

Masterarbeit

Einfluss einer 18-monatigen Trainingsintervention auf oxidative DNA-Schäden bei institutionalisierten PensionistInnen

verfasst von
Eberhart Tanja, Bakk.rer.nat

angestrebter akademischer Grad
Master of Science (MSc)

Wien, 2014

Studienkennzahl lt. Studienblatt:	A 066 838
Studienrichtung lt. Studienblatt:	Masterstudium Ernährungswissenschaften
Betreut von:	Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
Anmerkungen	IX
1. Einleitung und Fragestellung	1
2. Literaturübersicht	2
2.1 Physische und physiologische Veränderungen des Alterns	2
2.2 Demographische Alterung der österreichischen Bevölkerung	4
2.3 Ernährungszustand im Alter	5
2.3.1 Anthropometrie	5
2.3.2 Fehlernährung	7
2.4 Altern und körperliche Aktivität	9
2.5 Ausgewählte Erkrankungen im Zusammenhang mit Altern	10
2.5.1 Sarkopenie	10
2.5.2 Osteoporose	12
2.5.3 Kachexie	14
2.5.4 Frailty-Syndrom	14
2.6 Theorie des oxidativen Stresses	15
2.6.1 Freie Radikale und reaktive Moleküle	17
2.6.2 Endogene enzymatische Abwehr	18
2.6.2.1 Superoxiddismutase	18
2.6.2.2 Glutathionperoxidase	19
2.6.2.3 Katalase	20
2.6.3 Endogene nicht-enzymatische Abwehr	20
2.6.3.1 Glutathion	20
2.6.3.2 Harnsäure	21
2.6.3.3 Bilirubin	21
2.6.4 Exogene Abwehr	22

2.6.4.1 Vitamin E	22
2.6.4.2 Carotinoide	23
2.6.4.3 Vitamin C	23
2.6.4.4 Ubichinon	24
2.6.5 Alterung durch oxidativen Stress	24
2.6.6 Einfluss von Training und Sport auf oxidativen Stress	26
2.7 Comet Assay	27
2.7.1 Grundlagen	27
2.7.2 Durchführung	29
3. Material und Methoden	31
3.1 Studiendesign	31
3.2 Ein- und Ausschlusskriterien	32
3.3 Interventionsgruppen	33
3.3.1 Trainingsgruppe	33
3.3.2 Gruppe Training + Supplement	34
3.3.3 Kognitionsgruppe	36
3.4 Materialien zur Aufbereitung der Proben mittels Comet Assay	36
3.4.1 Verwendete Chemikalien	36
3.4.2 Technische Geräte	37
3.4.3 Materialien	37
3.4.4 Lösungen	37
3.5 Durchführung	40
3.5.1 Beschichtung der Objektträger	40
3.5.2 Lymphozyten-Aufbereitung	41
3.5.3 Zellzahlbestimmung	42
3.5.5 Aufbringen der Proben auf die Objektträger	43
3.5.6 Behandlung mit H ₂ O ₂	44
3.5.7 Behandlung mit Lyse	44
3.5.8 Behandlung mit FPG	45
3.5.9 Alkalibehandlung und Elektrophorese	45
3.5.10 Neutralisation	46

3.5.11 Färbung	46
3.5.12 Auswertung	47
4. Ergebnisse und Diskussion	49
4.1 Datenauswertung	49
4.2 Studienpopulation zu Beginn der Studie	49
4.3 Ergebnisse nach 12-monatiger Intervention	53
4.3.1 Studienpopulation zum Zeitpunkt T4	53
4.3.2 Veränderungen der DNA-Schäden zum Zeitpunkt T4	57
4.3.2.1 Ergebnisse der Behandlung mit Lyse	57
4.3.2.2 Ergebnisse der Behandlung mit H ₂ O ₂	59
4.3.3.3 Ergebnisse der Behandlung mit FPG	61
4.4 Ergebnisse nach 18-monatiger Intervention	63
4.4.1 Studienpopulation zum Zeitpunkt T5	63
4.4.2 Veränderungen der DNA-Schäden zum Zeitpunkt T5	66
4.4.2.1 Ergebnisse der Behandlung mit Lyse	67
4.4.2.2 Ergebnisse der Behandlung mit H ₂ O ₂	69
4.4.2.3 Ergebnisse der Behandlung mit FPG	71
4.5 Diskussion	73
5. Schlussbetrachtung	76
6. Zusammenfassung	77
Summary	78
7. Literaturverzeichnis	79
8. Lebenslauf	88

Abbildungsverzeichnis

Abb.1: Faktoren zum gesunden Altern und Langlebigkeit	3
Abb.2: Multikausale Ätiologie der Sarkopenie	11
Abb.3: Durchführungsschema des Comet Assay (alkalische Variante)	30
Abb.4: Studienteilnehmer, Ausschlussverfahren, Interventionsgruppen	32
Abb.5: FortiFit Zutatenliste	34
Abb.6: Lymphozytenisolierung	42
Abb.7: Beschriftungsschema und Anordnung der Objektträger	43
Abb.8: Eingefärbte Zelle unter dem Mikroskop	47
Abb.9: Software gesteuerte Auswertung mittels Mikroskop	47
Abb.10: Probanden nach Alterskategorien (T1)	50
Abb.11: Probanden nach Interventionsgruppen (T1)	50
Abb.12: Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer (T1)	51
Abb.13: Altersverteilung der Probanden (T1)	52
Abb.14: Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer (T4)	53
Abb.15: Mittlerer Body Mass Index (BMI) in kg/m^2 (T4)	54
Abb.16: Probanden nach Alterskategorien (T4)	55
Abb.17: Probanden nach Interventionsgruppen (T4)	55
Abb.18: Altersverteilung der Probanden (T4)	56
Abb.19: DNA-Schaden nach Interventionsgruppe (Lyse T4)	57
Abb.20: DNA-Schaden nach Alterskategorie (Lyse T4)	58
Abb.21: DNA-Schaden nach Interventionsgruppe (H_2O_2 T4)	59
Abb.22: DNA-Schaden nach Alterskategorie (H_2O_2 T4)	60
Abb.23: DNA-Schaden nach Interventionsgruppe (FPG T4)	61
Abb.24: DNA-Schaden nach Alterskategorie (FPG T4)	62
Abb.25: Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer (T5)	63
Abb.26: Probanden nach Alterskategorie (T5)	64
Abb.27: Probanden nach Interventionsgruppen (T5)	65
Abb.28: Altersverteilung der Probanden (T5)	66
Abb.29: DNA-Schaden nach Interventionsgruppe (Lyse T5)	67
Abb.30: DNA-Schaden nach Alterskategorie (Lyse T5)	68

Abb.31: DNA-Schaden nach Interventionsgruppe (H ₂ O ₂ T5)	69
Abb.32: DNA-Schaden nach Alterskategorie (H ₂ O ₂ T5)	70
Abb.33: DNA-Schaden nach Interventionsgruppe (FPG T5)	71
Abb.34: DNA-Schaden nach Alterskategorie (FPG T5)	72

Tabellenverzeichnis

Tab.1: WHO-Klassifikation des Body-Mass-Index	5
Tab.2: Idealer Body-Mass-Index nach Alter und Geschlecht	7
Tab.3: Multifaktorialität der altersbedingten Mangelernährung	8
Tab.4: Kodierungsschema der Untersuchungszeitpunkte	33
Tab.5: D-A-CH Referenzwerte für die Energiezufuhr	34
Tab.6: Nährwerttabelle FortiFit und D-A-CH Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr	35
Tab.7: Verwendete Chemikalien	36
Tab.8: Verwendete Geräte	37
Tab.9: Verwendete Materialien	37
Tab.10: Geschlechterspezifische Verteilung der Probanden (T1)	51
Tab.11: Durchschnittliches Alter der Studienteilnehmer (T1)	52
Tab.12: Geschlechterspezifische Verteilung der Probanden (T4)	54
Tab.13: Durchschnittliches Alter der Studienteilnehmer (T4)	56
Tab.14: DNA-Schäden nach 12-monatiger Intervention (Lyse)	58
Tab.15: DNA-Schäden nach 12-monatiger Intervention (H ₂ O ₂)	60
Tab.16: DNA-Schäden nach 12-monatiger Intervention (FPG)	62
Tab.17: Geschlechterspezifische Verteilung der Probanden (T5)	64
Tab.18: Durchschnittliches Alter der Studienteilnehmer (T4)	65
Tab.19: DNA-Schäden nach 18-monatiger Intervention (Lyse)	68
Tab.20: DNA-Schäden nach 18-monatiger Intervention (H ₂ O ₂)	70
Tab.21: DNA-Schäden nach 18-monatiger Intervention (FPG)	72

Abkürzungsverzeichnis

8-OHdG	8-Hydroxy-2-deoxyguanosin
8-oxoG	8-oxo-7,8-dihydroguanin
A	Ampere
ATP	Adenosintriphosphat
BER	Base Excision Repair
BMI	Body Mass Index
BSA	bovines Serumalbumine
CAT	Katalase
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EN%	Energieprozent
ENDOIII	Endonuklease III
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FÄ	Folsäureäquivalent
FBS	fetales Kälberserum
FPG	formamidopyrimidine glycosylase
g	Gramm
GPx	Glutathionperoxidase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HCl	Salzsäure
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-piperaziny)-ethansulfonsäure
kcal	Kilokalorien
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
KOH	Kaliumhydroxid
L	Liter
LMA	Low Melting Agarose
m	Meter
m-	Milli-

M	Molmasse
min	Minute
MMS	Mini Mental State
NÄ	Nikotinäquivalent
NaCl	Natriumchlorid
NAD ⁺	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (oxidierte Form)
NADH	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (reduzierte Form)
NADPH	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NaOH	Natriumhydroxid
NMA	Normal Melting Agarose
PAL	Physical Activity Level
PARP-1	Poly(ADP-ribose)-Polymerase 1
PBMC	mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
RÄ	Retinoläquivalent
rcf	relative Zentrifugalbeschleunigung
RNS	reaktive Stickstoffspezies
RONs	reaktive Sauerstoff und Stickstoffspezies
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
rpm	Umdrehungen pro Minute
SOD	Superoxiddismutase
SPPB	Short Physical Performance Battery
TÄ	Tocopheroläquivalent
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
Triton-X	Polyethylenglycol-mono-[p-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenyl]-ether
V	Volt
WHO	World Health Organisation
μ-	Mikro-
%	Prozent
°C	Grad Celsius
*	signifikant ($\alpha \leq 0,05$)
**	hochsignifikant ($\alpha \leq 0,01$)

Anmerkungen

Aus Gründen der einfacheren Lesbarkeit wurde in der folgenden Arbeit die männliche Form für beide Geschlechter verwendet. Der Begriff „SeniorInnen“ und „PensionistInnen“ schließt sowohl die männliche, als auch die weibliche Form mit ein.

Da diese Masterarbeit im Rahmen einer zwei jährigen Studie der Plattform „Active Ageing“ geschrieben wurde, kann es zu inhaltlichen Überschneidungen mit meinen Kolleginnen kommen.

Demund Irina, Bakk. rer. nat.

Redlingshofer Irene, Bakk. rer. nat.

Arnold Bianca, MSc

Traxler Claudia, MSc

Prorentner Sarah, MSc

Spitzer Tanja, MSc

Wallner Marie-Luise, Bakk. rer. nat.

1. Einleitung und Fragestellung

Während der letzten Jahrzehnte unterlag die demographische Struktur aufgrund des medizinischen Fortschritts, aber auch aufgrund von Geburtenrückgängen in den meisten Industriestaaten, einem dramatischen Wandel [Reiners et al., 2013]. Laut Köhler und Leonhäuser (2008) werden 2050 30% der europäischen Bevölkerung über 65 Jahre alt sein [bmfg, 2013]. Da der Alterungsprozess wesentlich zur Entstehung zahlreicher Erkrankungen beiträgt, stellt die Überalterung der Bevölkerung eine enorme Belastung für das Gesundheits- und Sozialsystem dar [bmask, 2009]. Zur Prävention und Behandlung altersbedingter Erkrankungen und Beschwerden, sowie zur Verbesserung der Lebensqualität, ist das Verstehen der Alterungsmechanismen daher essentiell. Ein aktiver Lebensstil, gesunde Ernährung, sowie Zurückhaltung im Umgang mit potentiellen Schadstoffen, beugt nicht nur Erkrankungen vor, sondern verlangsamt den Alterungsprozess, erhöht die Lebensqualität und die Anzahl der Jahre der Selbstständigkeit ohne funktionelle Beeinträchtigungen. Auf molekularer Ebene nimmt oxidativer Stress im Zusammenhang mit dem Alterungsprozess und dem Auftreten chronischer Erkrankungen eine zentrale Rolle ein [Dato et al., 2013]. Im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“ in Kooperation mit Wiener Pensionistenwohnhäusern wurde der Einfluss bestimmter Lebensstilmodifikationen auf die Leistungsfähigkeit und Lebensqualität älterer Menschen anhand funktioneller und physiologischer Parameter erforscht. In dieser Arbeit werden altersassoziierte Veränderungen des Organismus im Zusammenhang mit Training und oxidativem Stress beschrieben. Speziell wird auf die Auswirkungen einer 18- beziehungsweise 12-monatigen Trainingsintervention auf DNA-Schäden eingegangen. Erfasst wurden Veränderungen mit Hilfe des Comet Assays, eine weitverbreitete Methode zur Detektion von DNA-Schäden und Reparaturmechanismen in Zellen und Geweben [Møller et al., 2010]. Damit soll die Frage geklärt werden, inwieweit der oxidative Status des menschlichen Genoms durch einen aktiven Lebensstil im Alter beeinflusst und somit das Risiko altersbedingter Erkrankungen reduziert werden kann.

2. Literaturübersicht

2.1 Physische und physiologische Veränderungen des Alterns

Der Alterungsprozess geht mit funktionellen Veränderungen physiologischer Parameter einher, welche das Risiko von Erkrankungen und Tod erhöhen. Das Verstehen der involvierten Mechanismen stellt derzeit ein intensiv behandeltes Forschungsgebiet dar. Bis heute haben sich unzählige Alterstheorien entwickelt. Oxidativer Stress, mitochondriale Dysfunktionen, Verkürzungen der Telomere, chronische Entzündung, Immunreaktionen, Verschlechterungen neuraler und endokriner Funktionen und Veränderungen der Genexpression werden dabei am häufigsten mit Altern und Seneszenz in Verbindung gebracht. Der Alterungsprozess an sich stellt dabei keine Krankheit dar, sondern einen natürlichen, unvermeidbaren sehr komplexen Vorgang [Tosato et al., 2007], resultierend aus einer graduellen, lebenslangen Akkumulation kaum merkbarer Schäden in Zellen und Geweben. Das individuelle Voranschreiten dieser Vorgänge wird zum einen durch genetische Faktoren festgelegt, jedoch scheinen auch Lebensstilfaktoren und der Ernährungsstatus maßgeblichen Einfluss zu haben. Derzeit wird davon ausgegangen, dass Langlebigkeit zu etwa 25% genetisch bedingt ist, die übrigen 75% können durch exogene Faktoren beeinflusst werden [Colterton et al., 2007]. Hormonell und lebensstilbedingt kommt es mit steigendem Alter zu Veränderungen der Körperzusammensetzung, der Anteil der mageren Körpermasse sinkt zugunsten der Fettmasse. Zudem neigen ältere Personen eher zu erhöhten Blutlipiden, sowie einer verschlechterten Insulinantwort [Salmon, 2012]. Darüber hinaus verringert sich die Sekretion an Wachstumshormonen, die Sensitivität auf Schilddrüsenhormone, sowie die Testosteronkonzentration und die Neigung zu Leptinresistenz steigt. Diese Faktoren führen unter anderem zu einer Verminderung des Grundumsatzes und der Proteinsynthese, als auch zur Verschlechterung der Appetitregulation [Kiefer et al., 2006; Villareal et al., 2005]. Sogenannte „Alterserkrankungen“ implizieren Erkrankungen, welche im

Alter häufiger auftreten und deren Manifestationsrisiko mit zunehmendem Alter steigt [bmask, 2009]. Dazu zählen beispielweise Diabetes mellitus, Alzheimer, koronare Herzerkrankungen, chronische respiratorische Erkrankungen oder Krebs, aber auch Alterserscheinungen wie Osteoporose oder Sarkopenie. Gerade chronische, nicht übertragbare Erkrankungen sind durch einen langandauernden schleichenden Verlauf bis zu deren Manifestation charakterisiert, der meist schon Jahrzehnte zuvor beginnt. Neben einer genetischen Prädisposition begünstigen ungesunde Lebensstilfaktoren die Entstehung vieler chronischer Erkrankungen maßgeblich. Fehlernährung, exzessiver Alkohol- und Tabakkonsum in Kombination mit Bewegungsmangel, Hypertonie und Übergewicht werden dabei an erster Stelle genannt [Reiner et al., 2013; Cornelius et al., 2013].

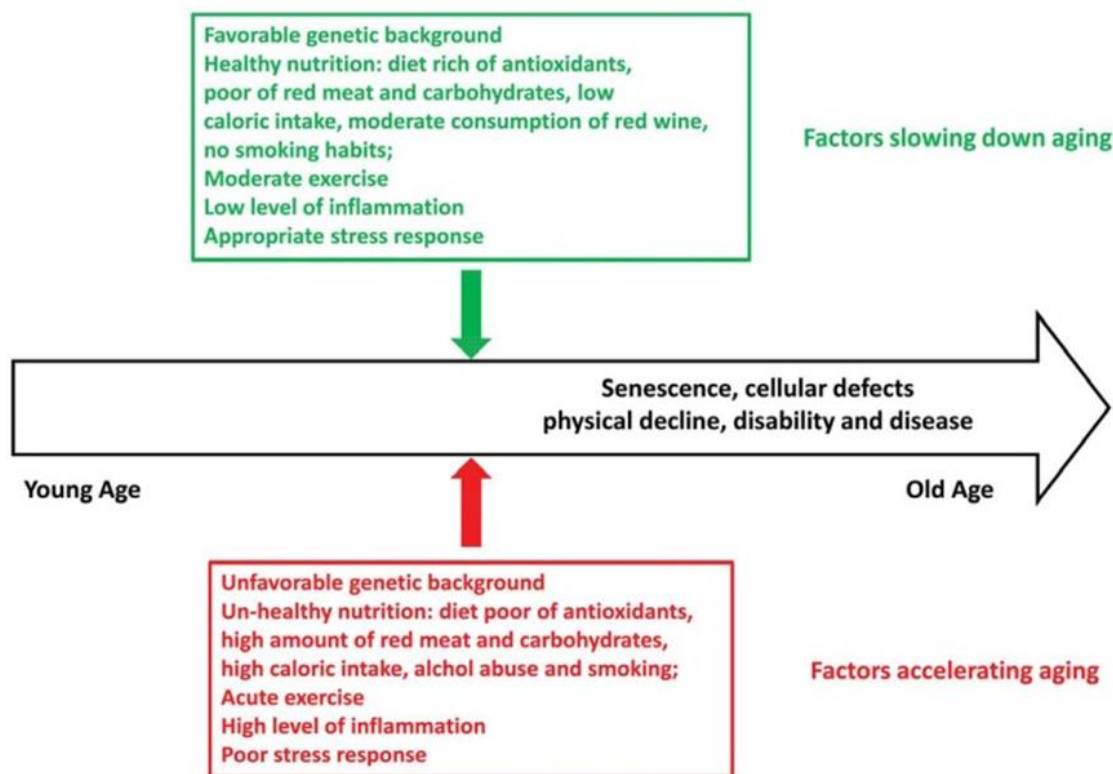


Abb.1: Schematische Darstellung der Einflussfaktoren zu Altern und Langlebigkeit [Dato et al., 2013]: Textteile in grün implizieren Faktoren, welche den Alterungsprozess verlangsamen und gesundes Altern begünstigen. Rote Textteile begünstigen den gegenteiligen Effekt und fördern die Entstehung nichtübertragbarer Erkrankungen.

Die Probleme des Alterungsprozesses werden durch Multimorbidität, also das gleichzeitige Auftreten oder Vorhandensein mehrerer Erkrankungen, erschwert. Abhängig von Untersuchung beziehungsweise Definition werden bei einem 70-Jährigen im Durchschnitt drei bis neun physisch oder psychisch beeinträchtigende Zustände gleichzeitig diagnostiziert. Dabei wird die unabhängige Multiplizität, im Sinne von Begleiterkrankungen, die keinen unmittelbaren kausalen Zusammenhang aufweisen, unterschieden von der abhängigen Multiplizität sich kausal beeinflussender Erkrankungen [bmask, 2009].

2.2 Demographische Alterung der österreichischen Bevölkerung

Die durchschnittliche Lebenserwartung der österreichischen Bevölkerung stieg in den letzten Jahrzehnten stark an. Seit 1970 erhöhte sich diese für Frauen um 10,1 Jahre, für Männer um 11,7 Jahre. Pro Dekade ergibt sich daraus ein durchschnittlicher Anstieg um 2,5 beziehungsweise 2,8 Jahre. Im Jahr 2011 betrug die Lebenserwartung der österreichischen Bevölkerung bei der Geburt für Frauen 83,4 Jahre, für Männer 78,1 Jahre [Statistik-Austria: Demographisches Jahrbuch 2011. November 2012]. Im Jahr 2010 betrug der Anteil der Jahre ohne chronische Erkrankungen bei Männern 72% (56,3 Jahre) und 77% (59,7 Jahre) ohne funktionelle Beeinträchtigungen, während diese Anteile bei Frauen bei 68% (56,7 Jahre) beziehungsweise 73% (60,7 Jahre) lagen [Elmadfa et al., 2012]. Zu Jahresbeginn 2012 waren 17,8% der österreichischen Bevölkerung 65 Jahre oder älter [Statistik Austria: Bevölkerungsstand 1.1.2012, August 2012]. In den letzten zehn Jahren stieg das Bevölkerungswachstum in Österreich um 4,7%, wobei sich die Zahl der ab 65-jährigen um 20,2% erhöhte. Besonders stark fiel der Zuwachs bei den Hochbetagten, ab 85 Jahren, aus. Herz-Kreislauf-Erkrankungen (42,3%) und Krebs (26,1%) sind mit 68,4% die häufigsten Todesursachen der österreichischen Bevölkerung, gefolgt von Erkrankungen der Atmungsorgane und des Verdauungstraktes. Insgesamt leiden Frauen häufiger an Herz-Kreislauf-Erkrankungen, jedoch seltener an Krebserkrankungen, sowie

Krankheiten der Atmungs- und Verdauungsorgane als Männer. Bei Männern ist die höchste Mortalität innerhalb der Krebserkrankungen bei Prostata-, Lungen- und Darmkrebs zu verzeichnen. Bei Frauen liegt die höchste Mortalität der Krebsarten bei Brust-, Darm- und Lungenkrebs. Lebensstilfaktoren, vor allem Tabakkonsum, Fehlernährung und körperliche Inaktivität, gelten als die wesentlichsten vermeidbaren Risikofaktoren chronischer Erkrankungen [Statistik Austria: Jahrbuch der Gesundheitsstatistik 2011, November 2012; Elmadfa et al., 2012].

2.3 Ernährungszustand im Alter

2.3.1 Anthropometrie

Als einfaches Maß zur Beurteilung des Körpergewichts, hat sich der Body-Mass-Index (BMI) durchgesetzt. Dabei werden Erwachsene je nach Verhältnis von Körpergröße zu Körpergewicht in die entsprechenden Klassifikationen eingestuft. Die genaue Körperzusammensetzung, sowie das Fettverteilungsmuster werden dabei jedoch nicht berücksichtigt. Bei Kindern wird der BMI mit alters- und geschlechtsspezifischen Referenzwerten verglichen [Dittrich, 2012].

Klassifikation	BMI (kg/m ²)
Untergewicht	<18,5
Normalgewicht	18,5 - 24,9
Übergewicht	> 25,0
Präadipositas	25 - 29,9
Adipositas I	30 - 34,9
Adipositas II	35 - 39,9
Adipositas III	≥ 40

Tab.1: WHO-Klassifikation des Body-Mass-Index Erwachsener [ÖGE].

Anhand großangelegter Bevölkerungsstudien konnte gezeigt werden, dass das Körpergewicht mit dem Alter tendenziell leicht ansteigt. Frauen wie Männer erreichen ihr Höchstgewicht durchschnittlich mit 50-59 Jahren, danach ist tendenziell wieder eine Abnahme zu beobachten [Villareal et al., 2005]. Dies ist unter anderem auf einen geringeren Energiebedarf, der zum einen aus einem sinkenden Aktivitätsniveau, zum anderen auf einen geringeren Grundumsatz durch den Verlust an Muskelmasse, resultiert, zurückzuführen. Jedoch darf die altersbedingte Zunahme an Körpermasse nicht zwangsläufig als gesundheitsschädlich fehlinterpretiert werden, da ein höheres Gewicht im Alter möglicherweise biologische Vorteile mit sich bringt. Anhand verschiedener Studien konnte festgestellt werden, dass ältere Personen, welche anhand der WHO-Klassifikation als leicht übergewichtig eingestuft wurden, die höchste Lebenserwartung aufwiesen [Dittrich, 2012]. Bei langwierigeren Krankheiten, Appetitmangel oder Phasen verminderter Nahrungszufuhr kommt es bei diesen Senioren zu weniger Komplikationen, da der Energiebedarf durch die vorhandenen Reserven gedeckt werden kann [Elmadfa et al., 2012]. Im Gegensatz zu leichtem Übergewicht ist Adipositas jedoch mit erhöhter Morbidität und Mortalität verbunden und ein bedeutender Risikofaktor für eine Reihe an Erkrankungen. Dazu gehören beispielweise chronische Erkrankungen wie Diabetes mellitus Typ 2, kardiovaskuläre Erkrankungen oder einige hormonabhängige Krebserkrankungen. Aber auch Osteoarthritis, Hyperurikämie, Gicht, Atemprobleme, Schlafapnoe, Dyslipidämie, Gallenblasenerkrankungen, Bluthochdruck, sowie Probleme des Bewegungsapparates werden mit Adipositas assoziiert [Kiefer et al., 2006]. Zudem ist das Risiko für medizinische Komplikationen deutlich erhöht. Eine moderate Gewichtsabnahme bei adipösen Senioren in Verbindung mit körperlicher Aktivität und adäquater Ernährungsmodifikation trägt zur Verbesserung der Lebensqualität und der körperlichen Funktionen bei [Villareal et al., 2005]. Jedoch wird eine Gewichtsabnahme bei älteren Personen nicht immer empfohlen. Dies trifft speziell auf Hochbetagte und ältere Personen zu, welche bereits an chronischen internistischen Komorbiditäten, wie Niereninsuffizienz oder Mangelernährung leiden [bmfg, 2013].

Altersgruppe	wünschenswerter BMI		Spanne
Jahre	Frauen	Männer	
19-24	19,5	21,4	19-24
25-34	23,2	21,6	20-25
35-44	23,4	22,9	21-26
45-54	25,2	25,8	22-27
55-64	26	26	23-28
≥65	27,3	26,6	24-29

Tab.2: Idealer Body-Mass-Index nach Alter und Geschlecht, modifiziert nach [ÖGE und Dittrich, 2012].

