



MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

„Einfluss eines 12-monatigen Krafttrainings auf die
Entstehung von Mutationen bei institutionalisierten
SeniorInnen“

verfasst von

Ariane Cremer, Bakk.rer.nat.

angestrebter akademischer Grad

Master of Science (MSc)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt: Masterstudium Ernährungswissenschaften

Betreut von: Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner

Danksagung

In erster Linie möchte ich mich bei meiner Laborpartnerin Trixie Pierson, unseren Vorgängerinnen Karin Geider und Birgit Koller und unserem Betreuer Mag. Billy Franzke für die tolle Zusammenarbeit, die Unterstützung und die lustige Zeit während der Durchführung meiner Masterarbeit bedanken. Weiters bedanke ich mich bei Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner für die Bereitstellung des Themas und die Betreuung während meines letzten Studienjahres.

Weiters möchte ich mich ganz herzlich bei meinen Eltern, meinem Bruder und dem Rest meiner Familie dafür bedanken, dass sie mir das Studium ermöglicht haben und mich während der gesamten Zeit in allen Bereichen meines Lebens unterstützt haben.

Ein ganz besonderes „Danke“ gebührt Thomas Michalecz, Karin Eichler und allen meinen Freunden, welche mir immer tatkräftig zur Seite gestanden sind und die mir meine Studienzeit zu einem unvergesslichen Abschnitt meines Lebens gemacht haben.

Vielen Dank!

INHALTSVERZEICHNIS

I ABBILDUNGSVERZEICHNIS	IV
II TABELLENVERZEICHNIS	VII
III ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IX
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Der Cytokinesis-Block-Micronucleus cytome-Assay (CBMN-Assay).....	2
2.1.2 Parameter des CBMN-Assay und deren Entstehung	2
2.2 Einfluss der Ernährung auf chromosomale Veränderungen	4
2.3.1 Folat und Vitamin B12	5
2.3.2 Antioxidantien	7
2.4 Einfluss von genetischen Polymorphismen auf die Entstehung von Mikrokernen	9
2.4.1 Polymorphismen in Genen des Folatmetabolismus	10
2.4.2 Polymorphismen in Genen der DNA-Reparatur	13
2.5 Der Einfluss von Alter, Geschlecht und Lebensstil auf das Auftreten von Mikrokernen	15
2.6 Der Einfluss von körperlichem Training auf die Entstehung von Mikrokernen	16
2.7 Training im Alter	17
2.7.1 Die Aufgaben der Skelettmuskulatur	19
2.7.2 Muskelprotein-Metabolismus bei älteren Menschen	20
2.7.3 Einfluss der Ernährung auf den Muskelprotein-Metabolismus	21

2.7.4 Einfluss von körperlichem Training auf den Muskelprotein-Metabolismus.....	22
2.8 Sarkopenie	22
2.8.1 Pathophysiologie	23
2.8.2 Die Behandlung von Sarkopenie	24
3. MATERIAL UND METHODEN	25
3.1 Studiendesign	25
3.1.1 Probandenrekrutierung	25
3.1.2 Interventionsphase	26
3.1.3 Trainingsintervention	27
3.1.4 Ernährungsintervention.....	27
3.1.5 Kognitives Training	29
3.2. Der CBMN-Assay.....	29
3.2.1 Verwendete Reagenzien	29
3.2.2 Verwendete Materialien	30
3.2.3 Probenaufbereitung	31
3.2.4 Zählkriterien.....	34
3.3 Statistische Auswertungen	35
4. ERGEBNISSE	36
4.1 Ergebnisse der Trainingsgruppe	37
4.1.1 Mikrokerne.....	38
4.1.2 Apoptosen	40
4.1.3 Nekrosen.....	41

4.1.4 Nucleoplasmic Buds	42
4.1.5 Nucleoplasmic Bridges	43
4.2 Ergebnisse der Kontrollgruppe	44
4.2.1 Mikrokerne	44
4.2.2 Apoptosen	46
4.2.3 Nekrosen.....	47
4.2.4 Nucleoplasmic Buds.....	48
4.2.5 Nucleoplasmic Bridges	49
4.3 Ergebnisse der verschiedenen Altersgruppen	50
4.3.1 Altersgruppe: 65-74	50
4.3.2 Altersgruppe: 75-84	54
4.3.3 Altersgruppe: >85	59
5. DISKUSSION	64
6. SCHLUSSBETRACHTUNG	68
7. ZUSAMENFASSUNG.....	69
8. SUMMARY	70
9. LITERATURVERZEICHNIS.....	71
10. CURRICULUM VITAE	77

I ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Entstehung von Anomalien des Zellkerns [Fenech und Crott, 2002]	4
Abbildung 2: Einfluss von Folsäure im Medium auf die Entstehung von MNi, NPBs und Nbuds [Fenech und Crott, 2002]	6
Abbildung 3: Diese Abbildung zeigt ein Modell der Wechselwirkung zwischen Ernährungszustand (Mangel oder Überschuss), der Exposition gegenüber Genotoxinen und genetischer Veranlagung, welche die MNi-Bildung beeinflussen kann [Dhillon et al., 2011]	10
Abbildung 4: MNi-Frequenz in Bezug auf die MTHFR C677T Genotypen [Botto et al., 2003]	12
Abbildung 5: Computer Tomographie des Oberschenkels eines 25-jährigen und eines 81-jährigen Mannes [Koopman und van Loon, 2009]	18
Abbildung 6: Mechanismen der Sarkopenie [Cruz-Jentoft et al., 2010]	23
Abbildung 7: Leucoseptröhrchen mit aufgetrennten Blutbestandteilen [Eigenes Bild, 2013]	32
Abbildung 8: (a) Einkernzelle; (b) Mehrkernzelle; (c) Zweikernzelle; (d) Zweikernzelle mit MN; (e) Nbud; (f) Nbud in einer Vakuole; (g) NPB; (h) Apoptose; (i) Nekrose [Eigene Bilder, 2013]	35
Abbildung 9: Graphische Darstellung der Gruppenaufteilung zum Zeitpunkt T1	37
Abbildung 10: Die Anzahl von BNCs mit MNi von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe	39
Abbildung 11: Vergleich von BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe	39
Abbildung 12: Anzahl der Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe ..	40
Abbildung 13: Anzahl der Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe	41

Abbildung 14: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe	42
Abbildung 15: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe	43
Abbildung 16: Die Anzahl von BNCs mit MNi von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe.....	45
Abbildung 17: Vergleich von BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe	46
Abbildung 18: Anzahl an Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe .	47
Abbildung 19: Anzahl an Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe...	48
Abbildung 20: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe	49
Abbildung 21: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe	50
Abbildung 22: Vergleich von BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74.....	51
Abbildung 23: Anzahl an Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74	52
Abbildung 24: Anzahl an Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74	53
Abbildung 25: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74.....	54
Abbildung 26: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74.....	54
Abbildung 27: Vergleich von BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84.....	55
Abbildung 28: Anzahl an Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84	56
Abbildung 29: Anzahl an Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84	57
Abbildung 30: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84.....	58
Abbildung 31: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84.....	58

Abbildung 32: Vergleich der BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85.....	59
Abbildung 33: Anzahl an Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85..	61
Abbildung 34: Anzahl an Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85 ...	61
Abbildung 35: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85	62
Abbildung 36: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85	63

II TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Zusammensetzung von FortiFit	28
Tabelle 2: Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente in einer Portion FortiFit.....	29
Tabelle 3: Verwendete Reagenzien des CBMN-Assay.....	30
Tabelle 4: Verwendete Materialien des CBMN-Assay	31
Tabelle 5: Häufigkeitstabelle der teilnehmenden Probanden zum Zeitpunkt T1	36
Tabelle 6: Häufigkeitstabelle der Trainingsgruppe zum Zeitpunkt T1	37
Tabelle 7: Deskriptive Statistik: MNi in BNCs und totale Anzahl an MNi innerhalb der Trainingsgruppe.....	38
Tabelle 8: Deskriptive Statistik: Vorkommen von Apoptosen innerhalb der Trainingsgruppe.....	40
Tabelle 9: Deskriptive Statistik: Vorkommen von Nekrosen innerhalb der Trainingsgruppe.....	41
Tabelle 10: Deskriptive Statistik: BNCs mit Nbuds innerhalb der Trainingsgruppe	42
Tabelle 11: Deskriptive Statistik: BNCs mit NPBs innerhalb der Trainingsgruppe	43
Tabelle 12: Häufigkeitstabelle der Kognitionsgruppe zum Zeitpunkt T1	44
Tabelle 13: Deskriptive Statistik: MNi in BNCs und totale Anzahl an MNi innerhalb der Kognitionsgruppe.....	45
Tabelle 14: Deskriptive Statistik: Vorkommen von Apoptosen innerhalb der Kognitionsgruppe.....	46
Tabelle 15: Deskriptive Statistik: Vorkommen von Nekrosen innerhalb der Kognitionsgruppe.....	47
Tabelle 16: Deskriptive Statistik: BNCs mit Nbuds innerhalb der Kognitionsgruppe ...	48
Tabelle 17: Deskriptive Statistik: BNCs mit NPBs innerhalb der Kognitionsgruppe	49

Tabelle 18: Deskriptive Statistik: BNCs mit MNi und Anzahl an MNi innerhalb der Altersgruppe 65-74	51
Tabelle 19: Deskriptive Statistik: Apoptosen und Nekrosen innerhalb der Altersgruppe 65-74	52
Tabelle 20: Deskriptive Statistik: Nbuds und NPBs innerhalb der Altersgruppe 65-74	53
Tabelle 21: Deskriptive Statistik: BNCs mit MNi und Anzahl an MNi innerhalb der Altersgruppe 75-84	55
Tabelle 22: Deskriptive Statistik: Apoptosen und Nekrosen innerhalb der Altersgruppe 75-84	56
Tabelle 23: Deskriptive Statistik: Nbuds und NPBs innerhalb der Altersgruppe 75-84	57
Tabelle 24: Deskriptive Statistik: BNCs mit MNi und Anzahl an MNi innerhalb der Altersgruppe >85	59
Tabelle 25: Deskriptive Statistik: Apoptosen und Nekrosen innerhalb der Altersgruppe >85	60
Tabelle 26: Deskriptive Statistik: Nbuds und NPBs innerhalb der Altersgruppe >85 ...	62

III ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

5-MeTHF	5-Methyltetrahydrofolat
5,10-MnTHF	5,10-Methylenetetrahydrofolat
ADPRT	Adeonsindiphosphat-ribosyltransferase
APE1	Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1
Arg	Arginin
BER	Basenexzisionsreparatur
BD	1-3-Butadien
BNC	Binucleated Cell
BNCs	Binucleated Cells
Ca	Calcium
CBMN	Cytokinesis Block Micronucleus cytome Assay
Cl	Chlor
Cr	Chrom
Cu	Kupfer
Cys	Cystein
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleic Acid
DNA-PK	DNA-dependent protein kinase
dTMP	Desoxythymidinmonophosphat
dUMP	Desoxyuridinmonophosphat

EWGSOP	European Working Group on Sarcopenia in Older People
F	Fluor
FBS	Fetal Bovine Serum
Fe	Eisen
FFQ	Food Frequency Questionnaire
GCP II	Glutamat-Carboxypeptidase II
Gln	Glutamin
His	Histidin
HPI	Health practice Index
I	Iod
K	Kalium
Mg	Magnesium
Mn	Mangan
MN	Micronucleus
MNi	Micronuclei
Mo	Molybdän
MTHFR	Methylentetrahydrofolat-Reduktase
Na	Natrium
Nbud	Nucleoplasmic Bud
Nbuds	Nucleoplasmic Buds
NDCI	Nuclear Divison Cytotoxicity Index

NDI	Nuclear Division Index
NPB	Nucleoplasmic Bridge
NPBs	Nucleoplasmic Bridges
P	Phosphor
PARP-1	Poly(ADP-ribose)-Polymerase 1
PARP-2	Poly(ADP-ribose)-Polymerase 2
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PHA	Phytohaemagglutinin
RFC	Reduced Folate-Carrier
ROS	reaktive Sauerstoff Spezies
SAM	S-Adenosylmethionin
Se	Selen
Se-Met	Selen-L-Methionin
Ser	Serin
SNP	Single Nucleotid Polymorphism
SNPs	Single Nucleotid Polymorphisms
SPBB	Short Physical Performance Battery
Trp	Tryptophan
VCM	Vinylchloridmonomer
Zn	Zink

1. EINLEITUNG

Der Anteil der Weltbevölkerung über 60 Jahre wird sich von dem Jahr 2000 bis zum Jahr 2050 von etwa 11% auf 22% verdoppeln. Die absolute Zahl der Menschen über 60 Jahre wird sich von 605 Millionen auf rund 2 Milliarden erhöhen. Die absolute Zahl der über 80-jährigen wird sich in diesem Zeitraum auf 395 Millionen, und somit um ein Vierfaches erhöhen [WHO, 2013].

Die Anzahl der in Österreich lebenden Menschen wird in 20 Jahren bei 9 Millionen liegen. Der Anteil der Personen über 65 wird von derzeit 18% auf 20% im Jahr 2020 steigen. Bis zum Jahr 2030 wird sogar ein Anstieg auf über 25% der Bevölkerung erwartet. Die Zahl der über 80-jährigen wird in Österreich in diesem Zeitraum um mehr als 50%, auf 640.000 Menschen, steigen [Statistik Austria, 2013].

Diese globale Alterung wird aufgrund eines größeren Bedarfs an Hospitalisierung und/oder Institutionalisierung einen großen Einfluss auf unser Gesundheitssystem haben. Ein guter Gesundheitszustand ist für ältere Menschen von größter Bedeutung um unabhängig zu bleiben und weiterhin aktiv an ihrem Familien- und Gemeinschaftsleben teilhaben zu können. Eine lebenslange Gesundheitsförderung ist grundsätzlich notwendig, um das Auftreten von nicht übertragbaren und chronischen Erkrankungen wie Herzerkrankungen, Schlaganfall, Krebs und Diabetes zu verhindern oder zu verzögern [Koopman und van Loon, 2009].

Genomschäden, einschließlich DNA-Strangbrüche, Chromosomenumlagerungen und Änderungen im Methylierungsmuster wurden als Faktoren identifiziert, welche für die Entwicklung von Krankheiten wie Krebs mitverantwortlich sind. Biomarker zur Detektion von Chromosomenschäden müssen sensitiv genug sein, um Änderungen des Genoms, welche aufgrund von exogenen und endogenen Expositionen entstehen, erfassen zu können. Eine geeignete Methode hierfür ist der CBMN-Assay, der die Anzahl von Mikrokernen und andere Biomarkern für chromosomale Schäden bestimmt [Thomas et al., 2011].

Ziel dieser Masterarbeit ist es, den Effekt einer Krafttrainingsintervention auf die Entstehung von Mutationen bei SeniorInnen zu untersuchen. Es handelt sich hierbei um Teilergebnisse einer Studie der Forschungsplattform „Active Ageing“ der Universität Wien. Untersucht wurden die Parameter des CBMN-Assays, wobei der

Anzahl der Mikrokerne in isolierten Lymphozyten eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt wird.

Wenn in dieser Masterarbeit von Probanden die Rede ist, sind sowohl männliche Probanden als auch weibliche Probandinnen gemeint.

Die Probenaufbereitung, sowie die Durchführung der statistischen Berechnungen, erfolgten mit meiner Laborpartnerin Beatrice Pierson. Weitere Diplom- bzw. Masterarbeiten zu diesem Thema, aber einer anderen Interventionsdauer wurden von Klemens Krejci, Heidemarie Peherstofer, Karin Geider und Birgit Koller verfasst.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Der Cytokinesis-Block-Micronucleus cytome-Assay (CBMN-Assay)

In den letzten Jahren hat sich der CBMN-Assay zu einer bevorzugten Methode entwickelt, um Chromosomenbrüche und -verluste, fehlerhaft reparierte DNA, Nekrosen sowie Apoptosen zu bestimmen [Fenech, 2007]. Im CBMN-Assay wird die Teilung von Lymphozyten in vitro induziert, um anschließend Anomalien der Zellen zu zählen, welche eine vollständige Teilung vollzogen haben. Das Stoppen der Zellteilung erfolgt durch die Zugabe von Cytochalasin B [Fenech und Bonassi, 2011].

2.1.2 Parameter des CBMN-Assay und deren Entstehung

Mikrokerne (MNi) und andere Anomalien des Zellkerns, wie nukleoplasmatische Brücken (NPBs) und nukleare Knospen (Nbuds), sind Biomarker für genotoxische Ereignisse und chromosomale Instabilität. Die Bildung dieser Anomalien wird üblicherweise bei Krebserkrankungen beobachtet und weist auf Schäden im menschlichen Genom hin, welche das Risiko von Entwicklungsstörungen und degenerativen Erkrankungen erhöhen können.

MNi haben ihren Ursprung hauptsächlich in azentrischen Chromosomenfragmenten, azentrischen Chromatidfragmenten oder ganzen Chromosomen, welche während der Telophase der Mitose nicht in die Tochterkerne aufgenommen werden können. Diese Chromosomen bzw. ihre Fragmente werden anschließend von einer nuklearen

Membran umschlossen. MNi unterscheiden sich von Zellkernen kaum in ihrer Morphologie, sondern durch ihre Größe. Das Vorkommen von MNi in humanen Lymphozyten steigt mit zunehmendem Alter an [Fenech et al., 2011].

Die Entstehung von MNi kann durch oxidativen Stress, durch genetische Defekte in Zellzyklus-Checkpoints und/oder defekten DNA-Reparaturgenen, sowie durch Mängel an Nährstoffen, welche als Co-Faktoren im DNA-Metabolismus wirken, beeinflusst werden [Iarmarcovai et al., 2008].

NPBs entstehen während der Anaphase der Mitose, wenn die Zentromere dizentrischer Chromosomen an die gegenüberliegenden Pole einer Zelle gezogen werden. In der Regel werden NPBs während der Zytokinese gebrochen, sie können aber durch Verwendung des Zytokinese-Inhibitors Cytochalasin B akkumuliert werden. Die Bildung von NPBs kann durch eine Vielzahl von Expositionen erhöht werden. Dazu gehören endogene Oxidantien, ionisierende Strahlung, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, das im Zigarettenrauch vorkommende krebserregende 4 - (Methylnitrosamino) -1 - (3 - pyridyl)-1-butanon, Vanadiumpentoxid sowie ein Folsäure- und Selenmangel.

Nbuds zeichnen sich durch die gleiche Morphologie wie MNi aus, mit der Ausnahme, dass sie über einen Stiel mit dem Zellkern verbunden sind. Sie weisen auf den Verlust von amplifizierter DNA, DNA-Reparaturmechanismen und eventuell auf die Beseitigung von überschüssigen Chromosomen in aneuploiden Zellen hin. Der so genannte „budding Prozess“ findet während der S-Phase des Zellzyklus statt. Eine weitere Möglichkeit, welche zur Bildung von Nbuds führen kann, besteht darin, dass eine NPB zwischen zwei Zellkernen bricht und die Reste zurück in Richtung der Kerne schrumpfen [Fenech et al., 2011].

Durch den programmierten Zelltod werden irreversibel geschädigte Zellen beseitigt. Dabei kommt es zum Zelltod durch Apoptose, der häufigsten Form des programmierten Zelltodes. Während diesem Vorgang schrumpfen und verdichten sich die Zellen und brechen oft in Stücke. Die proteolytischen Enzyme Caspasen schneiden spezifische intrazelluläre Proteine, um den apoptotischen Prozess voranzutreiben. Die Apoptose kann also nur in Abhängigkeit der Caspasen erfolgen. Die Entstehung von Nekrosen beschreibt einen Vorgang bei dem Zellen als Reaktion auf u.a. akute Verletzungen oder mangelnde Nährstoffversorgung zugrunde gehen. Im Gegensatz

zur Apoptose platzt eine nekrotische Zelle auf und ruft Entzündungsreaktionen hervor [Alberts et al., 2011].

Mit Hilfe des Nuclear Division Index (NDI) können anhand der lebensfähigen Einkern-, Zweikern- und Mehrkernzellen zytostatische Effekte und die mitotische Teilungsrate gemessen werden.

Der Nuclear Division Cytotoxicity Index (NDCI) fungiert als Indikator für zytotoxische Effekte [Fenech, 2007].

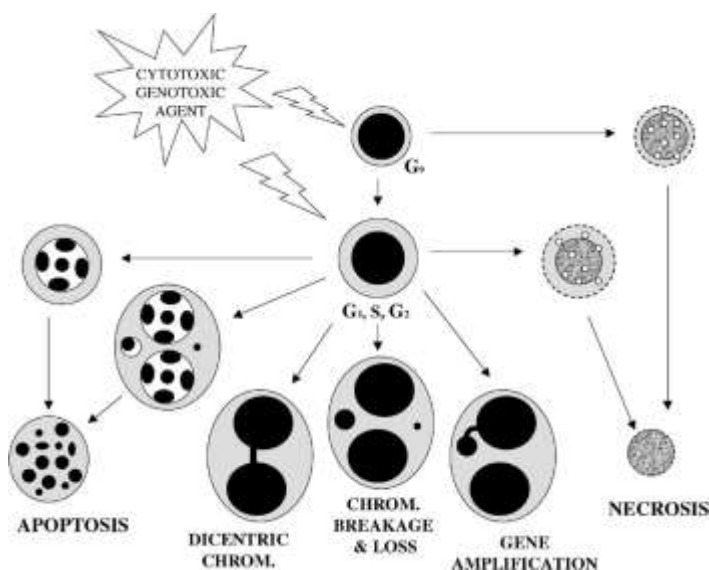


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Entstehung von Anomalien des Zellkerns [Fenech und Crott, 2002]

2.2 Einfluss der Ernährung auf chromosomale Veränderungen

Dass es einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Mikrokernen und der Ernährung gibt, wurde erstmals in Studien mittels Folsäure- und/oder Vitamin B12-Mangel verursachten Anämien beobachtet. Die Auswahl und die Menge bestimmter Lebensmittel, sowie die Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln, haben einen starken Einfluss auf die zelluläre Konzentration von Mikronährstoffen, welche unter anderem als Co-Faktoren für die DNA-Synthese und für DNA-Reparaturmechanismen benötigt werden. Enzyme und Proteine, welche an diesen Prozessen und an der

Chromosomensegregation beteiligt sind, benötigen Mikronährstoffe entweder als ein Substrat, zum Beispiel 5,10-Methylen tetrahydrofolat als Methyl donor für die Synthese von Desoxythymidin triphosphat durch die Thymidylat-Synthase, oder als Co-Faktoren. Beispiele hierfür sind u.a. Zink und Magnesium als Co-Faktoren für DNA-Polymerasen. Ernährung ist ein komplexer Aspekt, der zwischen Individuen und Gemeinschaften je nach Auswahl von Lebensmitteln, der Erschwinglichkeit und der Verfügbarkeit variiert. Humanstudien haben gezeigt, dass die MNI Frequenz in Lymphozyten mit der Aufnahme oder der Plasmakonzentration von Folat, Vitamin B12, Riboflavin, Biotin, Pantothen säure, β -Carotin, Vitamin E, Retinol und Calcium assoziiert ist. Bislang gibt es allerdings noch keine Studien, welche eine Assoziation zwischen der Aufnahme von Makronährstoffen und dem Auftreten von MNI aufzeigen [Fenech und Bonassi, 2011].

Da der MNI-Index sehr empfindlich auf kleine Variationen bzgl. des Mikronährstoffstatus innerhalb des physiologischen Bereichs reagiert, ist er ein ausgezeichneter Biomarker für die Identifizierung ernährungsbedingter Faktoren, welche für die genomische Stabilität von großer Bedeutung sind und für die Festlegung der optimalen Aufnahme dieser Mikronährstoffe. Der Food Frequency Questionnaire (FFQ) ist ein nützliches Instrument zur Identifizierung spezifischer Makro- und Mikronährstoffe sowie von anderen Lebensmittelgruppen, welche einen starken Einfluss auf die Stabilität des Genoms haben [Fenech et al., 2005].

