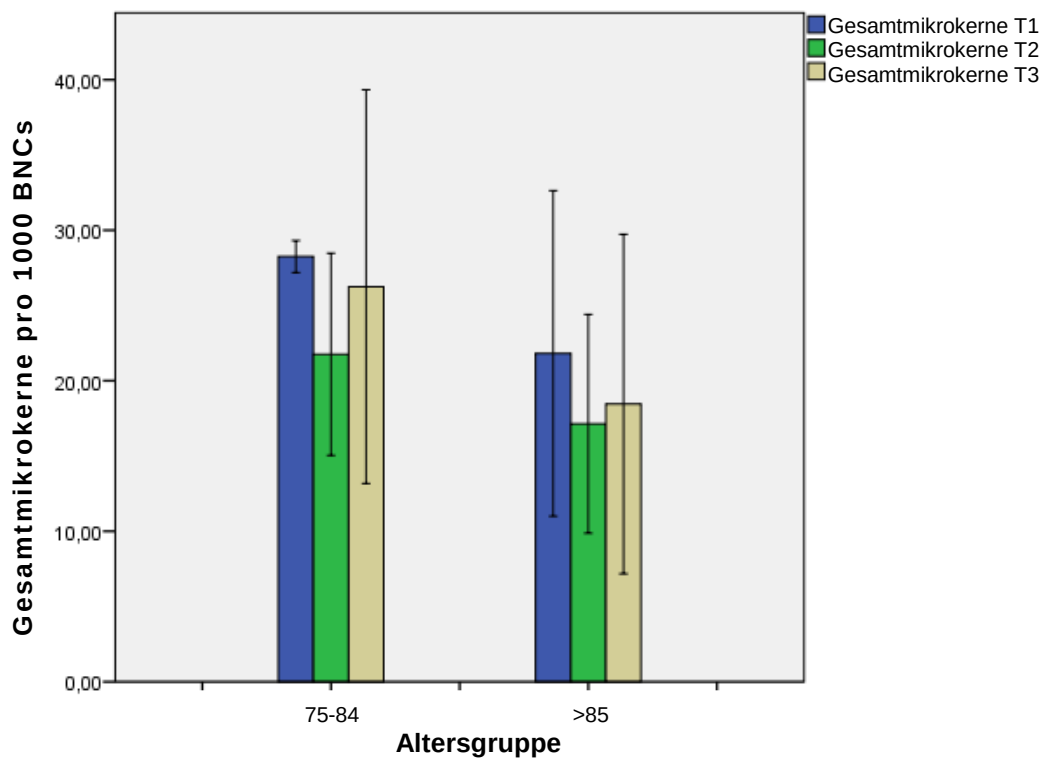


Abb. 15: Vergleich der Mikrokerngesamtzahl in Abhängigkeit des Alters

5.3 Vergleiche zwischen Training, Training & Ernährung und Gedächtnistrainingsgruppe

Für diese Vergleiche wurden auch die Daten der Gruppe Training & Ernährung herangezogen.

5.3.1 Anzahl der Apoptosen zu T1, T2, T3

Vergleicht man die Gruppen Training, Training & Ernährung und die Gedächtnistrainingsgruppe bezüglich der Apoptosen, so lässt sich überall eine Abnahme der Anzahl erkennen.

Gruppe Training: Die Abnahme der Apoptosen im Zeitraum zwischen T1 und T3 ist signifikant ($p=0,047$).

Gruppe Training + Ernährung: Eine Signifikanz zeigt sich sowohl im Vergleich zwischen T1 und T2 ($p=0,022$) sowie T1 und T3 ($p=0,022$).

Gedächtnistrainingsgruppe: Die Abnahme der Anzahl an Apoptosen ist zwischen T1 und T3 sowie zwischen T2 und T3 signifikant.

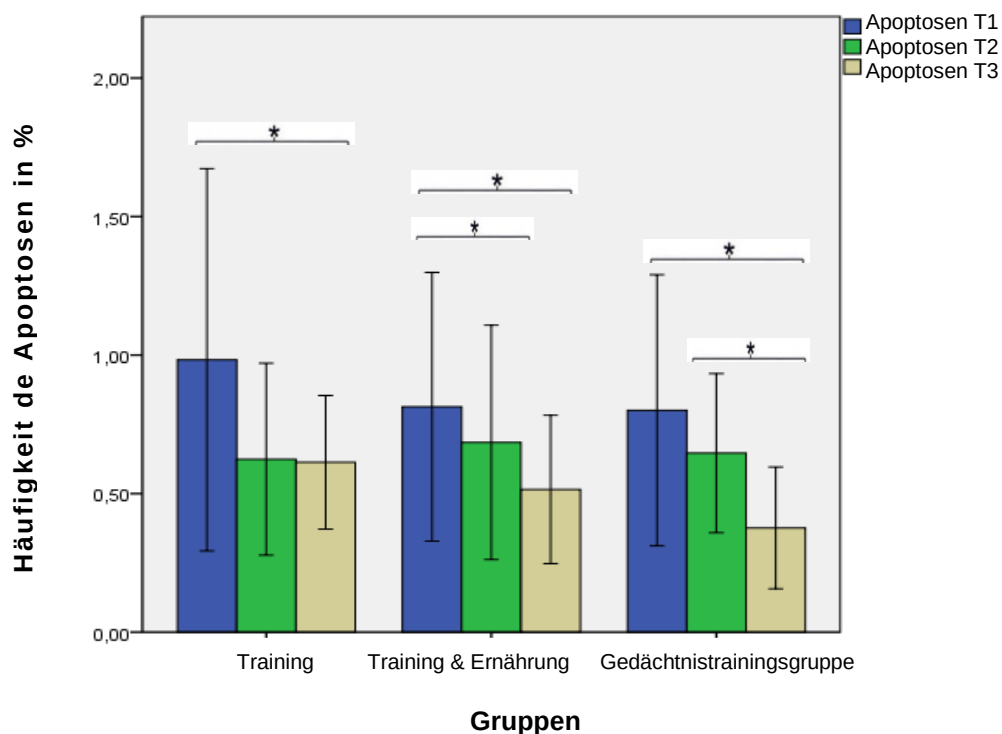


Abb. 16: Gruppenvergleich der Anzahl an Apoptosen (*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

5.3.2 Anzahl der Nekrosen zu T1, T2, T3

Gruppe Training: Vergleicht man die Anzahl an Nekrosen zu den verschiedenen Testzeitpunkten T1, T2 und T3, so lässt sich eine Abnahme erkennen, signifikant ist diese jedoch nur zwischen T1 und T3 ($p=0,025$).

Gruppe Training + Ernährung: Die mittlere Anzahl an Nekrosen ist zu den Testzeitpunkten T1 und T2 beinahe ident. Bis zu T3 reduziert sich die Anzahl, jedoch nicht signifikant.

Gedächtnistrainingsgruppe: In der Gedächtnistrainingsgruppe ist keine signifikante Abnahme der Nekrosen ersichtlich.

