



universität
wien

MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

„Einfluss einer 12-monatigen Ernährungs- und Kraft-
intervention auf die Entstehung von Mutationen bei
institutionalisierten SeniorInnen“

verfasst von

Beatrice Pierson, 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

Danksagung

Ich möchte mich hiermit recht herzlich bei allen die mich während meiner Studienzeit begleitet und unterstützt haben bedanken.

Ich bedanke mich bei Billy Franzke und Herr Professor Dr. Karl Heinz Wagner, die es mir ermöglicht haben meine Masterarbeit im Rahmen der „Active Ageing“ Studie durchzuführen und welche mir bei Problemen und Fragen während der Masterarbeit immer eine große Hilfe waren. Ich bedanke mich auch bei den Kollegen der Spange E, welche mir das Arbeiten im Labor näher gebracht haben und zu jeder Zeit eine helfende Hand waren.

Ein Dankeschön gebührt auch meinen Laborkolleginnen, Tanja Spitzer, Sarah Proprentner, Karin Geider, Birgit Koller und Ariane Cremer, durch die ich eine wunderbare Zeit im Labor, während des praktischen Teils meiner Masterarbeit, hatte.

Ein riesiges Dankeschön gebührt meinen Eltern, meinen Großeltern, der restlichen Familie und meine Freunden. Ohne sie wäre es gar nicht möglich gewesen das Studium zu beginnen und erfolgreich zu meistern. Sie haben mich zu jedem Zeitpunkt unterstützt, sowohl in guten Zeiten als auch in schwierigen Zeiten.

Vielen Dank!

INHALTSVERZEICHNIS

I Abbildungsverzeichnis	IV
II Tabellenverzeichnis.....	VII
III Abkürzungsverzeichnis.....	IX
1. Einleitung.....	1
2. Literaturübersicht.....	3
2.1 Veränderungen im Alter	3
2.2 Sarkopenie	5
2.2.1 Sarkopenie und Ernährung.....	7
2.2.2 Sarkopenie und Sport.....	9
2.3 Oxidativer Stress.....	10
2.3.1 Inflammaging.....	13
2.4 Mikrokernvorkommen und Chromosomenschäden.....	14
2.4.1 Cytokinesis-Block micronucleus Cytome Assay (CBMN-Assays).....	16
2.4.2 Alter und Geschlecht.....	19
2.4.2.1 Alter	19
2.4.2.2 Geschlecht.....	20
2.4.3 Ernährung und Sport.....	21
2.4.3.1 Ernährung.....	21
2.4.3.2 Sport.....	25
2.4.4 Lebensstil.....	27
3. Material und Methoden.....	29
3.1 Studiendesign.....	29
3.1.1 Probandenrekrutierung.....	30
3.1.2 Interventionsphase	31
3.1.3 Trainingsintervention.....	31
3.1.4 Ernährungsintervention.....	32
3.1.5 Kognitives Training	34
3.2 Der CBMN-Assay	35
3.2.1 Verwendete Materialien.....	35

3.2.2	Verwendete Reagenzien für den CBMN-Assay	35
3.2.3	Vorbereitung der Reagenzien	36
3.2.4	Probenaufbereitung	37
3.2.5	Zählkriterien	40
3.3	Statistische Datenauswertung	45
4	Ergebnisse	46
4.1	Deskriptive Statistik	46
4.2	Ergebnisse der Trainings- und Ernährungsgruppe	47
4.2.1	Mikrokerne	47
4.2.2	Nuclear Buds	50
4.2.3	Nucleoplasmic Bridges	51
4.2.4	Apoptosen	52
4.2.5	Nekrosen	53
4.3	Kontrollgruppe	54
4.3.1	Mikrokerne	54
4.3.2	Nuclear Buds	56
4.3.3	Nucleoplasmic Bridges	57
4.3.4	Apoptose	58
4.3.5	Nekrosen	59
4.4	Deskriptive Statistik (65-74 jährige ohne die Gedächtnisgruppe)	60
4.4.1	Mikrokerne	60
4.4.2	Nuclear Buds	62
4.4.3	Nucleoplasmic Bridges	63
4.4.4	Apoptosen und Nekrosen	64
4.5	Altersgruppe 75-84	66
4.5.1	Mikrokerne	66
4.5.2	Nuclear Buds	68
4.5.3	Nucleoplasmic Bridges	69
4.5.4	Apoptosen und Nekrosen	70
4.6	Altersgruppe ≥ 85	72