2.3.1 Folat und Vitamin B12

Folsäure ist ein essentielles B-Vitamin welches von Säugetieren nicht selbst synthetisiert werden kann. Folat kann in verschiedenen Formen auftreten. Dazu gehören Folsäure, Dihydrofolat und verschiedene Formen des Tetrahydrofolats [Dhillon et al., 2011]. Folat wird für die Synthese von Desoxythymidin monophosphat (dTMP) aus Desoxyuridin monophosphat (dUMP) benötigt und spielt eine wichtige Rolle als Methyl donor innerhalb der DNA-Methylierung. Im Falle eines Folatmangels akkumuliert dUMP, was dazu führt, dass Uracil anstelle von Thymin in die DNA eingebaut wird. Eine übermäßige Aufnahme von Uracil in die DNA führt nicht nur zu Punktmutationen, sondern auch zu Einzel- und Doppelstrangbrüchen der DNA, Chromosomenbrüchen und zur Bildung von MNI. Ein Mangel an Vitamin B12 verursacht einen ähnlich hohen Uracileinbau in die DNA. Grund dafür ist, dass es bei einem B12 Mangel zu einer Einschränkung der Synthese von 5,10-Methylen tetrahydrofolat kommt, welches für die

dTMP Synthese erforderlich ist [Thomas et al., 2011]. Vitamin B12 wird als Cofaktor für die Methionin-Synthase benötigt, welche Homocystein zu Methionin umwandelt. Eine sehr niedrige Vitamin B12 Aufnahme kann zu Anämien und Störungen des Nervensystems führen. Ein Folat und ein Vitamin B12 Mangel, gemeinsam oder unabhängig voneinander, können Chromosomenschäden verursachen und führen in vivo zur Bildung von Mikrokernen sowie zu einer erhöhten Konzentration von Homocystein in menschlichem Blut [Dhillon et al., 2011].

Der Einfluss eines Folsäuremangels auf die Entstehung von MNi, NPBs und Nbuds in humanen Lymphozyten wurde von Crott et al. bereits im Jahr 2001 untersucht. Die Lymphozyten von 20 gesunden Probanden (8 Männer, 12 Frauen) im Alter von 34 bis 65 Jahren, wurden für neun Tage kultiviert. Das Medium wurde mit 10 U/ml Interleukin-2 und entweder mit 12, 24, 60 oder 120 nM Folsäure versetzt. Die Untersuchung führte zu dem Ergebnis, dass die Konzentration von Folsäure signifikant ($p < 0,0001$) und negativ ($r = -0,63$ bis $-0,74$) mit dem Auftreten der untersuchten Marker korreliert. Das Vorkommen von MNi, NPBs und Nbuds wurde bei einer Folsäurekonzentration von 60 – 120 nM reduziert, was deutlich höher ist, als die normale Plasmakonzentration bei Menschen (10 – 30 nM) [Fenech and Crott 2002].

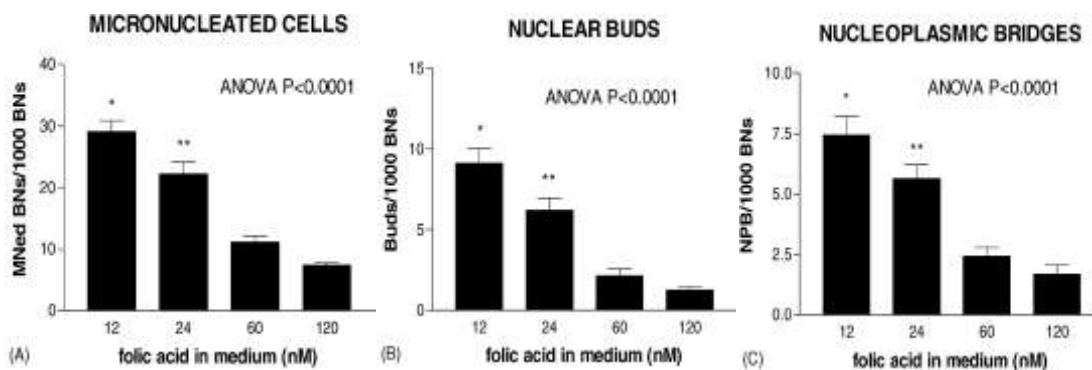


Abbildung 2: Einfluss von Folsäure im Medium auf die Entstehung von MNi, NPBs und Nbuds [Fenech und Crott, 2002]

Das Ergebnis dieser Studie stimmt mit den Ergebnissen von früher durchgeführten Untersuchungen überein. Im Jahr 1997 untersuchten Fenech et al. den Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Mikrokernen und der Folat- bzw. Vitamin B12 Konzentration im Plasma. Die Untersuchung von 64 gesunden Männern ergab, dass die MNi-Frequenz negativ mit der Folat- bzw. Vitamin B12 Konzentration, und positiv mit dem Homocysteinspiegel korrelierte. Weiters kamen Fenech et al. 1997 zu

dem Ergebnis, dass die Einnahme von Supplementen, welche 700 µg Folsäure und 7 µg Vitamin B12 enthielten, zu einer signifikanten Reduktion der Mikrokerne und zu einer signifikanten Reduktion des Homocysteinspiegels führte [Wang und Fenech, 2003].

2.3.2 Antioxidantien

Die Supplementierung mit Antioxidantien, oder eine erhöhte Zufuhr von Obst oder Gemüse, welches reich an Antioxidantien ist, wurde in zahlreichen Studien mit der Abnahme oxidativer DNA-Schäden in peripheren Lymphozyten assoziiert [Dusinská et al., 2003].

1996 kam eine Studie zu dem Ergebnis, dass eine viermonatige Supplementierung mit den Vitaminen A (3 mg Retinol Acetat), C (150 mg) und E (30 mg α -Tocopherol), β -Carotin (15 mg) und Folsäure (0,2 mg) zu einer signifikanten Reduktion der Mikrokernfrequenz in humanen Lymphozyten führt. Allerdings trat dieser Effekt nur bei Probanden im Alter von 56 – 83 Jahren auf und nicht bei jüngeren Studienteilnehmern [Gaziev et al., 1996].

Vitamin C wirkt sowohl als Antioxidans als auch als Pro-Oxidans. In der Rolle als Pro-Oxidans ist es an der Reduktion von DNA-gebundenen Anionen wie Kupfer und Eisen beteiligt, welche in der Lage sind, Wasserstoffperoxid, und somit die Bildung hochreaktiver Hydroxylradikale, zu reduzieren. Die antioxidative Kapazität von Vitamin C ergibt sich aus der geringen Reaktivität des Semi-Hydroascorbat Radikals [Thomas et al., 2011]. Crott und Fenech untersuchten, ob eine hohe Dosis an Vitamin C, in Gegenwart oder Abwesenheit von Wasserstoffperoxid, die Lebensfähigkeit von humanen Lymphozyten beeinflusst. Die Lymphozyten wurden mittels CBMN-Assay untersucht und anhand von apoptotischen und nekrotischen Zellen, sowie am Vorkommen von Mikrokernen, bewertet. Die in vitro-Ergebnisse zeigten, dass Vitamin C (0,57 bis 2,27 mM) alleine keinen Einfluss auf die genannten Parameter hatte. In Gegenwart von Wasserstoffperoxid kam es zwar zu einer Reduktion der apoptotischen Zellen, allerdings auch zu einem erhöhten Vorkommen von Nekrosen und Zellen mit Mikrokernen [Crott und Fenech, 1999]. Dieses Ergebnis stimmt mit denen vieler weiteren Studien überein, in welchen der Plasmagehalt an Vitamin C oder eine

alleinige Supplementation mit Vitamin C auf die Auswirkung von chromosomalen Schäden untersucht wurden [Sram et al., 2012].

Es scheint, dass eine Kombination aus Vitamin C und Vitamin E einen positiven Einfluss auf die Entstehung von Mikrokernen hat. Der Versorgungsstatus dieser beiden Mikronährstoffe ist bei Rauchern ohne Supplementierung weniger gut als bei Nicht-Rauchern. Das Vorkommen von MNi ist bei Rauchern ebenfalls erhöht. Eine siebentägige Intervention mit 1000 mg Vitamin C pro Tag an Rauchern und Nichtrauchern, und eine weitere einwöchige Intervention mit 1000 mg Vitamin C und 335 Vitamin E pro Tag, führte zu einer signifikanten Reduktion ($p = <0,05$) der MNi Häufigkeit in beiden Gruppen. Der Effekt war in der Gruppe der Raucher allerdings deutlicher [Thomas et al., 2011].

Eine ausreichende Aufnahme von Selen (Se) wird immer häufiger mit der Prävention von Krebserkrankungen, speziell mit der Prävention von Prostatakrebs, in Verbindung gebracht. Allerdings kann eine zu hohe Aufnahme toxisch sein. Erhöhte Genominstabilität gilt als einer der grundlegenden Ursachen von Krebserkrankungen. Selen, bzw. das Selenoprotein GPXS, spielt eine wichtige Rolle beim Schutz der DNA vor oxidativen Schäden durch das Abfangen von reaktiven Sauerstoff Spezies (ROS). Allerdings ist die genaue Wirkung von Selen auf die chromosomale Stabilität nach wie vor weitgehend unbekannt. Wu et al. untersuchten im Jahr 2009 die Wirkung von Selen-L-Methionin (Se-met), der wichtigsten Selenform in der humanen Ernährung, auf die Stabilität des Genoms. Die Lymphozyten von sechs gesunden Probanden im Alter von 18 – 65 Jahren wurden mittels CBMN-Assay isoliert. Dem Medium wurden unterschiedliche Mengen Selen (3, 31, 125, 430, 1880 und 3850 $\mu\text{g Se/Liter}$) hinzugefügt, und die Lymphozyten für neun Tage kultiviert. Diese Studie zeigt, dass es mit einer zunehmenden Se-Konzentration von 3 bis 430 $\mu\text{g Se/Liter}$ in Form von Selen-L-Methionin, zu einer Reduzierung der Genomschäden in den Lymphozyten kommt. Es kam zu einer signifikanten Verringerung von NPBs und Nbuds. Die Anzahl der MNi wurde weder positiv noch negativ verändert. Die Ursache für die geringere Häufigkeit von NPBs und Nbuds könnte darin liegen, dass die Gabe von Se-met zu einer verstärkten Telomerstabilität führt [Wu et al., 2009].

Der Einsatz von kombinierten Antioxidantien dürfte vor allem bei Rauchern einen positiven Effekt bzgl. chromosomaler Schäden haben. Die Wirkung eines Supplements über 12 Wochen, welches Vitamin C (100 mg/Tag), Vitamin E (100 mg/Tag), β -Carotin

(6 mg/Tag) und Selen (50 µg/Tag) enthielt, wurde an Patienten, welche einen Myokardinfarkt erlitten haben, in einer Placebo-kontrollierten Studie untersucht. Die 40 Probanden waren männlich und im durchschnittlichen Alter von 53 Jahren. Als Kontrollgruppe dienten 60 gesunde Männer mit einem Durchschnittsalter von 44 Jahren. Innerhalb der beiden Gruppen wurde nochmal zwischen Rauchern und Nicht-Rauchern differenziert. Nach Ablauf der 12 Wochen wurde kein positiver Effekt des Supplements in der Gruppe der Patienten mit Myokardinfarkt beobachtet. Innerhalb der Kontrollgruppe hingegen, hatte die Einnahme der Antioxidantien einen signifikant positiven Effekt auf Chromatidbrüche ($p = 0,005$). Betrachtet man nun die Gruppe der Raucher und der Nicht-Raucher innerhalb der Kontrollgruppe, ist zu erkennen, dass es bei den Nicht-Rauchern zu keiner signifikanten Änderung gekommen ist. Am Ende des Supplementationzeitraumes, war der Prozentsatz der aberranten Zellen ($p = <0,001$) und die Anzahl an Chromatidbrüchen ($p = 0,0002$) in den Proben der Raucher signifikant reduziert, wenn man die Antioxidantiengruppe und die Placebogruppe miteinander vergleicht [Dusinská et al., 2003].

Fenech et al. untersuchten den Effekt einer Supplementierung mit β -Carotin, Vitamin C, Vitamin E, und Zink (ACEZn) auf die Häufigkeit von Mikrokernen an 190 gesunden Individuen im durchschnittlichen Alter von 47,8 Jahren. Die Intervention erfolgte über einen Zeitraum von sechs Monaten. Die sonstige Nährstoffaufnahme der Probanden wurde mittels FFQ erhoben. Die Wirksamkeit der ACEZn Intervention wurde durch die Messung eventueller Änderungen der Mikronährstoffkonzentration im Plasma überprüft. Nach Ablauf der sechs Monate wurde eine signifikante Reduktion ($p = <0,05$) der Mikrokernhäufigkeit innerhalb der Interventionsgruppe beobachtet. Daten aus dem FFQ ergaben, dass eine erhöhte Zufuhr von Vitamin E, Folsäure, Nikotinsäure und Calcium mit einer dosisabhängigen Reduktion der MNI-Häufigkeit assoziiert ist [Fenech et al., 2005].

2.4 Einfluss von genetischen Polymorphismen auf die Entstehung von Mikrokernen

Zum besseren Verständnis in der Pathogenese von bestimmten Erkrankungen ist es wichtig, die Komplexität der Genotyp-Phänotyp-Interaktion und ihre Auswirkungen auf das Genom zu betrachten. Die häufigste Variation, die in der DNA zu finden ist, ist der Singel Nucleotid Polymorphismus (SNP). Die Rolle von SNPs in der Entstehung

mancher Erkrankungen wie Krebs wird intensiv untersucht, aber noch wenig verstanden. Die Assoziation von SNPs in Genen und der MNi-Frequenz in humanen Lymphozyten stellt hierfür eine gute Methode dar, da Mikrokerne einer der besten Biomarker für Chromosomenschäden sind, der auf eine breite Palette von endogenen Einflüssen, sowie Umwelt- und Lebensstilfaktoren reagiert, welche dem Genom schaden können [Dhillon et al., 2011].

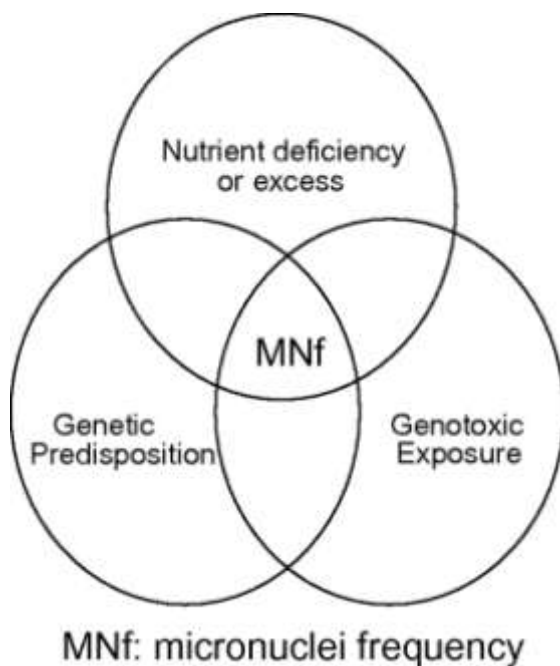


Abbildung 3: Diese Abbildung zeigt ein Modell der Wechselwirkung zwischen Ernährungszustand (Mangel oder Überschuss), der Exposition gegenüber Genotoxinen und genetischer Veranlagung, welche die MNi-Bildung beeinflussen kann [Dhillon et al., 2011]

2.4.1 Polymorphismen in Genen des Folatmetabolismus

Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR) ist ein Schlüsselenzym im Folsäuremetabolismus. Es katalysiert die Umwandlung von 5,10-Methylentetrahydrofolat (5,10-MnTHF) zu 5-Methyltetrahydrofolat (5-MeTHF). 5-MeTHF liefert Methylgruppen für die Methionin-Synthase-vermittelte Remethylierung von Homocystein zu Methionin. 5,10-MnTHF fungiert als Methylgruppendonator für die Thymidin-Synthase-vermittelte Umwandlung von dUMP zu dTMP. Der MTHFR-Polymorphismus C677T ist eine häufig vorkommende Variante dieses Enzyms. Je

nach untersuchter Studienpopulation, wird die Allelfrequenz dieses Polymorphismus bei 4,5 bis 44,9% der Personen beobachtet. Individuen, die heterozygot (CT) oder homozygot (TT) für diesen Polymorphismus sind, weisen im Vergleich zum Wildtyp (CC) eine in vitro Enzymaktivität von 65% beziehungsweise 30% auf [Crott et al., 2001].

Es wurde vermutet, dass TT's unter einem Folsäuremangel gegen Chromosomenschäden besser geschützt sind als der CC Genotyp. Grund dafür könnte sein, dass eine reduzierte MTHFR-Aktivität zu einer Umleitung von 5,10-MnTHF in Richtung der Thymin-Synthese führt. Es wurde angenommen, dass diese Veränderung zu einer Minimierung des intrazellulären dUMP:dTMP Verhältnis führt, und daher die Wahrscheinlichkeit, dass es zu Uracil-induzierten DNA-Schäden kommt, verringert ist.

Eine Studie verglich CC's (n = 10) und TT's (n = 10) über einen breiten physiologischen Folsäure-Konzentrationsbereich um die Chance zu maximieren, Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festzustellen. Die Autoren kamen jedoch zu dem Ergebnis, dass die Entstehung von Mikrokernen, NPBs und Nbuds zwar mit dem Uracil-Gehalt in der DNA in Zusammenhang steht, es aber keine Assoziation zwischen dem Polymorphismus und diesen Markern gibt [Crott et al., 2001].

In einer Studie an 68 Patienten, die sich einer Koronarangiographie unterzogen haben, wurden der Einfluss des C677T Polymorphismus, und der des A1298C Polymorphismus, einem weiteren Polymorphismus im MTHFR Gen, auf Homocystein und DNA-Schäden, gemessen an der MNi-Frequenz, untersucht. Der A1298C Polymorphismus führt zu einer verringerten MTHFR Aktivität, wenn auch in geringerem Maße als die C677T Mutation. Individuen, welche Träger des 1298C Allels sind, scheinen keinen erhöhten Homocystein-Plasmaspiegel zu haben. Jedoch könnten kombinierte Heterozygoten für beide MTHFR Mutationen einen erhöhten Homocystein-Plasmaspiegel und eine verringerte Folsäurekonzentration aufweisen. In Hinblick auf den C677T Polymorphismus, war die MNi-Frequenz bei Patienten mit dem TT-Genotyp signifikant höher als bei Patienten mit dem CC- oder dem CT-Genotyp (Abbildung 3). Im Gegensatz dazu wurde kein signifikanter Unterschied zwischen der MNi-Frequenz und dem A1298C Polymorphismus gefunden. Patienten mit koronarer Multi-Gefäßerkrankung zeigten eine erhöhte Häufigkeit von DNA-Schäden, gemessen anhand der MNi-Frequenz, als Patienten mit koronarer Mono-Gefäßerkrankung und Probanden ohne koronaren Herzerkrankungen [Botto et al., 2003].

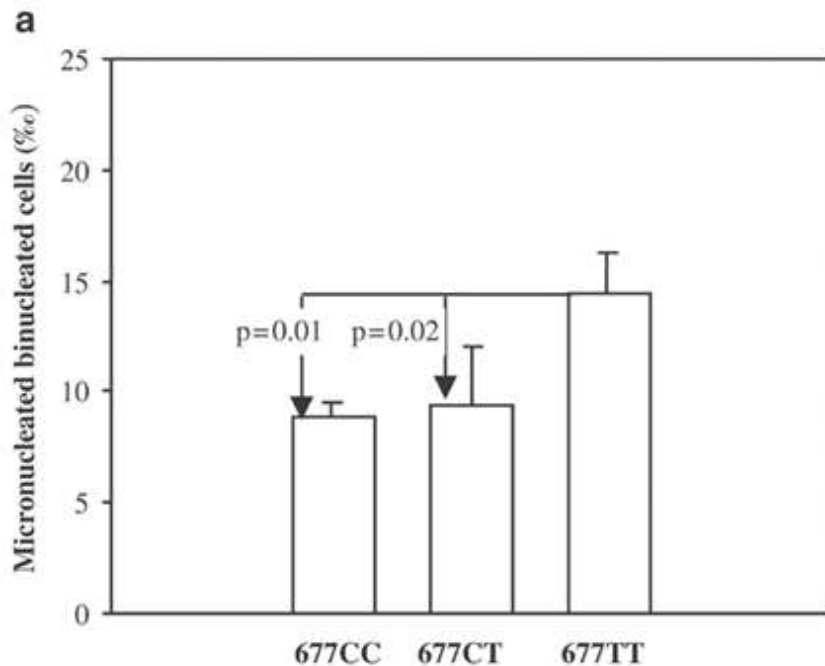


Abbildung 4: MNi-Frequenz in Bezug auf die MTHFR C677T Genotypen [Botto et al., 2003]

Neben den zwei bereits erwähnten Polymorphismen, wurden in Australien weitere Polymorphismen von Genen, welche am Folatmetabolismus beteiligt sind, untersucht. Dazu gehören Polymorphismen im MTR Gen (A2756G), im MTRR Gen (A66G, C524T), im GCP II Gen (C1561T) sowie im RFC Gen (G80A). Das Glutamat-Carboxypeptidase II (GCP II) Gen, auch als Folat-Hydrolase-Gen bekannt, kodiert für das Enzym Folylpoly- γ -Glutamat Carboxypeptidase, welches im Darm in der apikalen Bürstensaummembran verankert ist und die Verdauung (oder den Abbau) von Nahrungsfolaten zu Monoglutamyl Folaten erleichtert, welche nach Reduktion und Methylierung in die Blutbahn absorbiert werden. Der Folattransporter 1, auch Reduced Folate-Carrier (RFC), ist ein Transmembran-Protein, welches 5-MeTHF in die Zellen transportiert. Die Methionin-Synthase (MTR) katalysiert die Remethylierung von Homocystein zu Methionin unter Verwendung von Methylgruppen aus 5-MeTHF. Methionin wird anschließend in S-Adenosylmethionin (SAM), ein Methylgruppendonator, umgewandelt. Die MTR-Aktivität ist abhängig von der Anwesenheit ihres Cofaktors, Vitamin B12, und der Methionin-Synthase-Reduktase (MTRR), welche das an die MTR gebundene Vitamin B12 in seinem vollständig reduzierten und aktiven Zustand hält.

Bei den Probanden handelte es sich um 164 gesunde, nicht rauchende Personen (94 Männer und 70 Frauen) im Alter von 18 bis 73 Jahren. Die Lymphozyten wurden mittels CBMN-Assay isoliert und die genetische Analyse erfolgte mittels Polymerase Chain Reaction (PCR). Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass nur RFC A80G und MTR A2756G Polymorphismen einen signifikanten Einfluss auf die MNi-Frequenz in BNCs innerhalb einer gesunden Population haben. Individuen, die mindestens eine Kopie des selteneren G-Allels für MTR (A2756G) tragen oder homozygot für das häufiger vorkommende G-Allel im RFC (G80A) Gen waren, hatten eine 14% bzw. 19% niedrigere MNi-Frequenz in BNCs im Vergleich zu den alternativen Genotypen. Es ist naheliegend, dass eine leichte Veränderung in der funktionellen Aktivität dieser Proteine erhebliche Folgen auf die zelluläre Bioverfügbarkeit von Folat hat und es zur Vermeidung eines übermäßigen Uracil-Einbaus in die DNA kommt, wodurch die Mikrokernbildung beeinflusst wird [Dhillon et al., 2009].

2.4.2 Polymorphismen in Genen der DNA-Reparatur

Genetische Polymorphismen, die die korrekte Reparatur von Einzel- und Doppelstrangbrüchen der DNA verhindern, haben das Potenzial, die MNi-Frequenz zu beeinflussen. Die Beteiligung von hOGG1, XRCC1 und XRCC3 Genprodukten bei der Reparatur von oxidierten Basen, Einzel- und Doppelstrangbrüchen ist gut dokumentiert. Die Reparatur von Einzelstrangbrüchen, welche direkt aus Schäden an den Desoxyribose-Einheiten oder indirekt aus Zwischenprodukten des Basenexzisionsreparatur (BER) Wegs entstehen wird durch das Protein XRCC1 und seine Fähigkeit mit der DNA-Ligase III α , DNA-Polymerase β , APE1, Poly(ADP-ribose)-Polymerase 1 und 2 (PARP- 1 und -2), hOGG1 und DNA-PK zu interagieren, beeinflusst.

Das DNA-Reparaturprotein XRCC3 fördert die homologe Rekombination und somit die Reparatur von Doppelstrangbrüchen. Zusätzlich unterstützt XRCC3 die Chromosomenstabilität und die korrekte Chromosomensegregation in Säugetierzellen [Mateuca et al., 2008].