2.3.2 Fehlernährung

Grundsätzlich werden unter dem Begriff Fehlernährung drei Unterscheidungen getroffen. Unterernährung beschreibt einen Zustand mit verringerten Energiespeichern, Mangelernährung wird mit krankheitsassoziiertem Gewichtsverlust oder Proteinmangel in Verbindung gebracht und ein spezifischer Mangel bedingt die Unterversorgung an essentiellen Nährstoffen. Häufig tritt eine Überschneidung der verschiedenen Formen der Fehlernährung auf. Mit zunehmendem Alter nimmt das Risiko ernsthafte Ernährungsdefizite zu entwickeln zu. Während jüngere Senioren eher zu Übergewicht mit qualitativen Nährstoffmängeln tendieren, liegt bei Hochbetagten häufiger ein quantitativer Nährstoffmangel vor. Die Genese der Mangelernährung verläuft meist multifaktoriell, hat jedoch gravierende negative Auswirkungen auf den Gesundheitsstatus der Betroffenen. Oft geht diese mit einer Verschlechterung der Lebensqualität, vorzeitigem Verlust der Unabhängigkeit, sowie erhöhter Morbidität und Mortalität einher [bmfask, 2009; bmfg, 2013].

körperliche Probleme	Kauprobleme
	Schluckbeschwerden
	Behinderung
	eingeschränkte Mobilität
geistige/psychische Verfassung	Demenz
	Verwirrtheit
	psychische Probleme
soziale/finanzielle Situation	Einsamkeit
	Armut
	Unzufriedenheit mit dem Heimplatz
Gesundheitszustand	Erkrankung
	Schmerzen
	Medikamente

Tab.3: Multifaktorialität der altersbedingten Mangelernährung [bmfg, 2013].

Unter Heranziehung des BMI bei Verwendung des alters- und geschlechtsspezifischen Normbereichs für Personen ab 65 Jahren, werden laut aktuellem österreichischen Ernährungsbericht rund ein Drittel der 65 bis 84-jährigen als übergewichtig oder adipös klassifiziert. Bei Frauen liegt der Anteil mit 37% höher als bei Männern mit 27,5%. In dieser Alterskategorie wiesen etwa 59% einen zu hohen Körperfettanteil auf und 49% einen erhöhten Taillenumfang. In Österreich wird bei Personen im Alter von 65 bis 80 die Zufuhr von Calcium, β -Carotin, Vitamin D und Zink als kritisch betrachtet, da über 20% erniedrigte Statuswerte aufweisen. 5-20% der untersuchten Senioren weisen Mängel an Vitamin B₆, Vitamin B₁₂, Eisen und Folsäure auf. Zudem wird die wünschenswerte Zufuhr an Ballaststoffen nicht erreicht. Im Allgemeinen ernähren sich die österreichischen Pensionisten zu fettreich, wobei vor allem die Aufnahme an gesättigten Fettsäuren deutlich über dem Referenzwert liegt. Auch die Aufnahme an Natrium aus Kochsalz ist zu hoch, wodurch Parameter des Knochenstoffwechsels, sowie die Kaliumhomöostase negativ beeinträchtigt werden könnten. Bei 63% der Seniorinnen und 77% der Senioren liegt diese sogar bei über 10 Gramm pro Tag, der Höchstwert sollte laut DGE jedoch bei 6 Gramm täglich liegen [Elmadfa et al., 2012].

2.4 Altern und körperliche Aktivität

Die Tatsache, dass körperliche Aktivität für Personen aller Altersklassen einen gesundheitlichen Nutzen bringt, die Gesamtmorbidität verringert und sich positiv auf die Lebenserwartung auswirkt, ist mittlerweile unumstritten. Im Allgemeinen verbessert regelmäßige körperliche Aktivität Kondition und die Lebensqualität, was selbst auf sehr alte und gebrechliche Menschen zutrifft [Villareal et al., 2005]. Dies ist vor allem auf eine Optimierung der Stoffwechsellage, Senkung der Insulinresistenz, Blutdrucksenkung und Verringerung der Gesamtfettmasse zurückzuführen. Auch Patienten mit zugrundeliegenden Erkrankungen, wie koronare Herzkrankheit, Diabetes mellitus, rheumatische Erkrankungen oder Krebs, profitieren von Bewegung und Training. Als Mittel zur Sturzprophylaxe kommt dem Krafttraining, dem Kraftausdauertraining, sowie dem Koordinationstraining größere Bedeutung zu, als dem isolierten Ausdauertraining. Da spezielles Krafttraining dem Erhalt der Knochendichte, der Erhöhung der Muskelmasse, sowie der Verbesserung der Muskelkraft dient, stellt dies einen wesentlichen Therapie- und Präventionsbestandteil der Osteoporose und Sarkopenie dar. Daneben kommt es zu einer Verbesserung der Gelenksfunktion und einer signifikanten Schmerzreduktion arthritisch veränderter Gelenke. Aber auch kognitive Funktionen und Wohlbefinden werden durch regelmäßige körperliche Aktivität aufrechterhalten oder sogar verbessert [bmack, 2009]. Laut aktuellen Richtlinien zur körperlichen Bewegung sollen ältere Personen mindestens 150 Minuten pro Woche moderat bis intensiv aerob körperlich aktiv sein und zumindest an zwei Tagen der Woche muskel- und knochenkräftigende Übungen durchführen [Kowalski et al., 2012]. Zum Erreichen eines präventiven und rehabilitativen Benefits empfiehlt die American Heart Association älteren Personen ein Krafttraining, das 8-10 große Muskelgruppen involviert, zu je 10-15 Wiederholungen an 2 Tagen der Woche [Pollock et al., 2000]. Personen mit Osteoarthritis wird eine Kombination aus Beweglichkeitstraining (statisches Stretchen drei- bis fünfmal pro Woche), Krafttraining (isometrisches und isotonisches Training zwei- bis dreimal pro Woche) und Ausdauertraining (Minimum 20 bis 30 Minuten drei- bis fünfmal pro

Woche) empfohlen [bmask, 2009]. Zur Vermeidung von Verletzungen und Schäden am Bewegungsapparat sollte das Training mit moderater Intensität, Dauer und Häufigkeit begonnen, und langsam gesteigert werden [Villareal et al., 2005]. Diese Empfehlungen sind auch für ältere Personen mit gewissen körperlichen Einschränkungen gültig, sollen jedoch in Abhängigkeit vom Bewegungsvermögen und den spezifischen gesundheitlichen Risiken individuell angepasst werden [Titze et al., 2012]. Trotz dieser Empfehlungen und dem Wissen über Vorteile körperlicher Aktivität, zeigen zahlreiche Studien, dass die Mehrheit älterer Personen körperlich inaktiv ist und die Bereitschaft zu Bewegung mit zunehmendem Alter sinkt [Kowalski et al., 2012]. Auch das Bewegungsverhalten der österreichischen Bevölkerung entspricht nicht den Bewegungsempfehlungen und der Stellenwert körperlicher Aktivität nimmt mit dem Alter kontinuierlich ab. Als körperlich „aktiv“ werden Personen eingestuft, die an mindestens drei Tagen der Woche durch sportliche Aktivität ins Schwitzen kommen. Nach diesen Kriterien sind etwa ein Drittel der österreichischen Männer (32%) und knapp ein Viertel der Frauen (23%) in ihrer Freizeit aktiv. Laut der Gesundheitsbefragung 2006/2007 kommen 23,1% der Männer ab 75 Jahren mindestens einmal in der Woche durch körperliche Aktivität ins Schwitzen (im Vergleich zu 60,3% aller Männer), bei den gleichaltrigen Frauen waren es lediglich 9,9% (im Vergleich zu 48,7% aller Frauen) [Statistik Austria: Österreichische Gesundheitsbefragung 2006/2007].

2.5 Ausgewählte Erkrankungen im Zusammenhang mit Altern

2.5.1 Sarkopenie

Der altersbedingte progressive Verlust an Muskelmasse verbunden mit geringer Muskelkraft wird als Sarkopenie bezeichnet. Die Auswirkungen der Sarkopenie am Muskel können mit jenen der Osteoporose am Knochen oder mit jenen der Demenz im Gehirn verglichen werden. Mechanismen, die an der Entstehung

der Sarkopenie mitwirken sind unter anderem die Proteinsynthese, die Proteolyse, die neuromuskuläre Integrität und der muskuläre Fettgehalt. Unabhängig von der Proteinaufnahme führt der Alterungsprozess an sich zu einer verminderten Syntheserate an Muskelprotein und zu vermehrtem Muskelkatabolismus. Die Ätiologie dieser Erkrankung ist häufig multifaktoriell, trotzdem wird Sarkopenie aufgrund der Ursachen in verschiedene Kategorien eingeteilt. Die primäre Sarkopenie tritt aufgrund des Alterungsprozesses ein, es liegt keine andere Ursache vor. Der sekundären Sarkopenie liegen entweder aktivitätsbedingte oder krankheitsbedingte Faktoren zu Grunde. Zu ersteren zählt vor allem Bewegungsmangel, letztgenannte inkludieren beispielweise Hormonstörungen, entzündliche Erkrankungen, Krebs, sowie Organfunktionsstörungen an Leber, Niere, Lunge, Gehirn oder Herz. Ernährungsbedingte Sarkopenie resultiert aufgrund einer unzureichenden Energie- oder Proteinaufnahme, Malabsorption, gastrointestinalen Störungen oder der Einnahme bestimmter anorexigen wirksamer Medikamente [Cruz-Jentoft et al., 2010]. Ältere Personen nach langer krankheitsbedingten Bettlägerigkeit sind von Muskelschwund besonders stark gefährdet [Evans, 2010].

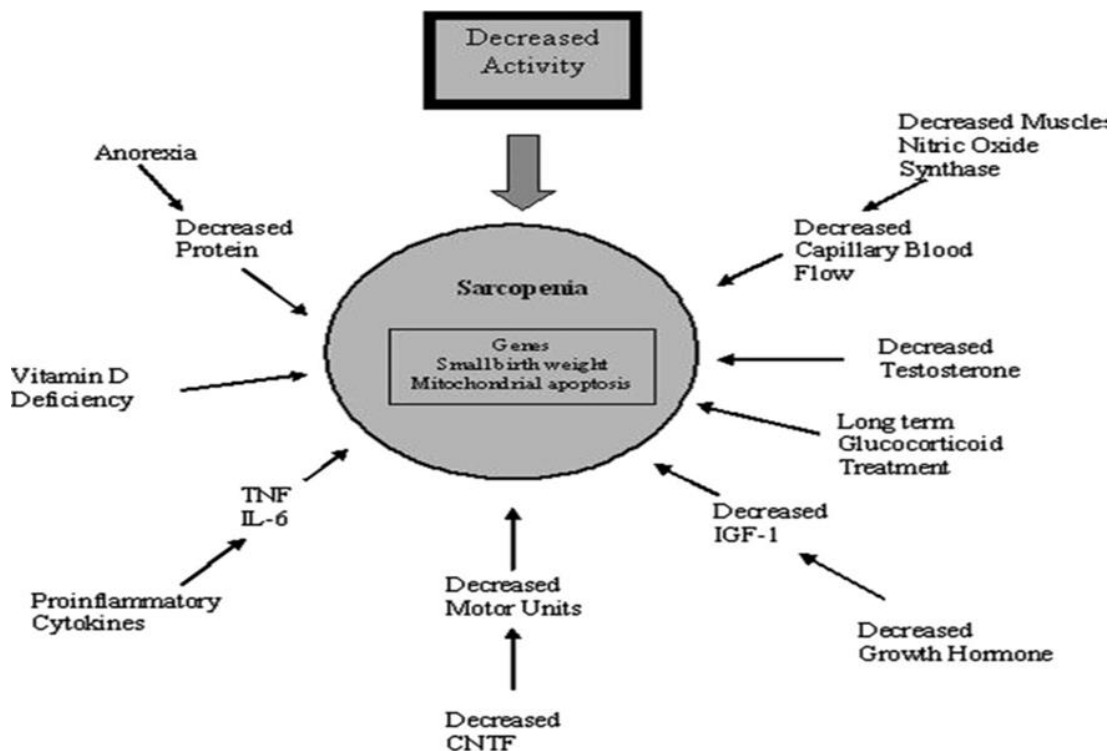


Abb.2: Multikausale Ätiologie der Sarkopenie [Morley, 2012].

Bei der sarkopenischen Adipositas kommt es neben dem Verlust an Muskelmasse zu einer vermehrten Einlagerung von Fett- und Bindegewebe zwischen den Muskelzellen, wobei sich das Körpergewicht kaum verändert. Folglich erhöht sich der Körperfettanteil auf Kosten der mageren Körpermasse. Veränderungen der muskulären Zusammensetzung und Einlagerung von Fettgewebe vermindert die Qualität und somit auch das Leistungsvermögen des Muskels, fördern chronische Entzündungsreaktionen und negative Veränderungen im Hormonhaushalt. Im Allgemeinen werden durch Vorliegen von Adipositas muskelabbauende Vorgänge verstärkt [Cruz-Jentoft et al., 2010; Vincent et al., 2012]. Im Vergleich zu älteren Personen mit isolierter Sarkopenie oder Adipositas, wiesen Personen mit sarkopenischer Adipositas ein erhöhtes Risiko für Behinderungen und Stürze auf [bmfast, 2009]. Der altersbedingte Muskelschwund ist weit verbreitet und erfordert enormen personellen und finanziellen Aufwand. Es wird geschätzt, dass etwa 5% der 65-jährigen Personen an Sarkopenie leiden. Bei der Personengruppe ab 80 Jahren ist bereits jeder zweite betroffen [Morley, 2012]. Da die Muskulatur für die Aufrechterhaltung der Mobilität von großer Bedeutung ist und dem menschlichen Organismus zudem als Proteinreservoir oder in speziellen Situationen als Energiequelle dient, führt Sarkopenie in weiterer Folge zu Gebrechlichkeit und Invalidität. Neben einem erhöhten Sturzrisiko besteht bei Sarkopenie ein erhöhtes sekundäres Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko [Cesari et al., 2012].

2.5.2 Osteoporose

Das menschliche Skelett unterliegt während des Lebens ständigen Umbauprozessen. Mit steigendem Alter fällt die Bilanz zwischen der Bildung neuer Knochensubstanz und der Entfernung alten Knochengewebes jedoch zunehmend ins Negative. Es wird mehr Knochensubstanz ab-, als aufgebaut [Manolagas & Parfitt, 2010]. Osteoporose, oder Knochenschwund, beschreibt einen Zustand geringer Knochendichte und einem Verfall der Mikroarchitektur

des Knochengewebes. Aufgrund dessen verliert der Knochen an Festigkeit und wird brüchig, der Patient unterliegt einem erhöhten Frakturrisiko [Honig et al., 2013]. Im Alter resultiert dies vor allem aufgrund der Reduktion der Osteoblasten, der Knochenaufbauenden Zellen, durch verminderte Osteoblastogenese und erhöhte Apoptoserate [Manolagas, 2010]. Wenngleich Osteoporose als typische Frauenkrankheit betrachtet wird, sind die Mortalitäts- und Morbiditätsraten bei älteren Männern höher, da Folgen und Konsequenzen häufig unterschätzt und nicht behandelt werden [Rao et al., 2010]. Obwohl eine Verminderung der Peak Bone Mass bereits ab der 30. Lebensdekade beobachtet wird, werden knochenabbauende Prozesse mit zunehmendem Alter durch die verminderte Synthese an Sexualhormonen verstärkt [Almeida, 2012]. Höhere BMI-Werte gehen mit höherer Knochendichte, vermindertem Knochenmasseverlust und vermindertem Osteoporose Risiko einher, was zum einen auf die gesteigerte Konzentration anabol wirksamer Hormone auf den Knochen, beispielweise Östrogen, Leptin und Insulin, zum anderen auf die gewichtsbedingte erhöhte mechanische Beanspruchung auf das Skelettsystem zurückzuführen ist. Zudem dient das zusätzliche Fettgewebe als Dämpfung bei Stürzen [Villareal et al., 2005]. Zu den Nährstoffen mit dem größten physiologischen Einfluss auf den Knochenmetabolismus zählen vor allem Kalzium, Vitamin D, anorganisches Phosphat und Protein [Bonjour et al., 2013]. Jedoch wird die Aufnahme von Vitamin D und Kalzium der österreichischen Bevölkerung, nicht nur bei Senioren, sondern auch bei Schulkindern und Erwachsenen, als kritisch betrachtet [Elmadfa et al., 2012]. Lebensstilfaktoren, welche sich negativ auf die Knochendichte auswirken, sind vor allem ein hoher Alkohol- und Tabakkonsum, aber auch physische Inaktivität. Regelmäßiges körperliches Training erhöht nicht nur die Peak Bone Mass bei Kindern und Jugendlichen, sondern fördert auch den Erhalt der Knochenmasse bei Erwachsenen und Senioren. Krafttraining wirkt sich dabei besonders positiv aus [Saravi & Sayegh, 2013].

2.5.3 Kachexie

Kachexie, krankhafte starke Abmagerung, ist ein komplexes metabolisches Syndrom und wird vor allem bei älteren Personen als komplexe Begleiterscheinung zu Erkrankungen, wie Krebs, Niereninsuffizienz oder Kardiomyopathie beobachtet. Weitere klinische Ursachen können Malabsorption, chronische Infektion, Neoplasie, Hyperthyreose, Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), kardiologische Dekompensation, Depression oder Demenz sein. Bei Kachexie stehen katabole Prozesse im Vordergrund, häufig werden diese mit Entzündungsprozessen, Insulinresistenz, Anorexie und einer Verminderung anabol wirksamer Hormone in Verbindung gebracht. In weiterer Folge führt dies zu einer Verminderung der Muskelproteinsynthese, als auch zur Erhöhung des Muskelabbaus und somit zum Verlust an Muskelmasse mit oder ohne Verlust an Fettmasse. Im Vergleich zu einer normalen Gewichtsreduktion aufgrund hypokalorischer Kost, geht Kachexie mit einem stark beschleunigten Verlust an Muskelmasse einher. Die meisten kachektischen Patienten leiden daher an Sarkopenie, allerdings sind sarkopenische Personen nicht zwangsläufig kachektisch [Cruz-Jentoft et al., 2010; Evans, 2010].

2.5.4 Frailty Syndrom

Frailtysyndrom, oder Gebrechlichkeitssyndrom resultiert aufgrund eines kumulativen altersbedingten Verfalls über mehrere physiologische Systeme hinweg. Neben physischen Einschränkungen kommen hierbei noch psychologische und soziale Aspekte hinzu [Cruz-Jentoft et al., 2010]. Frailty geht mit dem Auftreten von Gebrechlichkeit, Hinfälligkeit, Autonomieverlust bis hin zur Pflegebedürftigkeit einher. Es kommt zu komplexen Kombinationen mehrerer der Symptome, wie Schwachheit, Müdigkeit, Gleichgewichtsstörungen, ungewolltem Gewichtsverlust oder Einbußen

kognitiver Funktionen. Bei der Entstehung des Gebrechlichkeitssyndroms nehmen Verluste an Muskelkraft und –aktivität, Knochensubstanz sowie chronische Unterernährung zentrale Rollen ein. Die Prävention von Muskel- und Knochenmasseverlust sind daher zum Erhalt oder zur Verbesserung der physischen und psychischen Lebensqualität älterer Personen unerlässlich. Körperliches Training, Ausdauer-, als auch Krafttraining, nehmen dabei eine bedeutende Rolle ein [bmfg, 2013; bmfask, 2009].

2.6 Theorie des oxidativen Stresses

Oxidativer Stress entsteht durch ein Ungleichgewicht zwischen der Entstehung oxidativ wirksamer Moleküle und der Aktivität antioxidativ wirksamer Mechanismen [Salmon et al., 2012]. Die endogene antioxidative Abwehr kann in nicht-enzymatische Mechanismen, wie zum Beispiel Harnsäure, Glutathion, Bilirubin, Thiole oder Albumin, und enzymatische Mechanismen, wie Superoxid-Dismutase (SOD), Glutathion-Peroxidase (GPx) und Katalase (CAT), eingeteilt werden. Für die exogene Abwehr ist eine adäquate Zufuhr an bestimmten Vitaminen und bioaktiven Inhaltsstoffen aus der Nahrung essentiell [Dato et al., 2013]. Länger andauernder oxidativer Stress kann zu oxidativen Schäden an Zellbestandteilen, wie Proteinen, Lipiden und Nukleinsäuren, aber auch an der DNA führen [Cobley et al., 2013]. Zudem kann es zu Veränderungen der Genexpression kommen, welche die Apoptose in gesunden Zellen und systemische Entzündungsreaktionen in Geweben fördern. Dauerhafte Verschiebungen des Redox-Gleichgewichts stehen mit funktionellen und physiologischen Veränderungen, der Beschleunigung des Alterungsprozesses, Verschlechterungen der Membranintegrität und mit der Pathophysiologie zahlreicher chronischer Erkrankungen, wie Diabetes mellitus, Arteriosklerose, Demenz, Bluthochdruck oder Krebs, in engem Zusammenhang [Dato et al., 2013; Brand, 2010; Tosato et al., 2007]. Aufgrund der Reaktivität und kurzen Halbwertszeit reaktiver Moleküle ist deren direkte Messung in lebenden Organismen mit Hilfe spezieller Techniken zwar möglich, aber sehr schwierig

durchzuführen. Als Alternative wird der oxidative Status daher anhand indirekter Messungen stabilerer molekularer Produkte, welche durch Reaktionen zwischen reaktiven Molekülen und bestimmten Biomolekülen entstehen, durchgeführt [Il'yasova et al., 2012]. Kriterien, die ein Biomarker zur Beurteilung des oxidativen Status unter anderem erfüllen sollte sind leichte Detektierbarkeit und Erfassbarkeit in biologischen Proben, sowie chemische Stabilität und relativ lange Halbwertszeiten. Zudem sollten Biomarker von anderen zellulären Prozessen unbeeinflusst bleiben und keinen zirkadianen oder täglichen Schwankungen unterliegen. Veränderungen der Biomarker sollten mit dem Grad des oxidativen Stresses korrelieren [Finsterer, 2012; Powers & Jackson, 2008]. Dazu werden meist stabile Metabolite, wie Nitrat/Nitrit, oder Oxidationsprodukte an Biomolekülen herangezogen [Fisher-Wellman & Bloomer 2009; Il'yasova et al., 2012]. Zur Beurteilung der Lipidperoxidationen beim Menschen eignen sich beispielweise Isoprostan, Malondialdehyd (MDA), Thiobarbitursäure, konjugierte Diene (CD), oxidiertes LDL (oxLDL) oder Lipidhydroperoxide (LOOH). Proteincarbonyle (PC), einzelne oxidierte Aminosäuren oder Nitrotyrosin (NT) dienen der Bestimmung oxidierter Proteine. Oft wird der Status oxidierter Nukleinsäuren bestimmt, dazu dient 8-Hydroxy-2-deoxyguanosin (8-OHdG) im Urin oder oxidierte DNA-Basen und Strangbrüche [Fisher-Welman & Bloomer, 2009]. 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoG) gilt dabei als einer der am häufigsten verwendeten Marker, der mit der Entstehung altersbedingter Erkrankungen und dem Alterungsprozess assoziiert wird [Radak & Boldogh, 2010; Radak et al., 2010]. Zudem kann der oxidative Status auch anhand der antioxidativen Kapazität des Abwehrsystems gemessen werden. Untersuchungsmethoden der antioxidativen Kapazität inkludieren beispielweise Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC), Total Antioxidant Status (TAS), Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP), Total Radical Trapping Antioxidant Parameter (TRAP) oder Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) [Fisher-Welman & Bloomer, 2009].

2.6.1 Freie Radikale und reaktive Moleküle

Freie Radikale sind Moleküle, Atome oder Ionen, welche mindestens ein ungepaartes Elektron in der äußersten Schale besitzen. Aufgrund dessen sind diese Atomverbindungen sehr instabil und reaktiv, weshalb sie Schädigungen und Oxidationen an Biomolekülen verursachen können [Powers & Jackson, 2008; Cannizzo et al., 2012]. Obwohl eine Vielzahl verschiedener Klassen freier Radikale existiert, sind jene, aus Sauerstoff oder Stickstoff stammend für lebende Organismen am bedeutendsten. Der Begriff reaktive Sauerstoffspezies (ROS, reactive oxygen species) fasst sowohl Sauerstoffradikale selbst, beispielweise Superoxidanion-Radikale ($\text{O}_2^{\bullet-}$), Hydroxylradikale ($\bullet\text{OH}$), Peroxylradikale ($\text{HOO}\bullet$) als auch nichtradikalische hoch reaktive Sauerstoffderivate, wie Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$), zusammen. Ebenso verhält es sich mit reaktiven Stickstoffverbindungen (RNS, reactive nitrogen species), wie Stickstoffmonooxid ($\text{NO}\bullet$), welches mit Superoxidanionen zu Peroxynitrit (ONOO^-) reagiert. Zusammenfassend werden beide Begriffe als RONS (reactive oxygen and nitrogen species) bezeichnet [Fisher-Wellman & Bloomer, 2009]. Da freie Radikale innerhalb biologischer Systeme Kettenreaktionen auslösen, treten auch zahlreiche andere reaktive Spezies als Teil dieser Reaktionen auf [Powers & Jackson, 2008]. ROS können durch externe Quellen, wie radioaktive Strahlung, ultraviolettes Licht und Schadstoffbelastung, einschließlich Zigarettenrauch entstehen, aber auch während endogener metabolischer Prozesse, wie der Zellatmung, der immunologischen Abwehr oder Entzündungsreaktionen. Besonders bedeutsam ist dabei die oxidative Phosphorylierung im Zuge der Oxidation von Nährstoffen zu Adenosintriphosphat (ATP) im Mitochondrium. Während der dabei stattfindenden Elektronentransportkette wird ein Teil des molekularen Sauerstoffs unvollständig reduziert, was zur Bildung von RONS führt [Dato et al., 2013; Il'yasova et al., 2012]. Reaktive Spezies können aber auch in anderen Zellkompartimenten durch Nikotinamid-Adenine-Dinukleotid-Phosphat (NADPH)-Oxidase, Cyclooxygenase, Lipoxygenase und weitere Enzyme

entstehen [Almeida, 20120]. Da diese Vorgänge allerdings ununterbrochen in jeder Zelle stattfinden, haben sauerstoffabhängige Lebewesen ein komplexes antioxidativ wirksames Schutzsystem zur Neutralisation von RONS entwickelt, um sich selbst gegen oxidative Schäden zu schützen [Ogawa et al., 2008]. In sauerstoffverbrauchenden Zellen herrscht daher ständig ein bestimmtes Redox-Gleichgewicht zwischen der Produktion an RONS, sowie deren Eliminierung, welches zur Optimierung der Zellfunktion von großer Bedeutung ist und einer exakten Regulation unterliegt [Fisher-Wellman & Bloomer, 2009]. Obwohl RONS zytotoxische Eigenschaften besitzen, stellen diese wichtige Signalmoleküle bei verschiedenen physiologischen Adaptionsmechanismen dar [Tong et al., 2013]. So sind freie Radikale beispielsweise an der Synthese von Prostaglandinen und Thromboxanen, aber auch an Immunreaktionen beteiligt [Staruchova et al., 2008; Licastro et al., 2005]. Zusammenfassend sind RONS nicht potentiell schädlich, zum reibungslosen Ablauf physiologischer Prozesse und zur Prävention altersbedingter Erkrankungen ist die effiziente Entfernung reaktiver Spezies zur Aufrechterhaltung des Redox-Gleichgewichts jedoch unabdingbar [Fisher-Wellman & Bloomer, 2009].

2.6.2 Endogene enzymatische Abwehr

Die wichtigsten antioxidativ wirksamen Enzyme sind Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPx) und Katalase (CAT). Des Weiteren dienen auch Enzyme wie Peroxiredoxin, Glutaredoxin und Thiorodoxin-Reduktase dem zellulären Schutz vor Oxidationen [Powers & Jackson, 2008].