4.6.1	Mikrokerne.....	72
4.6.2	Nuclear Buds.....	73
4.6.3	Nucleoplasmic Bridges	74
4.6.4	Apoptosen und Nekrosen.....	75
4.7	Vergleich von Training und Ernährung mit der Kontrollgruppe:	77
4.7.1	Mikrokerne.....	77
4.7.2	Nucleoplasmic Bridges und Nuclear Buds	79
4.7.3	Apoptosen und Nekrosen.....	81
5.	Diskussion.....	83
6.	Schlussbetrachtung	88
7.	Zusammenfassung	90
8.	Summary.....	92
9.	Literaturverzeichnis.....	93
10.	Curriculum Vitae	102

I Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: CT-SCAN DES OBERSCHENKELS VON A) EINER 72-JÄHRIGEN FRAU OHNE SARKOPENIE UND B) MIT SARKOPENIE. BEIDE FRAUEN HABEN EINEN BMI VON 25KG/M ² [TAAFFE, 2006].....	6
ABBILDUNG 2: ENTSTEHUNG VON MIKROKERNEN WÄHREND DER ZELLTEILUNG [FENECH ET AL., 1999].....	15
ABBILDUNG 3: PARAMETER DES CBMN-ASSAYS [FENECH UND CROTT, 2002]	17
ABBILDUNG 4: FOLSÄURE STOFFWECHSEL [WAGNER, 1995].....	24
ABBILDUNG 5: LEUCOSEPTRÖHRCHEN NACH DEM ZENTRIFUGIEREN [BILD GEMACHT VON LABORPARTNERIN ARIANE CREMER, 2013].....	38
ABBILDUNG 6: MUTATIONSARTEN; A) BNC MIT 2 MN, B) BNC MIT BUD, C) BNC MIT BRIDGE UND MN, D) APOPTOSE, E) NEKROSE [FOTOS GEMACHT VON ARIANE CREMER, BIRGIT KOLLER UND BEATRICE PIERSON]	44
ABBILDUNG 7: TRAINING UND ERNÄHRUNGSGRUPPE: VERGLEICH DER MITTELWERTE VON BNCs MIT MN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	48
ABBILDUNG 8: VERGLEICH VON MITTELWERTE DER MN TOTAL UND BNCs MIT MN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3 INNERHALB DER TRAININGS- UND ERNÄHRUNGSGRUPPE ...	49
ABBILDUNG 9: ANZAHL DER NBUDS IN BNCs IN DER GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	50
ABBILDUNG 10: GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG: ANZAHL DER NPBS IN BNCs ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	51
ABBILDUNG 11: GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG: VERGLEICH DER APOPTOSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	52
ABBILDUNG 12: GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG: VERGLEICH NEKROSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	53
ABBILDUNG 13: KONTROLLGRUPPE: VERGLEICH DER MITTELWERTE DER BNCs MIT MN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	55
ABBILDUNG 14: KONTROLLGRUPPE: VERGLEICH DER MITTELWERTE VON BNCs MIT MN UND GESAMTANZAHL DER MN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3.....	55
ABBILDUNG 15: KONTROLLGRUPPE: VERGLEICH DER MITTELWERTE VON NBUDS IN BNCs ZU DEN VERSCHIEDENEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	56
ABBILDUNG 16: KONTROLLGRUPPE, VERGLEICH VON DEN MITTELWERTEN VON NPBS IN BNCs ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	57