Wang et al. untersuchten 2010, ob Arbeiter, welche einer 1-3-Butadien (BD) Exposition ausgesetzt sind, mehr Chromosomenschäden aufweisen als die nicht-exponierte, gesunde Kontrollgruppe, und ob Polymorphismen im DNA-Reparatur-Signalweg die

Menge der Chromosomenschäden modifiziert. 1-3-Butadien ist eine industriell wichtige Chemikalie, welche dazu verwendet wird synthetischen Gummi und andere Polymere herzustellen. Weiters wird es in von Autos abgegeben Schadstoffen sowie in Zigarettenrauch gefunden. BD gilt als starkes Karzinogen im Mausmodell.

166 exponierte chinesische Arbeiter (149 Männer) im durchschnittlichen Alter von $31,13 \pm 6,72$ Jahren wurden mit 41 gesunden Lehrern und graduierten Studenten (20 Männer, 21 Frauen) im Alter von $35,31 \pm 11,10$ Jahren verglichen. Ein besonderes Augenmerk wurde auf die vier XRCC1 Polymorphismen XRCC1 -77 C/T, Arg194Trp, Arg280His und Arg399Gln gelegt. Diese Studie ergab, dass Arbeiter, welche einer hohen BD-Exposition ausgesetzt waren, ein deutlich höheres Risiko hatten, von Chromosomenschäden betroffen zu sein, als weniger exponierte Arbeiter und die Kontrollgruppe. Arbeiter, welche Träger des XRCC1 194 Arg/Trp und Trp/Trp Genotyps waren, hatten eine statistisch höhere MNI-Frequenz, als Arbeiter welche Träger des XRCC1 194 Arg/Arg Wildtyps waren. Der XRCC1 194 Arg/Trp Polymorphismus ist in der Kernlokalisierungssignal-Domäne lokalisiert und befindet sich in unmittelbarer Nähe zu anderen Domänen, welche die DNA-Polymerase β und APE1 Interaktionen vermitteln. So kann dieser Polymorphismus eventuell die XRCC1 Proteinkonformation stören, was zu einer verringerten Proteinaffinität und einer ineffektiven DNA-Reparatur führe kann. BD-exponierte Probanden, welche Träger des XRCC1 280 Arg/His oder His/His Genotyps sind, waren vermehrt von Chromosomenschäden betroffen als Träger der anderen Genotypen. Aufgrund der Tatsache, dass der XRCC1 Arg280His Polymorphismus nahe den Sequenzen liegt, welche die Protein-Protein Interaktionen mit ADPRT und DNA-Polymerase β vermitteln, ist dieses Protein möglicherweise in die Bildung von instabilen chromosomalen Aberrationen eingebunden. In Bezug auf den XRCC1 Arg399Gln Polymorphismus kamen die Autoren zu dem Ergebnis, dass Träger des Arg/Gln und Gln/Gln Genotyps mehr Chromosomenschäden als der Arg/Arg Genotyp. Dieser Polymorphismus wird mit einer reduzierten DNA-Reparatur-Kapazität und einer erhöhten Mikrokernfrequenz in Verbindung gebracht. Der XRCC1 -T77C Polymorphismus ist in der Gruppe der exponierten Probanden mit einer erhöhten MNI-Frequenz assoziiert. Dieses Ergebnis stimmt denen von früheren Studien überein, welche einen Zusammenhang zwischen dem XRCC1 -T77C Polymorphismus und der Entstehung von Lungenkrebs beobachtet haben [Wang et al., 2010].

Die Untersuchung von 313 Arbeitern, die einer hohen Vinylchloridmonomer (VCM) Exposition ausgesetzt waren, im Vergleich zu 141 nicht exponierten Probanden, ergab,

dass Träger des hOGG1 326 Ser/Cys Genotyps eine deutlich höhere MNi-Frequenz aufwiesen als der Ser/Ser Genotyp. Das könnte daran liegen, dass die DNA-Reparatur-Aktivität des hOGG1-Cys326 Proteins geringer ist als die des hOGG1-Ser326 Proteins. In epidemiologischen Studien wurde der hOGG1 Ser326Cys Polymorphismus mit einem erhöhten Risiko an mehreren Krebsarten zu erkranken in Verbindung gebracht. In Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen, zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass es einen deutlichen Anstieg der MNi-Frequenz bei Arbeitern über 35 Jahren gibt [Wang et al., 2010].

2.5 Der Einfluss von Alter, Geschlecht und Lebensstil auf das Auftreten von Mikrokernen

Seit Mitte der 1980er Jahre sind die Auswirkungen des Alterungsprozesses und der Einfluss des Geschlechts auf die Bildung von Mikrokernen in Lymphozyten bekannt. Seitdem hat eine Vielzahl an Studien konsequent gezeigt, dass die Anzahl der MNi in Lymphozyten sowohl bei Männern als auch Frauen mit dem Alter kontinuierlich zunimmt. Tendenziell ist die MNi-Frequenz bei Frauen höher als bei Männern. Der Anstieg der MNi im Alter ist wahrscheinlich eine Kombination aus Faktoren, zu welchen die kumulative Wirkung von erworbene Mutationen in Genen gehören, welche unter anderem an DNA-Reparaturmechanismen oder an der Chromosomensegregation beteiligt sind, eine Exposition mit Genotoxinen, eine inadäquate Ernährung, sowie eine breite Palette von ungesunden Lebensstilfaktoren. Die erhöhte MNi-Frequenz bei Frauen kann dadurch erklärt werden, dass es häufiger zu einem Verlust der X-Chromosomen kommt als zu einem Verlust von Y-Chromosomen, und Frauen zwei Kopien dieses Chromosoms besitzen [Fenech und Bonassi, 2011].

In einer aktuellen Studie aus Bosnien, beschäftigten sich die Autoren ebenfalls mit dem Einfluss von Alter, Geschlecht und Lebensstilfaktoren auf die MNi-Frequenz in Lymphozyten. Insgesamt wurden 100 gesunde Probanden in die Studie aufgenommen. Das Durchschnittsalter der Probanden liegt bei $32,65 \pm 14,18$ Jahren. Die Blutproben wurden mittels CBMN-Assay aufbereitet und untersucht. Um den Zusammenhang zwischen Alter, Geschlecht, Lebensstilfaktoren und den Biomarkern für Chromosomenschäden zu bestimmen, wurde mit der Pearson-Korrelation gearbeitet. Die Ergebnisse zeigen eine signifikant positive Korrelation zwischen dem Alter und der Anzahl der BNCs mit Mikrokernen ($r = 0,306$; $p = <0,01$), der Gesamtanzahl der MNi in

BNCs ($r = 0,302$; $p = <0,01$), der Anzahl an Nbuds ($r = 0,251$; $p = <0,05$) sowie der Anzahl an nekrotischen Zellen ($r = 0,241$; $p = <0,05$). Der Einfluss des Geschlechts war ebenfalls zu beobachten. Frauen wiesen eine signifikante Korrelation zwischen dem Alter und der Zahl der BNCs mit Mikrokernen ($r = 0,439$, $p = <0,001$) und der Gesamtanzahl der MNi in den Zweikernzellen ($r = 0,415$, $p = <0,001$). Bei Männern hingegen war eine signifikant positive Korrelation zwischen dem Alter und der Anzahl der Nbuds zu beobachten ($r = 0,361$, $p = <0,05$). Insgesamt wiesen Probanden im Alter von über 40 Jahren eine höhere MNi-Frequenz, eine höherer Anzahl an Nbuds und nekrotischen Zellen auf, als Probanden im Alter von 40 Jahren oder jünger. Weiters wurde untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen Krebserkrankungen in der Familie und der Frequenz der zytogenetischen Marker gibt. BNCs mit MNi ($r = 0,193$, $p = <0,05$) und die Gesamtzahl der MNi ($r = 0,219$, $p = <0,05$) korrelierten positiv mit dem Vorkommen von Krebs innerhalb der Familie. Diese Korrelation war allgemein zu beobachten, und nicht nur bei Frauen oder Männern. Außerdem wurde zwischen Rauchern und nicht Rauchern unterschieden. Es kam zu einer signifikant positiven Korrelation zwischen dem Auftreten von Mikrokernen und der Anzahl der Zigaretten pro Tag, bzw. der Anzahl der Raucherjahre. Allerdings war dieser Effekt nur bei Männern zu beobachten [Nefic und Handzic, 2013].

2.6 Der Einfluss von körperlichem Training auf die Entstehung von Mikrokernen

Im Jahr 1994 kamen Hartmann et al. zu dem Ergebnis, dass körperliche Anstrengung erhebliche DNA-Schäden in weißen Blutkörperchen von Menschen verursacht. Schifffl et al. versuchten 1997 in einer Studie herauszufinden, ob genotoxische Effekte nach körperlichem Training auch mittels CBMN-Assay nachgewiesen werden können. Nach einer 15-minütigen Aufwärmphase legten die 6 Probanden einen Sprint zurück, pausierten für 10 Minuten und legten erneut einen Sprint zurück. Die Anzahl der Mikrokerne in den Lymphozyten aller Probanden stieg 24 bis 48 Stunden nach der körperlichen Belastung signifikant an. Diese Ergebnisse lassen also vermuten, dass erschöpfende körperliche Bewegung akut zu Mutationen führen kann [Schifffl et al., 1997].

Im Gegensatz zu dieser Studie, kam bei der Untersuchung an 20 Ironman Triathleten, deren Blut vor dem Rennen, 20 Minuten nach dem Rennen und nach fünf bzw. 19

Tagen untersucht wurde, heraus, dass eine extreme körperliche Belastung (3,8 km Schwimmen, 180 km Radfahren, 42 km Laufen) scheinbar nicht zu einer erhöhten Frequenz von Mutationen führt. Die Anzahl der BNCs mit MNi sank 20 Minuten nach dem Triathlon signifikant ($p = <0,05$), blieb am Tag 5 auf einem konstanten Level und sank bis zum 19. Tag nach dem Rennen weiter signifikant ($p = <0,01$) [Reichhold et al., 2008].

Dass körperliche Aktivität und eine Vielzahl an anderen Lebensstilfaktoren wie Ernährung, Schlaf und Arbeit einen Einfluss auf das Auftreten von Mikrokernen haben, wurde an 208 gesunden Probanden zwischen 19 und 59 Jahren in Japan untersucht. Um die Lebensgewohnheiten der Probanden zu dokumentieren, wurde der HPI (Health practice Index) verwendet. Die MNi-Frequenz war bei den Probanden, welche sich weniger als zwei Mal wöchentlich sportlich betätigten, signifikant höher als bei denen, welche zwei Mal wöchentlich oder öfters Sport trieben ($p = <0,05$). Es gab innerhalb dieser Studie allerdings keine Trainingsintervention. Die Ergebnisse beruhen auf der Selbsteinschätzung der Probanden [Huang et al., 2009].

2.7 Training im Alter

Dass körperliches Training und eine gute Versorgung mit Nährstoffen essentiell sind, um die Lebensqualität und die Gesundheit im Alter zu erhalten, wurde bereits Mitte der 1990er Jahre untersucht. In einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie wurde der Effekt eines progressiven Krafttrainings und einer Ernährungsintervention auf die Muskelmasse bei Senioren untersucht. Es wurde vermutet, dass eine verringerte Mobilität im Alter mit der Abnahme der Skelettmuskulatur sowie mit einer mangelhaften Versorgung mit bestimmten Mikronährstoffen assoziiert ist. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass ein progressives Krafttraining, welches über einen Zeitraum von 10 Wochen drei Mal wöchentlich durchgeführt wurde, einen positiven Effekt auf die Muskelmasse und die Muskelkraft hat. Die Ernährungsintervention führte allerdings zu keiner Verbesserung dieser Parameter [Fiatarone et al., 1994].

Einer der Faktoren, der eine wichtige Rolle im Verlust der Mobilität spielt, und es somit erschwert einem aktiven und gesunden Lebensstil nachzugehen, ist der fortschreitende Verlust der Muskelmasse im Alter oder das Auftreten von Sarkopenie. Die magere Muskelmasse macht bei jungen Erwachsenen im Allgemeinen 50% des gesamten

Körpergewichts aus. Dieser Anteil sinkt im Laufe des Alters und beträgt im Alter von 75 bis 80 Jahren nur noch etwa 25%. Die Muskelmasse wird üblicherweise durch einen Zuwachs der Fettmasse ersetzt (Abbildung 5). Vom Abbau der Muskelmasse sind vor allem die Muskelgruppen der unteren Extremitäten betroffen. Der Verlust der Muskelmasse wird von einer Verringerung der Muskelkraft, einem Rückgang der funktionellen Kapazität und einer Verringerung der oxidativen Kapazität des Skelettmuskels begleitet. Dieser Rückgang der Muskelmasse und der oxidativen Kapazität führt in Kombination mit einer Zunahme der Fettmasse zu einem größeren Risiko einer Insulinresistenz oder an Diabetes Typ-2 zu erkranken. Dies liegt unter anderem daran, dass es dadurch zu einer größeren Lipid-Ablagerung in der Leber und der Skelettmuskulatur kommt und die Blutzuckerregulation nicht mehr einwandfrei funktioniert. Die erhöhte Lipid-Einlagerung kann auch zu Begleiterkrankungen wie Hyperlipidämie, Bluthochdruck und Herz-Kreislauf Erkrankungen führen. Aus diesen Gründen sollte dem Erhalt oder der Wiederaufbau der Muskelmasse im Alter eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden, um ein gesundes Altern zu ermöglichen [Koopman und van Loon, 2009].

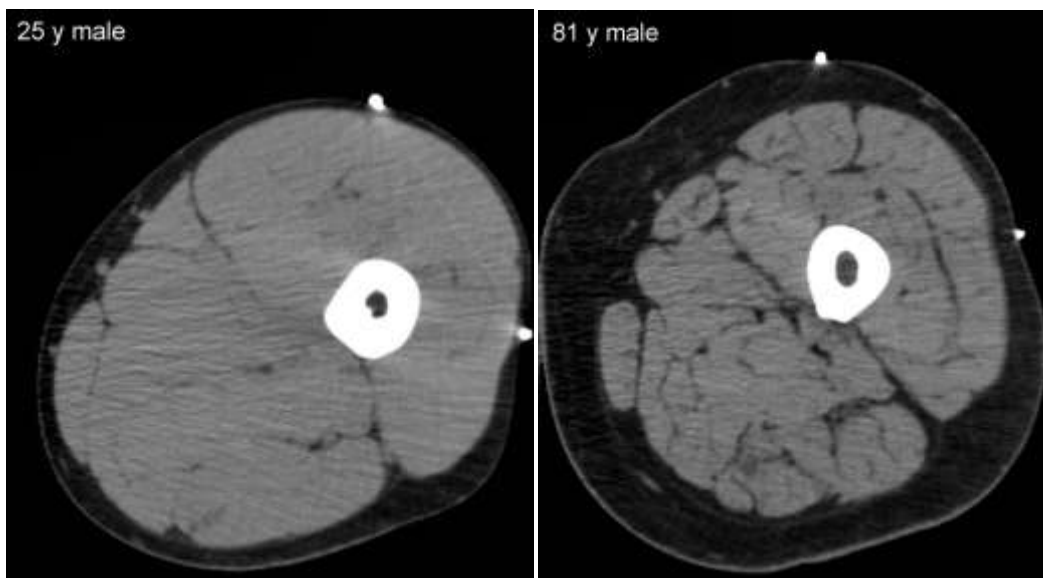


Abbildung 5: Computer Tomographie des Oberschenkels eines 25-jährigen und eines 81-jährigen Mannes [Koopman und van Loon, 2009]

Neben dem Verlust der Muskelmasse wird mit fortschreitendem Alter auch die Muskelqualität verringert. Die Zunahme von intramuskulärem Fett und Kollagen im Muskel wird mit einer verminderten Kraft und einer schlechteren Leistung der unteren Extremitäten verbunden. Weiters korreliert das Ganzkörperkalium, ein Index der

metabolisch aktiven Zellmasse, mit der Kraft der unteren Extremitäten bei 80-jährigen Heimbewohnern. Es ist bekannt, dass die intrazelluläre Kaliumkonzentration während des Alterungsprozesses konstant bleibt, ihr Gehalt in der fettfreien Masse zwischen dem 30. und dem 80. Lebensjahr allerdings progressiv abnimmt, was darauf hindeutet, dass die metabolisch aktive Zellmasse im Muskel von älteren Menschen reduziert wird. In einer dreijährigen Studie wurde der Effekt von körperlicher Aktivität auf die Körperzusammensetzung, von älteren Menschen untersucht. Mittels Fragebogen wurde die körperliche Aktivität der 140 gesunden Probanden (74 Männer und 66 Frauen) im Alter von 65 Jahren oder älter protokolliert. Die Körperzusammensetzung wurde mittels Dual-energy X-ray Absorptiometrie gemessen. Die Kaliumkonzentration im Körper mittels ^{40}K -Messung. Unter moderate Aktivitäten fielen unter anderem Gartenarbeit und Spaziergänge. Beispiele für intensive Aktivitäten waren Schwimmen, Radfahren und Laufen. 65% der Männer und 47% der Frauen waren aktiv. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Intensität der körperlichen Aktivität positiv mit der Muskelmasse und negativ mit dem Ganzkörperfett und des abdominalen Fettes korreliert. Die Kaliumkonzentration in der fettfreien Masse war unabhängig von Geschlecht und Körpergröße. Die Konzentration sank innerhalb der drei Jahre insgesamt zwar kontinuierlich, allerdings korreliert sie positiv mit körperlicher Aktivität ($p = < 0,05$) [Raguso et al., 2006].

2.7.1 Die Aufgaben der Skelettmuskulatur

Die Abnahme der Skelettmuskulatur ist eine Folge des Alterns und mit einer breiten Palette von funktionellen und metabolischen Konsequenzen verbunden. Die Skelettmuskulatur hat eine wichtige Wirkung auf eine große Anzahl von lebenswichtigen Prozessen. Da die Skelettmuskulatur für die Bewegung verantwortlich ist, resultiert ein Verlust von Muskelmasse in eingeschränkter Mobilität und allgemeiner Schwäche. Allerdings hat der Skelettmuskel noch andere wichtige Funktionen. Er ist die größte Protein-Reserve im Körper, und in Zeiten von Stress, Hunger und Unterernährung bietet er dem Körper eine kontinuierliche Zufuhr von Aminosäuren, um die Proteinsyntheserate in anderen lebenswichtigen Geweben aufrecht zu erhalten. Da die Skelettmuskulatur Glucose aus dem Blut aufnimmt, spielt eine verminderte Muskelmasse bei einem gestörten Glukosestoffwechsel, bei Patienten mit einer Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes eine wichtige Rolle. Darüber

hinaus ist die Skelettmuskulatur der größte Energieverbraucher im Körper und leistet dadurch einen großen Beitrag zum Grundumsatz. Der Verlust der Muskelmasse ist also die primäre Ursache für einen altersbedingten reduzierten Grundumsatz und den damit verbundenen verringerten Nährstoffbedarf um diesen zu decken [Cooper et al., 2012].

2.7.2 Muskelprotein-Metabolismus bei älteren Menschen

Mitochondriale Netzwerke haben eine grundlegende Bedeutung in der Energieerzeugung und spielen eine wichtige Rolle während der Myogenese, der Faserreifung, in der Weiterentwicklung von neuromuskulären Erkrankungen, der Entstehung von Apoptosen und der natürlichen Faseralterung in der Skelettmuskulatur. Studien an menschlichen und tierischen Muskel-Modellen haben gezeigt, dass eine mitochondriale Dysfunktion mit einer übermäßigen Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies und metabolischen Veränderungen, einschließlich Veränderungen im Energiestoffwechsel, verknüpft ist [Bori et al., 2012].

Die Anfälligkeit für Krankheiten ist im Alter deutlich erhöht. Der Muskel ist das Hauptreservoir im Körper für Proteine und damit von Aminosäuren, welche für die Synthese von Akut-Phase-Proteinen benötigt werden. Wird die Muskelmasse geringer, wird die Fähigkeit des Organismus, sich im Alter von Stress zu erholen beeinträchtigt. Protein-Umsatz Raten regeln die Levels von spezifischen Proteinen. Außerdem haben Veränderungen der Proteinmasse in der Skelettmuskulatur einen Einfluss auf die gesamte Balance zwischen der Proteinsyntheserate und dem Proteinabbau. Muskelschwund kann von einer verringerten Proteinsynthese, erhöhter Proteolyse oder gleichzeitigen Änderungen in beiden Prozessen begleitet werden [Attaix et al., 2005].

Studienergebnisse bezüglich des Muskelprotein-Umsatzes fallen sehr unterschiedlich aus. In einigen, vor allem älteren, Studien wird von einer verringerten Muskelprotein Synthese in älteren Menschen berichtet. Im Gegensatz dazu wird in aktuelleren Studien kein oder nur ein geringer Unterschied zwischen älteren und jüngeren Menschen festgestellt [Koopman und van Loon, 2009].

2.7.3 Einfluss der Ernährung auf den Muskelprotein-Metabolismus

Der Proteinbedarf bleibt im Erwachsenenalter unverändert und liegt sowohl bei jungen als auch bei älteren Erwachsenen bei 0,8 g pro Kilogramm Körpergewicht/Tag [DGE, 2012].

Die essentielle Aminosäure Leucin hat viele gut dokumentierte Auswirkungen auf regulatorische Mechanismen, welche die Initiation der Translation und die Muskelproteinsynthese kontrollieren. Casperson et al. untersuchten 2012 den Effekt einer zweiwöchigen Leucin Supplementierung auf die Muskelproteinsynthese bei älteren Menschen. Den Probanden im Alter von 68 ± 2 Jahren bekamen innerhalb dieses Zeitraums 3 Mahlzeiten pro Tag, welche 4g Leucin/Portion enthielten. Die Abschlussuntersuchung zeigte, dass Leucin die Muskelproteinsynthese durch die Gabe von Leucin signifikant verbessert werden konnte ($p = 0,004$) [Casperson et al., 2012].

Eine Studie an Personen im Alter von 70 ± 1 Jahren verglich zwei Diäten, welche aus 10,2 kcal, 0,4 g Protein in Form von Casein, 1,3 g Kohlenhydrate und 0,36 g Fett pro Kilogramm Körpergewicht bestand. Die Diät der Interventionsgruppe wurde zusätzlich mit 0,052 g Leucin pro Kilogramm Körpergewicht versetzt. Die Kontrollgruppe hingegen bekam 0,071 g Alanin, welches keinen wesentlichen Einfluss auf die Muskelproteinsynthese hat, pro Kilogramm Körpergewicht zugeführt. Im Vergleich zur Kontrollgruppe, kam es in der Interventionsgruppe zu einer deutlichen Verbesserung der Muskelproteinsynthese. Es kann also davon ausgegangen werden, dass eine Leucin Supplementierung zu einer verbesserten Muskelproteinsynthese bei älteren Menschen führt [Rieu et al., 2006].

Da die Gabe von Omega-3 Fettsäuren im Tiermodell zu einem verringerten Verlust der Muskelmasse führt, wurde diese Hypothese an Personen im Alter von ≥ 65 untersucht. Die Probanden wurden über einen Zeitraum von 8 Wochen mit 1,86 g Eicosapentaensäure und 1,50 Docosahexaensäure supplementiert. Im Vergleich zur Kontrollgruppe, welche Maisöl erhielt, kam es allerdings zu keinen signifikanten Veränderungen [Smith et al. 2011].

2.7.4 Einfluss von körperlichem Training auf den Muskelprotein-Metabolismus

Körperliches Training scheint einen durchwegs positiven Effekt auf den Muskelprotein-Metabolismus zu haben. Während ein 16-wöchiges Training der Beweglichkeit und der Flexibilität zu keinen physiologischen Veränderungen bei 38 Männern und 40 Frauen im Alter von 19 bis 87 Jahren führte, wurde durch ein 45-minütiges Ausdauertraining auf dem Fahrrad drei bis vier Mal pro Woche, eine Erhöhung der Muskelprotein Synthese beobachtet. Auf den Gesamtkörper Proteinumsatz hatte das Training allerdings keinen Einfluss [Short et al., 2004]. Zu dem Selben Ergebnis kamen auch Villareal et al. im Jahr 2011. Sie untersuchten den Einfluss eines dreimonatigen Mehrkomponenten-Trainings auf die Muskelproteinsynthese an 9 Probanden zwischen 65 und 80 Jahren. Das Training wurde unter Anleitung drei Mal wöchentlich durchgeführt und setzte sich aus 15 Minuten Flexibilitätstraining, 30 Minuten Ausdauertraining, 30 Minuten Krafttraining und 15 Minuten Balancetraining zusammen. Bei den Abschlussuntersuchungen wurde eine deutliche Reduktion der Fettmasse ($p = < 0,05$) und eine Zunahme der Muskelprotein Synthese ($p = 0,047$) beobachtet [Villareal et al., 2011].