2.6.2.1 Superoxiddismutase

SOD zählt zu den bedeutendsten intrazellulären Enzymen, da es das am häufigsten auftretende freie Radikal, das Superoxidanion, entschärft und als eines der ersten zellulären Abwehrsysteme fungiert. SOD reduziert Superoxide sowohl im Zytosol, als auch im Mitochondrium zu H_2O_2 und molekularem

Sauerstoff [Alzoghaibi, 2013]. In Säugerzellen existieren 3 Isoformen der SOD (SOD-1, SOD-2, SOD-3). Während SOD-3 extrazellulär auftritt, sind SOD-1 und SOD-2 intrazellulär lokalisiert. Im aktiven Zentrum besitzen alle Formen ein Redox-aktives Übergangsmetall, um den Abbau der Superoxid-Anionen zu katalysieren. SOD-1 liegt im Zytosol und im mitochondrialen Zwischenraum vor, erfordert Kupfer und Zink als Cofaktoren. SOD-2 benötigt Mangan und ist in der mitochondrialen Matrix lokalisiert. Auch SOD-3 verbraucht Kupfer und Zink, liegt aber im Extrazellularraum. Obwohl Superoxide nicht hochtoxisch sind, können sie Elektronen aus biologischen Membranen oder anderen Zellkomponenten entreißen, wodurch radikale Kettenreaktionen gestartet werden können. Superoxid-Radikale sind zudem an der Bildung von Hydroxyl-Radikalen beteiligt und reagieren mit Stickstoffmonoxid zu Peroxynitrit. Die Verteilung der SOD Isoenzyme, sowie deren Aktivität schwankt je nach Gewebe, können jedoch, beispielweise durch körperliches Training, modifiziert werden [Powers & Jackson, 2008]. Mängel an den Spurenelementen Kupfer, Mangan und Zink beeinträchtigen die Aktivität der SOD [Ebermann & Elmadfa, 2008].

2.6.2.2 Glutathionperoxidase

GPx enthält im aktiven Zentrum 4 Selenatome in Form proteingebundener Selenocysteine. Die für diese Peroxidase notwendigen Elektronen stammen aus Glutathion (GSH), ein Tripeptid aus Glutaminsäure, Cystein und Glycin. Während der Reaktion wird Glutathion zu Glutathion-Disulfid (GSSG) oxidiert [Ebermann & Elmadfa, 2008]. In Säugetieren wurden bislang 5 Glutathionperoxidasen (GPx-1 bis GPx-5) identifiziert. Alle diese Enzyme katalysieren die Reduktion von H_2O_2 oder anderen organischen Peroxiden, wie Hydroperoxid oder Lipidperoxid, zu Wasser und Alkohol. Der Unterschied der Isoformen liegt vor allem in der Substratspezifität und der zellulären Lokalisation. Neben dem Schutz vor Zellschäden durch RONS an Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren, dienen einige Isoformen der GPx auch der metabolischen Regulation. Um die Funktion der GPx aufrecht zu erhalten, muss GSH zur Bereitstellung von Elektronen aus GSSG regeneriert werden. Dies

wird durch das flavinabhängige Enzym Glutathion-Reduktase bewerkstelligt, wobei NADPH verbraucht wird. Ähnlich der SOD, variiert auch die Konzentration und die Aktivität der GPx je nach Gewebe und kann durch bestimmte Reizsetzungen modifiziert werden [Powers & Jackson, 2008].

2.6.2.3 Katalase

Menschliche Katalasen sind Homotetramere und enthalten einen Porphyrinring mit Eisen im aktiven Zentrum, ähnlich dem Häm im Hämoglobin. Die Katalase übt verschiedenste Funktionen aus, die wesentlichste ist aber die Reduktion von H_2O_2 zu Wasser und molekularem Sauerstoff [Powers & Jackson, 2008]. Die Aktivität der Katalase ist im Vergleich zu jener der SOD und der GPx relativ gering [Alzoghaibi, 2013].

2.6.3 Endogene nicht-enzymatische Abwehr

In Zellen existiert eine Vielzahl nicht-enzymatischer Antioxidantien. Zu den bedeutendsten zählen unter anderem Glutathion (GSH), Harnsäure oder Bilirubin [Powers & Jackson, 2008].

2.6.3.1 Glutathion

GSH ist ein Tripeptid bestehend aus Glutaminsäure, Cystein und Glycin. Es liegt in nahezu jeder Zelle in hohen Konzentrationen vor, diese variiert jedoch in Abhängigkeit des Gewebes und deren Funktion stark. Hauptsyntheseort liegt in der Leber, wobei der Transport zu den Geweben über den Blutkreislauf erfolgt. Für die Entgiftung toxischer Substanzen in Phase 2 Biotransformationen ist GSH von großer Bedeutung, aber auch als Antioxidans ist es besonders effizient und gilt vor allem in Muskelzellen zu den bedeutendsten nicht enzymatischen antioxidativ wirksamen Mechanismen. Durch Aufnahme eines Wasserstoffatoms ist GSH in der Lage direkt mit einer Vielzahl an Radikalen zu

reagieren. Des Weiteren dient GSH als Substrat der Glutathionperoxidase zur Eliminierung von H_2O_2 und organischen Hydroperoxiden. Zudem ist GSH an der Reduktion anderer zellulärer Antioxidantien, wie Vitamin C und E, beteiligt [Finsterer, 2012; Powers & Jackson, 2008].

2.6.3.2 Harnsäure

Harnsäure ist ein Nebenprodukt des Purinstoffwechsels und als niedermolekulares Antioxidans wirksam. Bei physiologischem pH-Wert liegt Harnsäure fast zur Gänze als Urat, dem Salz der Harnsäure, vor. Als Radikalfänger ist Harnsäure vor allem gegen Peroxylradikale, Hydroxylradikale und Singulett-Sauerstoff besonders wirksam. Darüber hinaus bildet Urat Komplexe mit Metallen, wie Eisen und Kupfer, wodurch die Katalyse der Fenton-Reaktion oder fentonähnliche Reaktionen durch Hydroxylradikale in Geweben verhindert wird [Powers & Jackson, 2008].

2.6.3.3 Bilirubin

Bilirubin ist das Endprodukt des Hämabbaus. Zunächst spaltet die Hämoxygenase den Hämring zur Bildung von Biliverdin. Dieses wird anschließend durch Biliverdinreduktase zu Bilirubin reduziert. Obwohl sowohl Biliverdin als auch Bilirubin reduzierend wirken, gilt letzteres als eines der wirksamsten körpereigenen antioxidativen Systeme, vor allem gegen Peroxylradikale und Wasserstoffperoxid. Es wird angenommen, dass Bilirubin dabei selbst zu Biliverdin oxidiert und anschließend durch Biliverdinreduktase zu Bilirubin recycelt wird [Powers & Jackson, 2008].

2.6.4 Exogene Abwehr

Auch mit der Nahrung werden zahlreiche antioxidativ wirksame Verbindungen aufgenommen. Viele von ihnen sind ebenso essentielle Vitamine und für einen funktionierenden Metabolismus unerlässlich. Besonders bedeutsam sind dabei Tocopherole, Ascorbinsäure, Carotinoide und eine Reihe weiterer sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe. Die Hauptquelle stellen dabei pflanzliche Lebensmittel, allen voran Obst und Gemüse, sowie Pflanzenöle dar [Fischer-Wellman & Bloomer, 2009; Bergström et al., 2012].

2.6.4.1 Vitamin E

Vitamin E fasst aktive Verbindungen der Tocopherole beziehungsweise Tocotrienole zusammen. Diese Verbindungen sind fettlöslich und durch einen 6-Chromanol-Ring charakterisiert. Unterschiede der einzelnen Verbindungen betreffen die Anzahl und Stellung der Methylgruppen am aromatischen Ring und die Anzahl der Doppelbindungen der isoprenoiden Seitenkette. Für die antioxidative Wirksamkeit dieses Vitamins ist eine phenolische Hydroxylgruppe in Stellung 6 am Chromanolring essentiell, die vor allem Lipide und lipophile Substanzen vor Oxidationen schützt. Wichtigster physiologischer Reaktionspartner Vitamin E ähnlicher Substanzen ist Ascorbinsäure, da diese die prooxidative Wirkung oxidierter Tocopherole aufhebt [Ebermann & Elmadfa, 2008]. α -Tocopherol besitzt die höchste physiologische Aktivität im menschlichen Organismus und stellt eine wichtige Komponente des antioxidativ wirksamen Abwehrsystems dar, da es vor allem dem Abbruch radikalischer Kettenreaktionen in Zellmembranen dient. Zudem spielt es bei der Genexpression eine bedeutende Rolle [Powers & Jackson, 2008].

2.6.4.2 Carotinoide

Carotinoide sind eine weit verbreitete Gruppe lipophiler Pflanzenfarbstoffe, die im menschlichen Organismus vor allem in Membranen verschiedener Gewebe lokalisiert sind. Die wichtigsten Vertreter sind β -Carotin, α -Carotin, Lycopin, β -Cryptoxanthin, Lutein und Zeaxanthin. Die antioxidative Kapazität der Carotinoide basiert auf deren chemischer Struktur, welche aus langen Ketten konjugierter Doppelbindungen besteht und dem Schutz vor Lipidperoxidationen dient. Vor allem Superoxid- und Peroxyl-Radikale, aber auch viele weitere RONS, können besonders gut entschärft werden. Des Weiteren dienen Carotinoide als Vorstufe von Retinol [Ebermann & Elmadfa, 2008; Powers & Jackson, 2008].

2.6.4.3 Vitamin C

Die antioxidative Wirksamkeit der Ascorbinsäure liegt in der Reduktion von molekularem Sauerstoff oder radikalischen Verbindungen zu Wasser während des Elektronentransfers. Im Gegensatz zu Vitamin E und den Carotinoiden ist Vitamin C wasserlöslich. Bei physiologischen pH-Werten liegt Vitamin C hauptsächlich als Ascorbat-Anion vor, welches im menschlichen Gewebe weit verbreitet ist. Als Antioxidans dient Vitamin C zum einen als Radikalfänger, vor allem gegen Superoxid-, Hydroxyl- und Lipidhydroperoxid-Radikale. Zum anderen spielt Ascorbinsäure eine bedeutende Rolle bei der Wiederverwertung von Vitamin E, indem es oxidierte Tocopherole regeneriert. Während diesem Prozess entstehen Semiascorbyl-Radikale, welche durch Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) - Semiascorbyl-Reduktase oder zelluläre Thiole, wie GSH oder Dihydrolipoensäure, zurück zu Vitamin C reduziert werden können. Bei fehlender Koppelung mit anderen Redox-Partnern kann Ascorbinsäure auch direkt mit molekularem Sauerstoff reagieren und somit prooxidativ wirken. Bei dieser Reaktion übt die Anwesenheit von Schwermetallen katalytische Funktionen aus. Harnsäure schützt Vitamin C vor der Oxidation indem sie

Schwermetallionen komplexiert und deren katalytischen Wirkung somit entgegenwirkt [Ebermann & Elmadfa, 2008].

2.6.4.4 Ubichinon

Ubichinon ist ein Derivat des para-Benzochinons mit einer langen isoprenoiden Seitenkette als Rest, die je nach Nahrungsquelle zwischen 6-10 Isopreneinheiten variiert. Eine andere Bezeichnung für Ubichinon ist Vitamin Q. Der menschliche Organismus bevorzugt Ubichinon mit 10 Isoprenresten, daher Q₁₀, dessen Synthese in der Zelle stattfindet. Ubichinon dient als Elektronenakzeptor und somit auch als Antioxidans. Nach der Aufnahme eines Elektrons entsteht ein Ubichinonradikal, eine weitere Reduktion führt zum Ubihydrochinon. Dadurch kann beispielsweise oxidiertes Tocopherol regeneriert werden. In vitro kann Ubichinon eine Lipidperoxidation verhindern, in vivo ist die Wirksamkeit dieses Antioxidans noch nicht vollständig geklärt. Physiologisch bedeutsam ist Ubichinon als Bestandteil der mitochondrialen Elektronentransportkette. Bei der Regeneration der oxidierten Form von Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD⁺) aus NADH kommt Ubichinon eine Schlüsselfunktion zu, da es Elektronen von NADH aufnimmt und auf Metallenzyme überträgt. Durch Anreicherung von NADH oder Verarmung an NAD⁺ im Organismus verschiebt sich das elektrochemische Potenzial, wodurch viele NAD⁺-abhängige Stoffwechselprozesse nicht mehr reibungslos stattfinden können. Unter anderem ist dadurch die Decarboxylierung der Brenztraubensäure blockiert, wodurch es zur Anreicherung von Milchsäure und anderen Metaboliten kommt [Ebermann & Elmadfa, 2008].

2.6.5 Alterung durch oxidativen Stress

Als eine von vielen Hypothesen scheint die Theorie des Alterns durch freie Radikale nach *Harman* (2003) weitgehend Akzeptanz in der Forschung zu finden. Es mehren sich Hinweise, dass oxidativer Stress im Zusammenhang mit

Altern eine der Ursachen für Inflammation, Adipositas assoziierte Insulinresistenz und Sarkopenie darstellt. Der altersbedingte oxidative Stress resultiert aus einem Ungleichgewicht zwischen der Produktion freier Radikale und deren antioxidativen Abwehr zugunsten ersterer. Ergänzt wurde diese Annahme durch die Theorie des mitochondrialen Alterns [Tosato et al., 2007; Vincent et al., 2012]. Diese Hypothese basiert auf der Tatsache, dass sauerstoffverbrauchende Zellen im Zuge der mitochondrialen Elektronentransportkette ständig ROS produzieren. Nicht eliminierte reaktive Moleküle schädigen jedoch Bestandteile der Mitochondrien, wodurch die ROS Produktion steigt und die Durchlässigkeit der Membranen verschlechtert wird. Mitochondriale Dysfunktionen tragen wesentlich zur Akkumulation von Oxidationsprodukten, DNA-Schäden sowie Mutationen bei, wodurch der Alterungsprozess, sowie das Entstehen altersbedingter Erkrankungen begünstigt werden [Dato et al., 2013; Cobley et al., 2013; Brand, 2010]. Oxidativer Stress steht zudem mit chronischen Entzündungsprozessen, Apoptose und Zellalterung in Zusammenhang [Marin et al., 2013]. Das Alter zeigt eine positive Korrelation mit oxidierten DNA-Basen [Tosato et al., 2007]. Unter den DNA-Basen oxidiert Guanin besonders leicht, weshalb der Akkumulation von 8-oxo-7,8-dehydroguanin (8-oxoG) in Zusammenhang mit oxidativem Stress und dem Entstehen altersbedingter Erkrankungen besondere Bedeutung zukommt. Die Akkumulation von 8-oxoG entsteht jedoch nicht kontinuierlich mit steigendem Alter, sondern erhöht sich in den meisten Geweben abrupt [Radak & Boldogh, 2011]. Zudem scheint die Stressantwort und somit auch die Toleranz gegenüber oxidativem Stress mit zunehmendem Alter an Effektivität zu verlieren. Unter Stressantwort versteht man die Fähigkeit der Einleitung entsprechender regulatorischer Prozesse als Reaktion auf oxidativen Stress. Diese beinhaltet nicht nur die Aktivität verschiedener endogener und exogener antioxidativ wirksamer Abwehrmechanismen, sondern auch die gezielte Modifikation der Genexpression und spezifischer Signalkaskaden [Dato et al., 2013; Cannizzo et al., 2012]. Konzentrationen an Entzündungsmarkern, wie C-reaktives Protein (CRP), Tumor Nekrose Faktor α (TNF- α) oder Interleukin-6 (IL-6) korrelieren mit dem Alterungsprozess und

einigen chronische Erkrankungen, sowie etwa Gewebsverlust [Ogawa et al., 2008].

2.6.6 Einfluss von Training und Sport auf oxidativen Stress

Es ist bereits hinreichend bekannt, dass regelmäßige sportliche Aktivität zahlreiche Vorteile für die Gesundheit mit sich bringt und dem Entstehen chronischer Erkrankungen vorbeugt. Zu intensive, unregelmäßige körperliche Anstrengung kann jedoch die Bildung freier Radikale so massiv steigern, dass es zu Zellschäden kommt. Eine erhöhte Sauerstoffaufnahme, Autoxidation der Katecholamine, Aktivierung entzündlicher Zellen aufgrund von Muskelschäden und Hypoxie, sowie ischämische Schäden sind dabei bedeutende Faktoren. Durch exzessive sportliche Betätigung kann es neben strukturellen Schäden des Muskelgewebes aber auch zur Freisetzung von Zytokinen, akute Phasen Proteinen und zur Aktivierung oder Hemmung bestimmter zellulärer Immunreaktionen kommen. Neben oxidativem Stress sind dafür weitere Faktoren, wie metabolische und hormonelle Veränderungen, sowie thermische Belastungen verantwortlich [Wagner et al., 2011; Neubauer et al., 2008]. Derzeit kann eine kurzfristige übermäßige Entstehung prooxidativ wirksamer Moleküle resultierend aus exzessivem aerobem oder anaerobem Training jedoch nicht mit einem erhöhten Risiko für chronische Erkrankungen oder altersbedingten Dysregulationen in Zusammenhang gebracht werden. Dagegen scheint ein bestimmtes Maß an oxidativem Stress für physiologische Adaptionen notwendig zu sein und dient als Signal zur Einleitung wichtiger Mechanismen, wie beispielsweise der Glykogenresynthese, der Bildung von Myokinen, Immunreaktionen oder der Ökonomisierung antioxidativ wirksamer Mechanismen, welche die Akkumulation von DNA-Schäden verhindern und so Mutationen reduzieren [Cobley et al., 2013; Tong et al., 2013], ähnlich anderer physiologischer Anpassungsreaktionen, wie beispielsweise Muskelhypertrophie oder verbesserte Kapillarisation nach trainingswirksamen Reizen. Die trainingsbedingte Erhöhung der antioxidativ wirksamen Kapazität bedingt nicht

nur eine verbesserte RONS-Elimination nach sportlicher Belastung, sondern auch eine Ökonomisierung des Redox-Gleichgewichts im Allgemeinen [Fisher-Wellman & Bloomer, 2009]. Basierend auf einer U-förmigen Relation zwischen Gesundheit und Sport kommt das Modell der Hormesis zu tragen [Neubauer et al., 2011; Cornelius et al., 2013]. Neben Dauer, Intensität, Umfang und der allgemeinen körperlichen Verfassung sind die Genetik, das Alter, sowie die Nährstoffversorgung weitere bedeutende Einflussfaktoren auf sport-induzierte Anpassungsreaktionen der antioxidativen Kapazität [Tong et al., 2013; Fisher-Wellman & Bloomer, 2009]. Laut *Radak et al.* (2011) sank beispielweise der Pegel an 8-oxo-7,8-dihydroguanin (8-oxoG) bei älteren aktiven Personen nach einer Trainingseinheit kurz nach Beendigung wieder auf das Grundniveau vor der sportlichen Betätigung. Allerdings blieb 8-oxoG bei Personen mit inaktivem Lebensstil bis 24 Stunden nach Ende der Trainingseinheit erhöht. Die Autoren begründen dies mit Anpassungsregulationen des Enzyms Base Excision Repair (BER) bei älteren trainierten Personen, welche gentoxischen Stress somit besser tolerieren [Radak et al., 2011]. Aufgrund der Reduktion proapoptotischer Bedingungen, kann dies beispielweise auch den Erhalt der Muskelmasse begünstigen und die Anzahl an Patienten mit altersbedingter Sarkopenie somit vermindert werden [Cobley et al., 2013].

2.7 Comet Assay

2.7.1 Grundlagen

Der Comet Assay, auch Single Cell Gel Elektrophoresis (SCGE) genannt, ist eine einfache, rasche und sensible Methode, um Schädigungen an der DNA eukaryotischer Zellen zu detektieren [Collins, 2004; Horvathova et al., 2004]. Unter alkalischen Bedingungen können mit Hilfe des Comet Assays Einzel- und Doppelstrangbrüche an der DNA und alkali-unbeständige Stellen detektiert werden. Grundprinzip dieser Methode beruht auf der Migration beschädigter

DNA im elektrischen Feld, wodurch kometenartige Abbildungen entstehen. Die im Schweiß gemessene relative Menge an DNA-Bruchstücken repräsentiert die Häufigkeit an DNA-Strangbrüchen. Um oxidierte Purine und Pyrimidine zu messen, werden die isolierten DNA-Stränge mit läsionsspezifischen Enzymen, wie formamidopyrimidine glycosylase (FPG) und endonuclease (ENDO III) behandelt [Wagner et al., 2011], wodurch die Schäden zu Strangbrüchen konvertieren [Horvathova et al., 2004]. Aufgrund der einfachen Anwendung, hohen Zuverlässigkeit und Empfindsamkeit, trotz der geringen Kosten und dem Einsatz von wenig Probenmaterial, hat sich diese Methode zur Detektion von DNA-Schäden in den letzten Jahrzehnten zum Mittel der Wahl entwickelt. Zudem wird der Comet Assay aufgrund seiner vielfältigen Einsetzbarkeit und zahlreichen Anwendungsmöglichkeiten sehr geschätzt. Neben der Grundlagenforschung der Mechanismen von DNA-Schäden und DNA-Reparatur, wird der Comet Assay beispielweise auch zur Abschätzung der Gentoxizität bestimmter Umweltchemikalien, in der molekularen Epidemiologie, im Biomonitoring bei Menschen und in der Ökotoxikologie angewandt. Dadurch kann diese Methode wertvolle Informationen zur Gesundheitsförderung liefern, speziell bei der Risikoidentifizierung und Abschätzung umweltbedingter Einflüsse und dem Verstehen verschiedener Krankheitsmechanismen. Zahlreiche Zelltypen, wie primäre Kulturen, Zelllinien, Gewebekulturen und Lymphozyten können zur Anwendung des Comet Assay aufbereitet werden. Humane Lymphozyten sind dabei leicht zu isolieren und werden als repräsentativ für den Gesamtstatus des Organismus betrachtet [Azqueta et al., 2009]. Grundlegende Prinzipien des Comet Assay wurden 1984 erstmals von *Östling und Johanson* (1984) veranschaulicht. Diese basierten auf pH-Werten von unter 10. Wenige Jahre später entwickelte sich diese Methode in zwei voneinander unabhängigen Varianten weiter. *Singh et al.* (1988) wandte bei seiner 1988 entwickelten Version sehr hohe pH Werte (>13) an. Die Methode nach *Olive et al.* (1989) fand unter leicht alkalischen beziehungsweise neutralen Bedingungen statt [Collins, 2004; Dusinska und Collins, 2008]. Zu Zwecken des Biomonitorings und zur Untersuchung der Gentoxizität hat sich das Protokoll

der alkalischen Variante als optimale Version durchgesetzt [Moeller et al., 2000; Hartmann et al., 2004].

2.7.2 Durchführung

Nach der Zellisolierung werden diese mit Agarose vermischt und auf einen beschichteten Objektträger pipettiert. Mittels hoher Salzkonzentrationen und alkalischen Detergentien werden die Zellbestandteile und die Zellkernwand aufgelöst, sodass ein Nukleoid mit entwundener DNA-Struktur entsteht [Collins, 2004]. Während der Elektrophorese wandern die negativ geladenen DNA-Bruchstücke unter Einfluss eines elektrischen Feldes aus den Nukleoiden zur Anode [Ersson & Möller, 2011]. Nach der Neutralisation und dem Waschvorgang der Proben wird die zelluläre DNA durch eine passende Färbung der Zellen im Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht. Der Nachweis oxidativer Schäden ist mit Hilfe bestimmter Enzymbehandlungen möglich. So können beispielweise mittels ENDO III oxidierte Pyrimidine, vor allem Cytosin-Hydrate und mittels FPG oxidierte Purine, vor allem 8-oxo-7,8-dihydroguanin (8-oxoG), festgestellt werden [MØller et al., 2000]. In der DNA ist Guanin speziell an Position 8 für oxidative Angriffe besonders empfindsam. 8-oxoG ist promutagen wirksam und einer der am häufigsten verwendeten Marker zur Beurteilung oxidativer Schäden [Bergström et al., 2012]. Für die Enzymbehandlungen wird die DNA nach der Verweildauer in der Lyse mit den läsionsspezifischen Enzymen inkubiert, wodurch an den oxidierten Stellen Brüche entstehen, die in der anschließenden Elektrophorese ebenfalls aus dem Nukleoid wandern [Collins et al., 1997]. Die Behandlung mit H₂O₂ vor der Lyse dient der Beurteilung der Stressresistenz der Zellen gegenüber exogenen Faktoren [Azqueta et al., 2009]. Parameter, welche die DNA-Migration, und somit das Ergebnis, stark beeinflussen sind die Dichte der Agarose, die Dauer der Enzymbehandlung, der „unwinding-Phase“, sowie der Elektrophorese [Ersson & Möller, 2011].

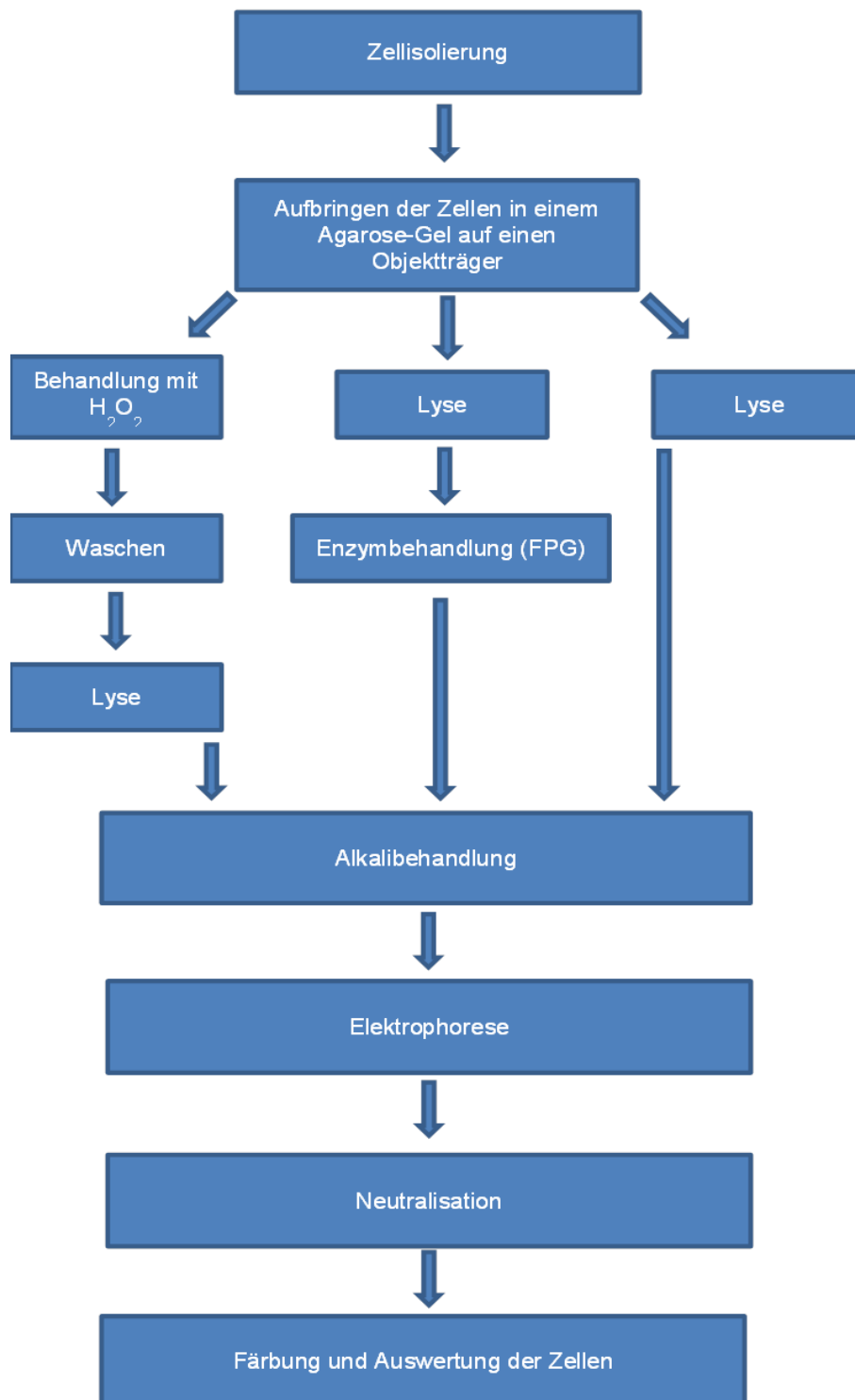


Abb.3: Durchführungsschema des Comet Assay (alkalische Variante).