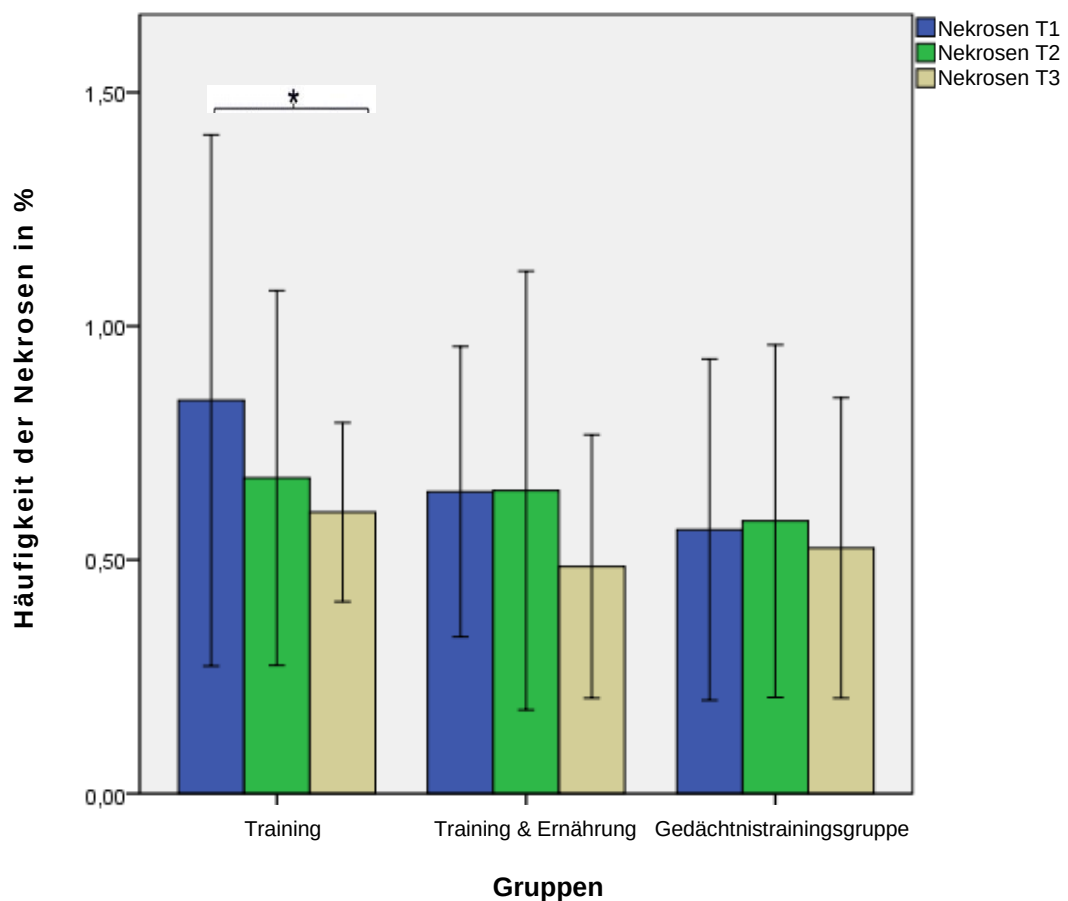


Abb. 17: Gruppenvergleich der Anzahl an Nekrosen (*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

5.3.3 Anzahl der BNCs mit Mikrokernen

Gruppe Training: Die Anzahl der BNCs mit Mikrokernen nimmt von T1 zu T2 bzw. zu T3 ab. Signifikant ist die Reduktion zwischen den Testzeitpunkten T1 und T3 ($p=0,001$).

Gruppe Training + Ernährung: Hier gibt es eine signifikante Abnahme der Anzahl an BNCs mit Mikrokernen zwischen T1 und T3 ($p=0,003$) sowie zwischen T2 und T3 ($p=0,011$).

Gedächtnistrainingsgruppe: Die Zahl der BNCs mit Mikrokernen reduziert sich ausgehend von T1, jedoch nirgends signifikant.

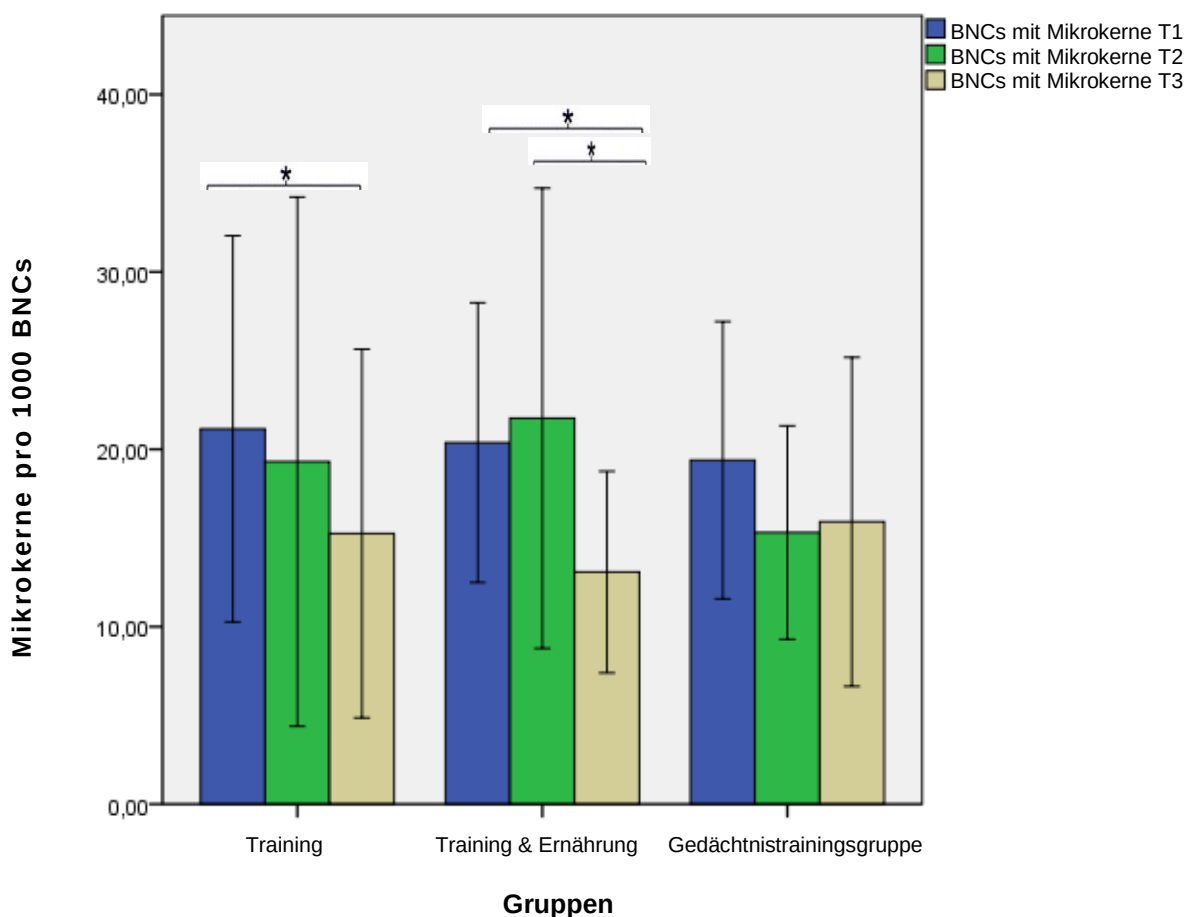


Abb. 18: Gruppenvergleich der BNCs mit Mikrokernen (*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

5.3.4 Anzahl der Gesamtmikrokerne

Gruppe Training: Die Gesamtmikrokerne nehmen von T1 zu T2 bzw. zu T3 ab. Signifikant ist die Reduktion zwischen den Testzeitpunkten T1 und T3 ($p=0,003$).

Gruppe Training + Ernährung: In dieser Gruppe lässt sich eine Signifikanz in der Reduktion zwischen T1 und T3 ($p=0,003$) sowie zwischen T2 und T3 ($p=0,023$) feststellen.

Gedächtnistrainingsgruppe: Hier gibt es keine signifikante Abnahme bezüglich der Gesamtanzahl an Mikrokernen.