2.8 Sarkopenie

Sarkopenie ist ein Syndrom, das durch progressiven und generalisierten Verlust der Skelettmuskelmasse und der Kraft gekennzeichnet ist und mit unerwünschten Folgen wie körperliche Behinderungen, einer schlechten Lebensqualität und dem Tod assoziiert ist. Die EWGSOP (The European Working Group on Sarcopenia in Older People) empfiehlt sowohl eine niedrige Muskelmasse als auch eine schlechte Muskelfunktion, in Bezug auf Kraft oder Leistung, für die Diagnose von Sarkopenie mit einzubeziehen. Es gibt mehrere Mechanismen, die bei der Entstehung von Sarkopenie beteiligt sein können. Diese Mechanismen beinhalten unter anderem die Proteinsynthese, Proteolyse, neuromuskuläre Integrität und den Muskel Fettgehalt. Bei Personen mit Sarkopenie können mehrere Faktoren an der Entstehung beteiligt sein [Cruz-Jentoft et al., 2010].

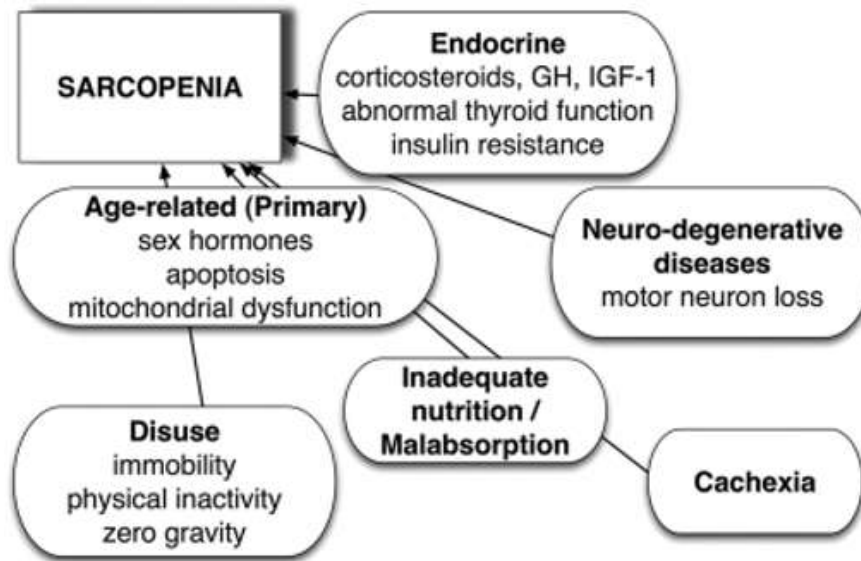


Abbildung 6: Mechanismen der Sarkopenie [Cruz-Jentoft et al., 2010]

2.8.1 Pathophysiologie

Es gibt eine Vielzahl an Faktoren, welche das Auftreten von Sarkopenie und körperlicher Gebrechlichkeit unterstützen. Die wichtigsten sind genetische Vererbung, der Ernährungszustand, körperliche Aktivität, Atherosklerose, Hormone, Insulin-Resistenz und entzündungsfördernde Zytokine. Viele Studien zeigen einen enormen Einfluss von Körperfett auf die funktionelle Kapazität bei älteren Menschen. Die Zunahme von Körperfett mit dem gleichzeitigen Abbau von Muskelmasse ist mit einem sehr hohen Risiko einer eingeschränkten Mobilität verbunden. Es gibt eine Wechselwirkung zwischen der altersbedingten Abnahme von anabolen Hormonen bei Männern (Testosteron, Nebennieren-Androgene und Wachstumshormonen) und körperlicher Gebrechlichkeit. Die altersbedingte Abnahme der Sexualhormone bei Frauen ist bekannt und gut dokumentiert. Außerdem kommt es auch zu einem Rückgang des Dehydroepiandrosteron, von Wachstumshormonen und IGF-1. Abnormale Spiegel dieser Hormone sind auch mit körperlicher Gebrechlichkeit assoziiert [Cooper et al., 2012]

2.8.2 Die Behandlung von Sarkopenie

Der erste Maßnahme die bei gebrechlichen Personen, oder bei Personen welche an Sarkopenie leiden, getroffen werden muss, ist es sicherzustellen, ob die betroffene Person ausreichend gut mit allen wichtigen Nährstoffen versorgt ist. Minimale körperliche Aktivität, oder wenn möglich ein gezieltes Krafttraining, wirken in der Verbesserung der Beweglichkeit, und dem langsameren Fortschreiten des Muskelabbaus unterstützend. Die positive Wirkung von Angiotensin-II-Converting-Enzym-Hemmer, und die Verwendung weiterer Pharmaka werden momentan in klinischen Studien untersucht [Rizzoli et al. 2013].

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Studiendesign

Diese Studie beschreibt einen Teil der Arbeit der Forschungsplattform „Active Ageing“, der Universität Wien. Es handelt sich dabei um eine randomisierte, Beobachter-blinde Interventionsstudie mit drei Parallelgruppen. Die Probanden wurden randomisiert folgenden Untersuchungsgruppen zugeteilt:

- Trainingsintervention
- Trainings- und Ernährungsintervention
- Kognitives Training

Die Durchführung dieser Studie wurde von der Ethikkommission der Stadt Wien genehmigt.

3.1.1 Probandenrekrutierung

Die Rekrutierung der Probanden fand in Zusammenarbeit mit dem Kuratorium Wiener Pensionistenhäuser statt. In ausgewählten Wohnheimen wurden die Bewohner im Rahmen einer Informationsveranstaltung über den Ablauf und die Ziele der Studie informiert. Interessierte Pensionisten und deren Angehörige erhielten in einem ausführlicheren Gespräch genauere Informationen. Bevor die Probanden endgültig in die Studie aufgenommen wurden, mussten die Ein- bzw. Ausschlusskriterien überprüft werden und von den Teilnehmern eine Einverständniserklärung unterzeichnet werden.

Einschlusskriterien

- Männer und Frauen im Alter von 65+
- Ausreichend guter geistiger Zustand (Mini-Mental-State>23)
- Fähigkeit eine Strecke von 10m ohne Hilfsmittel zurückzulegen
- Mindestens vier Punkte bei der Short Physical Performance Battery (SPPB)

Ausschlusskriterien

- Chronische Erkrankungen, die eine medizinische Trainingstherapie kontraindizieren
- Schwere kardiovaskuläre Erkrankungen
- Diabetische Retinopathie
- Manifeste Osteoporose
- Antikoagulantia
- Regelmäßige Einnahme Cortison haltiger Medikamente
- Regelmäßiges Krafttraining (>1x/Woche) in den letzten 6 Monaten vor Einschluss
- Fehlendes schriftliches Einverständnis zur Testung der körperlichen Leistungsfähigkeit
- Personen der Trainingsgruppen: Teilnahme bei weniger als 70% der möglichen Trainingseinheiten bzw. bei weniger als 3 Einheiten in den letzten beiden Wochen vor den einzelnen Tests
- Personen der Supplementgruppe: Einnahme von weniger als 5 Portionen/Woche über den Durchrechnungszeitraum bzw. weniger als 5 Portionen in jeder der beiden letzten Wochen vor den Tests

Insgesamt wurden 117 Probanden (103 Frauen und 14 Männer) im durchschnittlichen Alter von 83,9 Jahren in die Studie aufgenommen. Allerdings schieden 18 Probanden gleich zu Beginn der Studie wieder aus.

3.1.2 Interventionsphase

Während der ersten sechs Monate der Studie, wurden die Probanden zwei Mal wöchentlich, gemäß ihrer Gruppenzuteilung, für eine Stunde betreut. Nach diesen sechs Monaten wurden die Probanden für ein weiteres halbes Jahr einmal wöchentlich betreut, wobei sie die zweite Trainingseinheit selbstständig durchführen sollten. Im letzten halben Jahr der Studie war es die Aufgabe der Teilnehmer, zwei Mal wöchentlich ihrem Training nachzugehen. Die Blutuntersuchungen, sowie die Untersuchungen weiterer Parameter erfolgten zu folgenden Zeitpunkten:

- zu Beginn der Studie (T1)
- nach dreimonatiger Intervention (T2)
- nach sechsmonatiger Intervention (T3)
- nach zwölfmonatiger Intervention (T4)
- Abschlussuntersuchung nach 18 Monaten (T5)

3.1.3 Trainingsintervention

Die Trainingsintervention erfolgte unter Aufsicht und Anleitung von Sportwissenschaftlern. Das Training begann mit einer zehnminütigen Aufwärmphase um die Gelenke der Probanden zu mobilisieren. Im Hauptteil wurden alle Hauptmuskelgruppen mit acht bis 10 Übungen trainiert. Als „Trainingsgeräte“ wurden Therabänder, Sessel sowie das eigene Körpergewicht der Probanden genutzt. Zu jeder Übung wurden zwei Sätze mit 15 bis 20 Wiederholungen durchgeführt. Abschließend wurden Stretchübungen durchgeführt.

3.1.4 Ernährungsintervention

Eine Gruppe der Probanden erhielt zusätzlich zum Krafttraining ein Nahrungsergänzungsmittel (FortiFit). Dieses enthält neben einer hohen Konzentration an Leucin und anderen essentiellen Aminosäuren hochqualitative Proteine, um die rasche Verfügbarkeit der Aminosäuren zu gewährleisten. Weiters enthält FortiFit einen hohen Anteil an Vitamin D (800 IU), einem Risikonährstoff im Alter, um Osteoporose vorzubeugen und um die Bildung der Muskelkraft und die Muskelfunktion zu unterstützen. Die Probanden bekamen 6 Messlöffel (ca. 40 g) FortiFit in 125 ml Wasser gelöst, sieben Mal pro Woche mit dem Frühstück verabreicht und zusätzlich nach jeder Trainingseinheit. Die Zubereitung des Getränks erfolgte in den Wohnheimen durch das Küchenpersonal.

Zusammensetzung von FortiFit:

Nährstoffzusammensetzung	FortiFit/100 ml	FortiFit/150 ml
Energie	100 kcal	150 kcal
Eiweiß	13,8 g	20,7 g
Molkenprotein	13,1 g	19,7 g
Leucin	1,9 g	2,85 g
Essentielle Aminosäuren	>6,6 g	>10 g
Kohlenhydrate	6,3 g	9,4 g
Zucker	2,8 g	4,2 g
Fett	2 g	3 g
Ballaststoffe	0,8 g	1,2 g
Broteinheiten	0,5 BE	0,8 BE

Tabelle 1: Zusammensetzung von FortiFit

Vitamine		Mineralstoffe und Spurenelemente	
Vitamin A	150 µg-RE	Na	150 mg
Vitamin D₃	20 µg	K	279 mg
Vitamin E	7,5 mg-α-TE	Cl	70 mg
Vitamin K	11 µg	Ca	500 mg
Thiamin	225 µg	P	250 mg
Riboflavin	250 µg	Mg	37 mg

Niacin	2,7 mg-NE	Fe	2,4 mg
Pantothensäure	800 µg	Zn	2,2 mg
Vitamin B₆	750 µg	Cu	270 µg
Folsäure	200 µg	Mn	500 µg
Vitamin B₁₂	3 µg	F	150 µg
Biotin	6 µg	Mo	14 µg
Vitamin C	32 mg	Se	15 µg
		Cr	7,4 µg
		I	20 µg

Tabelle 2: Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente in einer Portion FortiFit

3.1.5 Kognitives Training

Die Gruppe der Probanden, welche dem kognitiven Training zugeteilt wurden, diente als Kontrollgruppe. Sie wurden im gleichen Ausmaß wie die Interventionsgruppen betreut um eventuell auftretende Sozialisationseffekte innerhalb der Interventionsgruppen auszuschließen.

3.2. Der CBMN-Assay

3.2.1 Verwendete Reagenzien

Sodium	Einheit	Hersteller
RPMI 1640 steril	500ml	PAA
Fetal Bovine Serum (FBS)	500ml	Sigma

Sodium-L-Pyruvat steril	50ml	Sigma
L-Glutamin steril	200µl	Sigma
Dulbeccos Phosphate buffered saline steril (PBS)	500ml	Sigma
Trypanblau		Sigma
Phytohaemoglutinin (PHA)	10ml	PAA
Cytochalasin B		Sigma
Dimethylsulfoxid (DMSO)		Sigma
Diff Quick Staining Set		Medion Diagnostics
Entellan		Merck

Tabelle 3: Verwendete Reagenzien des CBMN-Assay

3.2.2 Verwendete Materialien

Name	Einheit	Hersteller
Heparinröhrchen	9 ml	Vacurette
Zentrifugenröhrchen	50ml u. 15ml	VWR
Leucoseptröhrchen	12ml	VWR
Falconröhrchen	5ml	VWR
Objektträger, Deckgläser		VWR
Mikrozentrifugenröhrchen	1,5ml	Star Lab
Countess cell counting chamber slides		Invitrogen

Tabelle 4: Verwendete Materialien des CBMN-Assay

3.2.3 Probenaufbereitung

In den folgenden Punkten werden die nötigen Schritte beschrieben, um die Lymphozyten aus dem Vollblut der Probanden zu isolieren. Alle Arbeitsschritte müssen unter sterilen Bedingungen ausgeführt werden, weshalb unter einer sterilen Werkbank gearbeitet wird.

Herstellung des Mediums

Vor Arbeitsbeginn wird das Medium hergestellt. Die für das Medium benötigten Reagenzien werden im Wasserbad bei 37°C erwärmt.

30 ml RPMI werden mittels einer sterilen Spritze durch einen sterilen Filter in ein Zentrifugenröhrchen filtriert. Anschließend werden 3,3 ml FBS, 330 µl Sodium-L-Pyruvat und 330 µl L-Glutamin hinzugefügt.

Das Medium wird bis zu seiner Verwendung kühl aufbewahrt.

Zentrifugation des Vollblutes

Eine Stunde vor Arbeitsbeginn werden pro Proband zwei Leucoseptröhrchen aus dem Kühlschrank genommen um sie auf Raumtemperatur zu temperieren. Die mit dem Blut befüllten Heparinröhrchen werden vor der Blutentnahme fünf Mal über Kopf geschwenkt. Aus zwei Heparinröhrchen derselben Probe werden mit sterilen Pasteurpipetten jeweils insgesamt 8 ml Blut im Doppelansatz in Leucoseptröhrchen überführt.

Die Leucoseptröhrchen werden bei 16°C, 2400 Umdrehungen pro Minute (rpm), für 15 Minuten ohne Bremse zentrifugiert.

Lymphozytenwaschung- und -zentrifugation

Ab diesem Zeitpunkt wird auf Eis gearbeitet. Die Lymphozyten (Abbildung 7) werden mittels steriler Pasteurpipette aus den Leucoseptröhrchen entnommen und in

Zentrifugenröhrchen überführt. Mit Hilfe einer Glaspipette werden die Zentrifugenröhrchen mit PBS auf 15 ml aufgefüllt und fünf Mal über Kopf geschwenkt. Anschließend werden die Röhrchen bei 4°C, 1300 rpm, für 15 Minuten mit Bremse zentrifugiert. Anschließend wird der Überstand abgesaugt, das durch das Zentrifugieren entstandene Pellet mit 1 ml PBS gelöst und das Zentrifugenröhrchen mit PBS auf 10 ml aufgefüllt. Die Zentrifugenröhrchen werden erneut fünf Mal über Kopf geschwenkt und bei 4°C, 1300 rpm, für 10 Minuten mit Bremse zentrifugiert. Abschließend wird der Überstand abgesaugt und die im Doppelansatz bearbeiteten Proben in einem Röhrchen vereint.

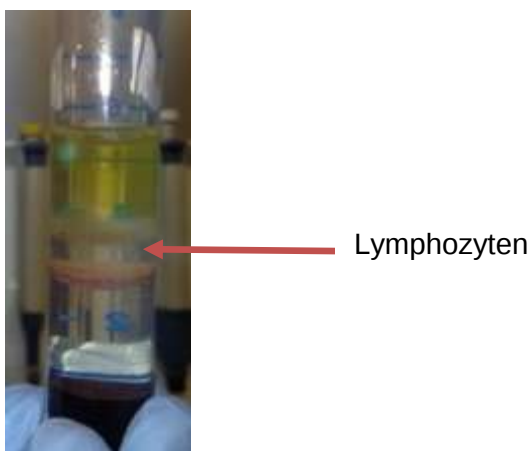


Abbildung 7: Leucoseptröhrchen mit aufgetrennten Blutbestandteilen [Eigenes Bild, 2013]

Bestimmung der Zellzahl

Pro Proband wird ein Mikrozentrifugenröhrchen mit 40 µl PBS vorbereitet und auf Eis gestellt. Je 20 µl der isolierten Lymphozyten werden in die Mikrozentrifugenröhrchen überführt. Um die Zellzahl mittels der Countess zu bestimmen, werden 10 µl Trypanblau und 10 µl der mit PBS verdünnten Zellen in ein weiteres Mikrozentrifugenröhrchen gefüllt. 10 µl dieser Mischung werden in eine Neubauer-Zählkammer überführt und die Anzahl der lebenden Zellen wird gemessen.

Inkubation

Die vereinte Zellsuspension wird bei 1300 rpm, 22 Grad, für 10 Minuten mit Bremse zentrifugiert. Anschließend wird der Überstand abgesaugt und die Zentrifugenröhrchen mit 1880 µl Medium aufgefüllt.

Pro Proband werden zwei Falconröhrchen mit Medium und Zellsuspension aufgefüllt. Das Endvolumen in den Falconröhrchen beträgt 750 µl mit einer Zellkonzentration von 1×10^6 /ml. Das Verhältnis von Medium zu Zellsuspension wird durch die mittels Countess bestimmte Zellzahl berechnet.

Die Falconröhrchen werden mit jeweils 15 µl PHA versetzt und für 44 Stunden in den Inkubator gestellt. In dieser Zeit wird bei 37°C und unter 5% CO₂ Luftgemisch die mitotische Zellteilung angeregt.

Nach genau 44 Stunden werden die Falconröhrchen aus dem Inkubator genommen und 56,2 µl der Zellsuspension aus jedem Röhrchen entnommen. Um die Zellteilung zu stoppen, wird eine Lösung, bestehend aus Cytochalasin B und RPMI, benötigt. Für diese werden 150 µl Cytochalasin B in 1350 µl RPM überführt. 56,2 µl dieser Lösung werden in jedes Falconröhrchen pipettiert, welche anschließend für weitere 28 Stunden in den Inkubator gestellt werden.

Zentrifugation im Cytospin

Ab diesem Zeitpunkt muss nicht mehr unter sterilen Bedingungen gearbeitet werden. Nach Ablauf der insgesamt 72 Stunden werden die Falconröhrchen aus dem Inkubator genommen, 200 µl des Überstandes abgesaugt und mit jeweils 46 µl DMSO versetzt, um die Lymphozyten in ihrem momentanen Zustand zu erhalten.

Pro Probanden werden vier Objektträger mit Filterpapier und Trichter in Klammern gespannt und in die Zentrifuge eingesetzt. Abschließend werden je 120 µl der Zellsuspension auf in die Trichter pipettiert und der Zentrifugievorgang für fünf Minuten bei 600 rpm gestartet.

Färben der Objektträger

Während des Zentrifugievorganges werden drei Wannen mit den für das Färben benötigten Reagenzien vorbereitet: Die Wannen beinhalten Fixativ, Diff Quick 1 und Diff Quick 2.

Nach Ablauf der fünf Minuten werden die Objektträger für zehn Minuten getrocknet. Nachdem die Objektträger in die dafür vorgesehene Färbehalterung geschichtet worden sind, wird diese für zehn Minuten in die Lösung Fixativ gestellt. Anschließend werden die Objektträger zehn Mal in Diff Quick 1 und acht Mal in Diff Quick 2 getaucht.

Nach dem Abspülen der Objektträger mit Leitungswasser und bidestilliertem Wasser werden diese für 15 Minuten zum Trocknen auf Papier gelegt. Abschließend wird die Färbung der Zellen im Mikroskop kontrolliert.

Eindeckeln

Um die Lymphozyten für die spätere Auszählung haltbar zu machen, werden zwei bis drei Tropfen Entellan auf jeden Objektträger aufgetragen und mit einem Deckglas abgedeckt.

3.2.4 Zählkriterien

Pro Objektträger werden 500 BNCs gezählt.

Bis 250 BNCs werden alle Parameter erhoben, welche Aufschlüsse auf DNA-Schäden und auf Formen des Zelltodes zulassen:

- Einkernzellen
- Mehrkernzellen
- Zweikernzellen (BNCs) mit MNi und MNi gesamt in der BNC
- BNCs mit NPB
- BNCs mit Nbuds
- Apoptosen
- Nekrosen

Ab 250 BN werden nur noch folgende Parameter gezählt:

- BNCs mit MNi
- Anzahl MNi pro BNC
- BNCs mit NPB
- BNCs mit Nbuds

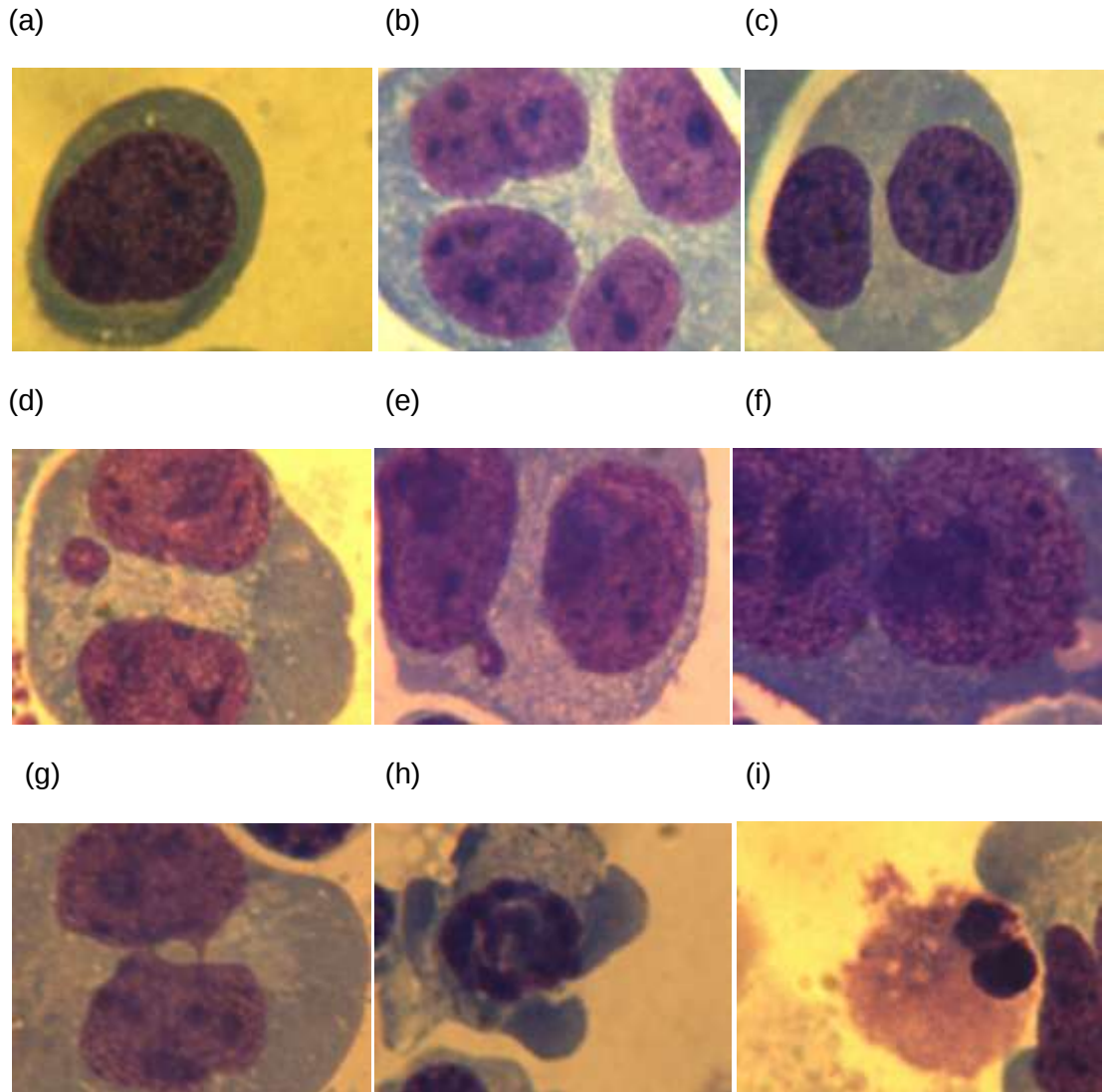


Abbildung 8: (a) Einkernzelle; (b) Mehrkernzelle; (c) Zweikernzelle; (d) Zweikernzelle mit MN; (e) Nbud; (f) Nbud in einer Vakuole; (g) NPB; (h) Apoptose; (i) Nekrose [Eigene Bilder, 2013]

3.3 Statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS 20.0. Zuerst wurde mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung getestet.