3. Material und Methoden

3.1 Studiendesign

2011 begann die Zusammenarbeit der Fakultät für Lebenswissenschaften und dem Zentrum für Sportwissenschaften im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“. Während der eineinhalb jährigen Interventionsphase wurde der Einfluss von Ernährung, Bewegung und Training auf die Gesundheit und Mobilität älterer Personen untersucht. Mit Hilfe von einem dem Alter entsprechenden Bewegungs- und Ernährungsprogramm sollte der Gesundheitsstatus verbessert werden. Möglicherweise führten diese Maßnahmen auch zu einer Reduktion der Medikamenteneinnahme. Ziel des Projektes war herauszufinden, inwieweit Lebensstilinterventionen zur Verbesserung der Lebensqualität im Alter beitragen. Dazu wurden ernährungsphysiologische und sportmedizinische Untersuchungen mit molekularbiologischen und zellbiologischen Methoden kombiniert, um Mechanismen des Alterns besser zu verstehen. Die Studienteilnehmer wurden aus 5 Wohnheimen des Kuratoriums Wiener Pensionistenwohnhäuser rekrutiert (Leopoldau, Hohe Warte, Trazerberg, Mühlengrund, Atzgersdorf). Zu Beginn der Interventionsstudie bestand die Studienpopulation aus gesunden, untrainierten Männern (n=14) und Frauen (n=103), das Durchschnittsalter betrug $82,8 \pm 6$ Jahre. Per Zufall erfolgte die Einteilung in 3 Interventionsgruppen, Krafttraining, Krafttraining mit Ernährungsintervention und Kontrollgruppe. Um Aspekte sozialer Interaktionen auszuschließen, wurde die Kontrollgruppe in Form einer Kognitionsgruppe geführt. Dabei trainierten die Probanden gemeinsam 2-mal wöchentlich ihre kognitiven Fähigkeiten mit Hilfe ausgewählter Methoden, ansonsten hielten sie ihren gewohnten Lebensstil bei.

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Teilnahme an dieser Studie setzte ein Mindestalter von 65 Jahren voraus. Anhand medizinischer Untersuchungen wurde der körperliche Gesundheitszustand erhoben. Zudem wurde der physische und mentale Fitnesszustand anhand einiger Tests bewertet. Dazu diente unter anderem ein sogenannter Short Physical Performance Battery (SPPB) Test (>4 Punkte), wodurch Parameter wie Ausdauer, Kraft und koordinative Fertigkeiten gemessen wurden, sowie ein Mini Mental State (MMS) Test (>24 Punkte), anhand dessen kognitive Fähigkeiten erhoben wurden. Bestimmte chronische Erkrankungen, wie koronare Krankheiten, manifeste Osteoporose, sowie die Einnahme bestimmter Medikamente, wie Antikoagulantien (z.B.: Markumar) oder Glucocorticoiden (z.B.: Cortison) zählten zu den Ausschlusskriterien. Auch Personen, welche innerhalb der letzten 6 Monate bereits regelmäßiges mehrmaliges wöchentliches Krafttraining durchführten, wurden von der Teilnahme ausgeschlossen.

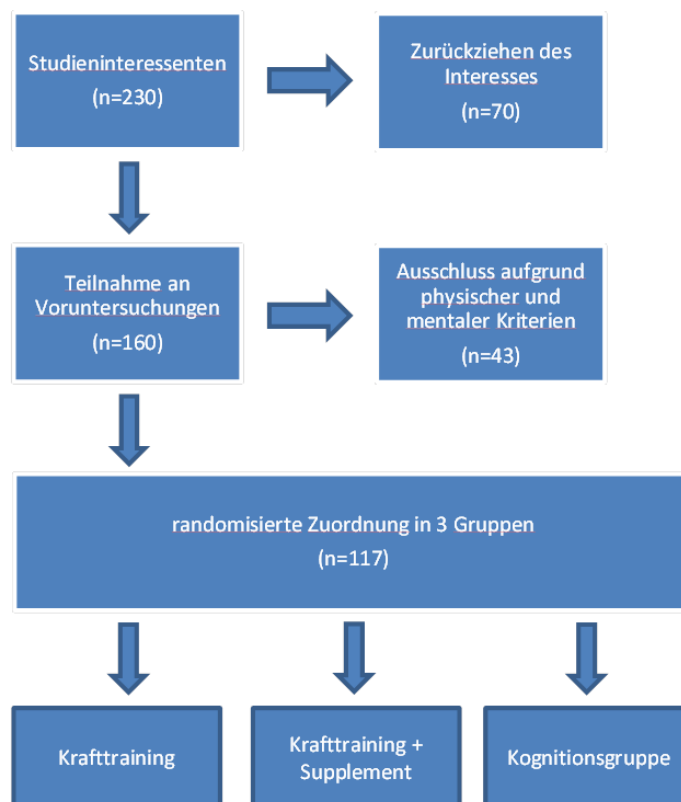


Abb.4: Schema der Rekrutierung der Studienteilnehmer, Ausschlussverfahren und Zuteilung in Interventionsgruppen.

Im Rahmen dieser Studie wurde den Probanden im Untersuchungszeitraum von eineinhalb Jahren fünf Mal Blut abgenommen.

Kodierung	Untersuchungszeitpunkt
T1	Untersuchungsbeginn
T2	nach 3 Monaten
T3	nach 6 Monaten
T4	nach 12 Monaten
T5	nach 18 Monaten

Tab.4: Kodierungsschema der Untersuchungszeitpunkte.

3.3 Interventionsgruppen

3.3.1 Trainingsgruppe

Das Krafttraining beinhaltete Übungen mit dem eigenen Körpergewicht und mit Therabändern. Die Übungsauswahl befolgte die Richtlinien des American Collage of Sports Medicine (ACSM) und der österreichischen sportwissenschaftlichen Gesellschaft. Die Dauer einer Trainingseinheit betrug in etwa 50 Minuten. In einer 10 minütigen Aufwärmphase wurden hauptsächlich sensomotorische Übungen zur Verbesserung des Gleichgewichts durchgeführt. Der Hauptteil gestaltete sich aus einem Krafttraining unterschiedlicher Muskelgruppen. Dazu wurden 6-8 Übungen zu je 10-15 Wiederholungen in 2 Sätzen durchgeführt. Im Anschluss erfolgte eine etwa 10 minütige Entspannungsphase. Im ersten Studienabschnitt (6 Monate, T1-T3) wurden die Trainingseinheiten 2-mal wöchentlich von qualifizierten Fachkräften angeleitet. Im zweiten Studienabschnitt (weitere 6 Monate, T3-T4) wurden die Probanden aufgefordert, eine der beiden Trainingseinheiten selbstständig durchzuführen, die andere wurde weiterhin angeleitet. Im letzten Studienabschnitt sollten die Studienteilnehmer beide Übungseinheiten über einen Zeitraum von 6 Monaten selbstständig absolvieren (T4-T5).

3.3.2 Gruppe Training + Supplement

Im Zuge der Ernährungsintervention erhielten die Probanden ein nährstoffadaptiertes Supplement, angereichert mit verzweigtkettigen Aminosäuren, aber auch anderen Vitaminen, Mineralstoffen, Spurenelementen sowie essentiellen Fettsäuren (FortiFit, Nutricia) in Form einer Trinkmahlzeit laut Dosierungsangaben des Herstellers zu gegebenen Zeitpunkten, jeden Morgen sowie nach absolvierten Trainingseinheiten. Das Produkt wurde speziell für die Bedürfnisse sarkopenischer Patienten entwickelt. Hohe Konzentrationen an Leucin (3g pro Portion) und andere essentielle Aminosäuren (10,5g pro Portion) sollen laut Produzenten die Muskelproteinsynthese stimulieren und so Muskelkraft und -funktion verbessern. Vitamin D (800 IU pro Portion) unterstützt diesen Prozess zusätzlich [Nutricia, FortiFit, 2010]. Der Hersteller stellte sein Produkt in Pulverform im Rahmen der Studie für 6 Monate zur Verfügung.

Zutaten:

Molkeneiweißisolat, Glucosesirup, pflanzliche Öle (Palmöl, Sonnenblumenöl, Rapsöl), Galakto-Oligosaccharide (aus Milch), Zucker, Leucin, Tricalciumphosphat, Aroma (abhängig von der Geschmacksrichtung), Pektin, Calciumchlorid, Dimagnesiumphosphat, Calciumcarbonat, Valin, Sojalecithin, Fruktose-Oligosaccharide, Rote Beete-Soft Pulver, Trinatriumcitrat, Cholinchlorid, Isoleucin, Ascorbinsäure, Süßstoff (Sucralose), DL-alpha-Tocopherylacetat, Natrium-L-ascorbat, Cholecalciferol, Eisensulfat, Zinksulfat, Cyanocobalamin, Nikotinamid, Mangansulfat, Kupfersulfat, Calcium-D-Pantothenat, Pyridoxinhydrochlorid, D-Biotin, Pteroylmonoglutaminsäure, Retinylpalmitat, Thiaminhydrochlorid, Natriumfluorid, DL-alpha-Tocopherol, Karotinoide (enthält: Sojalecithin, gemischte Karotinoide, Lycopin, Lutein), Riboflavin, Natriumselenit, Chrom-(III)-chlorid, Natriummolybdat, Kaliumjodid, Phytomenadion

Abb.5: FortiFit Zutatenliste [Nutricia, FortiFit, 2010].

PAL-Wert 1,4		PAL-Wert 1,6		PAL-Wert 1,8	
männlich	weiblich	männlich	weiblich	männlich	weiblich
2000 kcal	1600 kcal	2300 kcal	1800 kcal	2500 kcal	2100 kcal

Tab.5: D-A-CH Referenzwerte für die Energiezufuhr für Personen ab 65 Jahren nach Geschlecht und PAL (Physical Activity Level)-Wert als Maß für die körperliche Aktivität [DGE].

Inhaltsstoffe	pro Portion (40g)	empfohlener Anteil der Tagesenergie
Brennwert	150 kcal	
Eiweiß	20,7 g	0,8 g pro Kilogramm Körpergewicht
-Leucin	2,8 g	
Kohlenhydrate	9,4 g	50 En%
-davon Zucker	4,2 g	
Fett	3,0 g	30 EN%
-davon gesättigte Fettsäuren	0,8 g	
Ballaststoffe	1,3 g	mind. 30 g pro Tag
Vitamine		empfohlene Zufuhr pro Tag ab 65 Jahren
Vitamin A	152 µg RÄ	0,8-1,0 mg RÄ
Vitamin D3	20 µg	20 µg bei unzureichender endogener Synthese
Vitamin E	7,5 mg α-TÄ	11,0-12,0 mg TÄ
Vitamin K	12 µg	65-80 µg
Thiamin (Vitamin B1)	228 µg	1,0 mg
Riboflavin (Vitamin B2)	254 µg	1,2 mg
Niacin (Vitamin B3)	2,7 mg NÄ	13,0 mg NÄ
Panthothensäure (Vitamin B5)	820 µg	6,0 mg
Vitamin B6	761 µg	1,2-1,4 mg
Biotin	6,1 µg	30-60 µg
Folsäure	203 µg FÄ	300 µg FÄ
Cobalamin (Vitamin B12)	3,0 µg	3,0 µg
Vitamin C	32 mg	100 mg
Mineralstoffe und Spurenelemente		empfohlene Zufuhr pro Tag ab 65 Jahren
Calcium	501 mg	1000 mg
Chlor	70 mg	830 mg
Kalium	279 mg	2000 mg
Magnesium	37 mg	300-350 mg
Natrium	150 mg	550 mg
Phosphor	250 mg	700 mg
Chrom	7,5 µg	30-100 µg
Eisen	5,4 mg	10,0 mg
Fluor	152 µg	50-100 µg
Jod	20 µg	180 µg
Kupfer	270 µg	1,0-1,5 mg
Mangan	501 µg	2,0-5,0 mg
Molybdän	15 µg	50-100 µg
Selen	15 µg	30-70 µg
Zink	2,2 mg	7,0-10,0 mg
weitere Inhaltsstoffe		
Carotinoide	300 µg	
Choline	56 mg	

Tab.6: Nährwerttabelle FortiFit und D-A-CH Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr für Personen ab 65 Jahren, modifiziert nach [DGE].

3.3.3 Kognitionsgruppe

Die Kontrollgruppe wurde als Kognitions- oder Gedächtnisgruppe geführt. Die Probanden innerhalb dieser Gruppe änderten ihren Lebensstil nicht, führten jedoch regelmäßig Gedächtnisübungen durch. Durch diese Maßnahme sollten weder Muskelkraft, noch Ernährungsverhalten beeinflusst werden, sondern lediglich Feinmotorik und kognitive Fähigkeiten geschult werden. Zudem dienten die Einheiten der sozialen Interaktion der Teilnehmer.

3.4 Materialien zur Aufbereitung der Proben mittels Comet Assay

Im folgenden Abschnitt werden die verwendeten Materialien zur Aufbereitung der Proben mittels Comet Assay, sowie die hergestellten Lösungen angeführt.

3.4.1 Chemikalien

Chemikalie	Abkürzung	Hersteller	Produktnummer
Bovine Serum Albumin	BSA	Sigma-Aldrich	A2153-50
Chlorwasserstoffsäure (Salzsäure) >25%	HCl	Roth	6331-4
Ethidiumbromid (10mg/mL)		Sigma-Aldrich	056K8907
Ethylendiamintetraacetat	EDTA	Sigma-Aldrich	60-004
Fetal Bovine Serum	FBS	PAA	A15-039
Glycerol 99%		Sigma-Aldrich	G901-2
2-(4-(2-Hydroxyethyl)-piperazinyl)-ethansulfonsäure	1-HEPES	Sigma-Aldrich	65-49-9
Kaliumchlorid	KCl	MERCK	493C-0500
Kaliumhydroxid >86%	KOH	Sigma-Aldrich	60370
Low Melting Agarose	LMA	Invitrogen	16520-050
Natriumchlorid	NaCl	Sigma-Aldrich	60-00-4
Natriumhydroxid	NaOH	Sigma-Aldrich	1310-73.2
Normal Melting Agarose	NMA	Invitrogen	16500-100
Phosphat Buffered Saline	PBS	Sigma-Aldrich	D8537
Polyethylenglycol-mono-[p-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenyl]-ether	Triton-X	Sigma-Aldrich	9002-93-1
RPMI-1640, no Glutamine	RPMI	PAA	E15.039
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan	Tris	Sigma-Aldrich	77-86-1
Trypanblau 0,4%		Sigma-Aldrich	761866
Wasserstoffperoxid	H ₂ O ₂	Sigma-Aldrich	H1009

Tab.7: Verwendete Chemikalien für den Comet Assay mit Abkürzung und Herstellername.

3.4.2 Technische Geräte

Gerätename	Hersteller	Gerätenummer
pH-Meter	Methrom	40768330
Wasserbad		
Zentrifuge	Eppendorf	5417R
Countess Automates Cellcounter (40x/0,65)	Invitrogen	C10283
Elektrophorese		
Powersupply	pwqLab	EV231
Fluoreszenzmikroskop	Zeiss	038-03241
Fluoreszenzlampe	Zeiss	L200

Tab.8: Verwendete Geräte für den Comet Assay mit Herstellername und Gerätenummer.

3.4.3 Materialien

Material	Hersteller	Produktnummer
Countess Cellcounting Chamber Slide	Invitrogen	C10227
Deckgläser 20x20 mm	VWR	631-1568
Deckgläser 22x22 mm	VWR	631-1570
Heparinröhrchen 9 mL	Greiner Bio-one GmbH	455-084
Leucosepröhrchen 12 mL	Greiner Bio-one GmbH	163-288
Mikroreaktionsgefäß 1,5 mL	Star-Lab	
Objektträger	VWR	631-1551
pH-Papier	MERCK	
Zentrifugenröhrchen 50 mL	VWR	525-0159

Tab.9: Verwendete Materialien für den Comet Assay mit Herstellername.

3.4.4 Lösungen

Elektrophoresepuffer (Herstellung von 2 Litern)

24 g NaOH Pellets

580 mg EDTA

Einen Liter destilliertes Wasser in einem Becherglas auf dem Magnetrührer vorbereiten und NaOH-Pellets zugeben. Sobald diese gelöst sind EDTA beimgen. Die entstandene Lösung sollte einen pH-Wert von über 13 aufweisen. Im Anschluss die Lösung auf 2 Liter auffüllen und bis zur Verwendung kühl lagern.

Enzympuffer (Herstellung von 500 mL)

95,3 g HEPES

74,56 g KCl

1,46 g EDTA

2 g BSA

Für die konzentrierte Stocklösung des Enzympuffers werden die eingewogenen Chemikalien vermengt und auf einen Liter aufgefüllt. Die Lösung in 50 mL Röhrchen aliquotieren und bis zur Verwendung bei -20°C lagern. Am Tag der Durchführung pro Elektrophorese 1 Röhrchen mit der Stocklösung auftauen, den pH-Wert mittels KOH auf 8 einstellen und auf 500 mL auffüllen. Bis zur Verwendung unter gekühlten Bedingungen aufbewahren. HEPES dient dabei als Puffersubstanz.

Ethidiumbromidlösung (20 µg/mL)

10 µL Ethidiumbromid-Stocklösung (10 mg/mL)

Ethidiumbromid-Stocklösung mit 5mL destilliertem Wasser verdünnen.

Formamido-Pyrimidin-Glycosylase (FPG) Lösung

20 µL FPG-Stocklösung

2 mL Enzympuffer

200 µL Glycerol

2 mL des verwendungsbereiten Enzympuffers werden mit 200 µL Glycerol vermennt. Davon werden 980 µL mit den 20 µL FPG-Aliquots vermischt und davon 30 µL in Cups pipettiert und bei -80°C bis zur Verwendung gelagert.

Low Melting Agarose (LMA)

200 mg LMA

20 mL PBS

LMA mit PBS in der Mikrowelle zum Kochen bringen bis eine klare Flüssigkeit entsteht. Zur Verwendung wird die Lösung auf etwa 37°C gehalten.

Lyse-Lösung (Herstellung von 2 Litern)

292,2 g NaCl

58,4 g EDTA

2,422 g Tris

10M NaOH zur Einstellung des pH-Wertes

Einen Liter destilliertes Wasser in einem Becherglas auf dem Magnetrührer vorbereiten und NaCl langsam zugeben. Sobald dieses gelöst ist Tris beimgen. Mit einer Patsteurpipette langsam etwa 40 mL 10M NaOH (flüssig) dazu pipettieren, da sich EDTA ansonsten nicht löst. Nach der Zugabe und Lösung von EDTA, erfolgt die Einstellung des pH-Wertes auf 10. Die Lösung auf 2 Liter auffüllen und gekühlt in dunklen Flaschen lagern. Die Zugabe von 1 mL Triton X-100 pro 100 mL Lösung erfolgt erst kurz vor der Verwendung. Tris dient als Puffersubstanz und zeigt zwischen pH 7,2-9 gute Pufferkapazitäten. Triton-X wird verwendet um Membranproteine in ihrer nativen Konformation aus Membranen zu lösen, denaturiert die Proteine dabei jedoch nicht.

Neutralisationspuffer (Herstellung von 2 Litern)

96,88 g Tris

konzentrierte HCl zur Einstellung des pH-Wertes

Einen Liter destilliertes Wasser in einem Becherglas auf dem Magnetrührer vorbereiten und Tris-Base (Puffersubstanz) lösen. Zu Beginn weist der Puffer einen basischen pH-Wert auf. Mit konzentrierter HCl wird dieser auf pH = 7,5 eingestellt. Die Lösung auf 2 Liter auffüllen und gekühlt in dunklen Flaschen lagern.

Normal Melting Agarose (NMA)

1000 mg NMA

100 mL destilliertes Wasser

NMA mit Wasser in der Mikrowelle zum Kochen bringen bis eine klare Flüssigkeit entsteht. Zur Verwendung wird die Lösung auf etwa 55°C gehalten.

Wasserstoffperoxidlösung

10,3 µL 30%ige H₂O₂-Lösung

Um die Stocklösung herzustellen werden 10,3 µL der H₂O₂-Lösung mit 1 mL destilliertem Wasser vermischt. Vor Gebrauch werden 80 µL dieser Stocklösung auf 80 mL verdünnt. Während der Lagerung ist Kühlung besonders wichtig.

3.5 Durchführung

3.5.1 Beschichtung der Objektträger

Zur Beschichtung der Objektträger wurde Normal Melting Agarose (NMA) zubereitet und in einem Becherglas im Wasserbad auf etwa 55°C gehalten. Die Objektträger wurden bis zur weißen Markierung in die Agarose eingetaucht und deren Rückseite gesäubert, wobei das Bilden von Luftbläschen auf der Oberfläche vermieden wurde. Anschließend wurden die beschichteten Objektträger über Nacht getrocknet und bis zu deren Verwendung dunkel

gelagert. Die weiße Markierung am rechten Rand der Objektträger diente der Beschriftung, wobei die Probandennummer, der Untersuchungszeitpunkt und die jeweilige Behandlung der Proben (Lyse, H₂O₂, FPG und Puffer) festgehalten wurden.

3.5.2 Lymphozyten-Aufbereitung

Das Vollblut der Probanden wurde gekühlt in Heparinröhrchen (etwa 9 mL) transportiert und gelagert. Nach sorgfältigem Schwenken wurde der Inhalt eines Blutröhrchens auf 2 Leucosepröhrchen aufgeteilt. Leucosepröhrchen wurden speziell zur Isolierung von PBMCs (peripheral blood mononuclear cells = mononukleäre Zellen des peripheren Blutes) entwickelt und vereinfachen die Separation der Blutbestandteile aufgrund der Verringerung der Verfahrensschritte. Eine spezielle Trennscheibe aus Polyethylen verhindert das Vermischen der Phase aus PBMCs mit dem Separationsmedium und eine Rekontamination mit Erythrozyten und Granulozyten. Dadurch wird die Durchführung stabiler und der Zeitaufwand geringer. Anschließend wurden die Röhrchen bei 1000 rcf/g für 15 Minuten bei 16°C ohne Bremse zentrifugiert, wobei sich die Blutbestandteile trennten. Die Einstellung „ohne brake“ war notwendig, da sich die Blutbestandteile durch das abrupte Abstoppen wieder Vermischen würden. Nach diesem Schritt wurde nur mehr auf Eis gearbeitet. Die Lymphozytensuspension wurde unter kreisenden Bewegungen mittels einer Pasteurpipette entnommen und in ein neues Röhrchen überführt, welches anschließend mit kaltem PBS (phosphat buffered saline) aufgefüllt und durch 5 maliges über Kopf schwenken vermischt wurde.

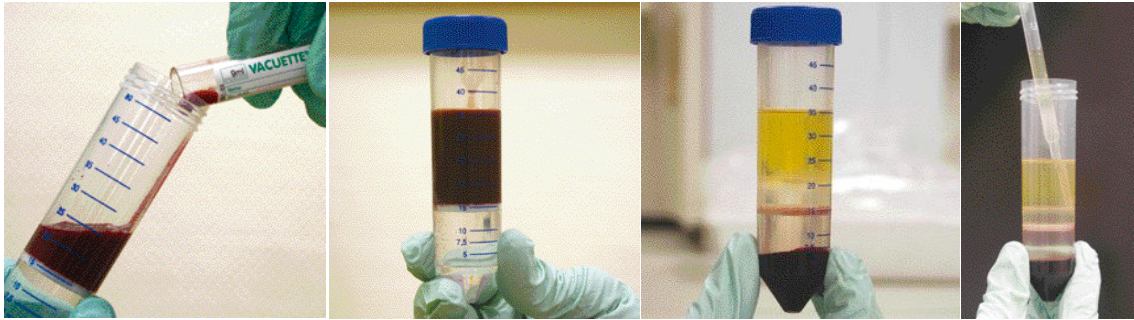


Abb.6: von links nach rechts: 1) Befüllen; 2) nach Befüllung; 3) nach Zentrifugation: Schichtung von oben nach unten: Plasma, angereicherte Zellfraktion (Interphase aus Lymphozyten/PBMCs), Separationsmedium, Trennscheibe, Separationsmedium, Pellet (Erythrozyten, Granulozyten); 4) Ernte mittels Pasteurpipette [Greiner Bio-One GmbH, 2009].

Anschließend wurden die geernteten Zellen gewaschen. Dazu wurden die Röhrchen mit 304 rcf/g = 1300 rpm für 15 Minuten bei 4°C zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Nach Zugabe von 1 mL PBS wurde das Zellpellet gelöst, mit weiteren 10 mL PBS aufgefüllt und 5-mal über Kopf geschwenkt. Der Zentrifugationsschritt wurde ein weiteres Mal mit 304 rcf/g für 10 Minuten bei 4°C wiederholt, der Überstand abgesaugt und die Zellen in 1 mL PBS resuspendiert.

3.5.3 Zellzahlbestimmung

Zur Bestimmung der Zellzahl wurden 10 µL der Zellsuspension entnommen und mit 10 µL Trypanblau vermischt. Anschließend wurden 10 µL dieser Mischung in „cell counting chamber slides“ pipettiert. Mit Hilfe der „Countess“ konnte die Gesamtanzahl der Zellen, sowie die Anzahl lebender und toter Zellen und die Viabilität (Anteil lebender Zellen an der Gesamtzellzahl in Prozent) gemessen werden. Für unser weiteres Vorgehen war die Anzahl lebender Zellen, als auch die Viabilität bedeutsam. Anschließend wurde die Zellsuspension mit PBS auf eine Konzentration von 1×10^6 Zellen pro Milliliter verdünnt, da diese beim späteren Auswerten der DNA-Schäden unter dem Mikroskop optimale Ergebnisse gewährleistet.

3.5.4 Kontrollproben

Das Vollblut zur Herstellung der Kontrollproben wurde dankenswerterweise von Bernhard Franzke zur Verfügung gestellt, und wie beschrieben aufgearbeitet. Da diese bereits vor den eigentlichen Untersuchungsterminen hergestellt wurden mussten diese über Nacht bei -20°C und anschließend bei -80°C gelagert werden. Zuvor wurde das PBS abgesaugt, das Zellpellet mit etwa 2 mL Einfriermedium vermengt und auf mehrere Mikroreaktionsgefäße aufgeteilt. Vor jedem Comet-Durchlauf wurde pro Elektrophorese ein Mikroreaktionsgefäß als Kontrolle rasch aufgetaut. Anschließend wurde die Kontrollprobe für 3 Minuten bei 4°C und 3000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde mittels der Absaugpumpe beziehungsweise einer Pipette entfernt und das Zellpellet mit 1 mL PBS aufgefüllt. Danach wurde das Mikroreaktionsgefäß ein weiteres Mal für 3 Minuten bei 4°C und 3000 rpm zentrifugiert, der Überstand abgesaugt und 250 µL beziehungsweise 200 µL PBS dazu pipettiert. Bevor die Zellzahl mittels Countess bestimmt wurde, wurde das Zellpellet gut gelöst.

3.5.5 Aufbringen der Proben auf die Objektträger

Pro Proband wurden 5 Objektträger laut vorgegebenem Schema vorbeschriftet, wobei auf jeden Objektträger 2 Gele pipettiert wurden. Für jeden Probanden wurden 2 Gele für Lyse- und H₂O₂-Behandlungen, sowie 3 Gele für FPG- und Puffer-Behandlungen angefertigt.