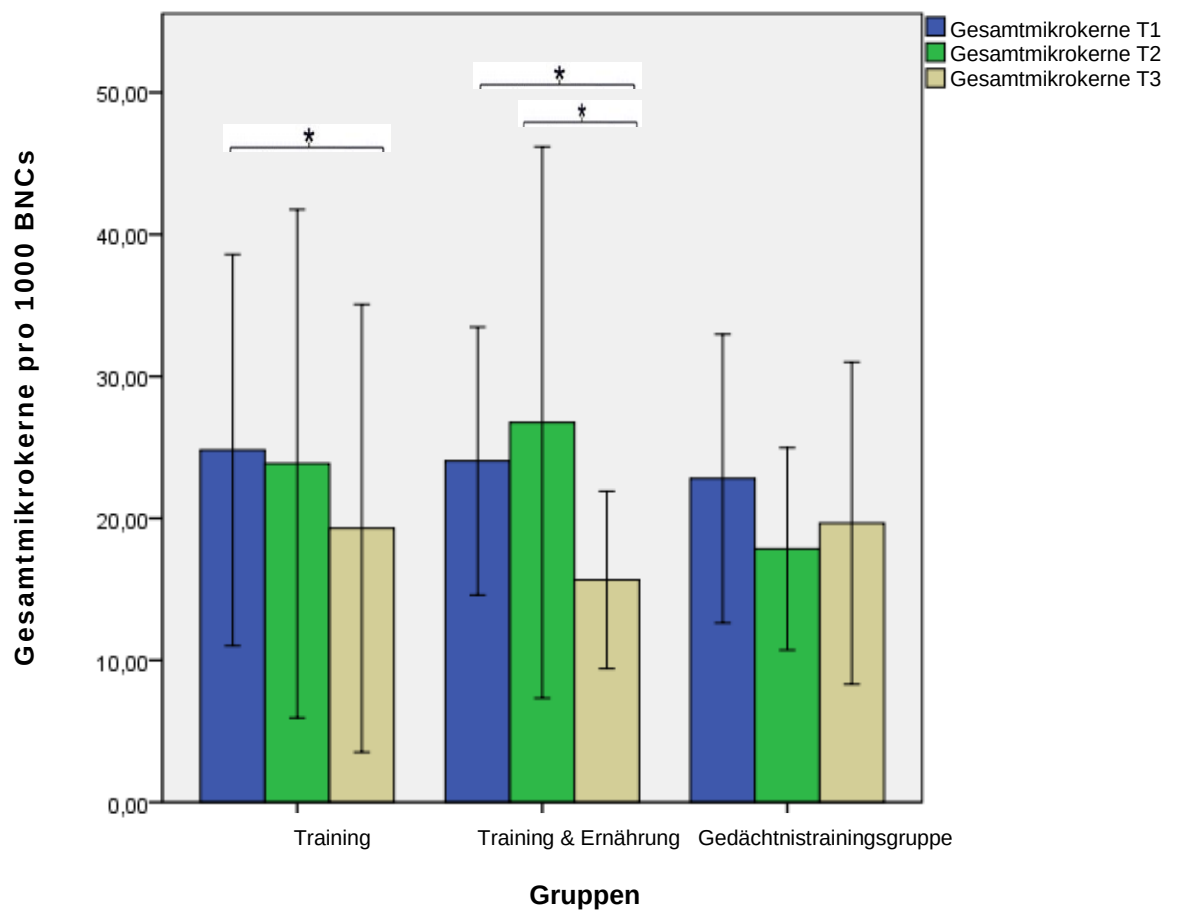


Abb. 19: Gruppenvergleich der Gesamtmikrokerne (*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

5.3.5 Anzahl der Buds

Vergleicht man die Gruppen Training, Training & Ernährung und die Gedächtnistrainingsgruppe bezüglich der Buds, so ist überall eine Abnahme der Anzahl an Buds erkennbar.

Gruppe Training: Die Reduktion im Zeitraum zwischen T1 und T3 ($p=0,004$), sowie zwischen T2 und T3 ($p=0,028$) ist signifikant

Gruppe Training + Ernährung: Ein signifikanter Unterschied zeigt sich im Vergleich zwischen T1 und T3 ($p=0,033$).

Gedächtnistrainingsgruppe: Die Abnahme der Anzahl an Buds ist zwischen T1 und T3 sowie zwischen T2 und T3 signifikant ($p=0,05$).

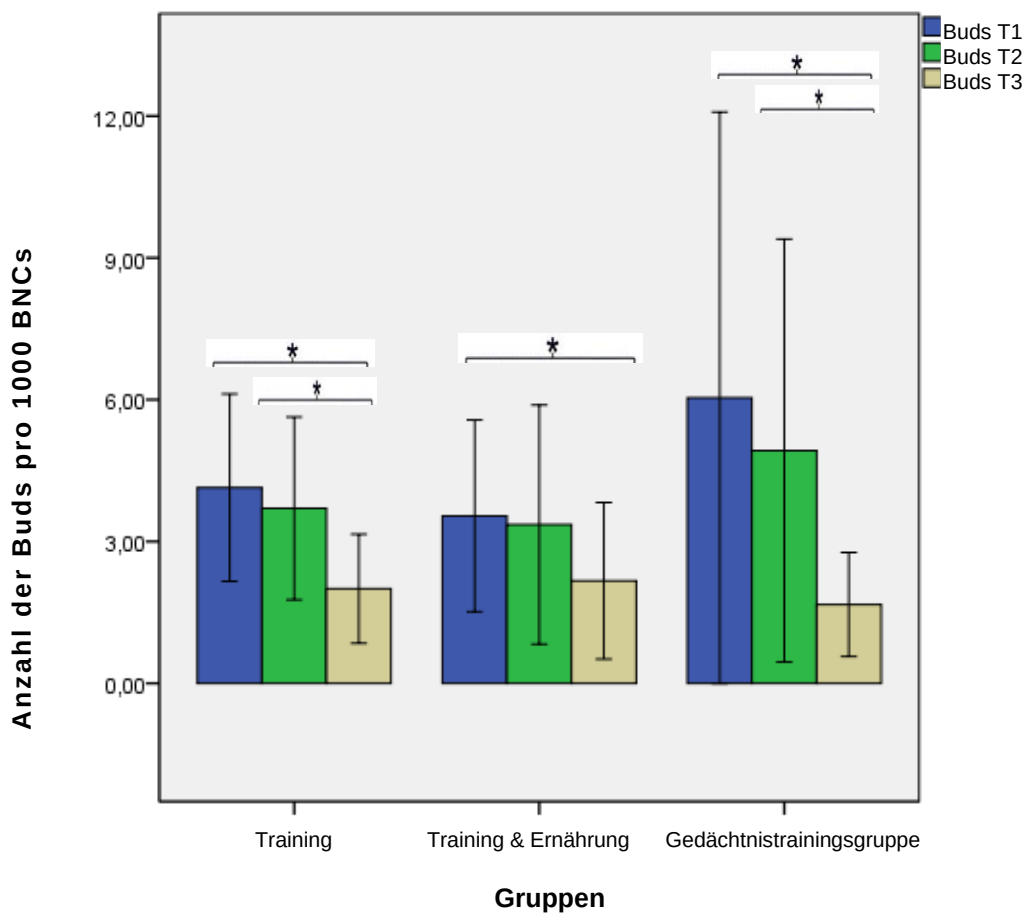


Abb. 20: Gruppenvergleich der Anzahl an Buds (*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

5.3.6 Anzahl der Bridges

In allen Gruppen nimmt die Anzahl der Bridges von T1 zu T2 bzw. zu T3 ab.

Gruppe Training: Hier zeigt sich eine signifikante Abnahme der Anzahl an Bridges im Zeitraum zwischen T1 und T3 ($p=0,008$).

Gruppe Training + Ernährung: Eine Signifikanz zeigt sich sowohl im Vergleich zwischen T1 und T2 ($p=0,042$) sowie zwischen T1 und T3 ($p=0,011$).

Gedächtnistrainingsgruppe: Die Anzahl der Bridges reduziert sich in dieser Gruppe signifikant zwischen T1 und T2 ($p=0,041$) und zwischen T1 und T3 ($p=0,005$).

Allerdings zeigt diese Gruppe auch die höchsten Ausgangswerte.