Da die Ergebnisse bei diesem Test signifikant waren, kann eine Normalverteilung ausgeschlossen werden. Von einer statistischen Signifikanz spricht man, wenn der berechnete p-Wert $\leq 0,05$ ist.

Der nächste Test der zur Anwendung kam, war der Wilcoxon-Test, ein nicht parametrischer Test für verbundene Stichproben.

Ausreißer (vierfache Standardabweichung) wurden nicht in die statistische Auswertung mit einbezogen. Extremwerte (dreifache Standardabweichung) hingegen wurden berücksichtigt.

4. ERGEBNISSE

Bei den nachfolgenden Ergebnissen handelt es sich um Teilergebnisse einer Studie, welche im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“ der Universität Wien durchgeführt wurde. Das Hauptaugenmerk liegt auf den Ergebnissen der Trainingsintervention-Gruppe und dem Vergleich der Zeitpunkte T1 (Beginn der Intervention) mit T3 (nach 6 Monaten Intervention) und T4 (nach 12 Monaten Intervention).

Die Ergebnisse des Zeitpunktes T2 (nach 3 Monaten Intervention) werden in den Diplomarbeiten von Klemens Krejci und Heidemarie Peherstorfer sowie in den Masterarbeiten von Karin Geider und Birgit Koller behandelt.

Die Ergebnisse der Probanden, welche neben der Trainingsintervention zusätzlich FortiFit erhielten, werden von meiner Kollegin Trixie Pierson genauer behandelt.

Die Probanden unterteilen sich wie folgt in den verschiedenen Interventionsgruppen:

Gruppe	Häufigkeit	Prozent
Training	36	36,4
Training und Ernährung	30	30,3
Kontrolle	33	33,3
Gesamt	99	100

Tabelle 5: Häufigkeitstabelle der teilnehmenden Probanden zum Zeitpunkt T1

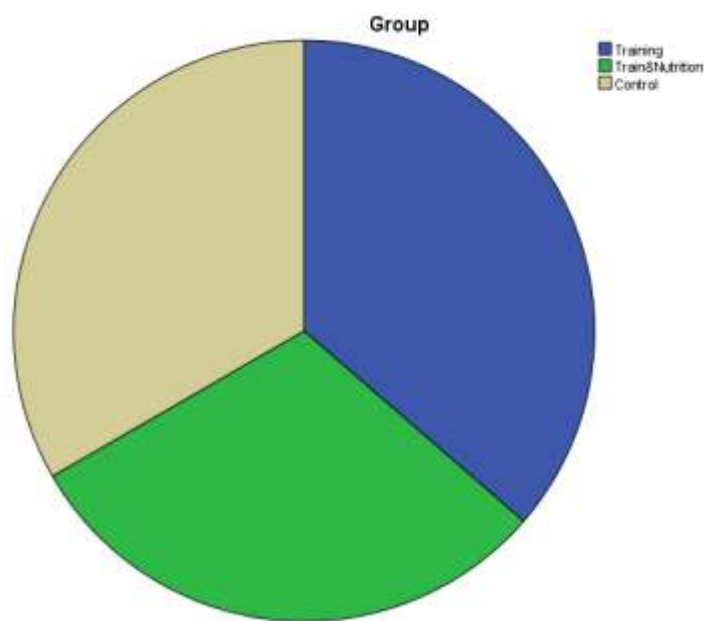


Abbildung 9: Graphische Darstellung der Gruppenaufteilung zum Zeitpunkt T1

4.1 Ergebnisse der Trainingsgruppe

Insgesamt 36 Probanden wurden in die Trainingsgruppe aufgenommen. Sie lassen sich folgenden Gruppen zuordnen:

	Häufigkeit	Prozent
65 – 74 Jahre	4	11,1
75 – 84 Jahre	18	50,0
>85 Jahre	14	38,9
Gesamt	36	100
männlich	4	11,1
weiblich	32	88,9
Gesamt	36	100

Tabelle 6: Häufigkeitstabelle der Trainingsgruppe zum Zeitpunkt T1

4.1.1 Mikrokerne

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
MN_cells_T1	35	23,94	12,31
MN_cells_T2	22	16,40	5,62
MN_cells_T3	26	19,32	10,39
MN_cells_T4	10	14,32	3,70
MN_total_T1	35	28,11	15,23
MN_total_T2	22	19,73	7,34
MN_total_T3	26	23,36	13,55
MN_total_T4	11	20,56	11,46

Tabelle 7: Deskriptive Statistik: MNi in BNCs und totale Anzahl an MNi innerhalb der Trainingsgruppe

Zwischen den Zeitpunkten T1 und T3 kam es zu einer signifikanten Verringerung der BNCs mit MNi ($p = 0,017$). Zwischen den Zeitpunkten T3 und T4 konnte ebenfalls eine Verringerung der BNCs mit Mikrokerneln beobachtet werden ($p = 0,05$). Zwischen den Anfangsuntersuchungen und dem Zeitpunkt T4 ist zwar eine deutliche Reduktion der Mittelwerte zu erkennen, allerdings liegt keine Signifikanz vor ($p = 0,112$).

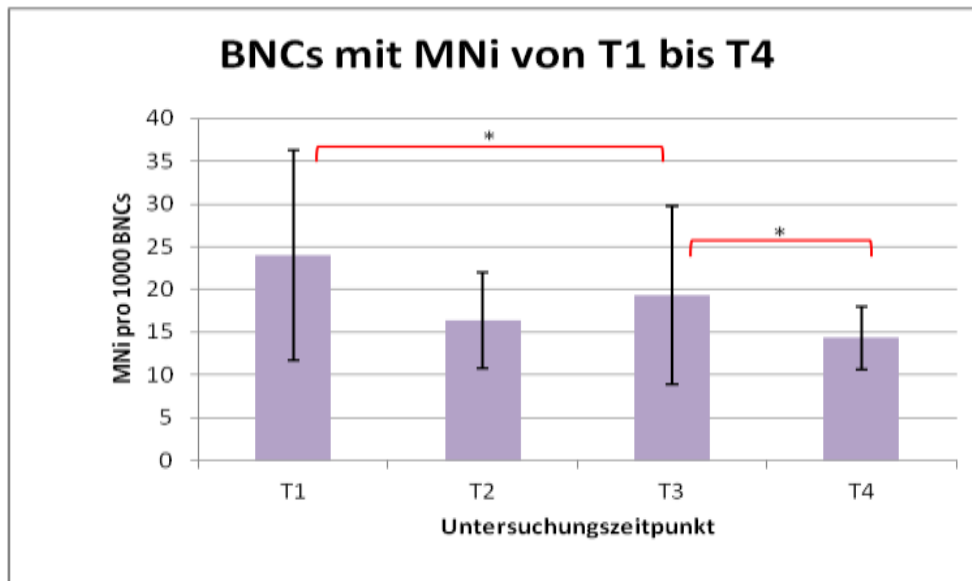


Abbildung 10: Die Anzahl von BNCs mit MNi von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe

Die totale Anzahl der Mikrokerne verhält sich ähnlich wie die Häufigkeit der BNCs mit MNi. Zwischen den Zeitpunkten T1 und T3 ist eine signifikante Verringerung der Mikrokerne zu beobachten ($p = 0,037$). Das Selbe gilt für den Vergleich von T3 und T4 ($p = 0,028$). Die Verringerung der Mikrokerne zwischen den Zeitpunkten T1 und T4 weist keine Signifikanz auf ($p = 0,508$).

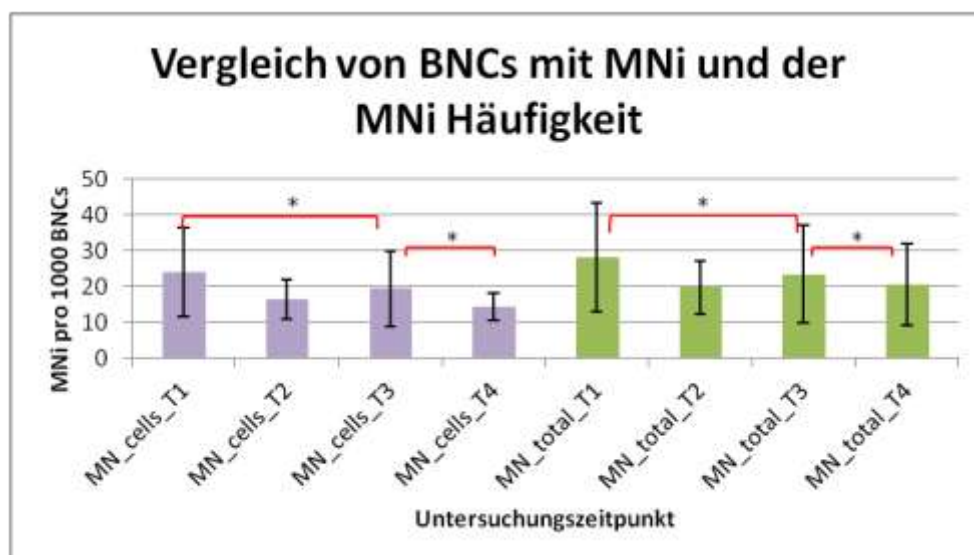


Abbildung 11: Vergleich von BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe

4.1.2 Apoptosen

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptosen_T1	35	0,83	0,64
Apoptosen_T2	23	0,58	0,28
Apoptosen_T3	26	0,51	0,32
Apoptosen_T4	12	0,31	0,15

Tabelle 8: Deskriptive Statistik: Vorkommen von Apoptosen innerhalb der Trainingsgruppe

Die Anzahl der Apoptosen verringert sich zwischen T1 und T4 kontinuierlich. Eine statistische Signifikanz liegt sowohl zwischen den Zeitpunkten T1 und T3 ($p = 0,027$), zwischen T1 und T4 ($p = 0,034$) als auch zwischen den Zeitpunkten T3 und T4 ($p = 0,009$) vor.

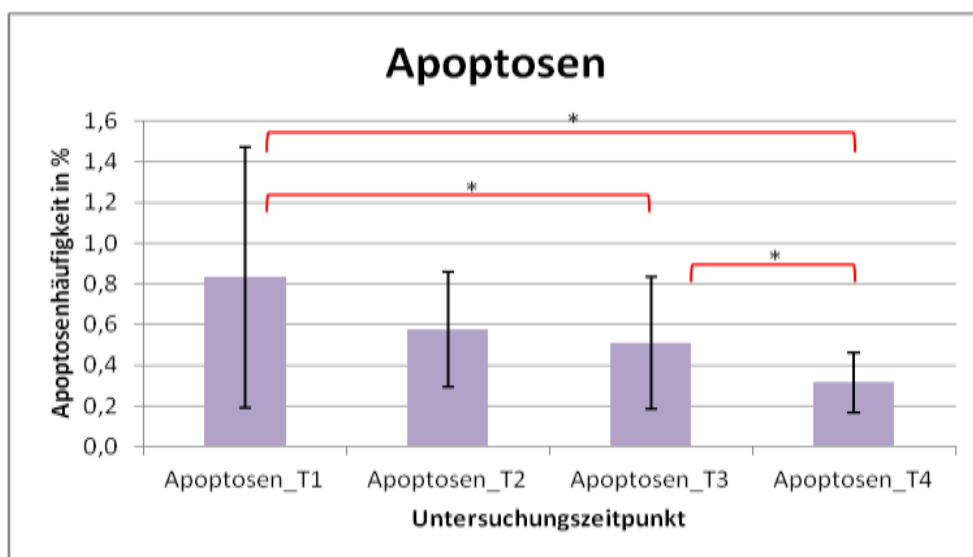


Abbildung 12: Anzahl der Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe

4.1.3 Nekrosen

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nekrosen_T1	35	0,73	0,47
Nekrosen_T2	23	0,55	0,37
Nekrosen_T3	26	0,45	0,25
Nekrosen_T4	12	0,27	0,12

Tabelle 9: Deskriptive Statistik: Vorkommen von Nekrosen innerhalb der Trainingsgruppe

Zwischen den Zeitpunkten T1 und T3 kommt es zu einer signifikanten Verminderung der Anzahl der Nekrosen ($p = 0,002$). Dieser Trend ist auch zwischen den Zeitpunkten T1 und T4 ($p = 0,034$) und zwischen den Zeitpunkten T3 und T4 ($p = 0,005$) zu beobachten.

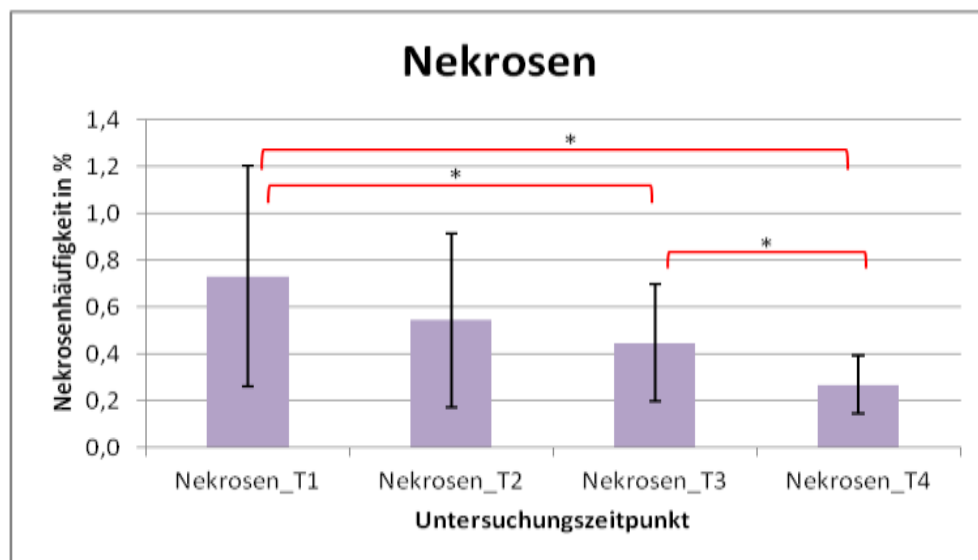


Abbildung 13: Anzahl der Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe

4.1.4 Nucleoplasmic Buds

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nbuds_T1	35	3,56	2,75
Nbuds_T2	23	3,24	2,33
Nbuds_T3	26	3,93	3,96
Nbuds_T4	12	2,59	0,82

Tabelle 10: Deskriptive Statistik: BNCs mit Nbuds innerhalb der Trainingsgruppe

Betrachtet man die Mittelwerte der Zeitpunkte T1 und T3 ist ein leichter Anstieg der Nbuds zu beobachten. Diese Erhöhung weist keine statistische Signifikanz auf ($p = 0,875$). Allerdings kommt es zwischen T1 und T4 zu einer signifikanten Verringerung der Anzahl von BNCs mit Nbuds ($p = 0,019$). Der berechnete Mittelwert von T4 ist zwar geringer als der Mittelwert von T3, aber auch hier ist keine statistische Signifikanz ($p = 0,327$) zu beobachten.

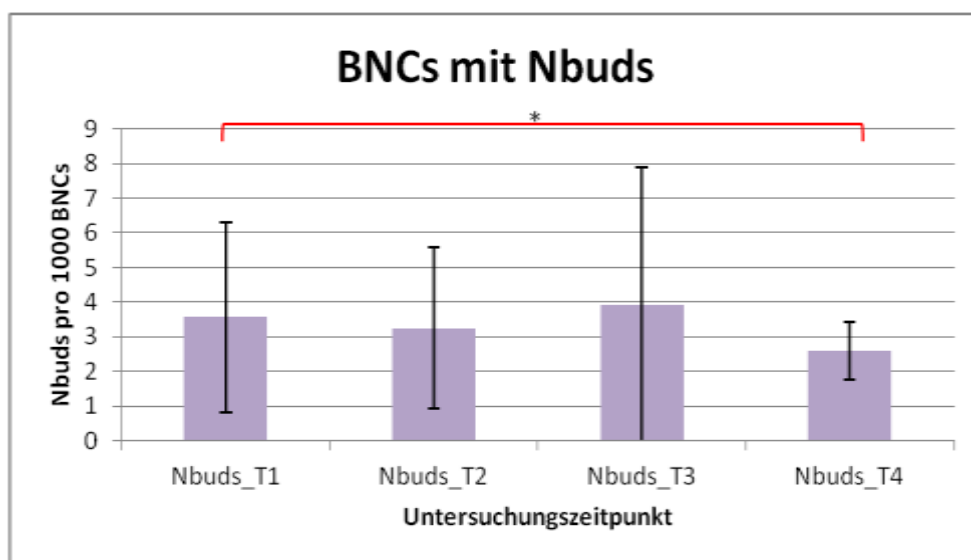


Abbildung 14: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe

4.1.5 Nucleoplasmic Bridges

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Bridges_T1	35	1,13	1,14
Bridges_T2	23	0,53	0,72
Bridges_T3	26	0,50	0,49
Bridges_T4	12	0,67	0,25

Tabelle 11: Deskriptive Statistik: BNCs mit NPBs innerhalb der Trainingsgruppe

Die Anzahl der BNCs mit NPBs verringert sich fortschreitend innerhalb des ersten Studienjahres. Die Verminderung der NPBs ist zwischen sowohl zwischen T1 und T3 ($p = 0,13$) als auch zwischen T1 und T4 ($p = 0,008$) signifikant. Zwischen T3 und T4 ist zwar eine Verringerung der Mittelwerte zu beobachten, diese ist allerdings nicht signifikant ($p = 0,180$).

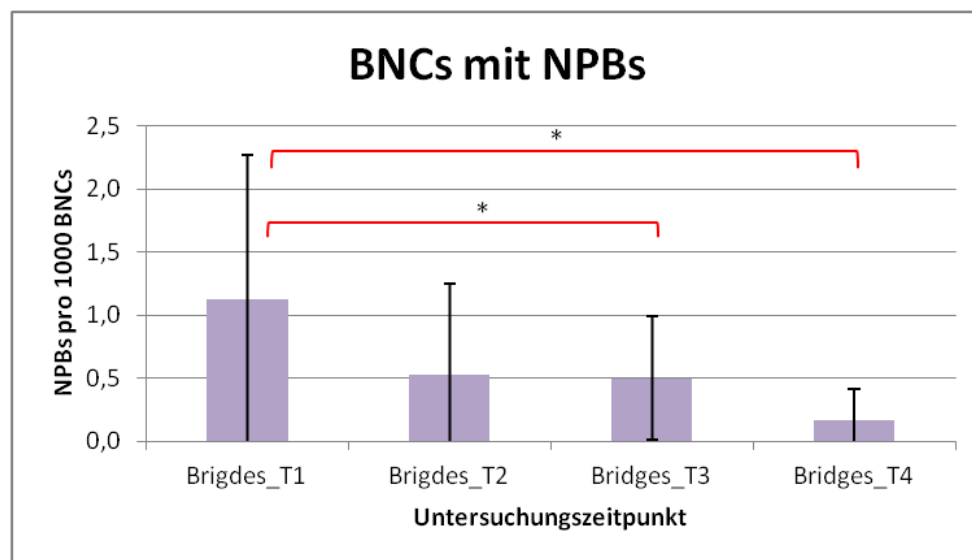


Abbildung 15: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Trainingsgruppe

4.2 Ergebnisse der Kontrollgruppe

In die Kognitionsgruppe wurden 33 Probanden aufgenommen. Sie lassen sich wie folgt unterteilen:

	Häufigkeit	Prozent
65 – 74 Jahre	3	9,1
75 – 84 Jahre	13	39,4
>85 Jahre	17	51,5
Gesamt	33	100
männlich	4	12,1
weiblich	29	87,9
Gesamt	33	100

Tabelle 12: Häufigkeitstabelle der Kognitionsgruppe zum Zeitpunkt T1

4.2.1 Mikrokerne

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
MN_cells_T1	32	21,53	9,17
MN_cells_T2	22	16,26	6,23
MN_cells_T3	22	18,56	9,55
MN_cells_T4	17	25,37	7,81
MN_total_T1	32	25,52	11,07

MN_total_T2	22	19,41	7,64
MN_total_T3	22	23,03	12,63
MN_total_T4	17	29,67	8,93

Tabelle 13: Deskriptive Statistik: MNi in BNCs und totale Anzahl an MNi innerhalb der Kognitionsgruppe

Innerhalb der Kognitionsgruppe kam es zwischen T1 und T3 zu keiner signifikanten ($p = 0,543$) Reduktion der BNCs mit MNi. Zwischen T1 und T4 ($p = 0,034$) bzw. zwischen T3 und T4 ($p = 0,023$) kam es allerdings zu einer signifikanten Erhöhung dieses Parameters.

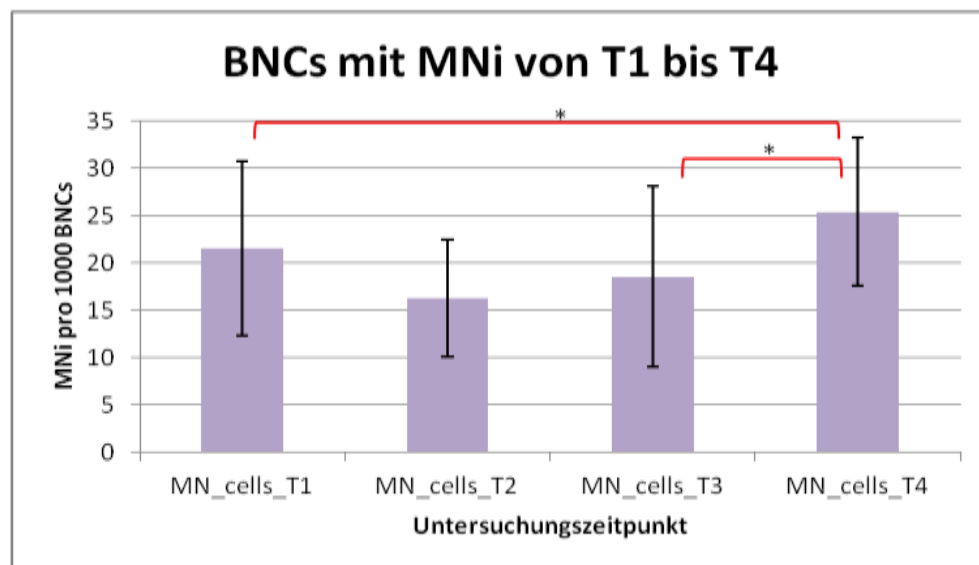


Abbildung 16: Die Anzahl von BNCs mit MNi von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe

Bei der Anzahl an Mikrokernen lässt sich ein ähnlicher Trend erkennen. Allerdings liegt hier nur zwischen den Zeitpunkten T3 und T4 eine signifikante Erhöhung der Mikrokern vor ($p = 0,033$). Die Veränderungen zwischen T1 und T3 ($p = 0,961$) und T1 und T4 ($p = 0,066$) sind nicht signifikant.