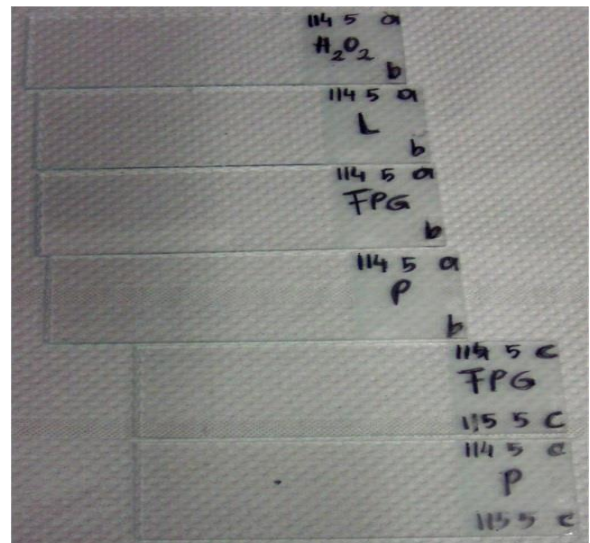


Abb.7: Beschriftungsschema und Anordnung der Objektträger.

Die vorbereiteten Objektträger wurden auf gekühlte Tablettis platziert. Die bereits gelöste Low Melting Agarose (LMA) zum Pipettieren wurde nach der Herstellung im Wasserbad auf 37°C im flüssigen Zustand gehalten. Eine zu hohe Temperatur hätte die Zellen zerstört, bei einer zu geringen Temperatur wäre die Agarose schnell fest geworden. 30 µL der Zellsuspension mit einer Konzentration von $c = 10^6$ Zellen / mL wurde mit 140 µL LMA vermischt. Davon wurden zweimal 70 µL auf einen Objektträger pipettiert und mit einem Deckglas (20x20 mm) überdeckt. Dieser Vorgang musste sehr rasch erfolgen, da die Agarose sehr schnell trocknet und erstarrt. Zur vollständigen Festigung der Agarose wurden die Tablettis für etwa 5-10 Minuten im Kühlraum aufbewahrt. Danach wurden die Deckgläser wieder entfernt und die Objektträger je nach Behandlung in vorbereitete Tröge geschichtet. Die anschließenden Vorgänge fanden ebenfalls unter gekühlten Bedingungen statt.

3.5.6 Behandlung mit H₂O₂

Diese Behandlung betraf nur die speziell dafür vorgesehenen Proben. Die Objektträger wurden in den Trögen mit der zuvor zubereiteten Wasserstoffperoxid-Lösung übergossen (etwa 70 mL je Trog) und für 5 Minuten inkubiert. Im Anschluss wurden die Objektträger in saubere Tröge umgeschichtet und für weitere 5 Minuten mit gekühltem, destilliertem Wasser gewaschen. Diese Behandlung diente der Analyse der Stressresistenz der Zellen gegenüber exogenen Faktoren.

3.5.7 Behandlung mit Lyse

Diese Behandlung wurde an allen Proben durchgeführt. Auf dem Magnetrührer wurden in einem Becherglas pro 100 mL Lyse 1 mL Triton-X mittels Pasteurpipette vermischt. Die Lösung wurde über die Objektträger in die Tröge gegossen (etwa 70 mL je Trog). Die Inkubationsdauer betrug für alle Proben

mindestens eine Stunde und fand unter gekühlten Bedingungen statt. Während diesem Vorgang wurde die Zell- und Kernmembran der Lymphozyten brüchig, sodass Zytoplasma und Nukleoplasmata austraten. Die DNA blieb somit als Nukleotid mit kompakter Struktur, aber ohne Histone, zurück.

3.5.8 Behandlung mit FPG

Diese Behandlung fand nur für die dafür vorgesehenen Proben (gekennzeichnet mit FPG und P) statt, nachdem diese für mindestens eine Stunde in der Lyse-Lösung verweilten. Die anderen Proben (L, H₂O₂) verblieben währenddessen in der Lyse-Lösung, da dies bis zu 24 Stunden möglich gewesen wäre. Zuerst wurden die Objektträger 3 Mal für jeweils 5 Minuten im Kühlschrank mit dem Enzympuffer gewaschen, gesäubert und auf eine Inkubationsplatte platziert. Je nach Anzahl der Objektträger wurde ein FPG-Aliquot langsam aufgetaut und mit 930 µL Enzympuffer vermengt. Für die Behandlung mit FPG wurden je 50 µL dieser Lösung auf jedes Gel pipettiert, auf die Gele für die Puffer-Behandlung dagegen je 50 µL Enzympuffer. Alle Gele wurden mit einem Deckglas (22x22 mm) bedeckt, die Inkubationsplatten in Feuchtigkeitskammern mit Deckel gestellt, sodass die Proben im Wärmeschrank bei 37°C für 30 Minuten inkubierten. Unter diesen Bedingungen konnte das Enzym optimal auf die DNA einwirken. Im Anschluss wurden die Objektträger aus den Feuchtigkeitskammern entnommen, gesäubert, sowie die Deckgläser entfernt.

3.5.9 Alkalibehandlung und Elektrophorese

Während dem Aufbau der Elektrophorese wurde besonders auf eine gerade Platzierung der Elektrophoresekammer, sowie richtiges Anschließen an den Power-Supply geachtet. Die Objektträger wurden in entsprechender Ausrichtung in die Elektrophoresekammer geschichtet. Da eine unvollständig

gefüllte Elektrophorese das Experiment beeinträchtigen würde, wurden Platzlücken mit leeren Objektträgern aufgefüllt. Der gekühlte Elektrophorese-Puffer wurde vorsichtig in die Elektrophoresekammer gegossen, sodass alle Objektträger ausreichend bedeckt waren, etwa 250mL des Puffers wurden aufbewahrt. Luftbläschen unter den Objektträgern wurden entfernt. Danach konnten die Proben 20 Minuten im Puffer inkubieren. Diese „unwinding phase“ diente der Lockerung der DNA aus ihrem kompakten Zustand. Währenddessen wurden die Einstellungen der Elektrophorese am Power-Supply überprüft. Die Spannung wurde mit 25V festgelegt, Strom, als auch Leistung auf Maximum gestellt. Wuch die daraus resultierende Stromstärke zu stark von 300 mA ab, wurde mit dem zuvor beiseite gestellten Elektrophorese-Puffer korrigiert. Nach Ablauf der 20 minütigen Alkalibehandlung wurde die Elektrophorese für 30 Minuten laufen gelassen, wodurch ein Spannungsfeld entstand. Bruchstücke der beschädigten DNA wanderten aufgrund ihrer negativen Ladung zur Anode. Je kleiner die Bruchstücke, desto schneller und weiter wanderten diese im elektrischen Feld aus dem intakten Nukleoid.

3.5.10 Neutralisation

Alle Objektträger wurden aus der Elektrophoresekammer entnommen, in saubere Tröge geschichtet und für 5 Minuten unter gekühlten Bedingungen mit Neutralisationspuffer gewaschen. Im Anschluss fand ein zweiter 5-minütiger Waschvorgang mit gekühltem destilliertem Wasser statt. Danach wurden die Objektträger gesäubert und bis zu deren Trocknung im Dunkeln platziert. Bis zu deren Auswertung wurden die Gele in dafür vorgesehenen Boxen kühl gelagert.

3.5.11 Färbung

30 µL der hergestellten Ethidiumbromidlösung wurden auf die Mitte jedes Gels pipettiert und mit einem Deckglas (22x22 mm) bedeckt. Nach einer kurzen

Einwirkzeit konnten diese unter dem Mikroskop am Computer ausgewertet werden. Alle an einem Tag gefärbten Gele mussten am selben Tag ausgewertet werden, da der Farbstoff die Proben bei zu langer Einwirkzeit unbrauchbar machte.

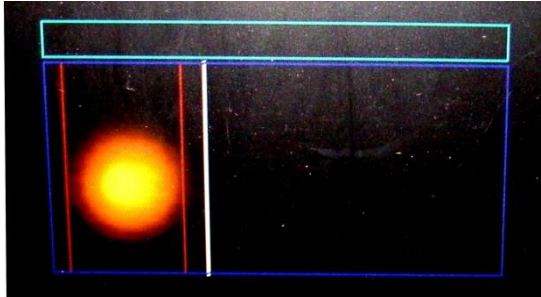


Abb.8: Eingefärbte Zelle unter dem Mikroskop bei Betrachtung am Computerbildschirm.

3.5.12 Auswertung

Die Erfassung der DNA-Schädigung erfolgte mittels Mikroskop und Computer, mit Hilfe des Computerprogramms „Komet 5.5“.

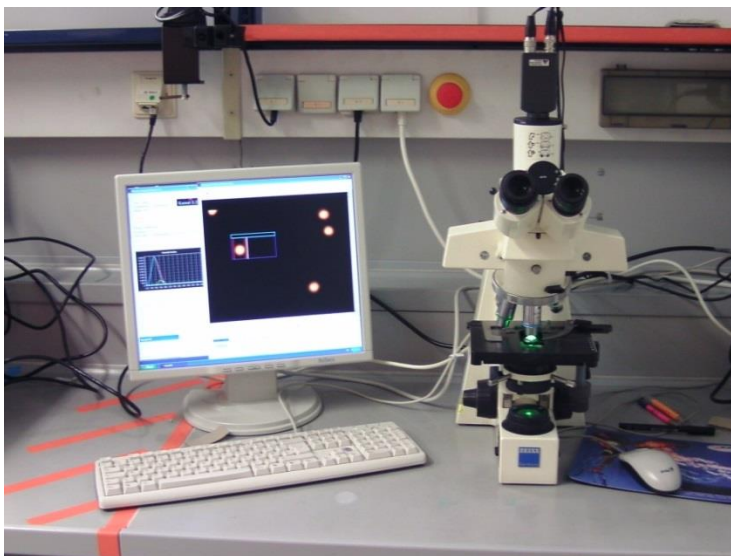


Abb.9: Software gesteuerte Auswertung mittels Mikroskop.

Vor der Auszählung verschaffte man sich einen kurzen Überblick über die Anzahl der Zellen auf dem Gel. Im Anschluss begann man mit der Auszählung am linken oberen Rand des Gels und wanderte in horizontalen Schlangenlinien bis zum unteren Rand hinunter. Pro Gel wurden 50 Zellen ausgewählt und das Mikroskop jeweils scharfgestellt. Sie sollten die Probe repräsentieren. Der Schaden an Zellen am Rand des Gels oder um Luftblasen wird oft überbewertet, weshalb es vermieden wurde diese auszuzählen. Die Software ermittelte den Prozentsatz der DNA-Bruchstücke im Schweif des Kometen, was dem DNA-Schaden der Zelle entspricht. Dadurch wurden für jeden Objektträger 100 Zellen ermittelt, sowie Mittelwerte und Standardabweichung errechnet. Die Ergebnisse der Behandlungen mit Lyse und H_2O_2 konnten direkt verwendet werden. Um Inkubationsschäden, welche durch die Enzymbehandlung mit FPG verursacht wurden, nicht miteinzubeziehen, wurde der Schaden der Puffer-Behandlung ermittelt und vom FPG-Wert abgezogen. Während der langen Studiendauer kam es während den Untersuchungszeitpunkten zu Problemen mit der Enzymaktivität. Aufgrund dessen wurde ein Korrekturfaktor errechnet. Während des Untersuchungszeitraums von Oktober 2011 bis Februar 2012 kam es zu einem markanten Abfall der Enzymaktivität. Mit Hilfe der mitgeführten Kontrollproben konnte ein Korrekturfaktor von 2,09 errechnet werden, der auf die bereits mit dem Pufferwert korrigierten FPG-Werte angewandt wurde. Ab dem 13. Juli 2012 wurde ein neues FPG-Enzym eingesetzt.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Datenauswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels Statistikprogramm „IBM SPSS-Statistics Version 20.0“. Mit Hilfe der deskriptiven Analyse konnte die Verteilung der Gruppen, Alterskategorien sowie die Geschlechterverteilung dargestellt werden. Zudem wurden Mittelwerte für Alter, Body Mass Index, als auch für die DNA-Schäden im Zuge des Comet Assay ermittelt. Im Anschluss wurde ein zweiseitiger Wilcoxon Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau liegt bei allen Ergebnissen bei $\alpha \leq 0,050$ (*). Als hochsignifikant gilt ein Signifikanzniveau von $\alpha \leq 0,010$ (**). In dieser Arbeit wird hauptsächlich auf die Endergebnisse der Studie zum Zeitpunkt T5 eingegangen. Da ein Teil der Probanden aus dem Haus Leopoldau der Studie erst 3 Monate später beitrug, fielen 19 Analysen des Zeitpunktes T4 ebenfalls in meinen Untersuchungsbereich, weshalb auch auf die Ergebnisse nach 12-monatiger Intervention eingegangen wird. Ausreißer wurden identifiziert und ausgeschlossen, allgemeine Daten zur Studienpopulation inkludieren alle Werte der eingeschlossenen Teilnehmer.

4.2 Studienpopulation zu Beginn der Studie

Zu Beginn der Intervention konnten die Daten von 105 Pensionisten in die Analyse eingeschlossen werden. Das Durchschnittsalter betrug $83,1 \pm 6,1$ Jahre, wobei der jüngste Teilnehmer 65 und der älteste 98 Jahre alt war. Die Probanden wurden 3 Alterskategorien zugeteilt. 65-74 Jahre mit anfänglich 12 Probanden, 75-84 Jahre mit 40 Personen, sowie ≥ 85 Jahre mit 53 Teilnehmern.

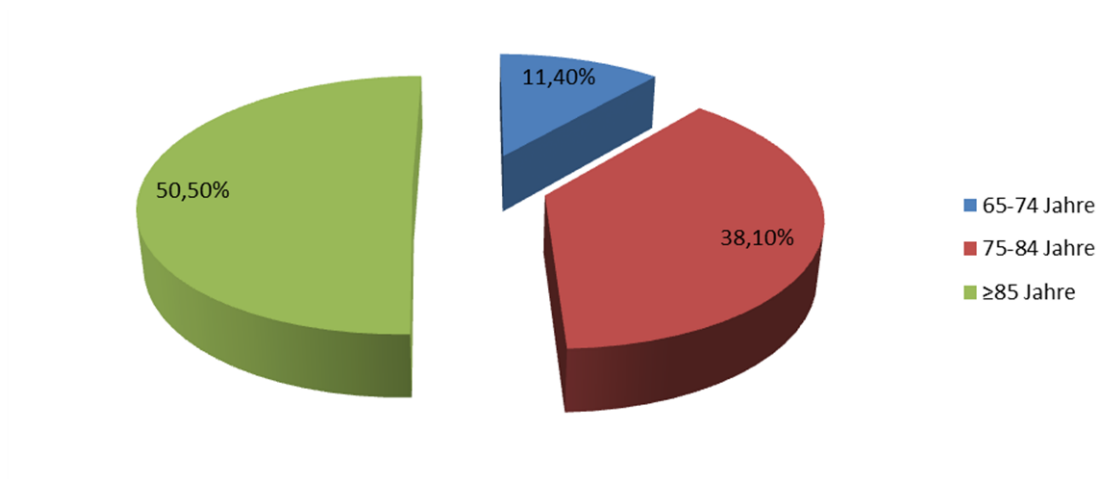


Abb.10: Verteilung der Probanden nach Alterskategorien zum Zeitpunkt T1 in Prozent (N=105).

Die Aufteilung der Probanden in die Interventionsgruppen erfolgte randomisiert. 38 Personen waren der Trainingsgruppe zugewiesen, 32 der Gruppe Training + Supplement und 35 der Kognitionsgruppe.

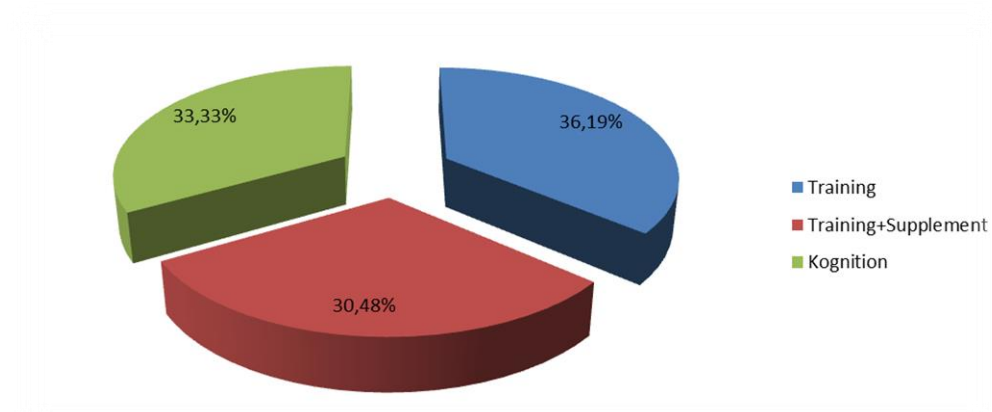


Abb.11: Verteilung der Probanden nach Interventionsgruppen zum Zeitpunkt T1 in Prozent (N=105).

Der Frauenanteil war mit 87,6% (n=92) deutlich höher als jener der Männer mit 12,4% (n=13). Dies spiegelt auch die Geschlechterverteilung in den Pensionistenwohnhäusern wider. Zum einen ist dies auf die generell höhere Lebenserwartung, zum anderen auf die mit steigendem Alter verbundene erhöhte Krankheitsanfälligkeit und Pflegebedürftigkeit der Frauen

zurückzuführen. Männer sind dagegen seltener verwitwet und werden eher von ihren Partnerinnen gepflegt, als umgekehrt.

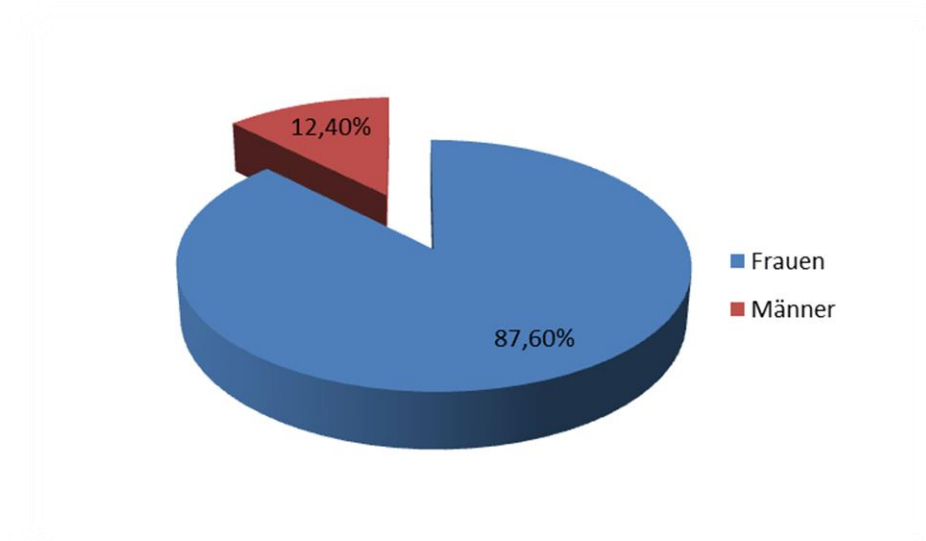


Abb.12: Prozentuale Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer zum Zeitpunkt T1 (N=105).

	Männer		Frauen		Gesamt	
	Anzahl	%	Anzahl	%		%
Alterskategorie						
65-74 Jahre	1	8,33	11	91,67	12	11,43
75-84 Jahre	5	12,50	35	87,50	40	38,10
≥85 Jahre	7	13,21	46	86,79	53	50,48
Interventionsgruppe						
Training	5	13,16	33	86,84	38	36,19
Training+Supplement	4	12,50	28	87,50	32	30,48
Kognition	4	11,43	31	88,57	35	33,33

Tab.10: Geschlechterspezifische Verteilung der Probanden nach Alterskategorie und Interventionsgruppe in Anzahl und Prozent bezogen auf die Gesamtheit der einzelnen Gruppen zum Zeitpunkt T1 (N=105).

Gruppe	Durchschnittsalter	Anzahl der Probanden nach Alterskategorie		
		65-74 Jahre	75-84 Jahre	≥85 Jahre
Training	83,11 ± 5,75 Jahre	4	18	16
Training+Supplement	82,56 ± 7,35 Jahre	5	10	17
Kognition	83,69 ± 5,33 Jahre	3	12	20
Gesamt	83,13 ± 6,11 Jahre	12	40	53

Tab.11: Mittelwert des Alters der Studienteilnehmer zu Studienbeginn mit Standardabweichung und Aufteilung nach Interventionsgruppe und Alterskategorie zum Zeitpunkt T1 (N=105).

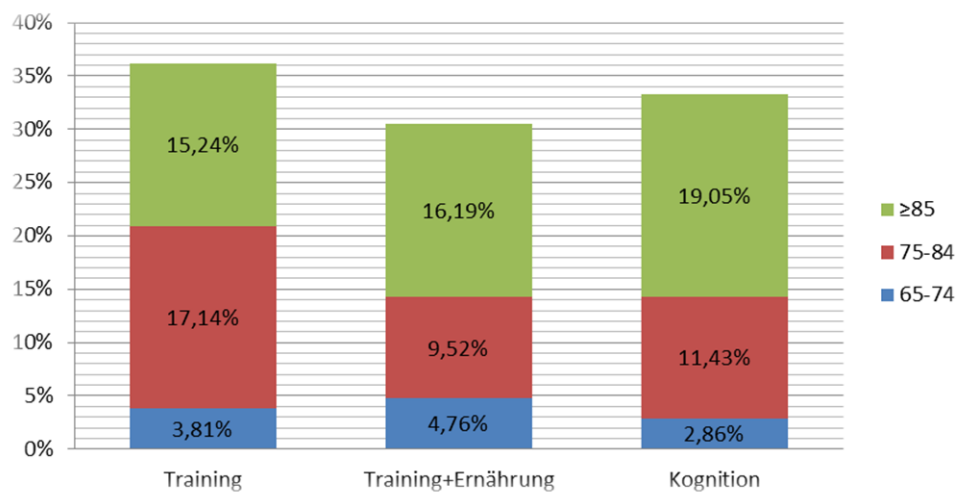


Abb.13: Altersverteilung der Probanden in den Interventionsgruppen zum Zeitpunkt T1 in Prozent (N=105).

4.3 Ergebnisse nach 12-monatiger Intervention

4.3.1 Studienpopulation zum Zeitpunkt T4

Nach 12-monatiger Intervention konnten die Daten von insgesamt 65 Probanden zur Analyse herangezogen werden. Der Frauenanteil war mit 59 Teilnehmerinnen deutlich höher als jener der Männer mit 6. Mögliche Gründe dafür wurden in Kapitel 4.2 bereits erwähnt.

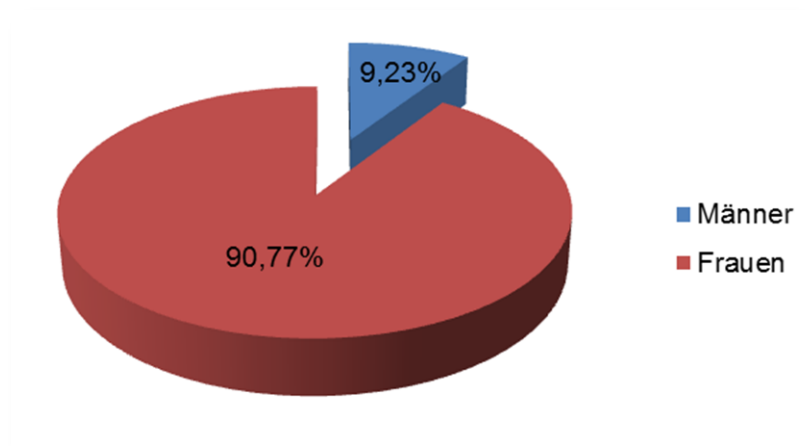


Abb.14: Prozentuale Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer zum Zeitpunkt T4 (N=65).

Unter Betrachtung der geschlechterspezifischen Verteilung nach Alterskategorie wird ersichtlich, dass der Männeranteil in der Kategorie ≥ 85 mit Abstand am geringsten ausfällt, was durch die bereits beschriebenen Theorien bekräftigt wird. In den Interventionsgruppen fiel der Anteil der Männer in der Kognitionsgruppe am geringsten aus, wogegen der Anteil in der Gruppe Training + Supplement am höchsten war.

	Männer		Frauen		Gesamt	
	Anzahl	%	Anzahl	%		%
Alterskategorie						
65-74 Jahre	1	11,11	8	88,89	9	16,07
75-84 Jahre	3	12,00	22	88,00	25	44,64
≥85 Jahre	2	6,45	29	93,55	31	55,36
Interventionsgruppe						
Training	2	8,70	21	91,30	23	41,07
Training+Supplement	3	14,29	18	85,71	21	37,50
Kognition	1	4,76	20	95,24	21	37,50

Tab.12: Geschlechterspezifische Verteilung der Probanden nach Alterskategorie und Interventionsgruppe in Anzahl und Prozent bezogen auf die Gesamtheit der einzelnen Gruppen zum Zeitpunkt T4 (N=65).

Der durchschnittliche Body Mass Index (BMI) der Männer dieser Studienpopulation betrug zum Zeitpunkt T4 $25,65 \pm 2,02 \text{ kg/m}^2$, jener der Frauen $28,75 \pm 3,22 \text{ kg/m}^2$. Da die Männer anteilmäßig stark unterrepräsentiert waren, sind diese Angaben jedoch nur wenig aussagekräftig. Unter Betrachtung der gesamten Studienpopulation betrug der BMI $28,46 \pm 3,54 \text{ kg/m}^2$. Die Ausreißer wurden in diese Analyse nicht miteinbezogen. Damit liegen die Studienteilnehmer im mittleren bis oberen Bereich des wünschenswerten BMI von $24\text{-}29 \text{ kg/m}^2$ für ihre Alterskategorie [Dittrich, 2012].

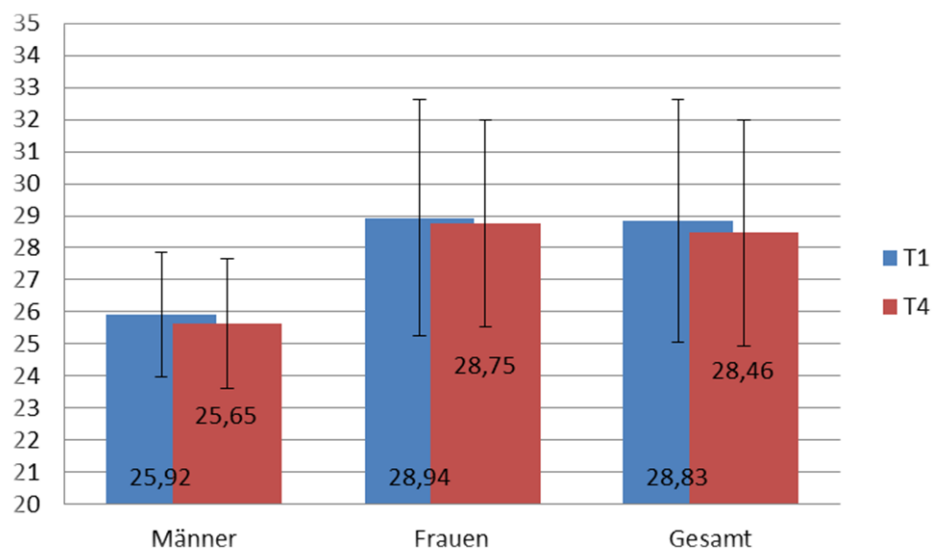


Abb.15: Mittelwert des Body Mass Index (BMI) in kg/m^2 der Männer und Frauen zum Zeitpunkt T4 im Vergleich zum Beginn der Intervention (N=65).

Das durchschnittliche Alter zu Beginn der Studie lag bei den Teilnehmern des Zeitpunktes T4 bei $82,51 \pm 5,94$ Jahren. Der jüngste Teilnehmer war 66 Jahre der älteste 92 Jahre. Die Probanden wurden in 3 Alterskategorien eingeteilt. In der Kategorie 65-74 Jahre waren zum Zeitpunkt T4 9 Probanden, in der Kategorie 75-84 Jahre 25 Teilnehmer und in der Kategorie ≥ 85 Jahre 31 Teilnehmer.