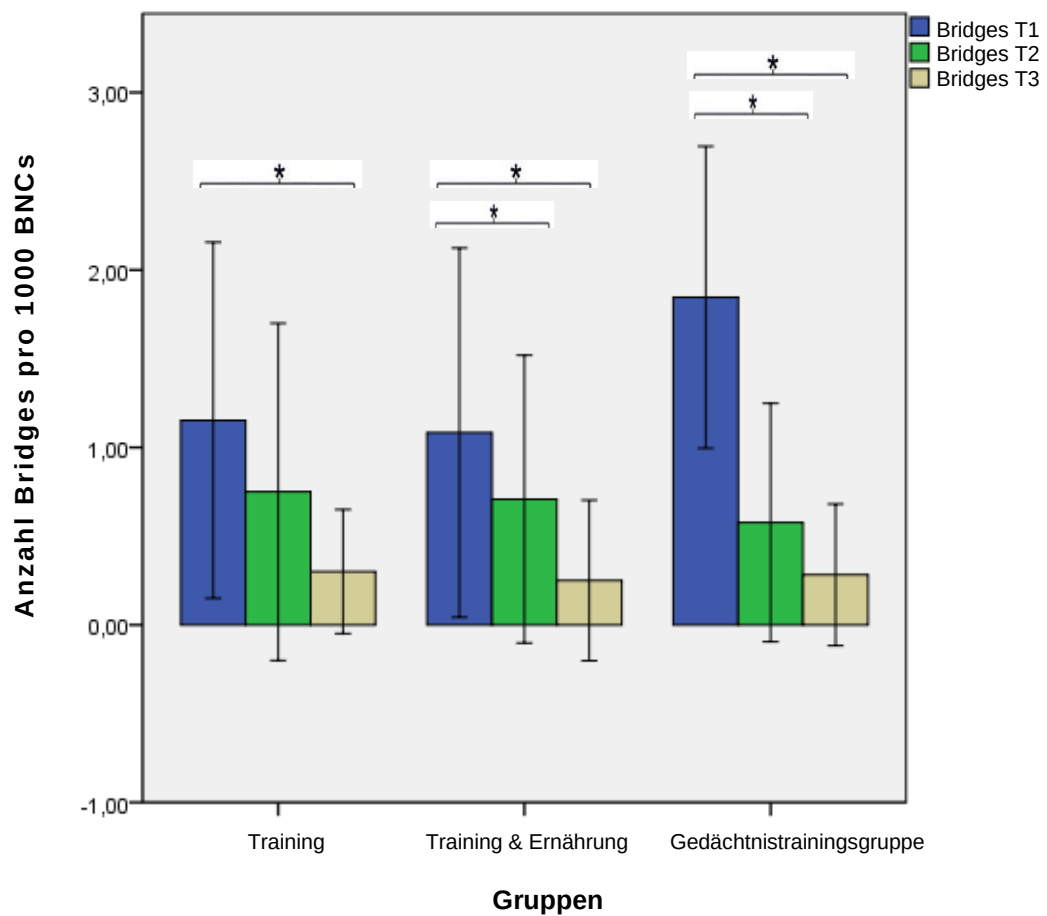


Abb. 21: Gruppenvergleich der Anzahl an Bridges (*) = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

5.4 Vergleich nach Altersgruppen

Bei diesen parametrischen Tests wurde die Gedächtnistrainingsgruppe nicht berücksichtigt, um eine Verzerrung der Daten zu vermeiden.

5.4.1 Altersgruppe 65-74

Vergleich zwischen T1 & T2

Zwischen den Testzeitpunkten T1 und T2 haben sich die Parameter BNCs mit Mikrokernen, Mikrokerne gesamt, Apoptosen, Buds und Bridges verringert. Jedoch ist die Abnahme nicht signifikant.

Vergleich zwischen T2 & T3

Hier gab es eine Verringerung der Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, der Gesamtzahl an Mikrokernen, der Nekrosen und Bridges. Die Abnahme war bei keinem der Parameter signifikant.

Vergleich zwischen T1 & T3

Untersucht man den Zeitraum zwischen T1 und T3, so lässt sich eine Verringerung der Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, der Mikrokerngesamtzahl, sowie der Anzahl an Buds, Bridges, Nekrosen und Apoptosen feststellen. Keine der Abnahmen ist jedoch signifikant.

	Reduktion in %
BNCs mit Mikrokerne	52,9
Gesamtmikrokerne	51,1
Apoptosen	5
Nekrosen	40
Buds	45,5
Bridges	69,1

Tab. 6: Prozentuelle Verbesserung zwischen T1 und T3 in der Altersgruppe 65-74

5.4.2 Altersgruppe 75-84

Vergleich zwischen T1 & T2

Sowohl die Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, die Mikrokerntgesamtzahl, die Anzahl an Buds und Bridges, als auch die Zahl an Nekrosen und Apoptosen hat sich im Zeitraum zwischen T1 und T2 verringert. Signifikante Unterschiede gab es bei der Abnahme der Anzahl an Apoptosen ($p=0,035$) und Bridges ($p=0,012$) sowie bei NDI ($p=0,014$) und NDCI ($p=0,012$).



Apoptosen ($p=0,035$), Bridges ($p=0,012$), NDI ($p=0,014$), NDCI ($p=0,012$)

Vergleich zwischen T2 & T3

Vergleicht man die Testzeitpunkte T2 und T3, so erkennt man eine Abnahme der Parameter BNCs mit Mikrokernen, Mikrokerntgesamtzahl, Buds, Bridges und Nekrosen. Eine Signifikanz lässt sich nur bei der Reduktion der Zahl an BNCs mit Mikrokernen ($p=0,028$) sowie der Gesamtmikrokernelzahl ($p=0,028$) feststellen.



BNCs mit Mikrokernel ($p=0,028$), Gesamtmikrokernel ($p=0,028$)

Vergleich zwischen T1 & T3

Ein ähnliches Ergebnis lässt sich beim Vergleich zwischen T1 und T3 feststellen. Hier ist die Reduktion der Zahl an Apoptosen ($p=0,033$), Bridges ($p=0,005$), Buds ($p=0,025$), BNCs mit Mikrokernen ($p=0,001$) und der Gesamtmikrokernelzahl ($p=0,001$) signifikant.



BNCs mit Mikrokernel ($p=0,001$), Gesamtmikrokernel ($p=0,001$), Apoptosen ($p=0,033$), Bridges ($p=0,005$), Buds ($p=0,025$)

	Abnahme in %
BNCs mit Mikrokerne	41,3
Gesamtmikrokerne	40,8
Apoptosen	23,2
Nekrosen	17,8
Buds	47,2
Bridges	83,3

Tab. 7: Prozentuelle Verbesserung zwischen T1 und T3, Altersgruppe 75-84

5.4.3 Altersgruppe >85

Vergleich zwischen T1 & T2

In der Gruppe mit den ältesten Probanden hat sich zwischen T1 und T2 die Anzahl aller gemessenen Parameter verringert. Signifikant ist dabei die Abnahme von BNCs mit Mikrokernen ($p=0,014$), die Mikrokerngesamtzahl ($p=0,036$) und die Anzahl an Nekrosen ($p=0,015$).



BNCs mit Mikrokern (p=0,014), Gesamtmikrokern (p=0,036), Nekrosen (p=0,015)

Vergleich zwischen T2 & T3

Vergleicht man die Testzeitpunkte T2 und T3, so erkennt man eine Reduktion der Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, Mikrokerngesamtzahl, Buds, Bridges und Apoptosen. Jedoch ist keine der Abnahmen signifikant.

Vergleich zwischen T1 & T3

Beim Vergleich zwischen T1 und T3 lässt sich ebenso eine Verringerung aller gemessenen Parameter feststellen. Die Reduktion der Zahl an Buds ($p=0,045$), BNCs mit Mikrokernen ($p=0,009$) und der Gesamtmikrokernzahl ($p=0,023$) ist signifikant.



BNCs mit Mikrokern (p=0,009), Gesamtmikrokern (p=0,023), Buds (p=0,045)

	Reduktion in %
BNCs mit Mikrokerne	24,6
Gesamtmikrokerne	25,4
Apoptosen	39,7
Nekrosen	25,4
Buds	30,1
Bridges	50,9

Tab. 8: Prozentuelle Verbesserung zwischen T1 und T3 in der Altersgruppe >85

6. Diskussion der Ergebnisse

Diese Masterarbeit beinhaltet lediglich Teilergebnisse der 1½-jährigen Studie der Forschungsplattform Active Ageing der Universität Wien. Da noch zwei weitere Blutabnahmen geplant sind (T4 und T5), werden noch aussagekräftigere Ergebnisse erwartet.

Zum Startzeitpunkt T1 wiesen die teilnehmenden weiblichen Probandinnen eine etwas erhöhte Anzahl an Mikrokernen auf, dieser Wert ist jedoch nicht signifikant.

Generell lässt sich bei Frauen im Vergleich zu Männern eine höhere Mikrokernfrequenz feststellen. Gründe dafür sind u.a. das häufigere Vorkommen von X-Chromosomen in Mikrokernen. Auch die Tatsache, dass das X-Chromosom leichter zugunsten von Mikrokernen verloren geht, erhöht die Anzahl an Mikrokernen bei Frauen [FENECH und BONASSI, 2011; CATALAN et al., 1998].

Der Anteil der weiblichen Probanden im Vergleich zu den männlichen ist wesentlich größer ist (87 Frauen, 12 Männer).

Dass sich mehr Frauen als Männer in Pensionistenwohnhäusern befinden, hängt mit dem höheren prognostizierten Alter zusammen.