ABBILDUNG 17: KONTROLLGRUPPE: VERGLEICH DER APOPTOSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	58
ABBILDUNG 18: KONTROLLGRUPPE: NEKROSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	59
ABBILDUNG 19: ALTERSGRUPPE 65-74; VERGLEICH DER BNCs MIT MN UND MN-GESAMT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0-T3	61
ABBILDUNG 20: ALTERSGRUPPE 65-74, VERGLEICH DER MITTELWERTE DER NBUDS IN BNCs ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	62
ABBILDUNG 21: ALTERSGRUPPE 65-74, VERGLEICH DER MITTELWERTE DER NPBS IN BNCs ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	63
ABBILDUNG 22: ALTERSGRUPPE 65-74, VERGLEICH DER APOPTOSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTE T0 BIS T3	64
ABBILDUNG 23: ALTERSGRUPPE 65-74, VERGLEICH DER NEKROSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTE T0 BIS T3	65
ABBILDUNG 24: ALTERSGRUPPE 75-84, VERGLEICH DER BNCs MIT MN UND MN GESAMT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	67
ABBILDUNG 25: ALTERSGRUPPE 75-84 , VERGLEICH DER MITTELWERTE DER NBUDS IN BNCs ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	68
ABBILDUNG 26: ALTERSGRUPPE 75-84, VERGLEICH DER NPBS MITTELWERTE ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	69
ABBILDUNG 27: ALTERSGRUPPE 75-84, VERGLEICH DER MITTELWERTE DER NEKROSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	70
ABBILDUNG 28: ALTERSGRUPPE 75-84, VERGLEICH DER MITTELWERTE DER APOPTOSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	71
ABBILDUNG 29: ALTERSGRUPPE 75-84, VERGLEICH DER BNCs MIT MN UND MN GESAMT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	72
ABBILDUNG 30: ALTERSGRUPPE ≥ 85 , VERGLEICH DER MITTELWERTE DER ANZAHL DER NBUDS IN BNCs ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	73
ABBILDUNG 31: ALTERSGRUPPE ≥ 85 , VERGLEICH DER MITTELWERTE DER NPBS ANZAHL IN BNCs ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	74
ABBILDUNG 32: ALTERSGRUPPE ≥ 85 , VERGLEICH DER MITTELWERTE DER APOPTOSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTE T0 BIS T3	75
ABBILDUNG 33: ALTERSGRUPPE ≥ 85 , VERGLEICH DER MITTELWERTE DER NEKROSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTE T0 BIS T3	76

ABBILDUNG 34: VERGLEICH DER TRAINING- UND ERNÄHRUNGSGRUPPE (TE) MIT DER KONTROLLGRUPPE (KG) IM HINBLICK AUF DIE MITTELWERTE DER ANZAHL DER BNCs MIT MN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3.	77
ABBILDUNG 35: VERGLEICH DER TRAINING- UND ERNÄHRUNGSGRUPPE (TE) MIT DER KONTROLLGRUPPE (KG) IM HINBLICK AUF DIE MITTELWERTE DER GESAMTANZAHL DER MN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3.	78
ABBILDUNG 36: VERGLEICH DER TE MIT KG IM HINBLICK AUF DIE MITTELWERTE DER NPBS ANZAHL ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3.	79
ABBILDUNG 37: VERGLEICH DER TE MIT KG IM HINBLICK AUF DIE MITTELWERTE DER NBUDS ANZAHL ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3.....	80
ABBILDUNG 38: VERGLEICH DER TE MIT KG IM HINBLICK AUF DIE MITTELWERTE DER APOPTOSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3.	81
ABBILDUNG 39: VERGLEICH DER TE MIT KG IM HINBLICK AUF DIE MITTELWERTE DER NEKROSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3.....	82

II Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: MAKRONÄHRSTOFFE UND ENERGIEGEHALT VON „FORTIFIT“	33
TABELLE 2: MIKRONÄHRSTOFFGEHALT/PORTION „FORTIFIT“ (=150 ML).....	34
TABELLE 3: VERWENDETE MATERIALIEN FÜR DEN CBMN-ASSAY	35
TABELLE 4: VERTEILUNG DER PROBANDINNEN NACH INTERVENTIONSGRUPPE UND ALTER ZUM ZEITPUNKT T0, TE=TRAINING UND ERNÄHRUNGSGRUPPE.....	46
TABELLE 5: HÄUFIGKEITSTABELLE DER SENIORINNEN (NACH ALTER) IN DER GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG ZUM ZEITPUNKT T0	47
TABELLE 6: HÄUFIGKEITSTABELLE DER SENIORINNEN (NACH GESCHLECHT) IN DER GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG ZUM ZEITPUNKT T0	47
TABELLE 7: TRAINING UND ERNÄHRUNGSGRUPPE : ANZAHL DER BNCs MIT MN UND GESAMTANZAHL DER MN AN DEN VERSCHIEDENEN ZEITPUNKTE T0-T3	47
TABELLE 8: GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG: ANZAHL DER NBUDS AN DEN ZEITPUNKTEN T0-T3	50
TABELLE 9: GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG: ANZAHL DER NPB AN DEN ZEITPUNKTE T0- T3	51
TABELLE 10: GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG: HÄUFIGKEIT DER APOPTOSEN IN % ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	52
TABELLE 11: GRUPPE TRAINING UND ERNÄHRUNG: NEKROSENHÄUFIGKEIT IN % ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	53
TABELLE 12: HÄUFIGKEITSTABELLE DER PROBANDINNEN DER GEDÄCHTNISGRUPPE ZUM ZEITPUNKT T0.....	54
TABELLE 13: GRUPPE KONTROLLGRUPPE: ANZAHL BNCs MIT MN UND GESAMTANZAHL DER MN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	54
TABELLE 14: KONTROLLGRUPPE: ANZAHL DER NBUDS ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3.....	56
TABELLE 15: KONTROLLGRUPPE: MITTELWERT DER ANZAHL DER NPBS ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	57
TABELLE 16: KONTROLLGRUPPE: HÄUFIGKEIT DER APOPTOSEN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	58
TABELLE 17: KONTROLLGRUPPE: MITTELWERT DER NEKROSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	59
TABELLE 18: BCNs MIT MN UND ANZAHL DER MN IN DER ALTERSGRUPPE 65-74 JÄHRIGEN.	60
TABELLE 19: ALTERSGRUPPE 65-74, MITTELWERTE DER ANZAHL DER NBUDS ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	62

TABELLE 20: ALTERSGRUPPE 65-74, MITTELWERTE DER ANZAHL DER NPB ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	63
TABELLE 21: ALTERSGRUPPE 65-74, MITTELWERTE APOPTOSEN UND NEKROSENHÄUFIGKEIT ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	64
TABELLE 22: BCNS MIT MN UND ANZAHL DER MN IN DER ALTERSGRUPPE 75-84 JÄHRIGEN .	66
TABELLE 23: ALTERSGRUPPE 75-84, MITTELWERTE DER ANZAHL DER NBUDS ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	68
TABELLE 24: ALTERSGRUPPE 75-84, MITTELWERTE DER ANZAHL DER NPBS ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	69
TABELLE 25: ALTERSGRUPPE 75-84, MITTELWERT DER HÄUFIGKEITEN DER NEKROSEN UND APOPTOSEN ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	70
TABELLE 26: BCNS MIT MN UND ANZAHL DER MN IN DER ALTERSGRUPPE ≥ 85 J.....	72
TABELLE 27: MITTELWERTE DER NBUDS ANZAHL DER ALTERSGRUPPE ≥ 85 J. ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	73
TABELLE 28: MITTELWERTE DER NPBS ANZAHL DER ALTERSGRUPPE ≥ 85 J ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	74
TABELLE 29: MITTELWERTE DER NEKROSEN UND APOPTOSENHÄUFIGKEIT DER ALTERSGRUPPE ≥ 85 ZU DEN ZEITPUNKTEN T0 BIS T3	75