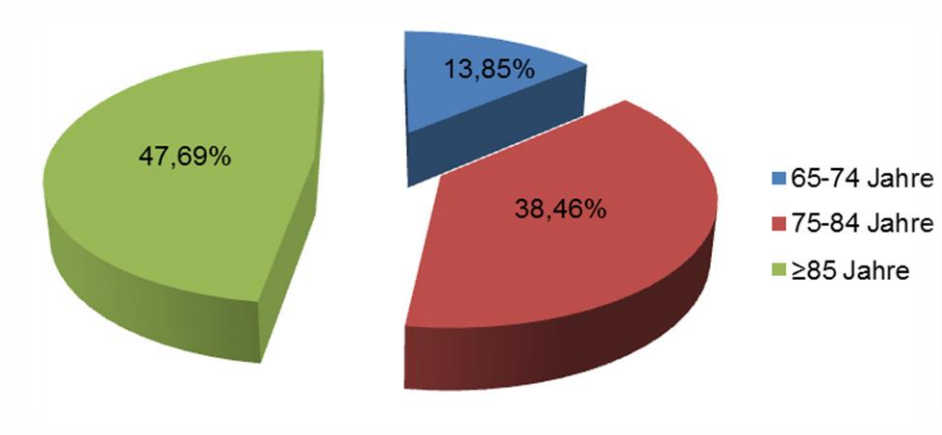


Abb.16: Verteilung der Probanden nach Alterskategorien zum Zeitpunkt T4 in Prozent (N=65).

In der Trainingsgruppe waren zum Zeitpunkt T4 23 Personen vertreten, 21 in der Gruppe Training + Supplement, sowie 21 in der Kognitionsgruppe.

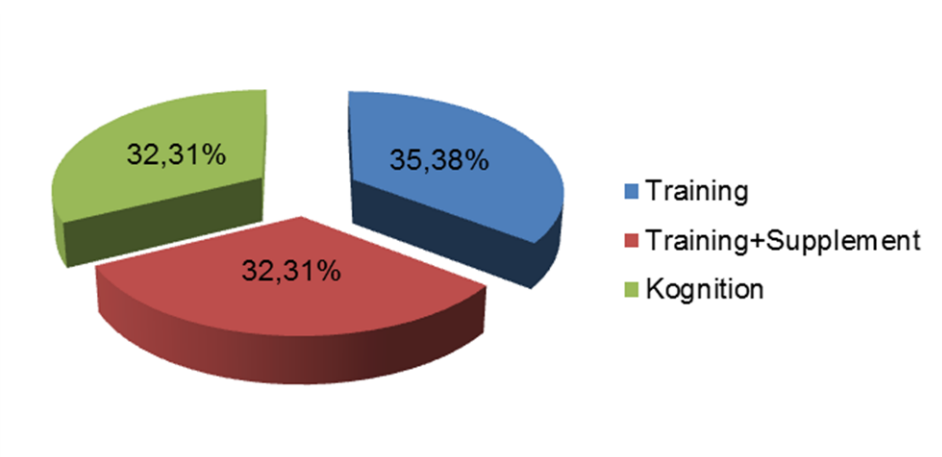


Abb.17: Verteilung der Probanden nach Interventionsgruppen zum Zeitpunkt T4 in Prozent (N=65).

Zahlenmäßig waren in der Alterskategorie 65-74 Jahre die wenigsten Teilnehmer vertreten, die Verteilung in den Interventionsgruppen fiel jedoch einigermaßen homogen aus. In der mittleren Alterskategorie nahmen mit Abstand die meisten Probanden an der Trainingsintervention, als an den beiden anderen Interventionen teil. Aufgrund dessen war auch die Alterskategorie 75-84 Jahre in der Trainingsgruppe deutlich überrepräsentiert. Die Alterskategorie ≥ 85 Jahre war in der Kognitionsgruppe am häufigsten vertreten.

Gruppe	Durchschnittsalter	Anzahl der Probanden nach Alterskategorie		
		65-74 Jahre	75-84 Jahre	≥ 85 Jahre
Training	81,96 $\pm$ 5,50 Jahre	3	12	8
Training+Supplement	81,81 $\pm$ 7,33 Jahre	4	7	10
Kognition	83,81 $\pm$ 4,82 Jahre	2	6	13
Gesamt	82,51 $\pm$ 5,94 Jahre	9	25	31

Tab.13: Mittelwert des Alters der Studienteilnehmer zum Zeitpunkt T4 zu Studienbeginn mit Standardabweichung und Aufteilung nach Interventionsgruppe und Alterskategorie (N=65).

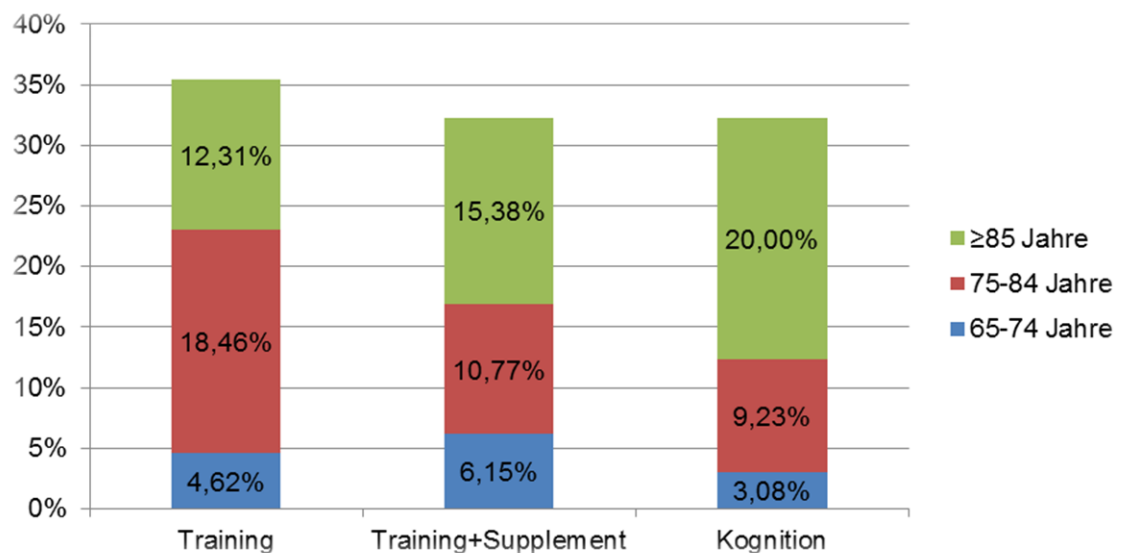


Abb.18: Altersverteilung der Probanden in den Interventionsgruppen zum Zeitpunkt T4 in Prozent (N=65).

4.3.2 Veränderungen der DNA-Schäden zum Zeitpunkt T4

In diesem Abschnitt wird auf die Ergebnisse und Veränderungen der DNA-Schäden nach 12-monatiger Trainingsintervention eingegangen und mit dem Status zu Beginn der Studie verglichen. Da die Ernährungsintervention nur 6 Monate andauerte, wird die Gruppe Training + Supplement ähnlich behandelt, wie die Trainingsgruppe. Vom Zeitpunkt T3 zum Zeitpunkt T4 absolvierten die Probanden wöchentlich ein angeleitetes Gruppentraining und zusätzlich ein selbstständiges Training.

4.3.2.1 Ergebnisse der Behandlung mit Lyse

Mittels der Behandlung mit Lyse werden Einzel- und Doppelstrangbrüche erfasst.

Anhand der Analyse nach Interventionsgruppe wird ersichtlich, dass es nach anfänglicher Steigung der DNA-Schäden bis zum Zeitpunkt T4 zu einer allgemeinen Abnahme unter den Ausgangswert kam. Allerdings fielen die Veränderungen in allen Interventionsgruppen, sowie auch unter Betrachtung der Gesamtpopulation nicht signifikant aus.

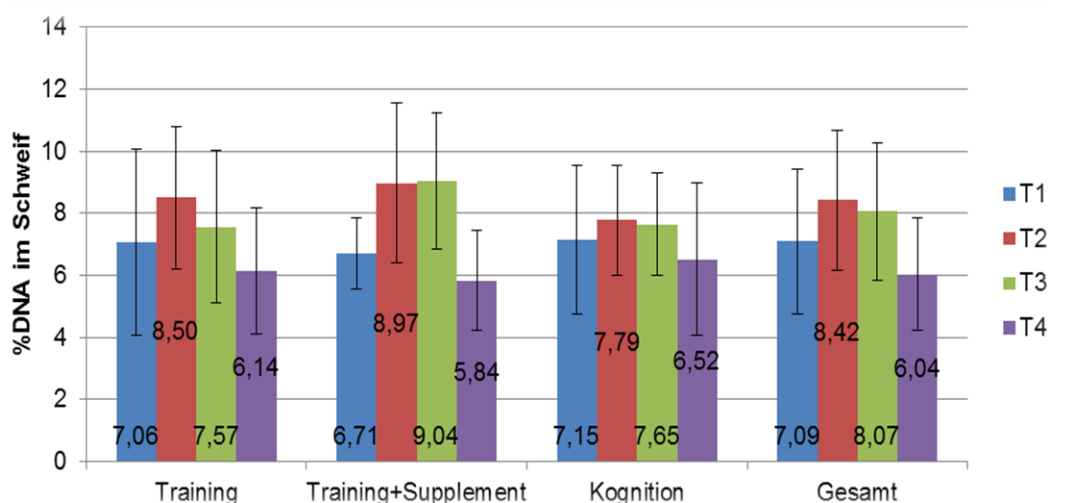


Abb.19: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweif) im Verlauf der Intervention nach Interventionsgruppe bei Behandlung mit Lyse (T4).

Die Betrachtung der Ergebnisse nach Alterskategorie zeigt ein ähnliches Bild. In allen Altersstufen kam es nach anfänglicher Steigung der DNA-Schäden zu einer Reduktion unterhalb des Ausgangswertes nach 12 Monaten. Signifikant war der Rückgang um 17,01% ($p=0,025$) in der Alterskategorie ≥ 85 Jahre.

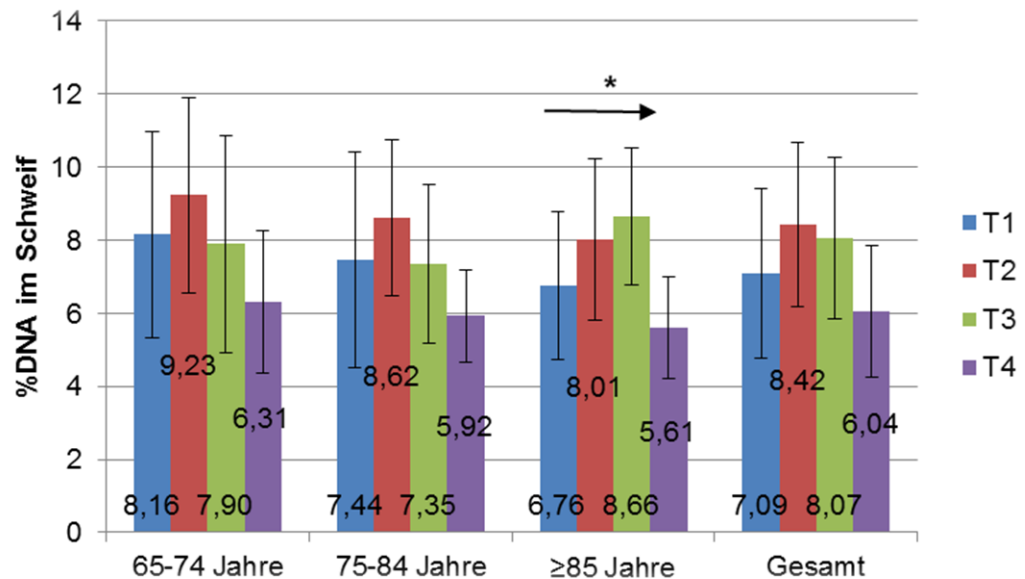


Abb.20: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Alterskategorie bei Behandlung mit Lyse (T4).

	DNA-Schäden nach Behandlung mit Lyse mit Standardabweichung		Veränderungen in %
	T1	T4	T1>T4
Intervention			
Training	7,05 ± 2,99	6,14 ± 2,03	-12,91
Training + Supplement	6,71 ± 1,15	5,84 ± 1,62	-12,97
Kognition	7,15 ± 2,41	6,52 ± 2,46	-8,81
Alter			
65-74 Jahre	8,16 ± 2,82	6,31 ± 1,94	-22,67
75-84 Jahre	7,44 ± 2,95	5,92 ± 1,27	-20,43
≥ 85 Jahre	6,76 ± 2,01	5,61 ± 1,38	-17,01*
Gesamt	7,09 ± 2,33	6,04 ± 1,81	-14,81

Tab.14: Veränderung der DNA-Schäden nach 12-monatiger Intervention bei Behandlung mit Lyse (N=65).

4.3.2.2 Ergebnisse der Behandlung mit H_2O_2

Mittels der Behandlung der Zellen mit H_2O_2 vor der eigentlichen Lyse soll die Stressresistenz und somit auch die antioxidative Abwehr ermittelt werden.

Mit Ausnahme der Gruppe Training + Supplement war der Schaden nach Behandlung mit H_2O_2 zum Zeitpunkt T4 am höchsten. Die geringe Reduktion um 1,40% ist allerdings nur wenig aussagekräftig. Mit einer Steigerung um 18,52% ($p=0,018$) war diese Beobachtung in der Trainingsgruppe signifikant.

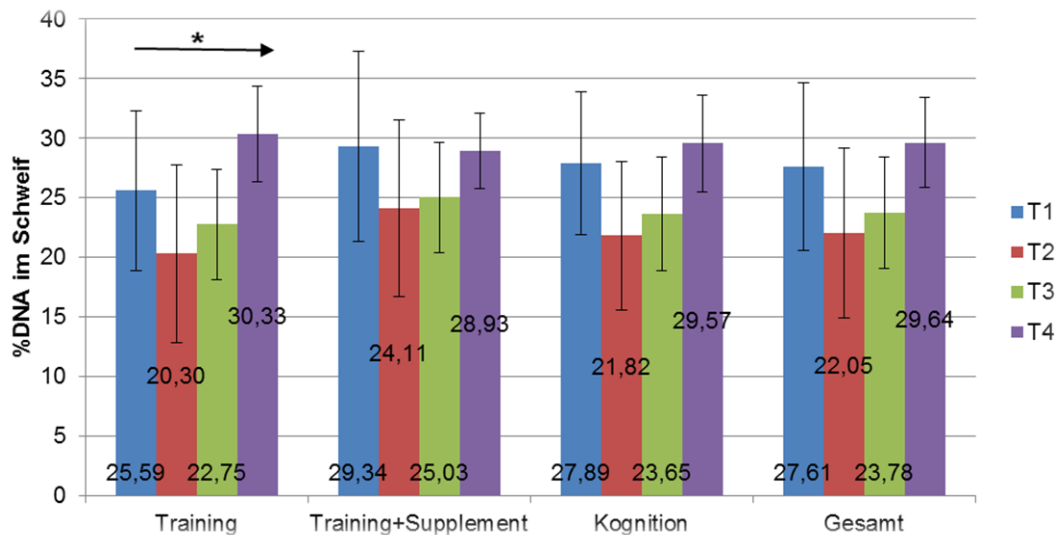


Abb.21: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Interventionsgruppe bei Behandlung mit H_2O_2 (T4).

Dagegen kam es beim Vergleich der Daten nach Alterskategorie bei der Behandlung mit H_2O_2 zu keiner signifikanten Veränderung der DNA-Schäden zwischen Zeitpunkt T1 und T4. Nach anfänglicher Reduktion war nach 12 Monaten eine Zunahme zu beobachten.

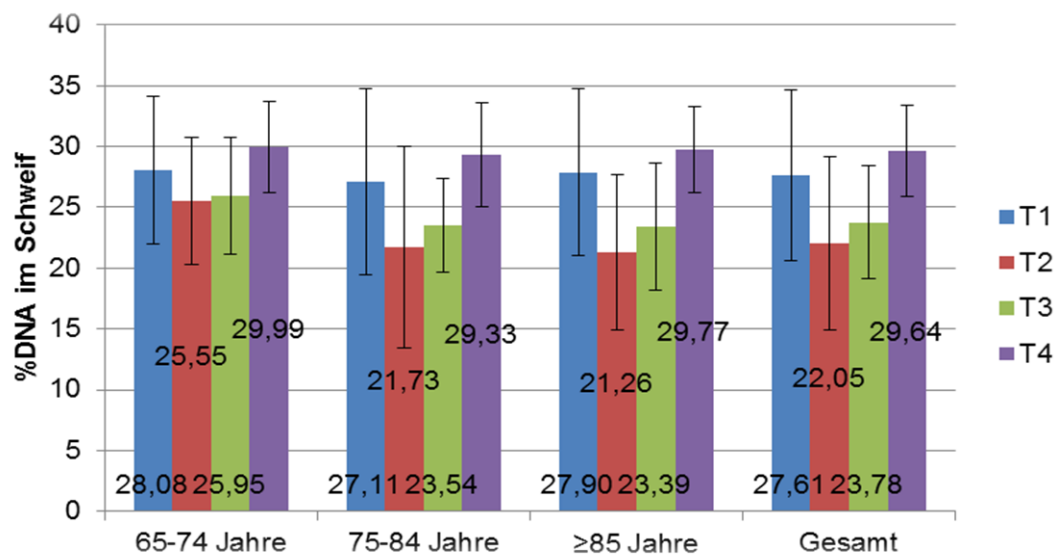


Abb.22: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Alterskategorie bei Behandlung mit H_2O_2 (T4).

	DNA-Schäden nach Behandlung mit H_2O_2 mit Standardabweichung		Veränderungen in %
	T1	T4	T1>T4
Intervention			
Training	25,59 ± 6,72	30,33 ± 4,01	+18,52*
Training + Supplement	29,34 ± 7,96	28,93 ± 3,20	-1,40
Kognition	27,89 ± 5,99	29,57 ± 4,05	+6,02
Alter			
65-74 Jahre	28,08 ± 6,10	29,99 ± 3,75	+6,80
75-84 Jahre	27,11 ± 7,63	29,33 ± 4,27	+8,19
≥85 Jahre	27,90 ± 6,87	29,77 ± 3,51	+6,70
Gesamt	27,61 ± 7,00	29,64 ± 3,77	+7,35

Tab.15: Veränderung der DNA-Schäden nach 12-monatiger Intervention bei Behandlung mit H_2O_2 (N=65).

4.3.3.3 Ergebnisse der Behandlung mit FPG

Durch die Behandlung der Proben mit FPG nach der Lysebehandlung konvertieren oxidierte Purine in der DNA zu Strangbrüchen, wodurch diese erfasst werden können.

Der oxidative Status der Probanden war nach 12-monatiger Intervention bei allen Gruppen jenem zu Beginn der Studie sehr ähnlich, folglich kam es zu keinen signifikanten Veränderungen. Nach anfänglicher Steigerung, mit Ausnahme der Kognitionsgruppe, fielen die Werte anschließend ab und stiegen dann wieder an.

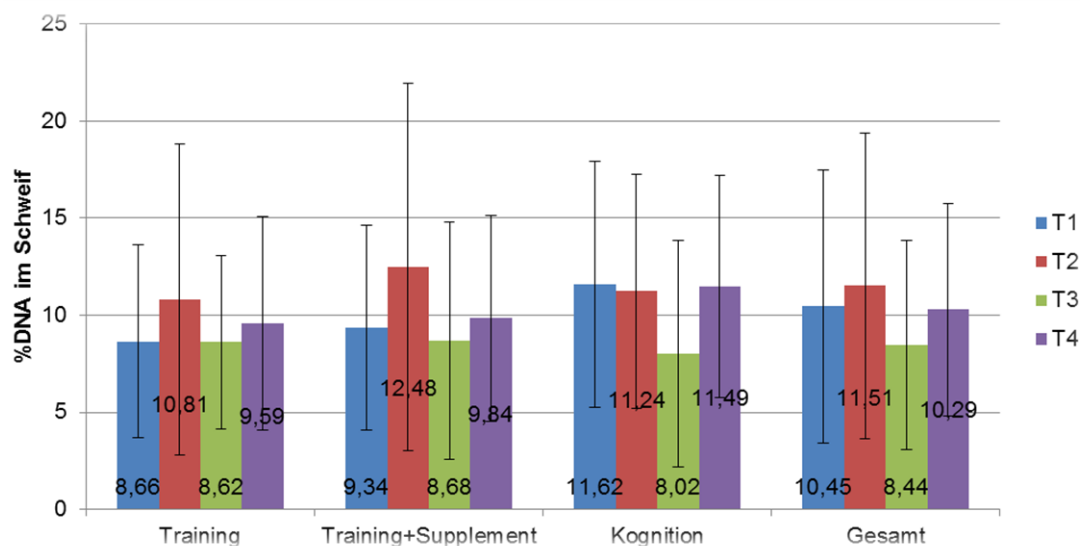


Abb.23: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweif) im Verlauf der Intervention nach Interventionsgruppe bei Behandlung mit FPG (T4).

Auch die Analyse der Daten nach Alterskategorie ergab zum Zeitpunkt T4 ähnliche oxidative Schäden als zum Zeitpunkt T1. Die Alterskategorie ≥ 85 Jahre kam es während der Studiendauer von 12 Monaten kaum zu Veränderungen.

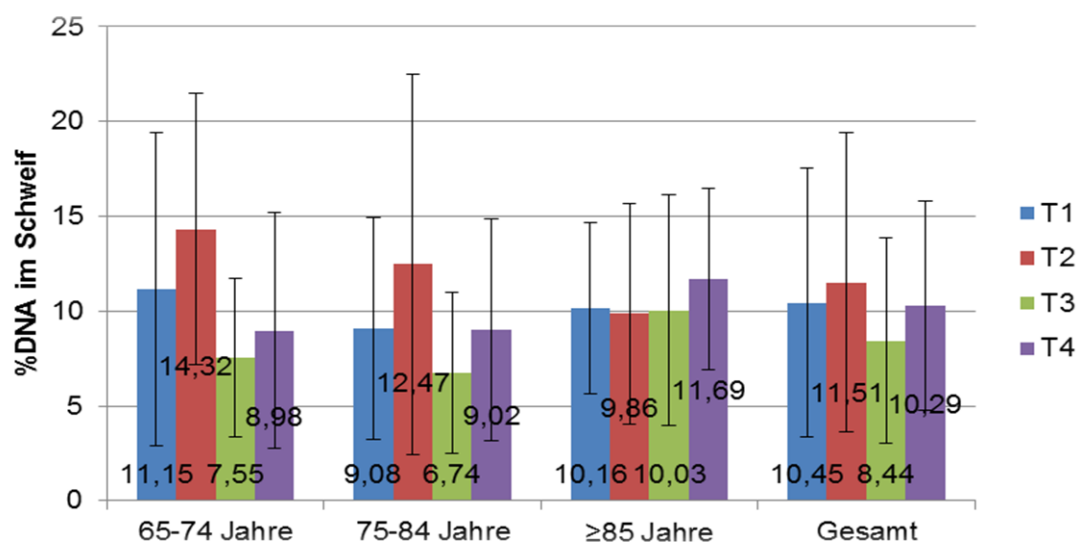


Abb.24: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Alterskategorie bei Behandlung mit FPG (T4).

	DNA-Schäden nach Behandlung mit FPG mit Standardabweichung		Veränderungen in %
	T1	T4	T1>T4
Intervention			
Training	8,66 ± 4,96	9,59 ± 5,49	+10,74
Training + Supplement	9,34 ± 5,28	9,84 ± 5,32	+5,35
Kognition	11,62 ± 6,34	11,49 ± 5,73	-1,12
Alter			
65-74 Jahre	11,15 ± 8,27	8,98 ± 6,19	-19,46
75-84 Jahre	9,08 ± 5,83	9,02 ± 5,86	-0,66
≥85 Jahre	10,16 ± 4,52	11,69 ± 4,78	+15,06
Gesamt	10,45 ± 7,06	10,29 ± 5,49	-1,53

Tab.16: Veränderung der DNA-Schäden nach 12-monatiger Intervention bei Behandlung mit FPG (N=65).

4.4 Ergebnisse nach 18-monatiger Intervention

Über den Untersuchungszeitraum von eineinhalb Jahren beendeten 49 Personen vorzeitig ihre Mitarbeit an der Studie. In der Kognitionsgruppe fiel die Ausfallsquote mit 21 Personen beziehungsweise 60,0% am höchsten aus. In der Trainingsgruppe fielen 13 Personen aus, was einer Ausfallsquote von 34,2%. In der Gruppe Training + Supplement schieden 15 Personen, beziehungsweise 46,88% vorzeitig aus. Zu Beginn der Studie bildete die Alterskategorie ≥ 85 Jahre mit Abstand die größte Gruppe. Aufgrund des hohen Alters lag die Ausfallsrate mit 29 Personen oder 54,7% erwartungsgemäß am höchsten. Am Studienende bildete die Alterskategorie 75-84 Jahre deshalb die größte Gruppe. Hier fielen 17 Personen aus, was 42,5% entspricht. Obwohl in der Alterskategorie 65-74 Jahre lediglich 3 Personen oder 25,0% vorzeitig ausschieden, bleibt diese Gruppe, wie zu Beginn, mit Abstand die kleinste Gruppe. Die Gründe für das Ausscheiden waren sehr unterschiedlich.

4.4.1 Studienpopulation zum Zeitpunkt T5

Die Daten von 56 Probanden konnten nach Beendigung der Studie zur Analyse herangezogen werden, darunter befanden sich 50 Frauen und 6 Männer. Trotz der hohen Ausfallsquote während der gesamten Studiendauer von 18 Monaten veränderte sich die geschlechterspezifische Verteilung der Studienpopulation vom Zeitpunkt T1 bis zum Zeitpunkt T5 kaum.

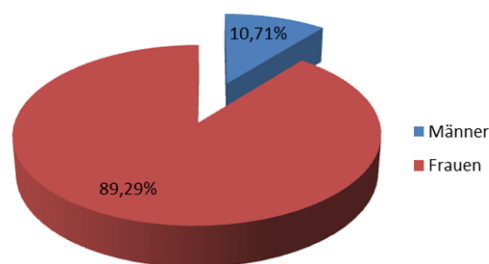


Abb.25: Prozentuale Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer zum Zeitpunkt T5 (N=56).

Unter Betrachtung der geschlechterspezifischen Verteilung nach Alterskategorie wird ersichtlich, dass der Männeranteil in Kategorie ≥ 85 Jahre am geringsten ausfiel, was durch die bereits beschriebenen Theorien bekräftigt wird. In den Interventionsgruppen fiel der Anteil der Männer in der Kognitionsgruppe am geringsten aus, wogegen der Anteil in der Gruppe Training + Supplement am höchsten war.

	Männer		Frauen		Gesamt	
	Anzahl	%	Anzahl	%		%
Alterskategorie						
65-74 Jahre	1	11,11	8	88,89	9	16,07
75-84 Jahre	3	13,04	20	86,96	23	41,07
≥ 85 Jahre	2	8,33	22	91,67	24	42,86
Interventionsgruppe						
Training	2	8,00	23	92,00	25	44,64
Training+Supplement	3	17,65	14	82,35	17	30,36
Kognition	1	7,14	13	92,86	14	25,00

Tab.17: Geschlechterspezifische Verteilung der Probanden nach Alterskategorie und Interventionsgruppe in Anzahl und Prozent bezogen auf die Gesamtheit der einzelnen Gruppen zum Zeitpunkt T5 (N=56).

Die in das Endergebnis miteinbezogenen Probanden, waren zu Beginn der Intervention im Durchschnitt $82,00 \pm 6,04$ Jahre alt, der jüngste Teilnehmer war 66, der älteste 92 Jahre alt. Die Probanden wurden 3 Alterskategorien zugeteilt. In der Kategorie 65-74 Jahre beendeten 9 Probanden die Studie, in der Kategorie 75-84 Jahre 23 Teilnehmer und in der Kategorie ≥ 85 Jahre 24 Teilnehmer.