Laut Statistik Austria beträgt die Anzahl der Personen über 65 Jahre in Österreich derzeit in etwa 17,9 %, bis zum Jahr 2030 werden 24 % prognostiziert [Statistik Austria (1), 2013].

Die durchschnittliche Lebenserwartung wird bei Frauen auf 83,4 Jahre und bei Männern auf 78,1 Jahre geschätzt [Statistik Austria (2), 2013].

Die teilnehmenden Probanden dieser Studie der Forschungsplattform Active Ageing liegen im Mittel 83,9 Jahre alt und spiegeln damit die ungefähre Verteilung in der Bevölkerung wieder.

Betrachtet man die Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, Gesamtmikrokernanzahl sowie die Zahl an Nekrosen in den einzelnen Altersgruppen, so lässt sich eine leichte Abnahme mit zunehmendem Alter erkennen. Es besteht jedoch keine Signifikanz.

Die Anzahl an Bridges und Apoptosen steigt mit zunehmendem Alter an. Die Zunahme ist jedoch auch nicht signifikant.

Dieses Ergebnis spiegelt auch die Studie von Wojda et al. wieder. Auch hier sinkt die Anzahl an Mikrokernen bei den Probanden ab dem 70. Lebensjahr wieder etwas ab [WOJDA et al., 2007].

Andere bisher durchgeführte Studien bestätigen jedoch eine Zunahme der Mikrokernfrequenz mit steigendem Alter.

So zeigten Ishikawa et al. sowie Bolognesi et al. ein vermehrtes Mikrokernvorkommen mit zunehmenden Lebensjahren [ISHIKAWA et al., 2003, BOLOGNESI et al., 1997]. Holland et al. bestätigten eine verminderte Mikrokernfrequenz bei Kindern [HOLLAND et al., 2011].

Die Erhöhung der Anzahl an Mikrokernen resultiert aus dem Anstieg an genetischen Schäden während der Lebensspanne, sowie einer verminderten Reparaturfähigkeit und oxidativen Schäden von Proteinen, Fetten und Nukleinsäuren [ORTA und GÜNEBAKAN, 2011; FENECH et al., 2011].

Weitere Gründe für das vermehrte Auftreten von MNi im Alter sind auch die kumulative Wirkung von erworbenen Genmutationen, die bei DNA-Reparaturmechanismen sowie Chromosomensegregation beteiligt sind, sowie Chromosomen-Abweichungen, die z.B. durch schädliche Umwelteinflüsse im Laufe der Jahre entstehen [FENECH und BONASSI, 2011].

In den Gruppen Training, Training + Ernährung sowie in der Gedächtnistrainingsgruppe haben sich die Anzahl der BNCs mit Mikrokernen und die Gesamtmikrokerne vermindert.

Die Reduktion beider Parameter in dem 6-monatigen Zeitraum zwischen T1 und T3 ist in der Gruppe Training ($p=0,001$ bzw. $p=0,003$) und in der Gruppe Training + Ernährung ($p=0,003$ bzw. $p=0,003$) signifikant.

In der Gruppe Training hat sich innerhalb der 6 Monate zusätzlich die Anzahl an Apoptosen ($p=0,047$), Nekrosen ($p=0,025$), Buds ($p=0,004$) und Bridges ($p=0,008$) signifikant verringert.

Auch wenn die Abnahme der Mikrokernfrequenz in der Gruppe Training signifikant ist, so sind die Auswirkungen von körperlichem Training im Bezug auf DNA-Schädigung

nach wie vor noch nicht geklärt, da bisher durchgeführte Studien unterschiedliche Ergebnisse aufweisen [WAGNER et al., 2011].

Körperliches Training scheint für Anpassungen in der antioxidativen Abwehr sowie in der DNA-Reparatur-Gen-Expression verantwortlich zu sein [REICHHOLDT et al., 2009].

Erschöpfendes Training kann aber auch zu einer vermehrten Bildung von freien Radikalen durch oxidativen Stress führen [WAGNER et al., 2011].

Neubauer et al. (2008) stellten eine DNA-Schädigung sowie eine systemische Entzündungsreaktion nach erschöpfendem Ausdauertraining fest. Jedoch wurde kein direkter Zusammenhang von körperlicher Aktivität und Entzündungsreaktionen, DNA- bzw. chromosomaler Schädigung bewiesen.

Somit muss noch auf das Vorliegen der Daten von den Untersuchungszeitpunkten T4 und T5 gewartet werden, um endgültige Ergebnisse zu erhalten, allerdings liegt in der vorliegenden Studie ein chronisches Training vor.

Auch in der Gruppe Training & Ernährung konnte eine signifikante Abnahme an Gesamtmikrokernen ($p=0,003$) im Zeitraum zwischen T1 und T3 festgestellt werden. Ebenso weisen Apoptosen ($p=0,022$), Buds ($p=0,033$) und Bridges ($p=0,011$) einen signifikanten Unterschied auf.

Wie zahlreiche Studien bestätigen, hat Ernährung einen großen Einfluss auf die Entstehung von Krebs, und bestehende Chromosomenschäden können durch die Aufnahme bestimmter Mikronährstoffe reduziert werden [THOMAS et al., 2011].

Insbesondere ein schlechter Versorgungsstatus an Folsäure, Eisen, Magnesium, Zink, Biotin, Vitamin B6 und Vitamin C begünstigt eine DNA-Schädigung und kann so in weiterer Folge die Mikrokernfrequenz erhöhen.

Des Weiteren kann ein Mangel an Zink DNA-Einzelstrangbrüche hervorrufen [LAL und AMES, 2011].

Da das Nahrungsergänzungsmittel FortiFit alle wichtigen Mikronährstoffe enthält, ist anzunehmen, dass dieses in Kombination mit der Durchführung von körperlichem

Training, einen positiven Effekt auf die Anzahl der Mikrokerne in peripheren Blutlymphozyten hat und somit das Krebsrisiko vermindern kann.

Dass auch in der Gedächtnistrainingsgruppe unter Beibehaltung des gewohnten Lebensstils eine Reduktion der Mikrokerne stattgefunden hat (wenn auch nicht signifikant), kann verschiedene Gründe haben.

Zum einen könnten die gemeinsamen Treffen und die bessere Sozialisierung das allgemeine körperliche Wohlbefinden verbessert haben. Zum anderen hat auch das regelmäßige kognitive Training, das in der Gedächtnistrainingsgruppe durchgeführt wurde, die geistige Leistungsfähigkeit, und somit scheinbar auch physiologische Parameter positiv beeinflusst.

Fasst man die Gruppen Training und Training + Ernährung zusammen, und vergleicht hier die Altersgruppen untereinander, so lässt sich feststellen, dass in der Gruppe der 65 bis 74-Jährigen die Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, die Mikrokernelgesamtzahl, sowie die Anzahl an Buds, Bridges, Nekrosen und Apoptosen abgenommen hat. Jedoch ist diese Reduktion nicht signifikant.

In der Altersgruppe 75-84 ist eine signifikante Verringerung der Anzahl an Apoptosen ($p=0,033$), Bridges ($p=0,005$), Buds ($p=0,025$), BNCs mit Mikrokernen ($p=0,001$) und Gesamtmikrokernen ($p=0,001$) ersichtlich.

Bei den ältesten Probanden über 85 Jahre ist die Abnahme an Buds ($p=0,045$), BNCs mit Mikrokernen ($p=0,009$) und Gesamtmikrokernen ($p=0,023$) signifikant.

Aus diesen Daten lässt sich wiederum der positive Einfluss von körperlichem Training mit oder ohne Nahrungsergänzung im Alter erkennen. Trotz des ansteigenden Alters verringern sich alle Parameter des CBMN-cytome Assays.

Um die Ergebnisse noch besser interpretieren zu können, müssen, wie schon erwähnt, die Untersuchungszeitpunkte T4 und T5 abgewartet werden.

7. Schlussbetrachtung

Bisher gibt es kaum Studien bei institutionalisierten Pensionisten, die den Zusammenhang zwischen Krafttraining und dem Auftreten von Mikrokernen aufzeigen. Lediglich Untersuchungen der DNA-Schädigungen im fortgeschrittenen Lebensalter sind verfügbar.