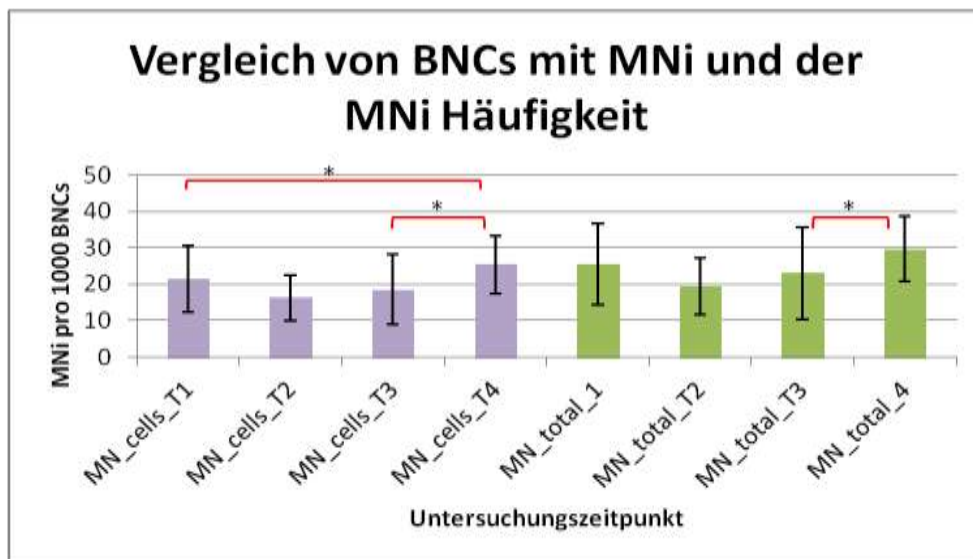


Abbildung 17: Vergleich von BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe

4.2.2 Apoptosen

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptosen_T1	32	0,68	0,52
Apoptosen_T2	22	0,62	0,35
Apoptosen_T3	22	0,43	0,23
Apoptosen_T4	17	0,34	0,24

Tabelle 14: Deskriptive Statistik: Vorkommen von Apoptosen innerhalb der Kognitionsgruppe

Der berechnete Mittelwert der Apoptosen verringert sich von T1 bis T4 kontinuierlich. Zwischen T1 und T3 ($p = 0,012$) und T1 und T4 ($p = 0,002$) kommt es zu einer signifikanten Verringerung. Die Veränderung zwischen T3 und T4 ist allerdings nicht mehr signifikant ($p = 0,567$).

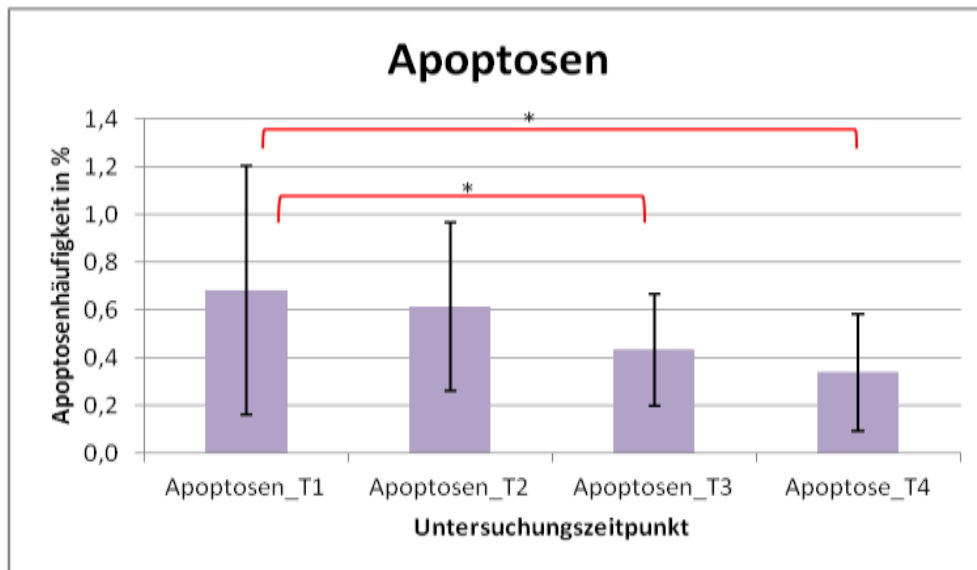


Abbildung 18: Anzahl an Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe

4.2.3 Nekrosen

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nekrosen_T1	32	0,57	0,40
Nekrosen_T2	22	0,54	0,38
Nekrosen_T3	22	0,46	0,27
Nekrosen_T4	17	0,19	0,12

Tabelle 15: Deskriptive Statistik: Vorkommen von Nekrosen innerhalb der Kognitionsgruppe

Dieser Parameter zeigt eine signifikante Reduktion zwischen den Zeitpunkten T1 und T4 ($p = 0,002$) und zwischen T3 und T4 ($0,023$). Zwischen T1 und T3 liegt kein signifikanter Unterschied vor ($p = 0,375$).

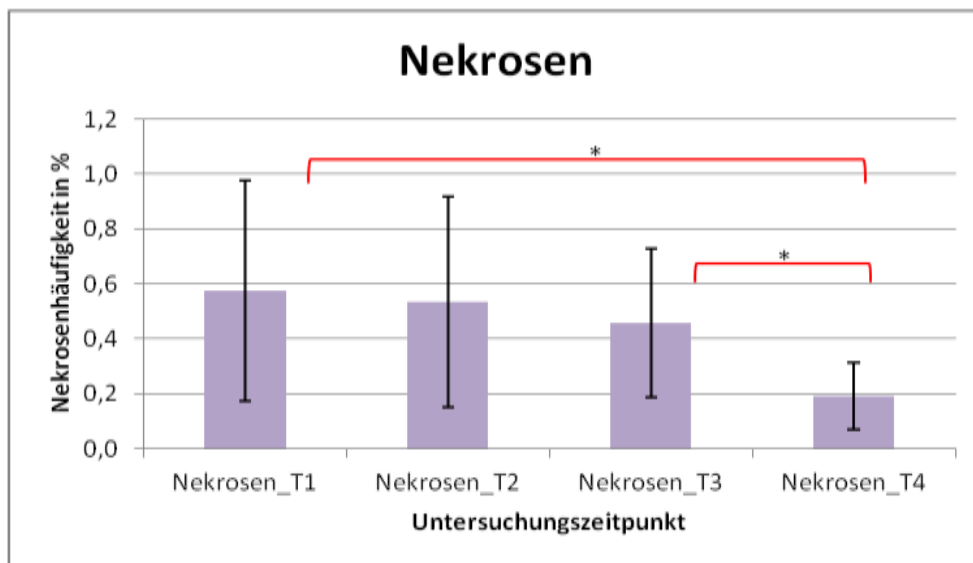


Abbildung 19: Anzahl an Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe

4.2.4 Nucleoplasmic Buds

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nbuds_T1	32	4,30	4,63
Nbuds_T2	22	3,53	3,83
Nbuds_T3	22	3,03	3,08
Nbuds_T4	17	3,17	2,75

Tabelle 16: Deskriptive Statistik: BNCs mit Nbuds innerhalb der Kognitionsgruppe

Betrachtet man die Anzahl der BNCs mit Nbuds innerhalb der Kognitionsgruppe sieht man, dass es zu keiner signifikanten Veränderung zwischen T1 und T4 kommt. Die p-Werte liegen bei 0,455 zwischen T1 und T3, bei 0,334 zwischen T1 und T4 und bei 0,073 zwischen T3 und T4.

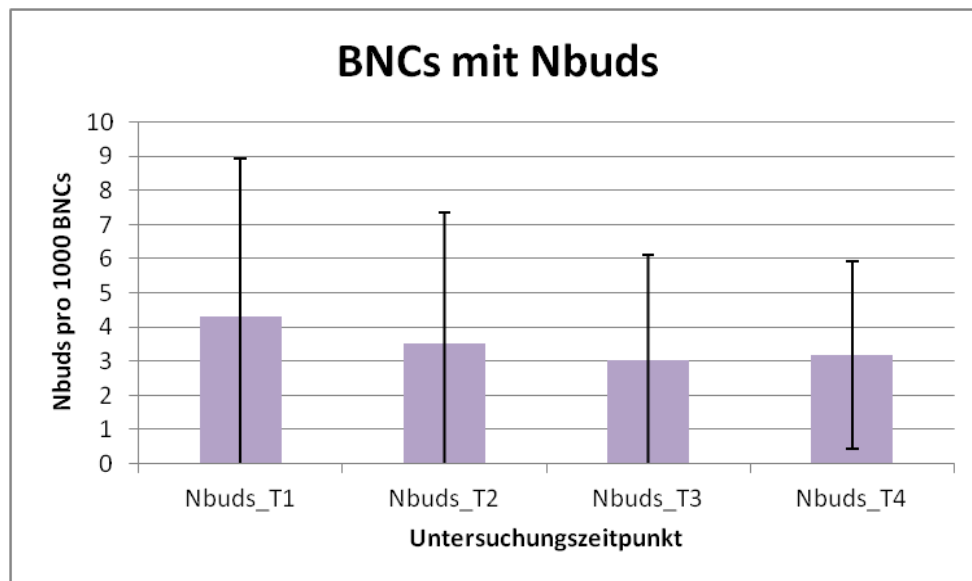


Abbildung 20: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe

4.2.5 Nucleoplasmic Bridges

Deskriptive Statistik:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Bridges_T1	32	1,25	1,05
Bridges_T2	22	0,57	0,63
Bridges_T3	22	0,64	0,85
Bridges_T4	17	0,35	0,46

Tabelle 17: Deskriptive Statistik: BNCs mit NPBs innerhalb der Kognitionsgruppe

Die Anzahl der BNCs mit NPBs wird zwischen T1 und T4 signifikant vermindert ($p = 0,001$). Zwischen T1 und T3 ($p = 0,058$) und T3 und T4 ($p = 0,776$) liegt keine Signifikanz vor.

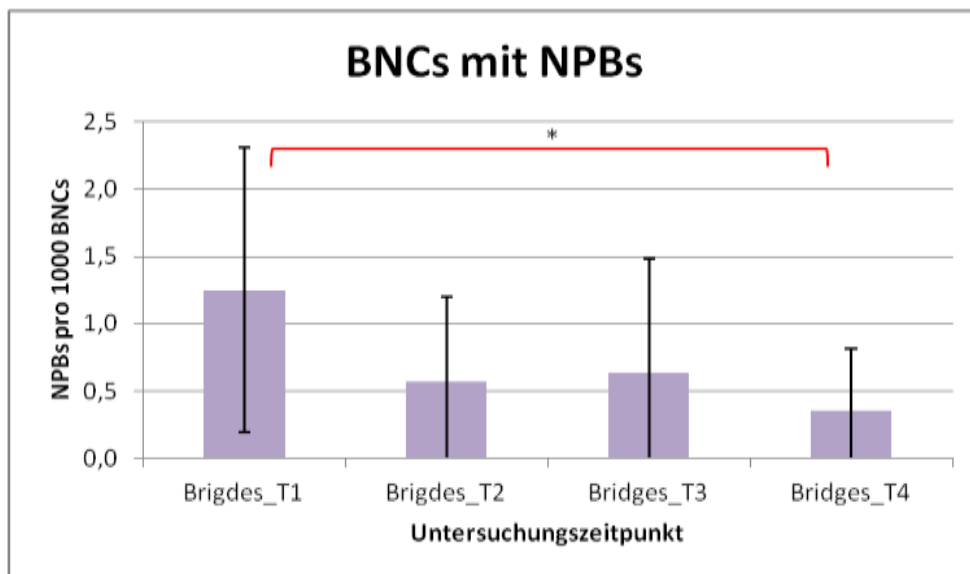


Abbildung 21: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Kognitionsgruppe

4.3 Ergebnisse der verschiedenen Altersgruppen

In die Ergebnisse der verschiedenen Altersgruppen wurde sowohl die Ergebnisse der Trainingsgruppe, als auch der Gruppe die zusätzlich FortiFit erhielt mit einbezogen. Werte der Kognitionsgruppe wurden hingegen nicht berücksichtigt.

4.3.1 Altersgruppe: 65-74

Deskriptive Statistik – Mikrokerne:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
MN_cells_T1	8	25,25	10,95
MN_cells_T2	6	19,08	5,19
MN_cells_T3	7	17,40	7,28
MN_cells_T4	3	12,50	6,76

MN_total_T1	8	28,88	11,85
MN_total_T2	6	20,92	5,53
MN_total_T3	7	20,41	8,54
MN_total_T4	3	14,67	7,52

Tabelle 18: Deskriptive Statistik: BNCs mit MNi und Anzahl an MNi innerhalb der Altersgruppe 65-74

In der Altersgruppe der 65- bis 74-jährigen Probanden der Interventionsgruppen ist sowohl bei der Anzahl der BNCs mit MNi als auch bei der totalen Anzahl an MNi eine Reduktion der Mittelwerte zu erkennen, allerdings ist diese Verringerung zu keinem Zeitpunkt signifikant.

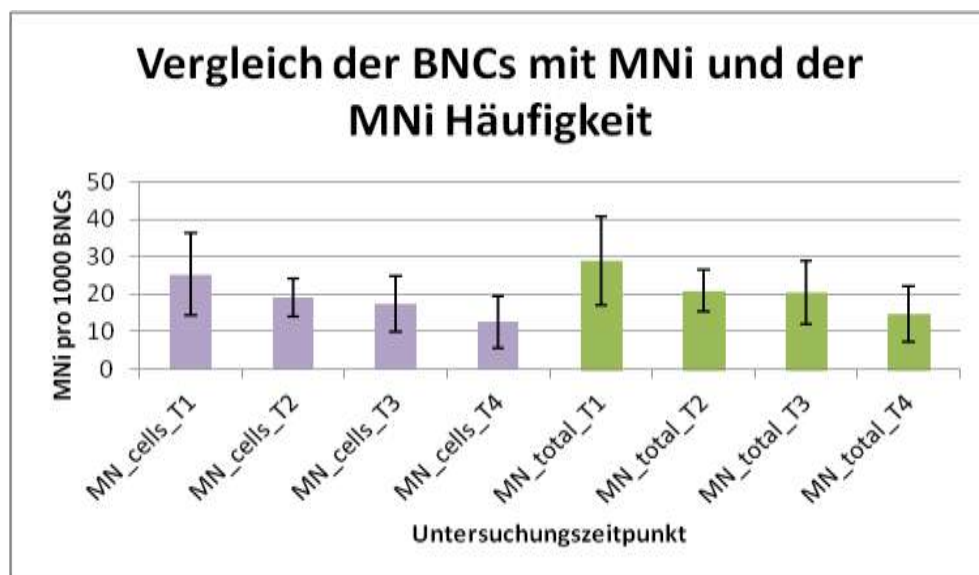


Abbildung 22: Vergleich von BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74

Deskriptive Statistik – Apoptosen und Nekrosen:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptosen_T1	8	0,57	0,11

Apoptosen_T2	6	0,41	0,24
Apoptosen_T3	7	0,49	0,14
Apoptosen_T4	3	0,39	0,17
Nekrosen_T1	8	0,76	0,52
Nekrosen_T2	6	0,77	0,86
Nekrosen_T3	7	0,31	0,22
Nekrosen_T4	3	0,29	0,94

Tabelle 19: Deskriptive Statistik: Apoptosen und Nekrosen innerhalb der Altersgruppe 65-74

Betrachtet man das Vorkommen der Apoptosen, gibt es innerhalb dieser Altersgruppe keine signifikanten Veränderungen zwischen den Zeitpunkten T1 und T4. Die Anzahl der Nekrosen hat sich in dieser Altersgruppe nur zwischen den Zeitpunkten T1 und T3 ($p = 0,018$) signifikant reduziert.

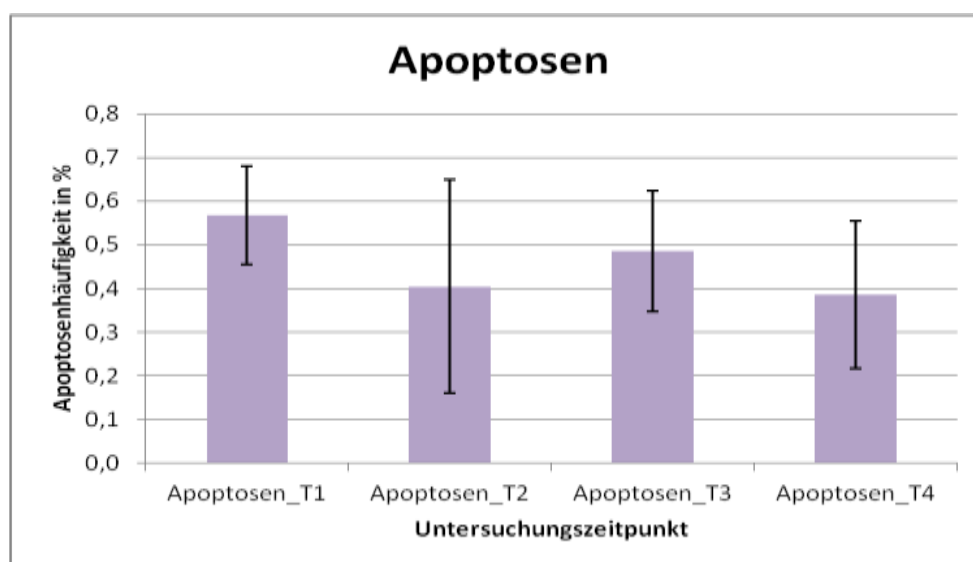


Abbildung 23: Anzahl an Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74

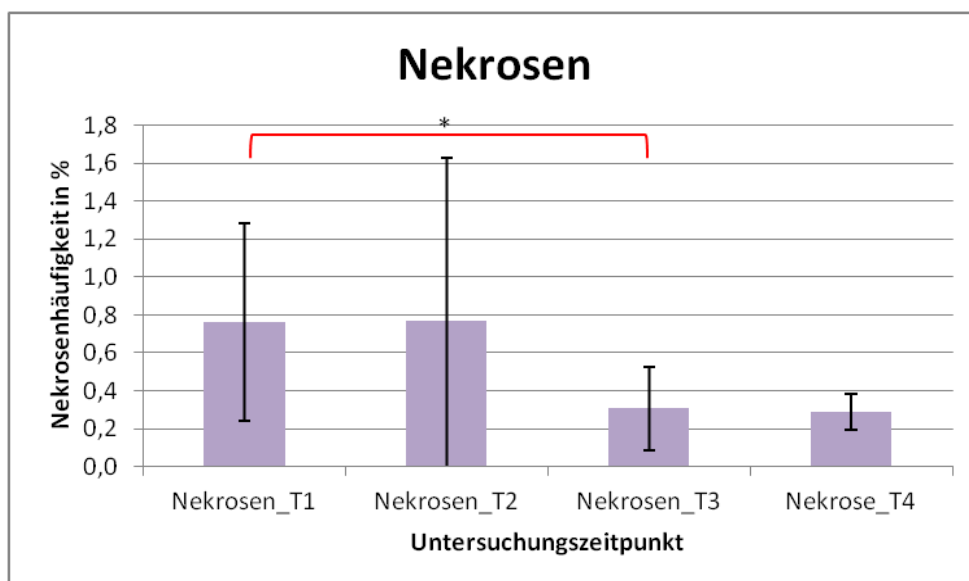


Abbildung 24: Anzahl an Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74

Deskriptive Statistik – Nbuds und NPBs:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nbuds_T1	8	2,75	1,83
Nbuds_T2	6	1,25	1,64
Nbuds_T3	7	4,11	5,66
Nbuds_T4	3	3,33	0,76
Bridges_T1	8	0,81	0,96
Bridges_T2	6	0,25	0,27
Bridges_T3	7	0,36	0,48
Bridges_T4	3	0,17	0,29

Tabelle 20: Deskriptive Statistik: Nbuds und NPBs innerhalb der Altersgruppe 65-74

Die berechneten Werte der BNCs mit Nbuds zeigen zu keinem Zeitpunkt eine statistische Signifikanz. Die Werte der BNCs mit NPBs sind ebenfalls nicht signifikant.

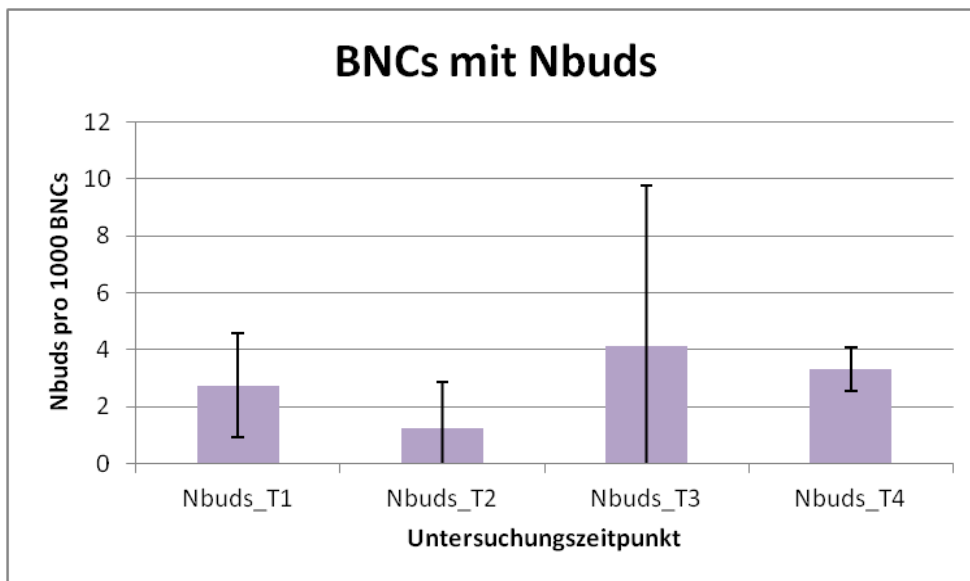


Abbildung 25: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74

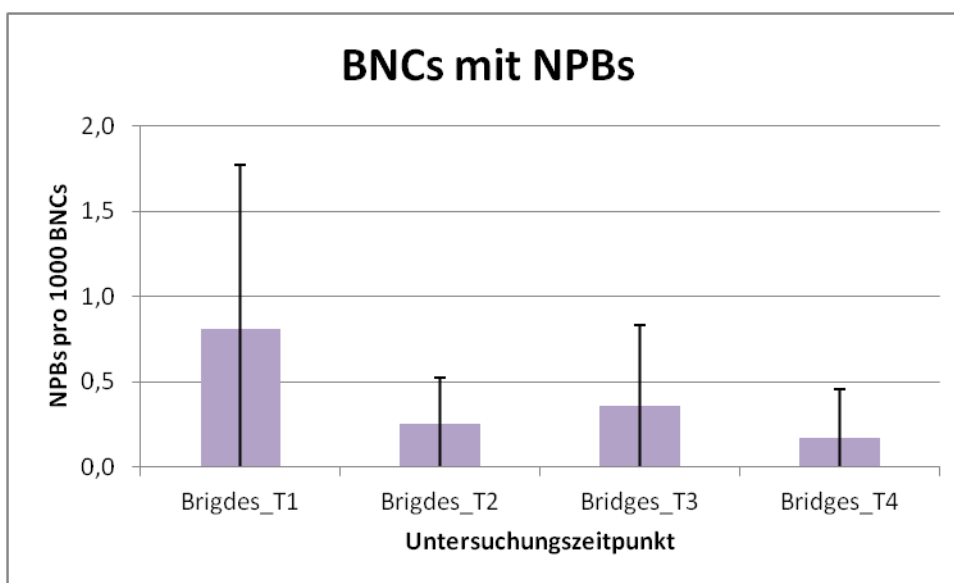


Abbildung 26: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 65-74

4.3.2 Altersgruppe:75-84

Deskriptive Statistik – Mikrokerne:

N	Mittelwert	Standardabweichung
---	------------	--------------------

MN_cells_T1	26	22,86	12,41
MN_cells_T2	21	16,47	6,53
MN_cells_T3	21	16,79	8,86
MN_cells_T4	11	16,77	8,19
MN_total_T1	26	27,05	15,26
MN_total_T2	21	20,25	8,60
MN_total_T3	21	20,05	10,40
MN_total_T4	11	20,86	9,49

Tabelle 21: Deskriptive Statistik: BNCs mit MNi und Anzahl an MNi innerhalb der Altersgruppe 75-84

Die Anzahl der BNCs mit MNi und der Anzahl an Mikrokernen hat sich in dieser Altersgruppe nur zwischen den Zeitpunkten T3 und T4 verändert. Die Anzahl der BNCs mit MNi verringerte sich zwischen T3 und T4 ($p = 0,015$), während die Anzahl der Mikrokern pro BNC zwischen T3 und T4 anstieg ($p = 0,015$).