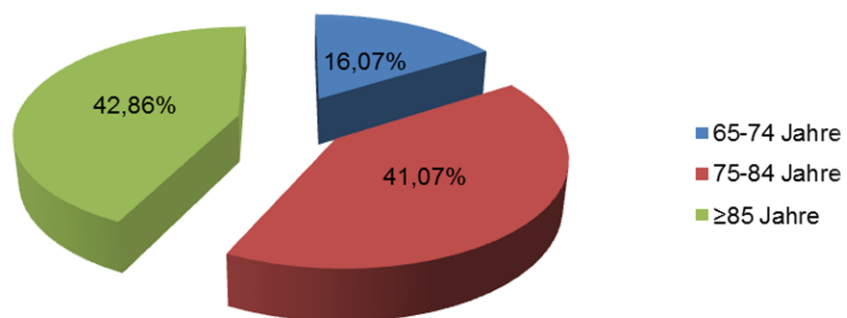


Abb.26: Verteilung der Probanden nach Alterskategorien zum Zeitpunkt T5 in Prozent (N=56).

In der Trainingsgruppe beendeten 25 Personen die Studie, 17 in der Gruppe Training + Supplement und 14 in der Kognitionsgruppe.

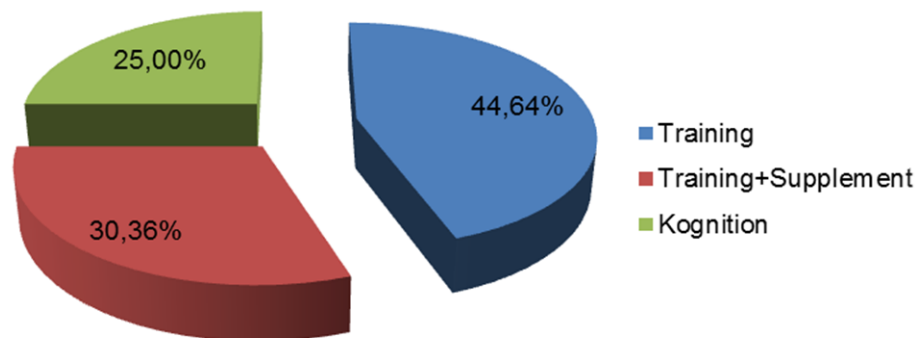


Abb.27: Verteilung der Probanden nach Interventionsgruppen zum Zeitpunkt T5 in Prozent (N=56).

Zahlenmäßig waren in der Alterskategorie 65-74 Jahre die wenigsten Teilnehmer vorhanden, die Verteilung in den Interventionsgruppen fiel jedoch einigermaßen homogen aus. In der mittleren Alterskategorie nahmen mehr als doppelt so viele Probanden an der Trainingsintervention, als an den beiden anderen Interventionen teil. Aufgrund dessen war auch die Alterskategorie 75-84 Jahre in der Trainingsgruppe deutlich überrepräsentiert. In Anbetracht der Verteilung innerhalb der Interventionsgruppen war die Alterskategorie ≥ 85 Jahre am gleichmäßigsten aufgeteilt und in der Kognitionsgruppe am häufigsten vertreten.

Gruppe	Durchschnittsalter	Anzahl der Probanden nach Alterskategorie		
		65-74 Jahre	75-84 Jahre	≥ 85 Jahre
Training	82,08 $\pm$ 5,45 Jahre	3	13	9
Training+Supplement	81,24 $\pm$ 7,54 Jahre	4	5	8
Kognition	82,79 $\pm$ 5,29 Jahre	2	5	7
Gesamt	82,00 $\pm$ 6,04 Jahre	9	23	24

Tab.18: Mittelwert des Alters der Studienteilnehmer zu Studienbeginn mit Standardabweichung und Aufteilung nach Interventionsgruppe und Alterskategorie zum Zeitpunkt T5 (N=56).

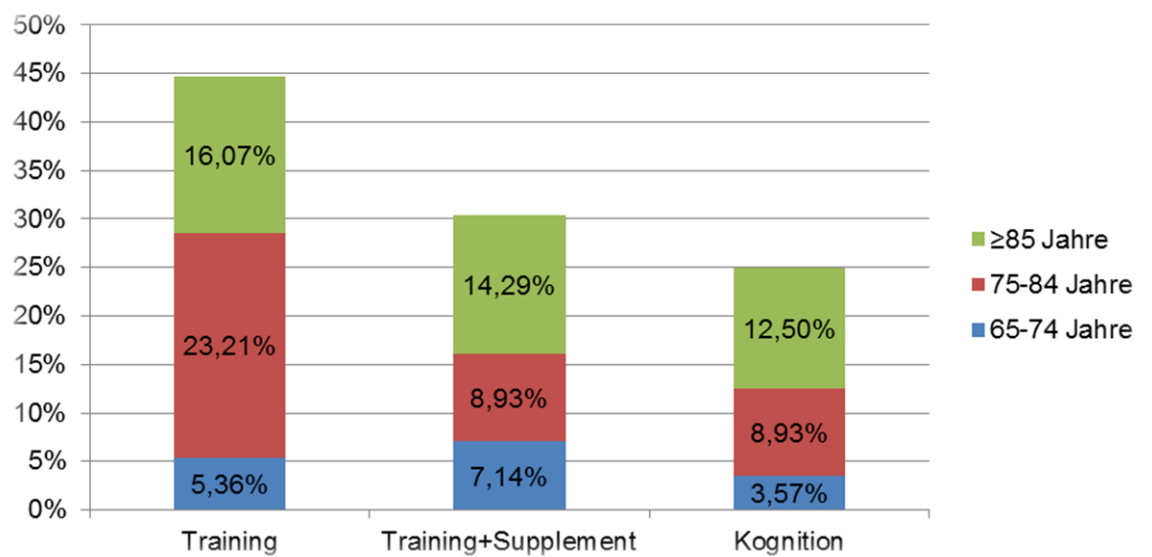


Abb.28: Altersverteilung der Probanden in den Interventionsgruppen zum Zeitpunkt T5 in Prozent (N=56).

4.4.2 Veränderungen der DNA-Schäden zum Zeitpunkt T5

In diesem Abschnitt wird auf die Ergebnisse und Veränderungen der DNA-Schäden nach 18-monatiger Trainingsintervention eingegangen und mit dem Status zu Beginn der Studie verglichen. Da die Ernährungsintervention nur 6 Monate andauerte, wird die Gruppe Training + Supplement ähnlich behandelt, wie die Trainingsgruppe. Vom Zeitpunkt T4 zum Zeitpunkt T5 wurden die Probanden dazu aufgefordert, das Trainingsprogramm zweimal wöchentlich selbstständig durchzuführen.

4.4.2.1 Ergebnisse der Behandlung mit Lyse

Mittels der Behandlung mit Lyse werden Einzel- und Doppelstrangbrüche erfasst.

Nach anfänglicher Steigung der DNA-Schäden bis zum Zeitpunkt T4 kam es zu einer allgemeinen Abnahme unter den Ausgangswert, welche jedoch in keiner der Gruppen signifikant ausfiel. Bis zum letzten Untersuchungszeitpunkt näherten sich die Schäden jedoch wieder den Ausgangswerten an. Mit Ausnahme der Gruppe Training + Supplement lagen die Schäden zum Zeitpunkt T5 jedoch noch unter den Ausgangswerten des Zeitpunktes T1, wobei diese Veränderungen nicht signifikant ausfielen. Die Betrachtung der Gesamtpopulation ergab ebenfalls kein signifikantes Ergebnis.

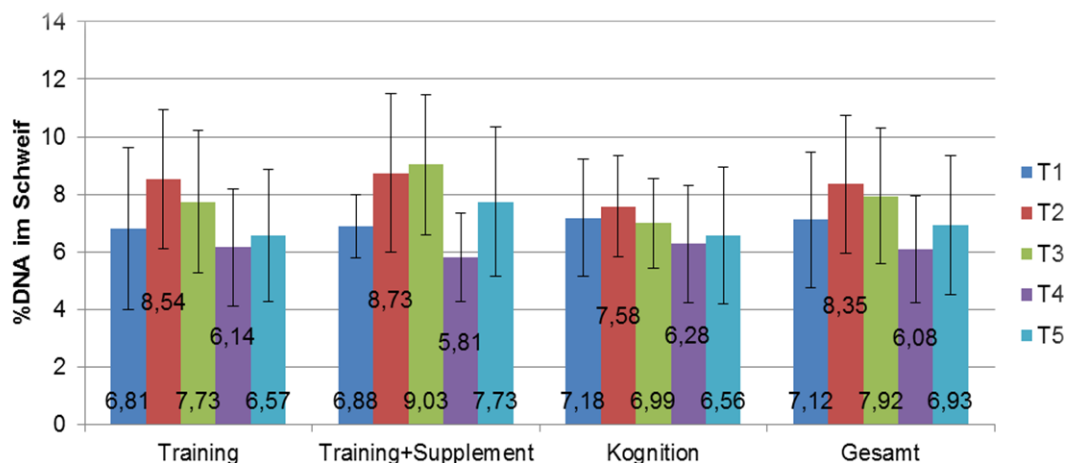


Abb.29: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweif) im Verlauf der Intervention nach Interventionsgruppe bei Behandlung mit Lyse (T5).

Zu ähnlichen Ergebnissen kam es unter Betrachtung der Schäden nach Alterskategorie. Nach anfänglicher Steigung der Werte kam es nach 12 monatiger Intervention bei allen Alterskategorien zu einer Abnahme, nach weiteren 6 Monaten näherten sich diese jedoch wieder dem Ausgangsniveau

an. Allerdings fielen die Unterschiede zwischen den Zeitpunkten T1 und T4, T1 und T5, sowie T4 und T5 in keiner der Alterskategorien signifikant aus.

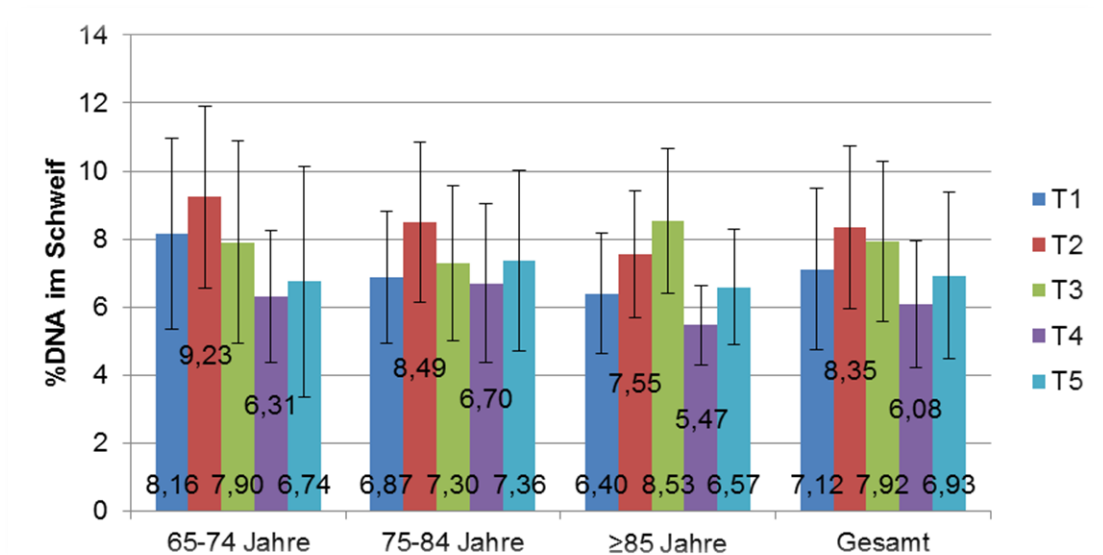


Abb.30: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Alterskategorie bei Behandlung mit Lyse (T5).

	DNA-Schäden nach Behandlung mit Lyse mit Standardabweichung			Veränderung in %		
	T1	T4	T5	T1>T4	T1>T5	T4>T5
Intervention						
Training	6,81 ± 2,82	6,14 ± 2,03	6,57 ± 2,30	-9,84	-3,52	+7,00
Training + Supplement	6,88 ± 1,09	5,81 ± 1,56	7,73 ± 2,60	-15,55	+12,35	+33,05
Kognition	7,18 ± 2,04	6,28 ± 2,03	6,56 ± 2,39	-12,53	-8,64	+4,46
Alter						
65-74 Jahre	8,16 ± 2,82	6,31 ± 1,94	6,74 ± 3,39	-22,67	-17,40	+6,81
75-84 Jahre	6,87 ± 1,94	6,70 ± 2,34	7,36 ± 2,67	-2,47	+7,13	+9,85
≥85 Jahre	6,40 ± 1,78	5,47 ± 1,17	6,57 ± 1,70	-14,53	+2,66	+20,11
Gesamt	7,12 ± 2,37	6,08 ± 1,86	6,93 ± 2,43	-14,61	-2,67	+13,98

Tab.19: Veränderung der DNA-Schäden nach 18-monatiger Intervention bei Behandlung mit Lyse (N=56).

4.4.2.2 Ergebnisse der Behandlung mit H₂O₂

Mittels der Behandlung der Zellen mit H₂O₂ vor der eigentlichen Lyse soll die Stressresistenz und somit auch die antioxidative Abwehr ermittelt werden.

Nach anfänglichem Absinken der Schäden, stiegen diese bis zum Zeitpunkt T4 wieder an. Signifikant fiel diese Erhöhung in der Trainingsgruppe mit 17,88% (p=0,018), in der Kognitionsgruppe mit 8,55% (p=0,050), sowie auch in der Gesamtgruppe mit 9,63% (p=0,029) aus. Anschließend gingen die Werte jedoch wieder leicht zurück, sodass die Vergleiche zwischen den Zeitpunkten T1 und T5 nicht signifikant ausfielen. Eine Ausnahme bildete die Gruppe Training + Supplement, hier kam es jedoch zu keinen signifikanten Ergebnissen.

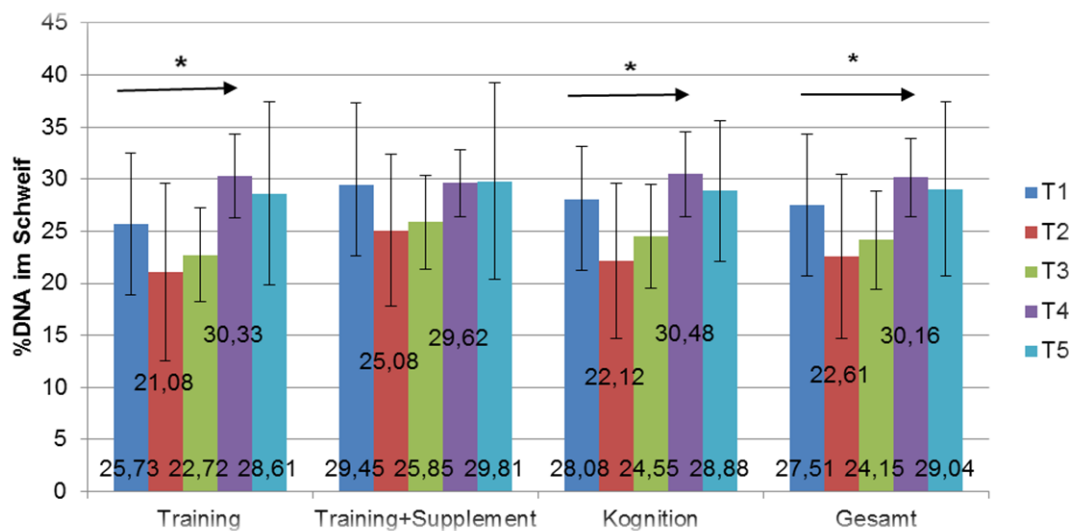


Abb.31: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Interventionsgruppe bei Behandlung mit H₂O₂ (T5).

Die Analyse nach Alterskategorie zeigte ein ähnliches Bild, wie oben beschrieben. Signifikante Unterschiede traten jedoch in keiner der Alterskategorien auf. Signifikant fiel das Ergebnis, wie bereits erwähnt, nur in der Gesamtpopulation aus.

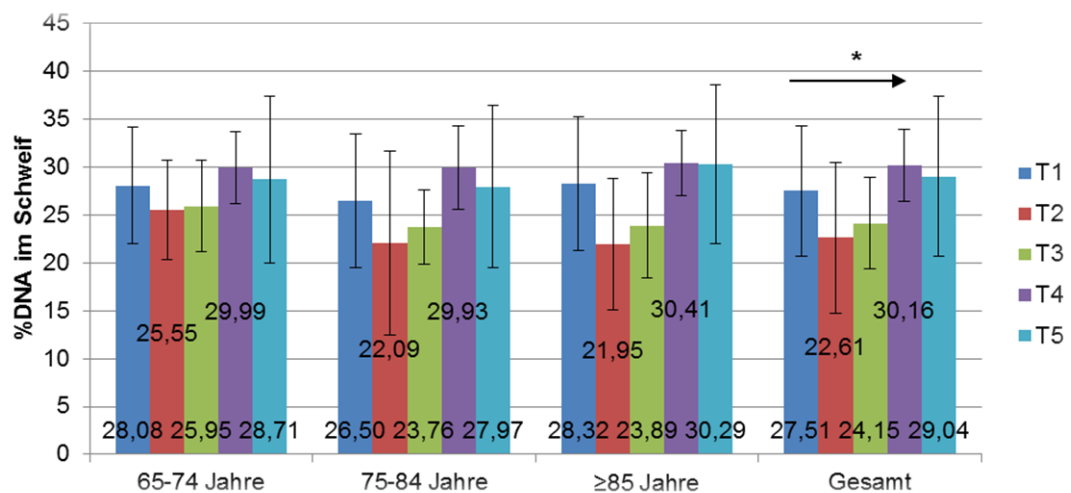


Abb.32: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Alterskategorie bei Behandlung mit H_2O_2 (T5).

	DNA-Schäden nach Behandlung mit H_2O_2 mit Standardabweichung			Veränderung in %		
	T1	T4	T5	T1>T4	T1>T5	T4>T5
Intervention						
Training	25,73 ± 6,76	30,33 ± 4,01	28,61 ± 8,77	+17,88*	+11,19	-5,67
Training + Supplement	29,45 ± 7,85	29,62 ± 3,25	29,81 ± 9,42	+0,58	+1,22	+0,64
Kognition	28,08 ± 5,02	30,48 ± 4,09	28,88 ± 6,74	+8,55*	+2,85	-5,25
Alter						
65-74 Jahre	28,08 ± 6,10	29,99 ± 3,75	28,71 ± 8,75	+6,80	+2,24	-4,27
75-84 Jahre	26,50 ± 7,02	29,93 ± 4,36	27,97 ± 8,47	+12,94	+5,55	-6,55
≥85 Jahre	28,32 ± 6,99	30,41 ± 3,37	30,29 ± 8,32	+7,38	+6,96	-0,39
Gesamt	27,51 ± 6,82	30,16 ± 3,76	29,04 ± 8,36	+9,63*	+5,56	-3,71

Tab.20: Veränderung der DNA-Schäden nach 18-monatiger Intervention bei Behandlung mit Wasserstoffperoxid (N=56).

4.4.2.3 Ergebnisse der Behandlung mit FPG

Durch die Behandlung der Proben mit FPG nach der Lysebehandlung konvertieren oxidierte Purine in der DNA zu Strangbrüchen, wodurch diese erfasst werden können.

Der oxidative Status der Probanden war nach 12-monatiger Intervention in den beiden Trainingsgruppen etwas höher als zu Beginn der Studie. Nach weiteren 6 Monaten stiegen Werte tendenziell weiterhin leicht an. In der Kognitionsgruppe kam es im Verlauf der Studie dagegen zu einer leichten Abnahme der oxidierten Schäden. Diese Gruppe zeigte allerdings zum Zeitpunkt T1 höhere Werte, als die beiden Trainingsgruppen. Im Allgemeinen kam es jedoch zu keinen signifikanten Ergebnissen. Unter Betrachtung der Gesamtpopulation sind die Veränderungen vernachlässigbar.

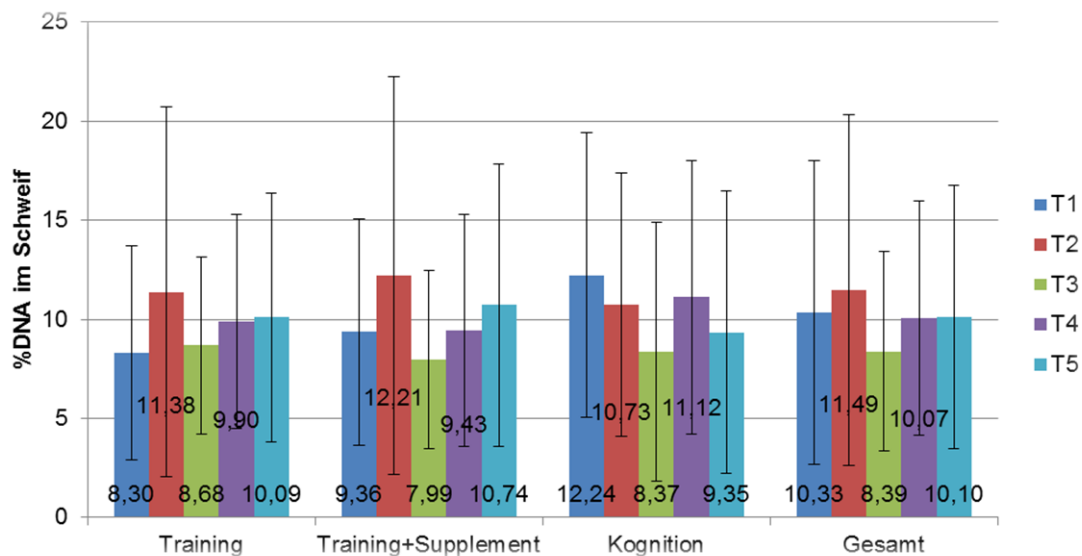


Abb.33: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Interventionsgruppe bei Behandlung mit FPG (T5).

Anhand der Analyse nach Alterskategorie, lässt sich der hohe Anteil an über 85 jährigen Probanden in der Kognitionsgruppe erkennen. Diese beiden Gruppen zeigen im Vergleich zu den anderen Interventionsgruppen und Alterskategorien

einen etwas anderen Verlauf des oxidativen Status während der Studiendauer. Nach 12- und 18-monatiger Intervention lagen die oxidativen Schäden unterhalb des Ausgangswertes. Im Gegensatz dazu, stiegen die Werte der Alterskategorien 65-74, sowie 75-84 nach 12 und 18 Monaten tendenziell leicht an. Jedoch kam es zwischen den Zeitpunkten T1 und T4, sowie T1 und T5 und T4 und T5 in keiner der Alterskategorien zu signifikanten Ergebnissen.

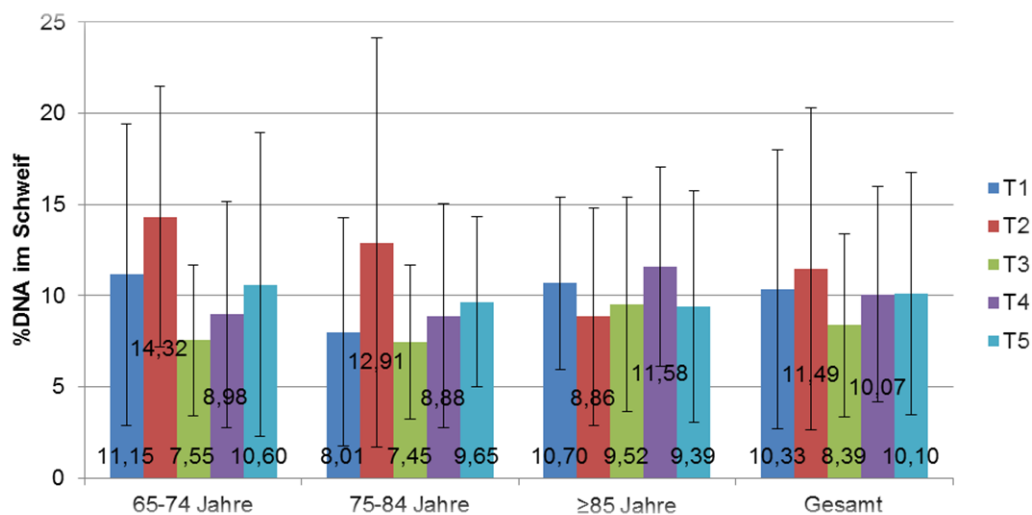


Abb.34: Mittelwerte des DNA-Schadens (prozentualer Anteil der DNA im Schweiß) im Verlauf der Intervention nach Alterskategorie bei Behandlung mit FPG (T5).

	DNA-Schäden nach Behandlung mit FPG mit Standardabweichung			Veränderung in %		
	T1	T4	T5	T1>T4	T1>T5	T4>T5
Intervention						
Training	8,30 ± 5,40	9,90 ± 5,42	10,09 ± 6,28	+19,28	+21,57	+1,92
Training + Supplement	9,36 ± 5,69	9,43 ± 5,86	10,74 ± 7,13	+0,75	+14,74	+13,89
Kognition	12,24 ± 7,18	11,12 ± 6,91	9,35 ± 7,12	-9,15	-23,61	-15,92
Alter						
65-74 Jahre	11,15 ± 8,27	8,98 ± 6,19	10,60 ± 8,32	-19,46	-4,93	+18,04
75-84 Jahre	8,01 ± 6,26	8,88 ± 6,15	9,65 ± 4,67	+10,86	+20,47	+8,67
≥85 Jahre	10,70 ± 4,73	11,58 ± 5,45	9,39 ± 6,33	+8,22	-12,24	-18,91
Gesamt	10,33 ± 7,66	10,07 ± 5,90	10,10 ± 6,65	-2,52	-2,23	+0,30

Tab.21: Veränderung der DNA-Schäden nach 18-monatiger Intervention bei Behandlung mit FPG (N=56).