Wie die Ergebnisse der Forschungsplattform „Active Ageing“ zeigen, können körperliche Aktivität alleine und kombiniert mit Ernährungsintervention, die Mikrokernfrequenz und somit das Krebsrisiko senken. Auch die Abnahme weiterer Parameter des CBMN-cytome Assays, wie Nekrosen, Apoptosen, Buds oder Bridges lassen auf einen positiven Effekt durch Training alleine und in Kombination mit dem Nahrungssupplement FortiFit schließen.

DNA-Schädigungen insbesondere bei älteren Personen lassen sich dadurch tatsächlich verringern.

Untersucht wurde zu 3 verschiedenen Testzeitpunkten T1 (Start), T2 (nach 3 Monaten) und T3 (nach 6 Monaten).

Die Anzahl an Gesamtmikrokernen hat sich im Zeitraum von 6 Monaten sowohl in der Gruppe Training als auch in der Gruppe Training + Ernährung signifikant verringert.

Auch die Gedächtnistrainingsgruppe konnte die Mikrokernfrequenz allein durch kognitives Training reduzieren, jedoch nicht signifikant.

Der Erfolg der Intervention bestätigt sich auch durch die Verringerung der Apoptosen, Nekrosen, Buds und Bridges in allen Gruppen. Da diese Parameter ebenso wichtig für die Bestimmung des Krebsrisikos sind bzw. scheinen, ist deren Reduktion sehr positiv zu bewerten.

8. Zusammenfassung

Alte Menschen gehören zu dem am schnellsten wachsenden Segment der Bevölkerung. Bis zum Jahr 2050 wird sich die Zahl der 60+ Generation von 11 auf 22 % verdoppelt haben und somit 2 Milliarden betragen.

Darum ist es wichtig, durch Prävention von Erkrankungen die Lebensqualität möglichst noch lange zu erhalten. Das kann unter anderem durch körperliches Training im Alter erreicht werden, was auch häufig auftretendem Muskelschwund, sogenannter Sarkopenie, entgegenwirkt.

In dieser Masterarbeit im Rahmen der Forschungsplattform Active Ageing wird die Mikrokernfrequenz bei institutionalisierten Pensionisten nach einem 6-monatigen Krafttraining mit Hilfe des Cytokinesis-Block-Micronucleus-cytome Assays untersucht. Des Weiteren werden die Anzahl an nucleoplasmatischen Brücken, nucleoplasmatischen Buds, Apoptosen sowie Nekrosen bestimmt.

Der CBMN-Assay ist eine sehr gut geeignete Methode, um Mikrokerne in den peripheren Lymphozyten zuverlässig nachzuweisen und so DNA-Schäden bzw. das Krebsrisiko bestimmen zu können.

Die Studie der Forschungsplattform Active Ageing beinhaltet insgesamt 99 Probanden, die man in 3 verschiedene Gruppen einteilte: Gruppe Training, Gruppe Training + Ernährung, sowie eine Gedächtnistrainingsgruppe.

Untersucht wurde zu 3 verschiedenen Testzeitpunkten, T1 (Start), T2 (nach 3 Monaten Intervention 2x pro Woche) und T3 (nach 6 Monaten Intervention 2x pro Woche).

Die Anzahl an Gesamtmikrokernen hat sich im Zeitraum von 6 Monaten sowohl in der Gruppe Training ($p=0,003$) als auch in der Gruppe Training + Ernährung ($p=0,003$) signifikant verringert. Dies entspricht einer Reduktion von 30,1 % in der Gruppe Training und einer 40,7 %-igen Verringerung in der Gruppe Training + Ernährung. Auch in der Gedächtnistrainingsgruppe reduzierte sich die Mikrokernfrequenz allein durch kognitives Training um 14,7 %, jedoch besteht hier keine signifikante Abnahme.

In der Gruppe Training hat sich im Zeitraum zwischen T1 und T3 auch die Anzahl an Apoptosen ($p=0,047$), Nekrosen ($p=0,025$), Buds ($p=0,004$) und Bridges ($p=0,008$) signifikant verringert.

Das entspricht einer prozentuellen Veränderung von -31,3 % bei den Apoptosen, -21,7 % bei den Nekrosen, -41,8 % bei den Buds, sowie -66,4 % bei den Bridges.

In der Gruppe Training + Ernährung ist die Reduktion der Apoptosen ($p=0,022$), Buds ($p=0,033$) und Bridges ($p=0,011$), signifikant. Die Anzahl der Apoptosen ist dabei im Mittel um 23,2 %, jene der Buds um 36,8 %, und die der Bridges um 71,6 % gesunken.

Vergleicht man die Altersgruppen untereinander, so lässt sich feststellen, dass in der Gruppe der 65 bis 74-Jährigen (Gruppe Training und Gruppe Training + Ernährung) die Anzahl an BNCs mit Mikrokernen, die Mikrokerngesamtzahl, sowie die Anzahl an Buds, Bridges, Nekrosen und Apoptosen (nicht signifikant) abgenommen hat.

In der Altersgruppe 75-84 ist eine signifikante Verringerung der Anzahl an Apoptosen ($p=0,033$), Bridges ($p=0,005$), Buds ($p=0,025$), BNCs mit Mikrokernen ($p=0,001$) und Gesamtmikrokernen ($p=0,001$) ersichtlich.

Bei den ältesten Probanden über 85 Jahre lässt sich eine signifikante Abnahme an Buds ($p=0,045$), BNCs mit Mikrokernen ($p=0,009$) und Gesamtmikrokernen ($p=0,023$) feststellen.

Die Studie der Forschungsplattform Active Ageing ist bislang die erste, die genaue Auswirkungen einer Trainings- und Ernährungsintervention bezüglich DNA-Schädigung in den verschiedenen Altersgruppen untersucht hat, und zeigt den schützenden Effekt von Kraft- aber auch von Gedächtnistraining im Lebensalter auf die DNA.

9. Summary

Elderly people are the fastest growing group of the population. Until 2050, the number of people over 60 years of age will be doubled from 11 to 22 % and is estimated to rise to about 2 billion.

Therefore, it is very important to focus on the prevention of diseases to ensure good life quality as long as possible.

This can be achieved by physical training also in older age, which also counteracts sarcopenia.

In this master thesis, as a part of the research platform Active Ageing study, the micronucleus frequency has been studied in institutionalized elderly after a 6-month lasting physical training using the Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Furthermore, the number of nucleoplasmatic bridges, nucleoplasmatic buds, apoptosis and necrosis was determined.

The CBMN assay is a well accepted method to detect micronuclei in peripheral blood lymphocytes and to determine DNA damage and cancer risk.

Overall, this study of the Research Platform Active Ageing includes 99 subjects, randomly divided into 3 different groups: training, training + nutrition and a cognitive group.

The examinations took place at 3 different time points, T1 (starting point), T2 (after 3 months of intervention 2 times a week) and T3 (after 6 months of intervention 2 times a week).

In both, the training group ($p=0,003$) and the training + nutrition group ($p=0,003$), the total number of micronuclei has decreased significantly over 6 months.

This represents a reduction of 30,1 % in the training group and 40,7 % in the training + nutrition group.

As an effect of cognitive training, the micronuclei frequency decreased by 14,7% through cognitive training, however not significantly.

This gives evidence that strength training with or without additional nutritional intervention has a positive effect on the formation of MNi.

In the training group, the number of apoptotic ($p=0,047$) and necrotic ($p=0,025$) cells, as well as the frequency of buds ($p=0,004$) and bridges ($p=0,008$) decreased significantly between T1 and T3. This represents a reduction of -31,3 % in apoptotic cells, -21,7 % in necrotic cells, -41,8 % of nucleoplasmatic buds and -66,4 % of nucleoplasmatic bridges.

In the training + nutrition group, the reduction of apoptotic cells ($p=0,022$), nucleoplasmatic buds ($p=0,033$) and nucleoplasmatic bridges ($p=0,011$) was significant.

Comparing the different age groups, in the group of the 65 to 74 year old subjects, the number of BNCs with micronuclei, the total number of micronuclei, and the number of nucleoplasmatic buds, nucleoplasmatic bridges, necrotic and apoptotic cells decreased but not significantly.

In the group 75-84, a significant reduction in the number of apoptotic cells ($p=0,033$), nucleoplasmatic bridges ($p=0,005$), nucleoplasmatic buds ($p=0,025$), BNCs with micronuclei ($p=0,001$) and total micronuclei ($p=0,001$) could be observed.