III Abkürzungsverzeichnis

BIA	Bioimpedance Analyse
CBMN-Assay	Cytokinesis-Block micronucleus cytome assay
Cl	Chlor
Cr	Chrom
CT	Computertomographie
Cu	Kupfer
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNS	Desoxyribonuclein Säure
dTMP	Deoxythymidin monophosphate
dUMP	Deoxyuridin monophosphat
F	Fluor
FBS	Fetal Bovine Serum
Fe	Eisen
Gln	Glutamin
I	Iod
K	Kalium
KG	Körpergewicht
Mg	Magnesium
Mn	Mangan
MN	Micronucleus
MNi	Micronuclei
Mo	Molybdän
mtDNS	mitochondriale DNS

Na	Natrium
Nbud	Nuclear Bud
NBuds	Nuclear Buds
NE	Niacinäquivalent
NPB	Nucleoplasmic Bridge
NPBs	Nucleoplasmic Bridges
P	Phosphor
PBS	Phosphate Buffered Saline
RE	Retinoläquivalent
ROS	Reactive oxygen species
SAM	S-adenosylmethionin
Se	Selen
TE	Tocopheroläquivalent
Zn	Zink

1. Einleitung

Gesundheit wird von der WHO als „ein Zustand vollkommenen körperlichen, geistigen und sozialen Wohlbefindens und nicht allein das Fehlen von Krankheit und Gebrechen“, definiert [WHO, 2014].

Diese Definition sollte für jedes Alter gegeben sein. Ältere Menschen (> 65 Jahre) sind die am schnellsten wachsende Subpopulation in vielen Ländern [Schmucker, 2001].

Dies rührt daher, dass Menschen durch verbesserte medizinische Infrastrukturen, Hygiene und Lebensmittelangeboten eine immer höhere Lebenserwartung haben. Auf der anderen Seite fehlt der Nachwuchs. Der WHO (World Health Organisation) zufolge, wird sich die Anzahl der über 60-jährigen in den Jahren zwischen 2000 und 2050 mehr als verdreifachen, etwa von 600 Millionen auf 2 Milliarden.

Nun muss sich die Weltbevölkerung diesen neuen Herausforderungen stellen und sie versuchen bestmöglich zu bewältigen. Nicht nur die WHO, sondern auch die Forschungsplattform „Active Ageing“ der Universität Wien hat sich mit dieser Tatsache beschäftigt [WHO, 2014].

Im Alter verändern sich Körperzusammensetzung und Gewicht. Diese Veränderungen machen sich bei Frauen nach der Menopause, und bei den Männern ab dem 65 Lebensjahr bemerkbar. Dabei erhöht sich die Fettmasse, während die fettfreie Masse (Muskulatur, Bindegewebe, Knochen etc.) schwindet [Elmadfa und Leitzmann, 2004]. Die Abnahme an Muskelmasse und Muskelkraft im Alter wird auch als Sarkopenie bezeichnet [Meng und Yu, 2010].

Der Schutz vor dieser altersbedingten Abnahme von Muskulatur und Muskelkraft ist wichtig, um Leistungsfähigkeit und Unabhängigkeit älterer Menschen zu erhalten. Die Aufgabenstellung der Wissenschaftler ist nun, die „Entstehungsfaktoren“ zu ermitteln und diese gezielt zu reduzieren bzw. zu beseitigen [Robinson et al., 2012].

Man schätzt, dass weltweit 10% der 60 bis 70-jährigen und 30% der 80-jährigen an Sarkopenie leiden. Da es noch keine Einigung auf definierte Kriterien gibt, ist es schwierig, genaue Prozentzahlen für die weltweite Sarkopenie-Prävalenz zu ermitteln [Cooper et al., 2012].

Aber nicht nur Sarkopenie ist ein Risikofaktor im Alter, auch Mangelernährung und Untergewicht sind nicht zu unterschätzende Risikofaktoren [Elmadfa und Leitzmann, 2004].