4.5 Diskussion

Körperliche Aktivität führt aufgrund der erhöhten Sauerstoffaufnahme und entzündlicher Prozesse vermehrt zu oxidativem Stress. Bei Teilnehmern eines Ironman-Triathlons kam es laut *Neubauer et al.* (2008) unmittelbar nach Beendigung des Wettkampfes im Vergleich zu Voruntersuchungen zu einer Verminderung an Strangbrüchen. Erst am folgenden Tag stiegen die Schäden an, fielen 5 Tage nach der Belastung allerdings wieder auf den Ausgangswert ab. In weiterer Folge wurden 19 Tage nach dem Wettkampf weniger Strangbrüche als zu Beginn der Studie beobachtet. Anhand dieser Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass es trainingsbedingt zu einer Verbesserung der antioxidativen Abwehr kommt, um dauerhaften oder schweren oxidativen Schäden entgegenzuwirken [Neubauer et al., 2008]. Obwohl diese Resultate schwer mit jenen der „Active Ageing“-Plattform vergleichbar sind, scheint es sehr plausibel, dass die anfängliche Steigerung der Einzel- und Doppelstrangbrüche der Interventionsgruppen dieser Studie auf trainingsbedingte Reize zurückzuführen ist. Geringere Schäden nach 12-monatiger Intervention könnten auf eine Verbesserung der DNA-Reparaturmechanismen hindeuten. Zahlreiche Studien deuten auf eine tendenzielle Steigerung mitochondrialer Dysfunktionen mit dem Alterungsprozess hin. Zudem kommt es mit zunehmendem Alter zu Veränderungen der Stressresistenz gegenüber reaktiven Molekülen. Dies könnte zur Akkumulation von RONS beitragen und somit das zelluläre Redox-Gleichgewicht älterer Personen negativ beeinflussen [Dato et al., 2013]. Die anfängliche Reduktion der stressbedingten DNA-Schäden der Probanden könnte somit auf eine verbesserte endogene Abwehr gegenüber RONS zurückzuführen sein. *Ogawa et al.* (2008) kam zu dem Ergebnis, dass die spontane ROS-Produktion bestimmter Immunzellen mit zunehmendem Alter steigt und somit zu oxidativem Stress und mitochondrialen Dysfunktionen beiträgt [Ogawa et al., 2008]. *Radak et al.* (2011) beobachtete einen altersbedingten Anstieg an 8-oxoG, der jedoch stark vom Trainingszustand der Probanden abhing. Die Studienpopulation wurde dazu je nach Alter und

maximaler Sauerstoffaufnahme ($\text{VO}_2 \text{ max}$) in vier Gruppen eingeteilt (jung und inaktiv, $26,0 \pm 4,5$ Jahre, $35,9 \pm 4,7 \text{ mL/kg/min}$; jung und aktiv, $30,2 \pm 7,9$ Jahre, $51,8 \pm 7,9 \text{ mL/kg/min}$; alt und inaktiv $63,4 \pm 4,7$ Jahre, $25,1 \pm 3,0 \text{ mL/kg/min}$ und alt und körperlich aktiv, $62,4 \pm 2,9$ Jahre, $37,1 \pm 2,9 \text{ mL/kg/min}$). Unabhängig vom Alter blieben die DNA-Schäden nach submaximaler Belastung bei inaktiven Personen längerfristig deutlich erhöht. Bei körperlich aktiven Menschen kam es dagegen rasch zu einem Rückgang zum Ausgangsniveau vor der Belastung. Regelmäßige körperliche Aktivität könnte somit, altersunabhängig, der Akkumulation oxidierten Basen entgegenwirken und die Effizienz der DNA-Reparaturmechanismen, vor allem des Enzyms BER (Base Excision Repair), erhöhen [Radak et al. 2011]. Cobley et al. (2013) führte eine vergleichbare Studie durch und kam zu ähnlichen Ergebnissen. Jedoch kam es in der älteren Personengruppe im Vergleich zur jüngeren Studienpopulation, unabhängig vom Trainingszustand zu Modifikationen des Signalproteins Poly(ADP-ribose)-Polymerase 1 (PARP-1), welches zu den bedeutendsten Regulatoren bei DNA-Reparaturmechanismen und bei apoptotischen Vorgängen zählt. Die Ergebnisse deuteten auf vermehrte Apoptose bei älteren Personen hin. Regelmäßige körperliche Aktivität scheint demnach die altersbedingte Erhöhung des oxidativen Status nicht zu verhindern, aber deutlich zu verlangsamen [Cobley et al., 2013]. Da die Intervention der „Active Ageing“ Studie an untrainierten Probanden durchgeführt wurde, kam es zu Beginn zu deutlich erhöhten Werten der Oxidationsschäden. Mit der Verbesserung des körperlichen Allgemeinzustandes kam es in weiterer Folge auch zu einer Verminderung der oxidierten Basen. Die allgemeine Verschlechterung der Ergebnisse zu Studienende deutet dagegen stark auf eine Vernachlässigung des Trainings oder bereits erwähnte Alterungsmechanismen hin. Jedoch sollten auch exogene Faktoren, wie antioxidativ wirksame Inhaltsstoffe aus der Ernährung nicht außer Acht gelassen werden. Während der Dauer der Studie wurde die Kontrollgruppe als Kognitionsgruppe geführt, mit zweimal wöchentlich stattfindendem Kognitionstraining. Daher stellen die Probanden an sich eine eigene Interventionsgruppe dar. Wie zu erwarten, gab es zu Beginn der Studie

zwischen den Gruppen, auch aufgrund der relativ homogenen Altersverteilung keine signifikanten Unterschiede bezüglich der DNA-Schäden. Jedoch kam es auch nach 12-monatiger Intervention zu keinen großen Unterschieden, gegen Ende der Studie fielen die Werte der Kognitionsgruppe sogar tendenziell besser aus. Die Auswertung des SPPB-Tests ergab laut Studienkollegen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen. Möglicherweise sind die Probanden durch die körperliche Aktivität der anderen Interventionsgruppen selbst zu mehr Aktivität motiviert worden. Da gerade ältere Personen häufig zu sozialer Isolation neigen [bmfask, 2009] könnte der soziale Austausch unter den Studienteilnehmern einen nicht zu unterschätzenden Beitrag auf das allgemeine Wohlbefinden beitragen, weshalb diese ihr Aktivitätsniveau unbewusst steigerten. Zudem zeigen Studien, dass Personen, die ihr Leben lang körperlich aktiv waren, auch im Alter ein geringeres Risiko für altersbedingte Erkrankungen und eine bessere Stresstoleranz gegenüber oxidativen Schäden aufweisen [Radak et al., 2011; Dato et al., 2013]. Viele Antioxidantien sind gleichzeitig essentielle Nährstoffe und daher für die Aufrechterhaltung physiologischer Prozesse unabdingbar. Laut *Bergström, et al. (2012)* zeigte eine Überdosierung bestimmter Nährstoffe oder Nährstoffkombinationen aus Supplementen prooxidative Wirkungen und könnte somit zu ebenfalls zu oxidativem Stress beitragen [Bergström et al., 2012]. Mittels standardisierter Fragebögen bezüglich des Bewegungsverhaltens und dem sozialen Verhalten zu den Untersuchungszeitpunkten hätte die oben erwähnte Problematik möglicherweise umgangen oder reduziert werden können. Trotz der relativ langen Studiendauer sind die Ergebnisse daher schwer zu interpretieren. Möglicherweise hätte sich der Status der DNA-Schäden anders entwickelt, wenn das Training für die gesamte Studiendauer zweimal wöchentlich professionell angeleitet worden wäre. Zudem sind die Ergebnisse der Studie aufgrund der hohen Ausfallsquote kritisch zu betrachten. Auch die Probleme mit der Enzymaktivität während der Studiendauer könnten sich dramatisch auf das Endergebnis auswirken. Anhand der hohen Standardabweichungen in der Behandlung mit FPG werden die starken Schwankungen der Schäden innerhalb der Studienpopulation ersichtlich.

5. Schlussbetrachtung

Die anfängliche Steigerung der Einzel- und Doppelstrangbrüche in den Interventionsgruppen ist sehr wahrscheinlich auf trainingsbedingte Anpassungsreaktionen zurückzuführen. Geringere Schäden nach 12-monatiger Intervention sind möglicherweise bedingt durch verbesserte DNA-Reparaturmechanismen. Tendenziell fand nach 18-monatiger Intervention eine neuerliche Steigung der Werte statt. Dies ist möglicherweise auf eine Vernachlässigung des Trainings oder auf das steigende Alter zurückzuführen. Da mitochondriale Dysfunktionen mit dem Alterungsprozess tendenziell steigen, könnte dies die Akkumulation von RONS und somit deren zytotoxische Eigenschaften verstärken [Dato et al., 2013]. Signifikante Ergebnisse in der Gruppe Training und Supplement sind möglicherweise auf die Ernährungssituation zurückzuführen. Es ist sehr plausibel, dass die anfängliche Reduktion der stressbedingten DNA-Schäden auf die trainingsinduzierte verbesserte zelluläre Abwehr der RONS zurückzuführen ist [Radak et al., 2011]. Die nachfolgende zum Teil starke Erhöhung der Schäden deutet, wie bereits erwähnt, auf eine Vernachlässigung des Trainings hin. Nach anfänglicher Steigerung der Oxidationsschäden bei den Interventionsgruppen kam es im weiteren Verlauf zu einer Reduktion in Nähe des Ausgangswertes. Weitere Analysen zeigten jedoch eine weitere Steigerung. Die signifikante Zunahme der Schäden nach 18-monatiger Intervention deutet stark auf die bereits erwähnten Mechanismen hin. Obwohl chronischer oxidativer Stress als einer der Hauptursachen für die Entstehung altersbedingter Erkrankungen gilt und mit beschleunigter Alterung in Zusammenhang steht, zeigen einige Studien, dass ein erhöhter zellulärer oxidativer Metabolismus lebensverlängernde Vorteile mit sich bringt. Die Ökonomisierung antioxidativer Abwehrmechanismen erfordert jedoch lebenslang regelmäßige trainingsbedingte Reize [Radak & Boldogh, 2010].

6. Zusammenfassung

Hintergrund

Oxidativer Stress und eine verminderte zelluläre Abwehr freier Radikale und reaktiver Moleküle scheint den Alterungsprozess, sowie die Genese chronischer Erkrankungen durch ein vermehrtes Auftreten von Schäden an Biomolekülen zu begünstigen. Obwohl unregelmäßig durchgeführter Sport und Training zur vermehrten Entstehung von RONS führen, fördert regelmäßige körperliche Aktivität zweifelsohne gesundes Altern und vermindert Morbidität und Mortalität. Die derzeitige Studienlage geht davon aus, dass die trainingsinduzierte erhöhte Belastung durch reaktive Moleküle zu einer Ökonomisierung der antioxidativen Abwehr- und der zellulären Reparaturmechanismen führt.

Materialien und Methoden

Im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“ nahmen 117 institutionalisierte PensionistInnen an einer 18-monatigen Interventionsstudie teil. Die Probanden wurden entweder einer Trainingsgruppe, einer Trainingsgruppe mit Ernährungsintervention oder einer Kognitionsgruppe zugeteilt. Im Verlauf der Intervention wurden die DNA-Schäden an fünf Untersuchungszeitpunkten mit Hilfe des Comet Assays verglichen. Neben Einzel- und Doppelstrangbrüchen wurden auch stressinduzierte Schäden und oxidierte Purine, mittels des Enzyms FPG, ermittelt.

Ergebnisse

Nach einjähriger Intervention kam es tendenziell zu einer Abnahme der Schäden und einer Verbesserung des oxidativen Status. In weiterer Folge näherten sich die Werte jedoch wieder der Ausgangslage an. Dies könnte möglicherweise auf das steigende Alter oder aber auf eine Vernachlässigung des Trainings zurückzuführen sein.

Schlussfolgerung

Bereits ein geringes Ausmaß an körperlicher Aktivität könnte sich positiv auf die Gesundheit auswirken. Bis dato existieren jedoch wenig vergleichbare Langzeitstudien. Deshalb sind weitere Erkenntnisse zur Beurteilung von Sport im Zusammenhang mit oxidativem Stress und gesundem Altern notwendig.

Summary

Background

Oxidative Stress and impaired cellular defense of free radicals and reactive molecules seem to promote ageing and the development of non-communicable diseases. If RONS are overrepresented within tissues they can lead to enhanced levels of damaged biomolecules, like lipids, proteins or DNA, due to their cytotoxicity. Even though scattered exercise stimulates RONS production, there is no doubt that regular physical activity promotes healthy ageing and reduces morbidity and mortality. Hence, for the maintenance of an optimal redox-balance and genomic integrity an efficient body's defense system is essential. Recent studies show that exercised-induced oxidative stress leads to an optimization of the cellular repair mechanisms and the endogenous antioxidant defense system.

Materials and Methods

The research platform 'Active Ageing' dealt with the question, how far physical activity influences the risk of age-dependent diseases, quality of life and performance of the elderly. 117 institutionalized older people took part at a controlled randomized intervention study for 18 month. The test persons were assigned into either an exercise group, an exercise group with nutritional intervention or a cognition group. During the intervention DNA-damage was compared on 5 investigation time points using the comet assay. Apart from single and double strand breaks, stress induced damage, as well as oxidized purines were also detected.

Results

After one year of intervention DNA-damage declined and the oxidative status improved. Thereafter the values converged close to initial situation. Possibly, this could be explained by ascending age or disregard of exercise.

Conclusion

The results suggest that even a small extent of physical activity may result in beneficial health effects. Nevertheless at this time hardly any comparable long time intervention has been published. For a better understanding of the impact of exercise on oxidative status and healthy ageing further research is crucial.

7. Literaturverzeichnis

1. Almeida M. Ageing mechanisms in bone. BoneKEy Reports 2012; 1: Article number 102.
2. Alzoghaibi MA. Concepts of oxidative Stress and antioxidant defense in Crohn's disease. World Journal of Gastroenterology 2013; 19 (39): 6540-6547.
3. Azqueta A, Shaposhnikov S, Collins AR. DNA oxidation: Investigating its key role in environmental mutagenesis with comet assay. Mutation Research 2009; 674: 101-108.
4. Bergström T, Ersson C, Bergman J Möller L. Vitamins at physiological levels cause oxidation to the DNA nucleoside deoxyguanosine and to DNA—alone or in synergism with metals. Mutagenesis 2012; Vol. 27: 511-517.
5. Bonjour J-P, Kraenzlin M, Levasseur R, Warren M, Whiting S. Dairy in Adulthood: From Foods to Nutrient Interactions on Bone and Skeletal Muscle Health. Journal of the American College of Nutrition 2013; Vol. 32 (4): 251–263.
6. Brand MD. The sites and topologie of mitochondrial superoxide production. Experimental Gerontology 2010; 45 (7-8): 466-472.
7. bmfsk: Bundesministerium für Arbeit, Soziales und Konsumentenschutz: Hochaltrigkeit in Österreich – eine Bestandsaufnahme. Wien, November 2009.
8. bmfg: Bundesministerium für Gesundheit: Wissenschaftliche Aufbereitung für Empfehlungen „Ernährung im Alter in verschiedenen Lebenssituationen“. Oktober 2013.

9. Cannizzo ES, Clement CC, Morozova K, Valdor R, Kaushik S, Almeida LN, Folio C, Sahu R, Cuervo AM, Macian F, Santambrogio L. Age-related Oxidative Stress Compromises Endosomal Proteostasis. *Cell Reports* 2012; 2 (1): 136-149.

10. Cesari M, Fielding RA, Pahor M, Goodpaster B, Hellerstein M, Van Kan GA, Anker SD, Rutkove S, Vrijbloed W, Isaac M, Rolland Y, M'Rini C, Aubertin-Leheudre M, Cedarbaum JM, Zamboni M, Sieber CC, Laurent D, Evans WJ, Roubenoff R, Morley JE, Vellas B. Biomarkers of sarcopenia in clinical trials—recommendations from the International Working Group on Sarcopenia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 2012; 3: 181–190.

11. Cobley JN, Sakellariou GK, Murray S, Waldron S, Gregson W, Burniston JG, Morton JP, Iwanejko LA, Close GL. Lifelong endurance training attenuates age-related genotoxic stress in human skeletal muscle. *Longevity and Healthspan* 2013; 2: 11.

12. Collerton J, Barrass K, Bond J, Eccles M, Jagger C, James O, Martin-Ruiz C, Robinson L, von Zglinicki T, Kirkwood T. The Newcastle 85+ study: biological, clinical and psychosocial factors associated with healthy ageing: study protocol. *BioMed Central Geriatrics* 2007; 7: 14.

13. Collins AR, Dusinska M, Gedik CM, Stetina R. Oxidative Damage to DNA: Do We Have Reliable Biomarker? *Environmental Health Perspectives* 1996; Vol. 104, Supplement 3: 465-469.

14. Collins AR. The Comet Assay for DNA Damage and Repair - Principles, Applications, and Limitations. *Molecular Biotechnology* 2004; Vol. 26: 249-261.

15. Cornelius C, Perotta R, Graziano A, Calabrese E, Calabrese V. Stress responses, vitagenes and hormesis as critical determinants in aging and longevity: Mitochondria as a “chi”. *Immunity & Ageing* 2013; 10: 15.
16. Cruz-Jentoft AJ, Baeyns JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, Martin FC, Michel JP, Rolland Y, Schneider SM, Topinkova E, Vandewoude M, Zamboni M. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis – Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age and Ageing* 2010; 39: 412-423.
17. D-A-CH: Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), Österreichische Gesellschaft für Ernährung (ÖGE), Schweizerische Gesellschaft für Ernährung/Schweizerische Vereinigung für Ernährung (SGE/SVE): Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Internet: <http://www.dge.de/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=3&page=1> (Stand: 13.12.2013).
18. Dato S, Crocco P, D'Aquila P, de Rango F, Bellizzi D, Rose G, Passarino G. Exploring the Role of Genetic Variability and Lifestyle in Oxidative Stress Response for Healthy Aging and Longevity. *International Journal of Molecular Sciences* 2013; 14: 16443-16472.
19. Dittrich K. Was heißt hier zu dick? UGB-Forum Spezial: Abnehmen, worauf es ankommt. S 6-8, 2010.
20. Dusinska M, Collins AR. The comet assay in human biomonitoring: gene–environment interactions. *Mutagenesis* 2008; Vol. 23 (3): 191-205.
21. Ebermann R, Elmadfa I. Die anorganischen Bestandteile von Lebensmitteln In: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie und Ernährung*. Springer-Verlag, Wien, 2008.

22. Ebermann R und Elmadfa I. Vitamine: Struktur und physiologische Bedeutung In: Lehrbuch der Lebensmittelchemie und Ernährung. Springer-Verlag, Wien, 2008.
23. Elmadfa I, Hasenegger V, Wagner K, Putz Peter, Weidl N-M, Wottawa D, Kuen T, Seiringer G, Meyer AL, Sturtzel B, Kiefer I, Zilberszac A, Sgarabottolo V, Meidlinger B, Rieder A. Österreichischer Ernährungsbericht 2012. 1. Auflage, Wien, 2012.
24. Ersson C and Möller L. The effects on DNA migration of altering parameters in the comet assay protocol such as agarose density, electrophoresis conditions and durations of the enzyme or the alkaline treatments. *Mutagenesis* 2011; Vol. 26 (6): 689-695.
25. Evans WJ. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2010; 91 (suppl):1123S–1127S.
26. Finsterer J. Biomarkers of peripheral muscle fatigue during exercise. *BioMed Central Musculoskeletal Disorders* 2012; 13: 218.
27. Fisher-Wellman K and Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine* 2009; 8: 1.
28. Greiner Bio-One GmbH: Gebrauchsanleitung Leucosep 2009. Internet: <http://www.greinerbioone.com/de/germany/articles/literatures/manuals/#1948> (Stand:13.12.2013).
29. Hartmann A, Schumacher M, Plappert-Helbig U, Suter W, Mueller L. Use of the alkaline in vivo Comet assay for mechanistic genotoxicity investigations. *Mutagenesis* 2004; Vol. 19 (1): 51-54.

30. Honig S, Rajapakse CS, Chang G. Current Treatment Approaches to Osteoporosis—2013. *Bulletin of the Hospital for Joint Diseases* 2013; 71 (3): 184-8.
31. Horvathova E, Dusinska M, Shaposhnikov S, Collins AR. DNA damage and repair measured in different genomic regions using the comet assay with fluorescent in situ hybridization. *Mutagenesis* 2004; Vol. 19 (4): 269-276.
32. Il'yasova D, Scarbrough P, Spasojevic I. Urinary Biomarkers of Oxidative Status. *Clinica Chimica Acta* 2012; 413 (19-20): 1446-1453.
33. Kiefer I, Rieder A, Rathmanner T, Meidlinger B, Baritsch C, Lawrence K, Dorner T, Kunze M. Erster Österreichischer Adipositasbericht 2006. Grundlage für zukünftige Handlungsfelder: Kinder, Jugendliche Erwachsene. *Altern mit Zukunft*, August 2006.
34. Kowalski K, Rhodes R, Naylor PJ, Tuokko H, MacDonald S. Direct and indirect measurement of physical activity in older adults: a systematic review of the literature. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity* 2012; 9: 148.
35. Licastro F, Candora G, Lio D, Porcellini E, Colonna-Romano G, Franceschi C, Caruso C. Innate immunity and inflammation in ageing: a key factor for understanding age-related diseases. *Immunity and Ageing* 2005; 2: 8.
36. Manolagas SC. From Estrogen-Centric to Aging and Oxidative Stress: A Revised Perspective of the Pathogenesis of Osteoporosis. *Endocrine Reviews* 2010; 31: 266-300.
37. Manolagas SC, Parfitt AM. What old means to bones. *Trends Endocrinology Metabolism* 2010; 21 (6): 369-374.

38. Marin C, Yubero-Serrano EM, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. Endothelial Aging Associated with Oxidative Stress can be modulated by a healthy Mediterranean Diet. *International Journal of Molecular Sciences* 2013; 14: 8869-8889.

39. Møller P, Knudsen LE, Loft S, Wallin H. The Comet Assay as a Rapid Test in Biomonitoring Occupational Exposure to DNA-damaging Agents and Effect of Confounding Factors. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 2000, Vol. 9: 1005-1015.

40. Møller P, Möller L, Godschalk RWL, Jones GDD. Assessment and reduction of comet assay variation in relation to DNA damage: studies from the European Comet Assay Validation Group. *Mutagenesis* 2010, Vol. 25: 109–111.

41. Morley JE. Sarcopenia in the elderly. *Family Practice* 2012; 29: i44–i48.

42. Neubauer O, Reichold S, Nersesyan A, König D, Wagner K-H. Exercise-induced DNA damage: Is there a relationship with inflammatory responses? *Exercise Immunology Review* 2008, 14: 51-72.

43. Nutricia, FortiFit: Inhaltsstoffe. Internet: http://www.fortifit.nutricia.at/index.php/home/ueber_fortifit/inhaltsstoffe (Stand: 29.11.2013).

44. Ogawa K, Suzuki K, Okutsu M, Yamazaki K, Shinkai S. The association of elevated reactive oxygen species levels from neutrophils with low-grade inflammation in the elderly. *Immunity and Ageing* 2008; 5:13.

45. Österreichische Gesellschaft für Ernährung: BMI: Definition – Einteilung in Gewichtsklassen – Folgen eines erhöhten BMI-Wertes. Internet: <http://www.oerge.at/index.php/bildung-information/ernaehrung-von-a-z/54-bildung-information/ernaehrung-von-a-z/1757-bmi> (Stand: 13.12.2013).
46. Pollock ML, Franklin BA, Balady GJ, Chaitman BL, Fleg JL, Fletcher B, Limacher M, Pina IL, Stein RA, Williams M, Bazzarre T. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine. *Circulation* 2000; 101: 828-833.
47. Powers SK and Jackson MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *American Physiological Society* 2008; 88: 1243-1276.
48. Quinlan CL, Perevoshchikova IV, Hey-Mogensen M, Orr AL, Brand MD. Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates. *Redox Biology* 2013; 1: 304-312.
49. Radak Z, Bori Z, Koltai E, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Douroudos II, Terzis G, Nikolaidis MG, Chatzinikolaou A, Sovatzidis A, Kumagai S, Naito H, Boldogh I. Age-dependent changes in 8-oxoguanine-DNA-glycosylase activity is modulated by adaptive responses to physical exercise in human skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine* 2011; 51 (2): 417-423.
50. Radak Z and Boldogh I. 8-oxo-7,8-dihydroguanine: Link to gene expression, ageing and defense against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 2010; 49 (4): 587-596.
51. Rao SS, Budhwar N, Ashfaq A. Osteoporosis in men. *American Family Physician* 2010; 82 (5): 503-508.

52. Reiner M, Niermann C, Jekauc D, Woll A. Long-term health benefits of physical activity – a systematic review of longitudinal studies. BMC Public Health 2013; 13: 813.
53. Saravi FD and Sayegh F. Bone Mineral Density and Body Composition of Adult Premenopausal Women with Three Levels of Physical Activity. Journal of Osteoporosis 2013; Article ID: 953271.
54. Salmon A. Oxidative Stress in the etiology of age-associated decline of glucose metabolism. Longevity and Healthspan 2012; 1:7.
55. Staruchova M, Collins AR, Volkovova K, Mislanova C, Kovacikova, Tulinska J, Kocan A, Staruch L, Wsolova, Dusinska M. Occupational exposure to mineral fibres. Biomarkers of oxidative damage and antioxidant defence and associations with DNA damage and repair. Mutagenesis 2008; Vol. 23 (4):249-260.
56. STATISTIK AUSTRIA: Demographisches Jahrbuch 2011. Wien, November 2012. Internet: <http://www.statistik.at> (Stand: 26.11.2013)
57. STATISTIK AUSTRIA: Bevölkerungsstand 1.1.2012. Wien, August 2012. Internet: <http://www.statistik.at> (Stand: 26.11.2013)
58. STATISTIK AUSTRIA: Österreichische Gesundheitsbefragung 2006/2007. Hauptergebnisse und methodische Dokumentation. Wien, 2007. Internet: <http://www.statistik.at> (Stand: 26.11.2013)

59. Titze S, Ring-Dimitriou S, Schober PH, Halbwachs C, Samitz G, Miko HC, Lercher P, Stein KV, Gäbler C, Bauer R, Gollner E, Windhaber J, Bachl N, Dorner TE, Arbeitsgruppe Körperliche Aktivität/Bewegung/Sport der Österreichischen Gesellschaft für Public Health (Wissen 8). hg. v. GÖG/FGÖ. Gesundheit Österreich GmbH / Geschäftsbereich Fonds Gesundes Österreich: Österreichische Empfehlungen für gesundheitswirksame Bewegung. Wien 2012.
60. Tong TK, Kong Z, Lin H, Lippi G, Zhang H, Nie J. Serum Oxidant and Antioxidant Status Following an All-Out 21-km Run in Adolescent Runners Undergoing Professional Training—A One-Year Prospective Trial. *International Journal of Molecular Sciences* 2013; 14: 15167-15178.
61. Tosato M, Zamboni V, Ferrini A. The aging process and potential interventions to extend life expectancy. *Clinical Interventions in Ageing* 2007; 2 (3): 401-412.
62. Villareal DT, Apovian CM, Kushner RF, Klein S. Obesity in older adults: technical review and position statement of the American Society for Nutrition and NAASO, The Obesity Society. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2005; 82: 923-934.
63. Vincent HK, Raiser SN, Vincent KR. The aging musculoskeletal system and obesity-related considerations with exercise. *Ageing Research Reviews* 2012; 11 (3): 361-373.
64. Wagner K-H, Reichhold S, Neubauer O. Impact of endurance and ultraendurance exercise on DNA damage. *Annals of the New York Academy of Science* 2011; 1229: 115-123.

8. Lebenslauf

Tanja Eberhart



Ausbildung:

März-Oktober 2013	praktische Masterarbeit im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“
seit Wintersemester 2011	Masterstudium Ernährungswissenschaften, Universität Wien
2008-2011	Bakkalaureat Ernährungswissenschaften
2000-2008	Bundessportrealgymnasium Zehnergasse in Wiener Neustadt
1996-2000	Volksschule Kottingbrunn

Zusatzqualifikationen:

2012	Trainergrundkurs an der Bundessportakademie Wien
2010	Leichtathletiklehrwart an der Bundessportakademie Wien
2007	Fitness-Lehrwart an Bundessportakademie Wien

Praktika / Nebentätigkeiten:

seit 2013	Beschäftigung bei der niederösterreichischen Initiative „tut gut“ im Rahmen von Projekten zur Gesundheitsprävention
seit 2013	Studierendenberatung in der Studienrichtungsvertretung Ernährungswissenschaften
seit 2008	Trainertätigkeit einer Kinder- und Jugendgruppe in der Sportart Leichtathletik
seit 2010	Mitarbeit an Präventionsprojekten im österreichischen Leichtathletikverband (ÖLV)
2011-2013	Leitung einiger Erstsemestrigen-Tutorien
2011-2013	diverse Labor-Praktika am Institut für Ernährungswissenschaften
2010	8-wöchiges Ferialpraktikum als Servicekraft im Gastronomiebereich
2009	8 wöchiges Ferialpraktikum als Servicekraft im Gastronomiebereich
2007	4 wöchiges Ferialpraktikum als Bürohilfe bei KBA-Mödling
2006	4 wöchiges Ferialpraktikum als Bürohilfe bei KBA-Mödling

Sonstiges:

Führerschein	Klasse B seit 2009
Sport	2011/2012: „schnellste Österreicherin beim Vienna City Marathon 2011: Österreichische Staatsmeisterin im Halbmarathon Teilnahme an internationalen Nachwuchsleichtathletik-Meisterschaften