In the oldest subjects over 85 years of age, the total number of micronuclei ($p=0,023$), the BNCs with micronuclei ($p=0,009$) and nucleoplasmatic buds ($p=0,045$) decreased significantly.

So far, as one of the first, the Research Platform Active Ageing examined the long term effects of a training and nutrition intervention regarding DNA damage in highly aged institutionalised men and women and proved the positive and protective effect of strength and cognitive training on the DNA.

10. Literaturverzeichnis

ALSHERI M: Studies on Clastogenic Effects of Alberk Swamp Water. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2012; 6 (12): 303-307.

ANDREASSI M G, BARALE R, IOZZO P, PICANO E. The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease. Mutagenesis 2011; 26: 1: 77-83.

ANGEVAREN M, AUFDEMKAMPE G, VERHAAR HJ, ALEMAN A, VANHEES L. Physical activity and enhanced fitness to improve cognitive function in older people without known cognitive impairment. Cochrane Database of Systematic Reviews 2008. Issue 2. Art. No.: CD005381. DOI: 10.1002/14651858.CD005381.pub2.

BATT M. E, TANJI J, BÖRJESSON M. Exercise at 65 and Beyond. Sports Medicine 2013. Springer International Publishing Switzerland. 10.1007/s40279-013-0033-1.

BLOCK G. Epidemiological evidence regarding vitamin c and cancer. American Journal of Clinical Nutrition 1994; 54: 1310–1314.

BONASSI S, EL-ZEIN R, BOLOGNESI C, FENECH M. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. Mutagenesis 2011; 26: 1: 93-100.

BONASSI S, ZNAOR A, CEPPI M, LANDO C, CHANG W P, HOLLAND N, KIRSCH-VOLDERS M, ZEIGER E, BAN S, BARALE R, BIGATTI M P, BOLOGNESI C, CEBULSKA-WASILEWSKA A, FABIANOVA E, FUCIC A, HAGMAR L, JOKSIC G, MARTELLI A, MIGLIORE L, MIRKOVA E, SCARFI M R, ZIJNO A, NORPPA H, FENECH M. An increased micronucleus frequency in 65 peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. Carcinogenesis 2007; 28: 3: 625-631.

BOLOGNESI C, ABBONDANDOLO A, BARALE R, CASALONE R, DALPRÀ L, DE FERRARI M, DEGRASSI F, FORNI A, LAMBERTI L, LANDO C, MIGLIORE L, PADOVANI P, PASQUINI R, PUNTONI R, SBRANA I, STELLA M, BONASSI S Age-related increase of baseline frequencies of sister chromatid exchanges, chromosome

aberrations, and micronuclei in human lymphocytes.. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 1997; 6 : 249-256.

CATALAN J, AUTIO K, KUOSMA E, NORPPA H. Age-Dependent Inclusion of Sex Chromosomes in Lymphocyte Micronuclei of Man. *American Journal of Human Genetics* 1998; 63: 5: 1464–1472.

CHURCH T.S, EARNEST CP, THOMPSON AM, PRIEST E,SS R, BLAIR S.N. Exercise without weight loss does not reduce C-reactive protein: the INFLAME study. *Medicine & Science in Sport & Exercise* 2010 ;42(4): 708–716.

CROTT J.W., FENECH M. Effect of vitamin C supplementation on chromosome damage, apoptosis and necrosis ex vivo. *Carcinogenesis*. 1999; 120; .6 : (1035–1041).

Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE). Internet: <http://www.dge.de/modules.php?name=News&file=article&sid=1227>. Stand: 15.05.2012.

ELMADFA I. Österreichischer Ernährungsbericht 2012. 1. Auflage, Wien, 2012.

EL-ZEIN RA, FENECH M, LOPEZ MS, SPITZ MR, ETZEL CJ. Cytokinesis-blocked micronucleus cytome assay biomarkers identify lung cancer cases amongst smokers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2008; 17: 1111–1119.

EL-ZEIN RA, VRAL A, ETZEL CJ. Cytokinesis-blocked micronucleus assay and cancer risk assessment. Review. *Mutagenesis* 2011; 26(1): 101–106.

EL-ZEIN RA, Schabath MB, Etzel CJ. Cytokinesis-Blocked Micronucleus Assay as a Novel Biomarker for Lung Cancer Risk. *Cancer Research* 2006; 66: 6449-6456.

EVANS W. J. Protein nutrition, exercise and ageing. *Journal of the American College of Nutrition* 2004; 23: 6: 601-609.

FENECH M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols* 2007; 2 (5): 1084-1104.

FENECH M, BONASSI S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. REVIEW. *Mutagenesis* 2011; 26(1): 43-49.

FENECH M., KIRSCH-VOLDERS M., NATARAJAN A.T., SURRALLES J., CROTT J.W., PARRY J., NORPPA H., EASTMOND D.A., TUCKER J.D., THOMAS P. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis* 2011; 26(1): 125-132.

FENECH M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. *Mutation Research* 2006; 600:58-66.

FENECH M. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method. *Mutation Research* 1997; 392: 11–18.

FENECH M, CHANG WP, KIRSCH-VOLDERS M, HOLLAND N, BONASSI S, ZEIGER E. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research* 2003; 534: 65-75.

FENECH M. The role of folic acid and vitamin B12 in genomic stability of human cells. *Mutation Research*. 2001; 475: 57–67.

FENECH M, HOLLAND N, ZEIGER E, CHANG W P, BURGAS S, THOMAS P, BOLOGNESI C, KNASMUELLER S, KIRSCH-VOLDERS M, BONASSI S. The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells - past, present and future. *Mutagenesis* 2011; 26: 239–245.

FENECH M, DREOSTI I, RINALDI J. Folate, vitamin B12, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men. *Carcinogenesis* 1997; 18 (7): 1329-1336.

FIELDING RA, VELLAS B, EVANS WJ, BHASIN S, MORLEY JE, NEWMAN AB, ABELLAN VAN KANN G. Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. Journal of the American Medical Directors Association 2011;.12: 249–256.

HAMMAR M, ÖSTGREN C J. Healthy aging and age-adjusted nutrition and physical fitness. 2013. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology 2013; 1–12.

HARTMANN A, PFUHLER S, DENNOQ C, GERMADNIK D, PILGER A, SPEIT G. Exercise-Induced DNA Effects in Human Leukocytes Are Not Accompanied by Increased Formation of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine or Induction of Micronuclei. Free Radical Biology und Medicine 1998; 15;24(2):245-51.

HAVEMAN-NIES A, DE GROOT L, VAN STAVEREN W. Dietary quality, lifestyle factors and healthy ageing in Europe: the SENECA study. Age and Ageing 2003; 32: 427–434.

HOWE TE, ROCHESTER L, NEIL F, SKELTON DA, BALLINGER C. Exercise for improving balance in older people. Cochrane Database Systematic Reviews 2011; 9; 11.

HITOSHI I, TIAN Y, YAMAUCHI T. Influence of gender, age and lifestyle factors on micronuclei frequency in healthy japanese populations. Short communication. Journal of Occupational Health 2003; 45 (3): 179-181.

HOLLAND N, FUCIC A, MERLO DF, SRAM R, KIRSCH-VOLDERS M. Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables. Mutagenesis 2011; 26: 51–56.

HUANG P, HUANG B, WENIG H, NAKAYAMA K, MORIMOTO K. Effects of lifestyle on micronuclei frequency in human lymphocytes in Japanese hard-metal workers. Preventive Medicine 2009; 48 (4): 383–388.

IARMARCOVAI G, CEPPI G, BOTTA A, ORSIERE T, BONASSI S. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: A meta-analysis. *Mutation Research* 2008; 659: 3: 274-283.

ISHIKAWA H, TIAN Y, YAMAUCHI T. Influence of gender, age and lifestyle factors on micronuclei frequency in healthy Japanese populations. *Journal of occupational health*, 2003; 45: 179-181.

JONES K H, YORK T P, JACKSON-COOK C. Mechanisms leading to the formation of micronuclei containing sex chromosomes differ with age. *Mutation Research* 2012; 402191: 1-11.

LAUMANN KJ, LEHR U, MECHLING H, TILLMANN F, WIDMANN-MAUZ A. Prävention bis ins hohe Alter. *Zukunftsforum Politik* 2009, Nr. 95.