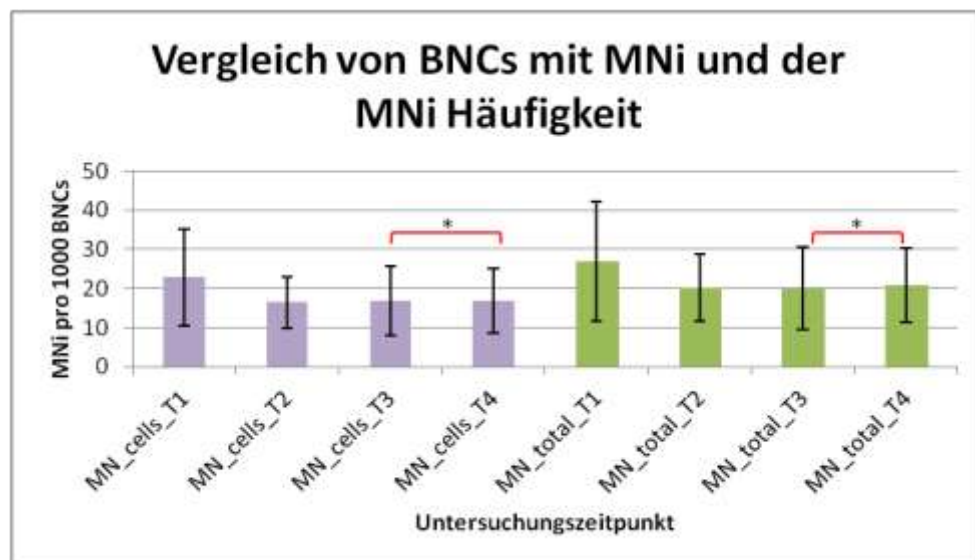


Abbildung 27: Vergleich von BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84

Deskriptive Statistik – Apoptosen und Nekrosen:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptosen_T1	26	0,82	0,49
Apoptosen_T2	22	0,60	0,34
Apoptosen_T3	12	0,55	0,38
Apoptosen_T4	12	0,38	0,27
Nekrosen_T1	26	0,67	0,38
Nekrosen_T2	22	0,66	0,44
Nekrosen_T3	21	0,46	0,32
Nekrosen_T4	12	0,22	0,08

Tabelle 22: Deskriptive Statistik: Apoptosen und Nekrosen innerhalb der Altersgruppe 75-84

Die Mittelwerte der Apoptosen reduzieren sich innerhalb aller Untersuchungszeitpunkte konsequent. Es besteht sowohl zwischen T1 und T3 ($p = 0,016$), zwischen T1 und T4 ($p = 0,005$) als auch zwischen T3 und T4 ($p = 0,028$) eine statistische Signifikanz.

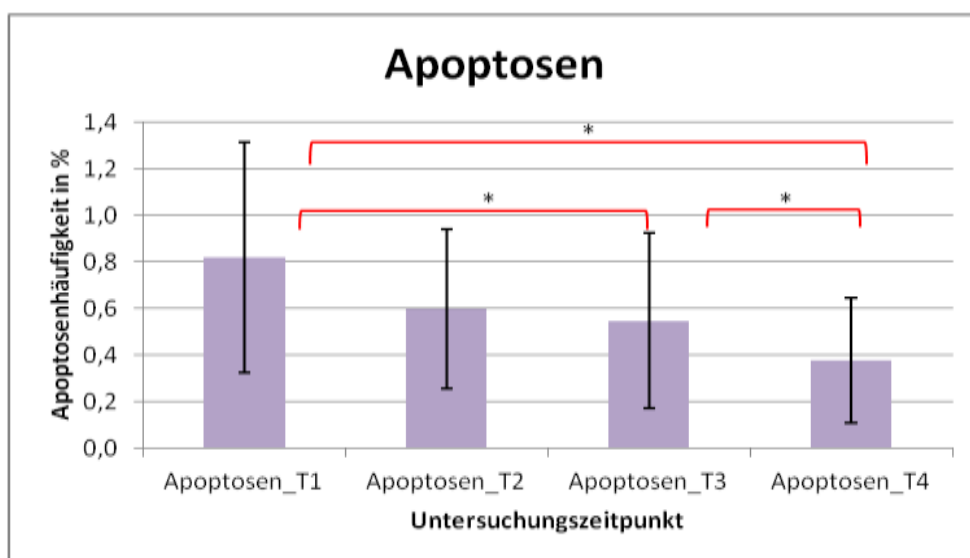


Abbildung 28: Anzahl an Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84

Betrachtet man die Anzahl der Nekrosen, ist der Selbe Trend erkennbar wie bei den Apoptosen. Die Anzahl der Nekrosen verringert sich sowohl zwischen T1 und T3 ($p = 0,012$), zwischen T1 und T4 ($p = 0,002$) als auch zwischen T3 und T4 ($0,019$) signifikant.

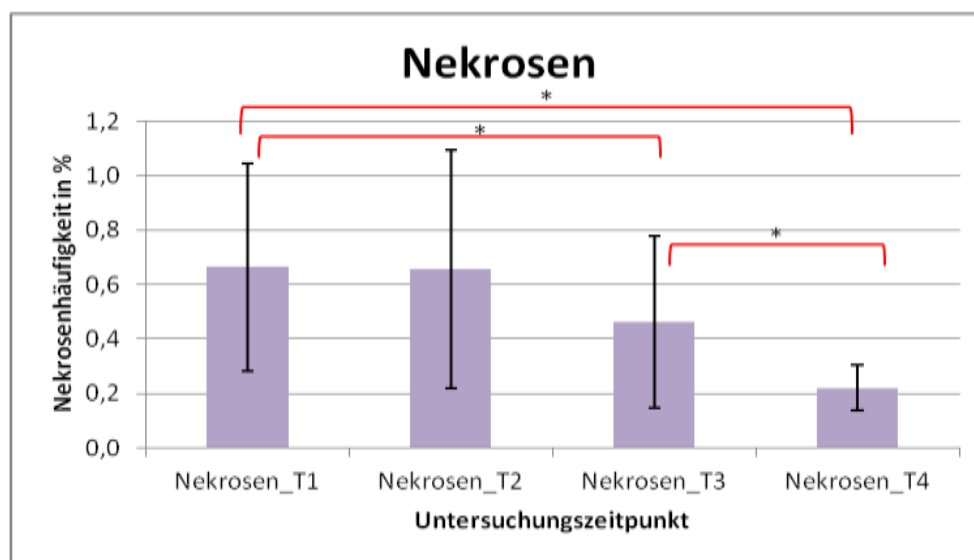


Abbildung 29: Anzahl an Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84

Deskriptive Statistik – Nbuds und NPBs:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nbuds_T1	26	3,58	2,35
Nbuds_T2	22	2,89	2,37
Nbuds_T3	21	2,90	2,53
Nbuds_T4	12	2,79	0,86
Bridges_T1	26	1,08	0,88
Bridges_T2	22	0,45	0,63
Bridges_T3	21	0,33	0,60
Bridges_T4	12	0,29	0,40

Tabelle 23: Deskriptive Statistik: Nbuds und NPBs innerhalb der Altersgruppe 75-84

Die Anzahl der BNCs mit Nbuds verändert sich zu keinem Untersuchungszeitpunkt signifikant.

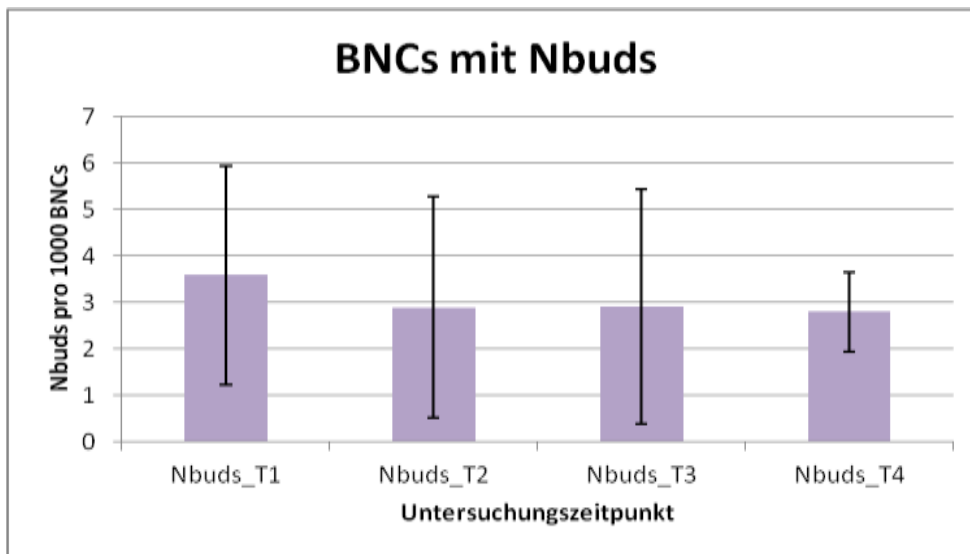


Abbildung 30: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84

Die Anzahl der BNCs mit NPBs veränderte sich signifikant. Es liegt sowohl zwischen T1 und T3 ($p = 0,009$) als auch zwischen T1 und T4 ($p = 0,044$) eine statistisch signifikante Verringerung der Werte vor.

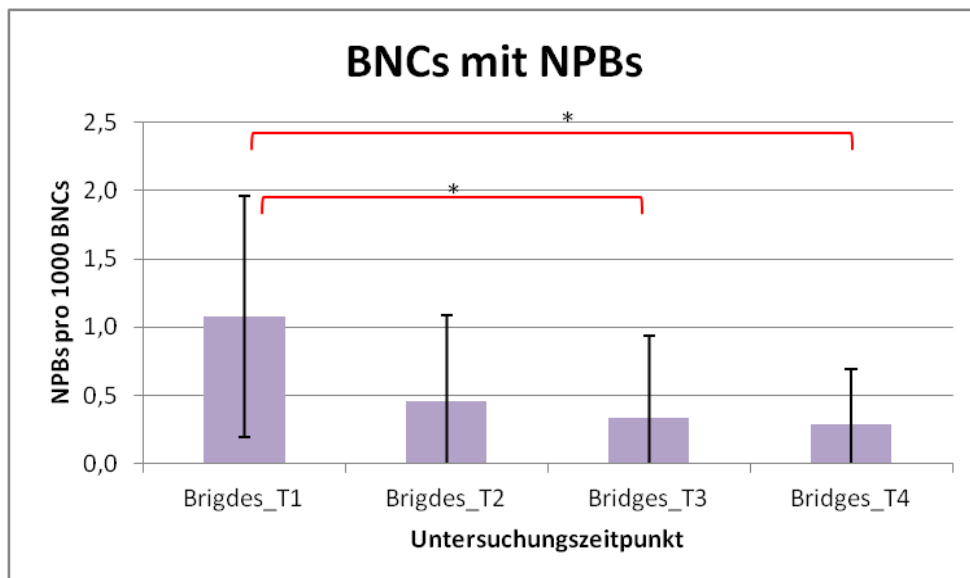


Abbildung 31: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe 75-84

4.3.3 Altersgruppe: >85

Deskriptive Statistik – Mikrokerne:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
MN_cells_T1	29	21,08	9,83
MN_cells_T2	21	16,68	8,07
MN_cells_T3	20	21,83	13,89
MN_cells_T4	12	22,02	12,82
MN_total_T1	29	25,00	12,08
MN_total_T2	21	20,33	10,99
MN_total_T3	20	26,38	17,83
MN_total_T4	13	26,90	15,91

Tabelle 24: Deskriptive Statistik: BNCs mit MNi und Anzahl an MNi innerhalb der Altersgruppe >85

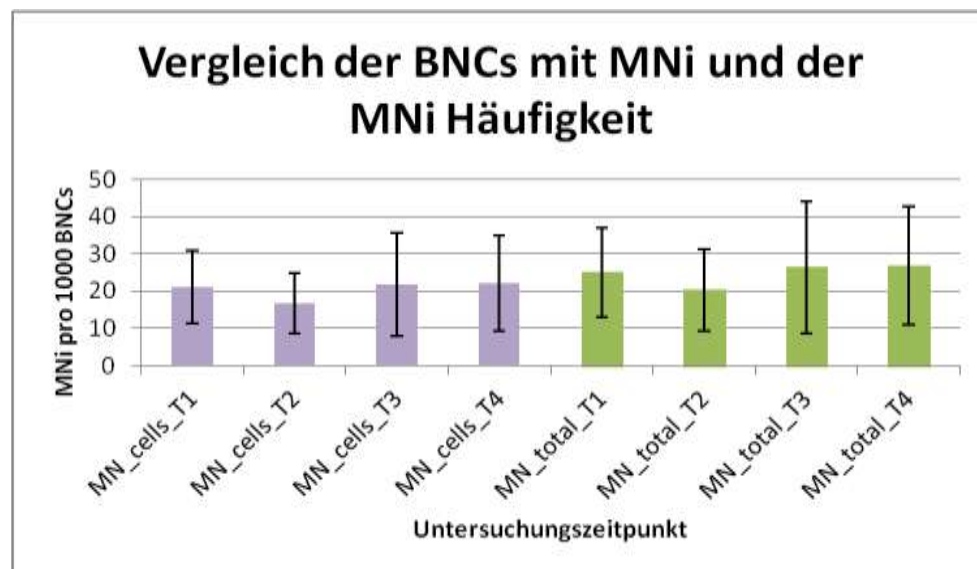


Abbildung 32: Vergleich der BNCs mit MNi und der MNi Häufigkeit von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85

Innerhalb dieser Altersgruppe liegt weder bei der Anzahl der BNCs mit MNi, noch bei der Anzahl der MNi eine statistische Signifikanz vor.

Deskriptive Statistik – Apoptosen und Nekrosen:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptosen_T1	30	0,78	0,63
Apoptosen_T2	22	0,51	0,30
Apoptosen_T3	20	0,45	0,20
Apoptosen_T4	13	0,46	0,25
Nekrosen_T1	30	0,71	0,44
Nekrosen_T2	22	0,47	0,37
Nekrosen_T3	20	0,44	0,18
Nekrosen_T4	13	0,31	0,17

Tabelle 25: Deskriptive Statistik: Apoptosen und Nekrosen innerhalb der Altersgruppe >85

Die Anzahl der Apoptosen verringerte sich innerhalb dieser Altersgruppe nur zwischen den Zeitpunkten T1 und T3 signifikant ($p = 0,035$). Die Anzahl der Nekrosen hingegen verringerte sich im Laufe der Studie konsequent. Es ist sowohl die Verringerung zwischen T1 und T3 ($p = 0,005$), zwischen T1 und T4 ($p = 0,009$) als auch zwischen T3 und T4 ($p = 0,005$) statistisch signifikant.

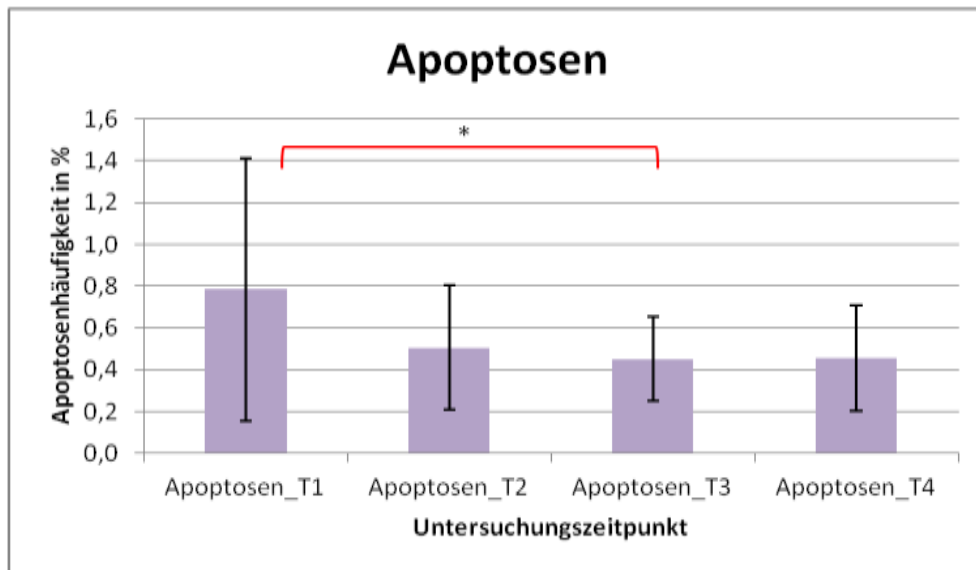


Abbildung 33: Anzahl an Apoptosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85

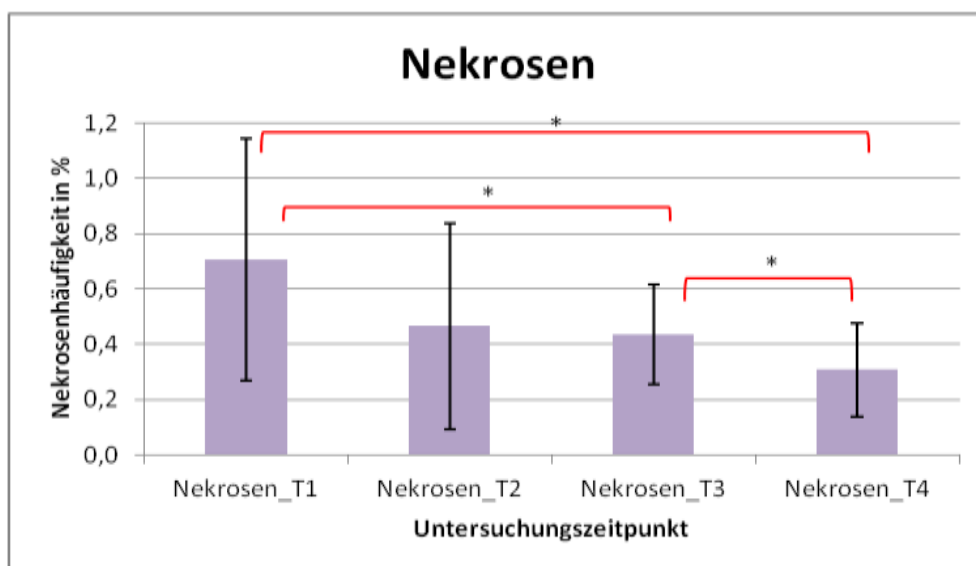


Abbildung 34: Anzahl an Nekrosen von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85

Deskriptive Statistik – Nbuds und NPBs:

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nbuds_T1	30	3,55	3,13
Nbuds_T2	22	3,33	2,43

Nbuds_T3	20	3,89	3,12
Nbuds_T4	13	2,59	0,79
Bridges_T1	30	1,02	1,19
Bridges_T2	22	0,67	0,73
Bridges_T3	20	0,83	1,10
Bridges_T4	13	0,23	0,39

Tabelle 26: Deskriptive Statistik: Nbuds und NPBs innerhalb der Altersgruppe >85

Sowohl die Anzahl der BNCs mit Nbuds ($p = 0,034$) als auch die Anzahl der BNCs mit NPBs ($p = 0,003$) reduzierte sich nur zwischen den Zeitpunkten T1 und T4 signifikant.

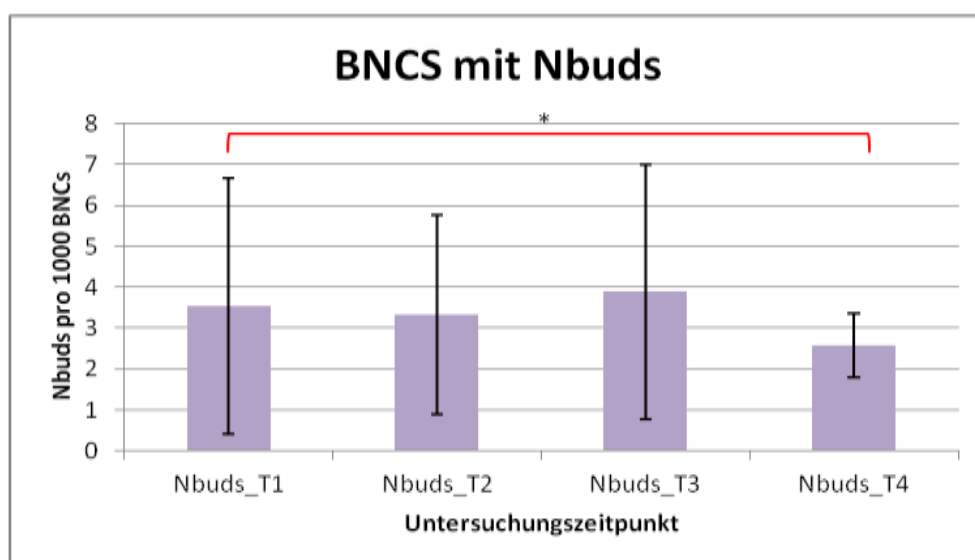


Abbildung 35: BNCs mit Nbuds von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85

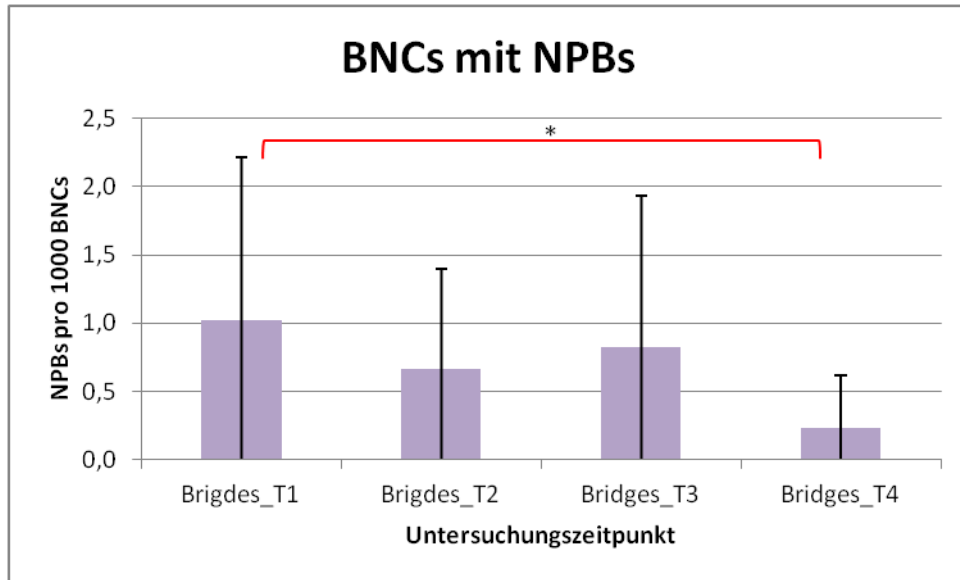


Abbildung 36: BNCs mit NPBs von T1 bis T4 innerhalb der Altersgruppe >85

5. DISKUSSION

Bei diesen Ergebnissen handelt es sich lediglich um Teilergebnisse einer Studie, welche im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“ der Universität Wien durchgeführt wurde.

Betrachtet man die Ergebnisse der Trainingsgruppe in Bezug auf das Vorkommen von Mikrokernen, lässt sich vermuten, dass ein progressives Krafttraining über einen längeren Zeitraum zu einer Reduktion der Anzahl von BNCs mit MNi bzw. der Anzahl an MNi führt. Zwischen dem Zeitpunkt T1 und T4 ist zwar eine deutliche Reduktion der berechneten Mittelwerte zu erkennen, diese ist allerdings nicht signifikant.

Eine mögliche Ursache dafür könnte sein, dass die Untersuchung aller T4-Daten zum momentanen Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen ist, und daher nur die Daten weniger Probanden mit einbezogen werden konnten. Zwischen T1 und T3, und T3 und T4 konnte allerdings eine signifikante Reduktion gemessen werden.