LOFT S, MOLLER P, COOKE M, ROZALSKI R, OLINSKI R. Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker?. *European Journal of Nutrition* 2008; 47 (2): 19-28.

MARTINEZ-PEREZ LM, CERDA-FLORES, GALLEGOS-CABRIALES EC, DAVILA-RODRIGUEZ MI, IBARRA-COSTILLA E, CORTES-GUTIERREZ EI. Frequency of micronuclei in Mexicans with type 2 diabetes mellitus. *Prague Medical Report* 2007; 108: 248-255.

MIGLIORE L, COPPEDE F, FENECH M, THOMAS P. Association of micronucleus frequency with neurodegenerative diseases. Review. *Mutagenesis* 2011; 26 (1): 85-92.

MILTYK W, CRACIUNESCU C N, FISCHER L, JEFFCOAT R, KOCH MA, LOPACZYNSKI W, MAHONEY C, JEFFCOAT RA, CROWELL J, PAGLIERI J, ZEISEL FH. Lack of significant genotoxicity of purified soy isoflavones (genistein, daidzein, and glycitein) in 20 patients with prostate cancer. *American Journal of Clinical Nutrition* 2003; 77: 875-882.

MILOSEVIC-DJORDJEVIC O., GRUJICIC D., VASKOVIC Z., MARINKOVIC D. High Micronucleus Frequency in Periphal Blood Lymphocytes of Untreated Cancer Patients Irrespective of Gender, Smoking and Cancer Sites. Tohuko Journal of Experimental Medicine 2010; 220: 115-120.

MIYAKOSHI N, HONGO M, MIZUTANI Y, SHIMADA Y. Prevalence of sarcopenia in Japanese women with osteopenia and osteoporosis. Journal of Bone and Mineral Metabolism 2013; 10.1007/s00774-013-0443-z.

MORLEY JE. Sarcopenia: diagnosis and treatment. Journal of Nutrition Health and Aging 2008; 12:452–456.

NANJI AA, HILLER-STURMHÖFEL S. Apoptosis and necrosis. Two Types of Cell Death in Alcoholic Liver Disease. Alcohol Health & Research World 1997; 21: 4: 325-330.

NEUBAUER O, REICHHOLD S, NERESYAN A, KÖNIG D, WAGNER K.-H. Exercise-induced DNA damage: Is there a relationship with inflammatory responses? Exercise Immunology Review 2008; 14: 51-72.

NUTRICIA. Internet: <http://www.fortifit.nutricia.at/index.php/home/produkte/fortifit>; Stand: 2013.

ORTA T, GÜNEBAKAN S. The effect of aging on micronuclei frequency and proliferation in human peripheral blood lymphocytes. Indian Journal of Human Genetics 2012; 18(1): 95-100.

Österreichische Liga für Präventivmedizin (ÖLPM), Internet: http://www.gruenes-kreuz.org/oegk/index.php/News_Reader/items/muskeln-brauchen-proteine-vor-allem-im-alter.html. Stand: 30.01.2011.

REICHHOLD S, NEUBAUER O, BULMER A.C, KNASMÜLLER S, WAGNER K.-H. Endurance exercise and DNA stability: Is there a link to duration and intensity? Mutation Research 2009; 682 (1): 28–38.

ŞARDAŞ S, YILMAZ M, OZTOK U, ÇAKIR N, KARAKAYA A E. Assessment of DNA strand breakage by comet assay in diabetic patients and the role of antioxidant supplementation. Mutation Research 2001; 490: 123-129.

SCHNEIDER M, DIEMER K, ENGELHART K, ZANKL H, TROMMER W.E, BIESALSKI H.K. Protective effects of vitamins C and E on the number of micronuclei in lymphocytes in smokers and their role in ascorbate free radical formation in plasma. Free Radical Research 2001; 34: 209–219.

SCHIFFL C, ZIERES C, ZANKL H. Exhaustive physical exercise increases frequency of micronuclei. Mutation Research 1997; 389, 243-246.

SHEPHARD, R.J. Aging and Exercise. Encyclopedia of Sports Medicine and Science 1998, Internet: <http://sportsci.org>. 7 March 1998.

STATISTIK AUSTRIA (1). Internet: http://www.statistik.at/web_de/statistiken/soziales/gender-statistik/index.html (Stand: 05.03.2013).

STATISTIK AUSTRIA (2). Internet: http://www.statistik.at/web_de/statistiken/bevoelkerung/index.html (Stand: 07.08.2013).

THOMAS P, WU J, DHILLON V, FENECH M. Effect of dietary intervention on human micronucleus frequency in lymphocytes and buccal cells. Mutagenesis 2011, 26 (1): 69-76.

UMEGAKI K, HIGUCHI M, INOUE K, ESASHI T. Influence of one bout of intensive running on lymphocyte micronucleus frequencies in endurance-trained and untrained men. International journal of sports medicine 1998; 19(8): 581-5.

VOLKERT D, SIEBER C. Der Proteinbedarf älterer Menschen. Schweizer Zeitschrift für Ernährungsmedizin 2011; 3: 19-24.

WAGNER K-H, REICHHOLD S, NEUBAUER O. Impact of endurance and ultraendurance exercise on DNA damage. Annals of the New York Academy of Sciences 2011; 1229: 115-123.

WEICHENTHAL M, ROSER M,EHLERT U,FRENZER S,BREITBART E, RÜDIGER HW. Increased numbers of spontaneous micronuclei in blood lymphocytes and cultures fibroblasts of individuals with familial cutaneous malignant m.elanoma. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology 1989; 115 (3):264-8.

WESSNER B, STRASSER E.-M., TSCHAN H, HALPER B., OESEN S., FRANZKE B, WAGNER K.-H., BACHL N, QUITTAN M. Active Ageing – Kurzfassung, 2011.

WINDLE G, HUGHES D, LINCK P, RUSSELL I, WOODS B. Is exercise effective in promoting mental well-being in older age? A systematic review. Aging Ment Health 2010; 14: 652–669.

WOJDA A, ZIETKIEWICZ E, WITT M. Effects of age and gender on micronucleus and chromosome nondisjunction frequencies in centenarians and younger subjects. Mutagenesis 2007; 22: 3: 195-200.

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). Internet: <http://www.who.int/ageing/about/facts/en/index.html> (Stand: 28.03.2012).

ZUNIGA-GONZALEZ GM, BATISTA-GONZALEZ CM, GOMEZ-MEDA PC, RAMOS-IBARRA ML, ZAMORA-PEREZ AL, MUNOZ-MAGALLANES T, RAMOS-VALDES C, GALLEGOS-ARREOLA MP. Micronuclei in diabetes: folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. Mutation Research 2007; 634: 126-134.



Karin Geider
Meierhofgasse 5
4650 Lambach

☎ (0680) 55 95 380
E-Mail: karin.geider@gmail.com

Lebenslauf

Geburtsdatum	20. Mai 1988
Geburtsort	Wels
Staatsbürgerschaft	Österreich
Religion	römisch-katholisch
Schul-bildung	1994–1998 Volksschule Lambach 1998–2002 Musikhauptschule Lambach 2002–2007 HAK des Stiftes Lambach Seit Oktober 2007: Studium der Ernährungswissenschaften an der Universität Wien
Berufs- erfahrungen	Praktikum bei der AGES im Jänner 2012 Praktikum bei forum.ernährung heute im Mai, Juni 2011 Geringfügige Anstellung bei der M&P GmbH im Bereich Ernährungsberatung / Diätetik von 2011-2013 Praktikum im AKH Wien im Februar und März 2011 Praktikum bei der Arbeiterkammer für klinische Ernährung im März 2011 Ferialpraktikum im Baxter Plasmazentrum im Juli 2010 Laborpraktikum am IfEW im März und April 2010 Ferialpraktikum im UKH Lorenz Böhler im Juli 2009 Ferialpraktikum im UKH Meidling im August 2008
Hobbys	Sport Kochen Querflöte

**Soziale
Fähigkeiten
und
Kompetenzen**

Zuverlässig
Verantwortungsbewusst
Kontaktfreudig

Kenntnisse

Sprachkenntnisse:
Englisch, Französisch

EDV-Kenntnisse:
Europäischer Computerführerschein (ECDL)

Wien, 27. August 2013

Eidesstattliche 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, 26.08.2013