Bisher gibt es keine Studien welche ähnlich gestaltet wurden, um die Ergebnisse mit diesen zu vergleichen. Betrachtet man eine Studie, welche sich mit einer kürzeren, aber enormen körperlichen Belastung auf die Entstehung von Mikrokernen beschäftigt, erkennt man, dass diese einen positiven Einfluss auf diese Anomalie des Zellkerns hat. Die Probanden dieser Studie nahmen an einem Ironman teil, welcher sich aus 3,8 km Schwimmen, 180 km Radfahren und 42 km Laufen zusammensetzte. Die körperliche Belastung dieser Studie [Reichhold et al., 2008] unterscheidet sich also stark von dem Training der im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“ durchgeführten Studie, in welcher sich die Probanden einem progressiven Krafttraining unterzogen.

Im Gegensatz dazu, kommt eine früher durchgeführte Studie zu dem Ergebnis, dass anstrengende, körperliche Belastung zu einer Erhöhung von MNi führt. Die sechs Probanden dieser Studie legten nach einer 15-minütigen Aufwärmphase einen Sprint zurück, pausierten für zehn Minuten und legten erneut einen Sprint zurück [Schiffel et al., 1997]. Dass moderate körperliche Bewegung mehrmals pro Woche einen positiven Effekt auf die Entstehung von MNi hat, wird in einer Studie aus Japan berichtet. Innerhalb dieser Studie gab es allerdings keine Trainingsintervention. Die Ergebnisse beruhen auf der Selbsteinschätzung der teilnehmenden Probanden und wurden mittels einem Fragebogen erhoben [Huang et al., 2009].

Es gilt aber zu beachten, dass die Probanden in allen genannten Untersuchungen wesentlich jünger waren als die Probanden der „Active Ageing“-Studie.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Vorkommen von Apoptosen und Nekrosen durch eine gezielte Trainingsintervention verringert werden kann. Weiters kommt es zu einer signifikanten Reduktion der BNCs mit NPBs zwischen den Zeitpunkten T1 und T3 und T1 und T4. Das Vorkommen von BNCs mit Nbuds verringerte sich nur zwischen T1 und T4 signifikant. Die Untersuchung von Reichhold et al. [2008] führte zu dem Ergebnis, dass eine enorme, aber kurzfristige körperliche Belastung keinen Einfluss auf die Anzahl von Nbuds und NPBs hat.

Sehr interessant sind die Ergebnisse der Kontrollgruppe. In Bezug auf BNCs mit MNI und der totalen MNI Anzahl kommt es zwischen T1 und T4 zu einem signifikanten Anstieg. Es wurde zwar damit gerechnet, dass es in der Kontrollgruppe zu keiner signifikanten Änderung dieser Parameter kommt, allerdings spielt das Alter und auftretende und fortschreitende Krankheit ebenfalls eine große Rolle. Betrachtet man nun die Anzahl der Apoptosen und der Nekrosen, ist in beiden Fällen eine deutliche Reduktion während des Studienverlaufs zu erkennen. Das Selbe gilt für das Vorkommen von BNCs mit NPBs. Daraus könnte man schließen, dass der Faktor der Sozialisierung eine bedeutende Rolle spielt. Allerdings handelt es sich bei den Ergebnissen dieser Gruppe lediglich um Teilergebnisse des Untersuchungszeitpunkt T4.

In der Altersgruppe der 65- bis 74-jährigen kommt es außer bei der Anzahl der Nekrosen zwischen T1 und T3 zu keinen signifikanten Veränderungen. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass die Probandenanzahl innerhalb dieser Altersgruppe zu gering war, und die meisten Probanden wesentlich älter sind.

In der Altersgruppe der 75- bis 84-jährigen hingegen veränderten sich im Laufe der Studie einige Parameter. Die berechneten Mittelwerte der BNCs mit MNI bzw. der MNI Anzahl zeigen eine nicht signifikante Reduktion zwischen T1 und T4. Allerdings ist ein signifikanter Anstieg dieser Parameter zwischen T3 und T4 zu beobachten. Grund dafür könnte sein, dass innerhalb der Ergebnisse der verschiedenen Altersgruppen nicht zwischen den Interventionsgruppen unterschieden wurde und sowohl die Daten der Trainingsgruppe, als auch die Gruppe „Training und Ernährung“ mit einbezogen wurden. Die Anzahl der Apoptosen und Nekrosen verringerte sich allerdings zwischen allen miteinander verglichenen Zeitpunkten signifikant. Die BNCs mit NPBs

verringerten sich sowohl zwischen T1 und T3 als auch zwischen T1 und T4 signifikant, während die Anzahl der BNCs mit Nbuds während des gesamten Studienverlaufs keine signifikante Veränderung vorweist.

In der Altersgruppe der über 85-jährigen kommt es in Bezug auf Mikrokerne zu keinem Zeitpunkt zu einer signifikanten Veränderung. Ähnlich wie bei den 74- bis 85-jährigen kommt es allerdings zu einer signifikanten Reduktion der Nekrosen zwischen allen miteinander verglichenen Zeitpunkten. Die Anzahl der Apoptosen hingegen verringerte sich nur zwischen T1 und T3 signifikant. Die Parameter NPB und Nbud verringerten sich zwischen den Zeitpunkten T1 und T4 signifikant.

Dass es im Alter einen signifikanten Anstieg des Mikrokern-Vorkommens gibt, wird in einigen Studien gut dokumentiert. Dass es bei den Probanden der „Active Ageing“-Studie in Bezug auf diesen Parameter keine bzw. kaum signifikante Veränderungen gibt könnte daran liegen, dass die Probanden dieser Studie wesentlich älter (83,9 Jahre) sind als in früher durchgeführten Studien. In einer aktuellen Studie wird von einem signifikanten Anstieg von Mikrokernen ab dem Alter von 40 berichtet [Nefic und Handzic, 2013]. Es scheint, dass die Häufigkeit von MNi bis zum 70. Lebensjahr ansteigt, wobei bei Frauen in dieser Altersgruppe ein höheres Vorkommen beobachtet wird. Bei Personen zwischen 70 und 100 Jahren pendelt sich das MNi-Vorkommen auf einem bestimmten Level ein, unabhängig vom Geschlecht. Dies deutet auf eine Art von Schwelle der Genominstabilität hin, welche im hohen Alter nicht mehr überschritten werden kann [Wojda et al., 2007]. Diese Ergebnisse stimmen mit denen unserer Studie überein, denn in der Altersgruppe der über 85-jährigen kommt es zu keinen signifikanten Veränderungen in Bezug auf das Vorkommen der Mikrokerne.

Dass Mikrokerne bei Frauen generell häufiger auftreten als bei Männern [Fenech und Bonassi, 2011] lässt sich durch die vorliegenden Daten bestätigen.

Innerhalb der „Active Ageing“-Studie wurde der Zusammenhang zwischen Polymorphismen und Mikrokernen leider nicht untersucht. Da der Rolle von genetischen Polymorphismen eine immer größere Rolle zugeschrieben wird, sollte die Untersuchung dieser in zukünftigen Studien mit einbezogen werden.

Daten bezüglich der Muskelkraft dem Gewicht der Probanden wurden innerhalb der Untersuchung erhoben, allerdings wurden diese zum momentanen Zeitpunkt vom Institut für Sportwissenschaften der Universität Wien noch nicht bereitgestellt.

Diese Daten geben einen ersten Ausblick auf die Endergebnisse dieser Studie und sie lassen hoffen, dass die Entstehung von Mutationen und Chromosomenschäden durch ein progressives Krafttraining im Alter reduziert werden können.

6. SCHLUSSBETRACHTUNG

Die Teilergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass ein progressives und regelmäßig durchgeführtes Krafttraining zu einer Verringerung von Mutationen im Alter führt. Es wird deutlich gemacht, wie wichtig körperliche Bewegung für den älteren Organismus ist.

Innerhalb der Trainingsgruppe konnte im ersten Studienjahr eine signifikante Reduktion der Mikrokerne beobachtet werden. Weiters konnten auch die anderen mittels CBMN-Assay untersuchten Parameter reduziert werden.

Die Ergebnisse der Kontrollgruppe lassen darauf schließen, dass der Gruppenkontakt und eine regelmäßige Betreuung ebenfalls zu einer Verbesserung bestimmter Parameter führen.

Dass es innerhalb der verschiedenen Altersgruppen zu keiner kontinuierlichen Reduktion der untersuchten Parameter kommt, könnte damit zu begründen sein, dass die Anzahl der Mikrokerne im Alter zwar generell ansteigt, es aber ab einem gewissen Alter zu keiner weiteren signifikanten Veränderung kommt.

Die Ergebnisse sind schwer mit denen anderer Studien zu vergleichen. Zwar wird auf diesem Gebiet geforscht, allerdings gibt es zum momentanen Zeitpunkt noch keine Studien, welche ein gezieltes Krafttraining in dieser Altersgruppe über einen so langen Zeitraum untersuchen. Es sind also weitere und vor allem länger durchgeführte Studien notwendig, um diese Ergebnisse zu sichern bzw. um herauszufinden, ob es im Alter zu einer Verbesserung der chromosomalen Stabilität und einer Verringerung von Mutationen kommt, wenn mit dem Krafttraining schon in jüngeren Jahren begonnen wird.

7. ZUSAMENFASSUNG

Der Anteil der Personen über 65 Jahre wird in Österreich bis zum Jahr 2030 auf 25% ansteigen. Die Anzahl der Personen über 80 wird sich in dem Selben Zeitraum um 50% steigern. Dieser weltweit beobachtete Trend wird aufgrund eines größeren Bedarfs an Hospitalisierung und/oder Institutionalisierung zu einer großen Belastung unseres Gesundheitssystems führen. Um dies zu verhindern und ein gesundes Altern zu ermöglichen ist es wichtig, bereits jetzt die richtigen Maßnahmen zu treffen.

Die Forschungsplattform „Active Ageing“ der Universität Wien erforscht momentan Parameter des Alterns um gesundheitsfördernde Gegenmaßnahmen zu untersuchen und zu bewerten.

Ziel dieser Masterarbeit war es, den Effekt eines progressiven einjährigen Krafttrainings auf die Entstehung von Mutationen bei älteren, institutionalisierten Personen zu untersuchen. Die Probanden, welche in Zusammenarbeit mit dem Kuratorium Wiener Pensionistenhäuser rekrutiert wurden, wurden randomisiert in folgende drei Gruppen eingeteilt: „Trainingsgruppe“, „Training und Ernährung“ und „Kognitionsgruppe“ (Kontrollgruppe). Die Gruppe „Training und Ernährung“ bekam zusätzlich zum Krafttraining ein Nahrungsergänzungsmittel (FortiFit), welches in der Prävention von Sarkopenie eine Hilfestellung geben soll.

Die Untersuchung des Blutes erfolgte mittels CBMN-Assay. Innerhalb der Trainingsgruppe konnte die Anzahl an Mutationen, gemessen an der Anzahl der Mikrokerne, innerhalb des ersten Studienjahres signifikant reduziert werden. Auch die weiteren Parameter des CBMN-Assays (Nekrosen, Apoptosen, NPBs und Nbuds) zeigten signifikante Veränderungen. Es gilt allerdings zu beachten, dass es sich bei den Ergebnissen dieser Arbeit hauptsächlich um die Werte der Trainingsgruppe handelt und dass noch nicht alle Daten zum Zeitpunkt T4 (12 Monate) vorliegen. Die Ergebnisse lassen aber darauf hoffen, dass dieser positive Trend fortgeführt wird.

8. SUMMARY

The number of people over 65 years will rise in Austria in 2030 up to 25% of the total population. In the same period, the number of people over 80 years of age will increase by 50%. Due to an increased need for hospitalization and/or institutionalization, this worldwide observed trend will soon lead to a large burden on our health system. To prevent this development and to allow healthy aging, it is important to take now the right measures.

The Research Platform "Active Ageing" at the University of Vienna is currently investigating parameters of ageing in order to examine and evaluate health-promoting countermeasures.

The aim of this thesis was to investigate the effect of a one year lasting progressive resistance training on the formation of mutations in elderly institutionalized persons. The subjects, who were recruited in collaboration with the "Kuratorium Wiener Pensionistenhäuser" were randomly divided into the following three groups: "training group", "training and nutrition" and "cognition group" (control group). The group "training and nutrition" received in addition to the strength training a supplement (FortiFit), which is intended to offer some help in the prevention of sarcopenia.

The examination of the blood was performed using CBMN assay. Within the training group, the number of mutations, measured by the number of micronuclei, is significantly reduced within the first study year. Also other parameters of the CBMN assay (necrosis, apoptosis, NPBs and Nbuds) showed also significant changes. However, it has to be considered, that not all data are available for T4 (after 12 month) and that the main target of this study was to investigate the results in the training group. The results, however give hope that this positive trend will continue.

9. LITERATURVERZEICHNIS

ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P. Molekularbiologie der Zelle. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2011; 1261 – 1277

ATTAIX, D., MOSONI, L., DARDEVET, D., COMBARET, L., MIRAND, P.P. AND GRIZARD, J. Altered responses in skeletal muscle protein turnover during aging in anabolic and catabolic periods. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37, 1962-1973.

BORI, Z., ZHAO, Z., KOLTAI, E., FATOUROS, I.G., JAMURTAS, A.Z., DOUROUDOS, I.I., TERZIS, G., CHATZINIKOLAOU, A., SOVATZIDIS, A., DRAGANIDIS, D., BOLDOGH, I. AND RADAK, Z. The effects of aging, physical training, and a single bout of exercise on mitochondrial protein expression in human skeletal muscle. *Exp Gerontol* 2012; 47, 417-424.

BOTTO, N., ANDREASSI, M.G., MANFREDI, S., MASETTI, S., COCCI, F., COLOMBO, M.G., STORTI, S., RIZZA, A. AND BIAGINI, A. Genetic polymorphisms in folate and homocysteine metabolism as risk factors for DNA damage. *Eur J Hum Genet* 2003; 11, 671-678.

CASPERSON, S.L., SHEFFIELD-MOORE, M., HEWLINGS, S.J. AND PADDON-JONES, D. Leucine supplementation chronically improves muscle protein synthesis in older adults consuming the RDA for protein. *Clin Nutr* 2012; 31, 512-519.

COOPER, C., DERE, W., EVANS, W., KANIS, J.A., RIZZOLI, R., SAYER, A.A., SIEBER, C.C., KAUFMAN, J.M., ABELLAN VAN KAN, G., BOONEN, S., ADACHI, J., MITLAK, B., TSOUDEROS, Y., ROLLAND, Y. AND REGINSTER, J.Y. Frailty and sarcopenia: definitions and outcome parameters. *Osteoporos Int* 2012; 23, 1839-1848.

CROTT, J.W. AND FENECH, M. Effect of vitamin C supplementation on chromosome damage, apoptosis and necrosis ex vivo. *Carcinogenesis* 1999; 20, 1035-1041.

CROTT, J.W., MASHIYAMA, S.T., AMES, B.N. AND FENECH, M. The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10, 1089-1096.

CROTT, J.W., MASHIYAMA, S.T., AMES, B.N. AND FENECH, M.F. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism does not alter folic acid deficiency-induced uracil incorporation into primary human lymphocyte DNA in vitro. *Carcinogenesis* 2001; 22, 1019-1025.

CRUZ-JENTOFT, A.J., BAEYENS, J.P., BAUER, J.M., BOIRIE, Y., CEDERHOLM, T., LANDI, F., MARTIN, F.C., MICHEL, J.P., ROLLAND, Y., SCHNEIDER, S.M., TOPINKOVÁ, E., VANDEWOUDE, M., ZAMBONI, M. AND PEOPLE, E.W.G.O.S.I.O. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* 2010; 39, 412-423.

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG, 2012
<http://www.dge.de/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=3&page=9>

DHILLON, V., THOMAS, P. AND FENECH, M. Effect of common polymorphisms in folate uptake and metabolism genes on frequency of micronucleated lymphocytes in a South Australian cohort. *Mutat Res* 2009; 665, 1-6.

DHILLON, V.S., THOMAS, P., IARMARCOVAI, G., KIRSCH-VOLDERS, M., BONASSI, S. AND FENECH, M. Genetic polymorphisms of genes involved in DNA repair and metabolism influence micronucleus frequencies in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis* 2011; 26, 33-42.

DUSINSKÁ, M., KAZIMÍROVÁ, A., BARANCOKOVÁ, M., BENO, M., SMOLKOVÁ, B., HORSKÁ, A., RASLOVÁ, K., WSÓLOVÁ, L. AND COLLINS, A.R. Nutritional supplementation with antioxidants decreases chromosomal damage in humans. *Mutagenesis* 2003; 18, 371-376.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc* 2007; 2, 1084-1104.

FENECH, M., BAGHURST, P., LUDERER, W., TURNER, J., RECORD, S., CEPPI, M. AND BONASSI, S. Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, beta-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability--results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. *Carcinogenesis* 2005; 26, 991-999.

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

FENECH, M. AND CROTT, J.W. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutat Res* 2002; 504, 131-136.

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

FIATARONE, M.A., O'NEILL, E.F., RYAN, N.D., CLEMENTS, K.M., SOLARES, G.R., NELSON, M.E., ROBERTS, S.B., KEHAYIAS, J.J., LIPSITZ, L.A. AND EVANS, W.J. Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people. *N Engl J Med* 1994; 330, 1769-1775.

GAZIEV, A.I., SOLOGUB, G.R., FOMENKO, L.A., ZAICHKINA, S.I., KOSYAKOVA, N.I. AND BRADBURY, R.J. Effect of vitamin-antioxidant micronutrients on the frequency of spontaneous and in vitro gamma-ray-induced micronuclei in lymphocytes of donors: the age factor. *Carcinogenesis* 1996 17, 493-499.

HUANG, P., HUANG, B., WENG, H., NAKAYAMA, K. AND MORIMOTO, K. Effects of lifestyle on micronuclei frequency in human lymphocytes in Japanese hard-metal workers. *Prev Med* 2009; 48, 383-388.

IARMARCOVAI, G., BONASSI, S., BOTTA, A., BAAN, R.A. AND ORSIÈRE, T. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature. *Mutat Res* 2008; 658, 215-233.

KOOPMAN, R. AND VAN LOON, L.J. Aging, exercise, and muscle protein metabolism. *J Appl Physiol* 2009; 106, 2040-2048.

MATEUCA, R.A., ROELANTS, M., IARMARCOVAI, G., AKA, P.V., GODDERIS, L., TREMP, A., BONASSI, S., FENECH, M., BERGÉ-LEFRANC, J.L. AND KIRSCH-VOLDERS, M. hOGG1(326), XRCC1(399) and XRCC3(241) polymorphisms influence micronucleus frequencies in human lymphocytes in vivo. *Mutagenesis* 2008; 23, 35-41.

NEFIC, H. AND HANDZIC, I. The effect of age, sex, and lifestyle factors on micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes of the Bosnian population. *Mutat Res* 2013; 753, 1-11.

RAGUSO, C.A., KYLE, U., KOSSOVSKY, M.P., ROYNETTE, C., PAOLONI-GIACOBINO, A., HANS, D., GENTON, L. AND PICHARD, C. A 3-year longitudinal study on body composition changes in the elderly: role of physical exercise. *Clin Nutr* 2006; 25, 573-580.

REICHHOLD, S., NEUBAUER, O., EHRLICH, V., KNASMÜLLER, S. AND WAGNER, K.H. No acute and persistent DNA damage after an Ironman triathlon. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17, 1913-1919.

RIEU, I., BALAGE, M., SORNET, C., GIRAUDET, C., PUJOS, E., GRIZARD, J., MOSONI, L. AND DARDEVET, D. Leucine supplementation improves muscle protein synthesis in elderly men independently of hyperaminoacidaemia. *J Physiol* 2006; 575, 305-315.

RIZZOLI, R., REGINSTER, J.Y., ARNAL, J.F., BAUTMANS, I., BEAUDART, C., BISCHOFF-FERRARI, H., BIVER, E., BOONEN, S., BRANDI, M.L., CHINES, A., COOPER, C., EPSTEIN, S., FIELDING, R.A., GOODPASTER, B., KANIS, J.A., KAUFMAN, J.M., LASLOP, A., MALAFARINA, V., MAÑAS, L.R., MITLAK, B.H., OREFFO, R.O., PETERMANS, J., REID, K., ROLLAND, Y., SAYER, A.A., TSOUDEROS, Y., VISSER, M. AND BRUYÈRE, O. Quality of Life in Sarcopenia and Frailty. *Calcif Tissue Int.* 2013

SCHIFFL, C., ZIERES, C. AND ZANKL, H. Exhaustive physical exercise increases frequency of micronuclei. *Mutat Res* 1997; 389, 243-246.

SHORT, K.R., VITTONI, J.L., BIGELOW, M.L., PROCTOR, D.N. AND NAIR, K.S. Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286, E92-101.

SMITH, G.I., ATHERTON, P., REEDS, D.N., MOHAMMED, B.S., RANKIN, D., RENNIE, M.J. AND MITTENDORFER, B. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2011; 93, 402-412.

SRAM, R.J., BINKOVA, B. AND ROSSNER, P. Vitamin C for DNA damage prevention. *Mutat Res* 2012; 733, 39-49.

STATISTIK AUSTRIA, 2013
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/bevoelkerung/demographische_prognosen/bevoelkerungsprognosen/

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

VILLAREAL, D.T., SMITH, G.I., SINACORE, D.R., SHAH, K. AND MITTENDORFER, B. Regular multicomponent exercise increases physical fitness and muscle protein anabolism in frail, obese, older adults. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19, 312-318.

WANG, Q., JI, F., SUN, Y., QIU, Y.L., WANG, W., WU, F., MIAO, W.B., LI, Y., BRANDT-RAUF, P.W. AND XIA, Z.L. Genetic polymorphisms of XRCC1, HOGG1 and MGMT and micronucleus occurrence in Chinese vinyl chloride-exposed workers. *Carcinogenesis* 2010; 31, 1068-1073.

WANG, Q., WANG, A.H., TAN, H.S., FENG, N.N., YE, Y.J., FENG, X.Q., LIU, G., ZHENG, Y.X. AND XIA, Z.L. Genetic polymorphisms of DNA repair genes and chromosomal damage in workers exposed to 1,3-butadiene. *Carcinogenesis* 2010; 31, 858-863.

WANG, X. AND FENECH, M. A comparison of folic acid and 5-methyltetrahydrofolate for prevention of DNA damage and cell death in human lymphocytes in vitro. *Mutagenesis* 2003; 18, 81-86.

WHO, 2013 <http://www.who.int/ageing/about/facts/en/index.html>

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

WU, J., LYONS, G.H., GRAHAM, R.D. AND FENECH, M.F. The effect of selenium, as selenomethionine, on genome stability and cytotoxicity in human lymphocytes measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Mutagenesis* 2009; 24, 225-232.

10. CURRICULUM VITAE

Persönliche Daten

Ariane Cremer, Bakk. rer. nat.

Geburtsdatum: 30. März 1989

Staatsbürgerschaft: Österreich

Familienstand: ledig

Ausbildung

09/1995 – 06/1999 Volksschule, Graf Starhembergasse, 1040 Wien

09/1999 – 06/2007 Bundesrealgymnasium Waltergasse (naturwissenschaftlicher Schwerpunkt)
> Maturaabschluss

10/2007 – 11/2011 Bakkalaureatsstudium Ernährungswissenschaften an der Universität Wien.

03/2010 – 06/2010 Ausbildung zur Nordic Walking Trainerin – mit ausgezeichnetem Erfolg absolviert

11/2011 – 09/2013 Masterstudium Ernährungswissenschaften an der Universität Wien

> Schwerpunkt „Molekulare Ernährung“

> Praktische Masterarbeit in der Arbeitsgruppe von Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl- Heinz Wagner zum Thema „Einfluss eines 12-monatigen Krafttrainings auf die Entstehung von Mutationen bei institutionalisierten SeniorInnen“

> September 2013: Abschluss des Masterstudiums

Berufserfahrung und Praktika

04/2012 – 07/2012 Praktikum an der Universität Wien – Institut für Ernährungswissenschaften

- > Ausfüllen und Bearbeiten von Befindlichkeits- und Ernährungsfragebögen
- > Aufbereitung von Blut
- > Betreuung diverser Analysegeräte
- > Literaturrecherche mittels wissenschaftlicher Datenbanken und Dateneingaben im Rahmen einer großen Erhebung

Kenntnisse und Qualifikationen

Sprachen > Englisch (fließend in Wort und Schrift)

Führerschein > Klasse B (ausgestellt 02/2008)

Programme > MS Office (sehr gut)

Wien, August 2013

Ariane Cremer

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, August 2013

Ariane Cremer