Ziel der Forschungsplattform “Active Ageing“ ist es, die Lebensqualität älterer Menschen zu steigern, und sarkopenierelevante Biomarker zu verbessern.

Diese Masterarbeit ist ein Teil dieser Forschungsplattform, deren Bestreben es ist, durch Krafttraining und Optimierung der Ernährung von SeniorInnen aus verschiedenen wienner Pensionistenwohnheimen, die Gesundheit zu verbessern und Leistungsfähigkeit zu steigern. Diese Masterarbeit hat sich in diesem Zusammenhang mit der Chromosomenstabilität und der Häufigkeit der Mikrokerne (MN) nach einer 12 monatigen Lebensstilintervention beschäftigt. Neben Mikrokernen wurden zusätzlich Nuclear Buds (NBuds), Nucleoplasmic Bridges (NPBs), Nekrosen und Apoptosen, mit Hilfe des Cytokinesis-block micronucleus cytochrome Assay (CBMN-Assay), erfasst.

Kapitel 3 und Kapitel 4, wurde gemeinsam mit meiner Studienkollegin Ariane Cremer erarbeitet. Desweiteren kann es zu inhaltlichen Überschneidungen mit Arbeiten folgender anderer Studienkollegen kommen, welche auch an der Forschungsplattform “Active Ageing“ beteiligt waren:

- Evelyn Bacher MSc
- Birgit Fuchs MSc
- Mag. Klemens Krejci
- Mag. Heidemarie Peherstorfer
- Ariane Cremer, MSc.
- Bianca Arnold, MSc.
- Claudia Traxler, MSc.
- Sarah Prorentner, Msc.
- Tanja Spitzer, MSc.
- Karin Geider, MSc

2. Literaturübersicht

2.1 Veränderungen im Alter

Im Alter kommt es zur Veränderung der Körperzusammensetzung und zu Stoffwechselveränderungen. Die fettfreie Masse nimmt ab, wohingegen sich der Körperfettanteil, hauptsächlich das viszerale Fett, erhöht. Die fettarme Körpermasse (LBM) nimmt bei jungen Erwachsenen bis zu 50% des Körpergewichtes (KG) ein. Bei älteren Menschen zwischen 75 und 80 Jahren liegt der Anteil an LBM nur noch bei 25% des Körpergewichtes [Leenders und van Loon, 2011, Elmadfa und Leitzmann, 2004].

Dem österreichischen Ernährungsbericht zufolge, sind jüngere SeniorInnen eher übergewichtig, wohingegen mit zunehmendem Alter, das Risiko für Mangel und Unterernährung zunimmt. Die Albuminwerte waren bei allen Seniorinnen und bei 92% der Senioren zufriedenstellend. Dies ist ein wichtiger Indikator, da diese Personengruppen ein erhöhtes Risiko für Mangelernährung besitzen [Elmadfa et al., 2012].

Altern ist verbunden mit Stoffwechselveränderungen, da sich die Physiologie der Organe und deren Zellen im Alter verändern. Diese nicht-pathologischen Ereignisse treten in der Regel ab einem Alter von 65 Jahren auf. Außerdem ist altern auch mit verschiedenen Krankheiten verbunden, wie zum Beispiel:

- Herz-Kreislaufkrankungen
- Bluthochdruck
- Schlaganfall
- Diabetes
- Krebs
- Chronisch obstruktive Lungenerkrankungen
- Erkrankungen des Bewegungsapparates (z.B. Arthritis)
- Psychische Erkrankungen (Depressionen und Demenz)

[WHO, 2002]

Der Gesundheitsstatus im Alter bestimmt die Unabhängigkeit im Alltag. Deshalb ist es wichtig, altersbedingten Erkrankungen vorzubeugen bzw. deren Entwicklung zu drosseln, um den SeniorInnen einen gewissen Grad an Unabhängigkeit zu gewährleisten [Jyrkka et al., 2011].

Altern wird oft mit Übergewicht, Arteriosklerose, Diabetes Mellitus Typ2 und Insulinresistenz in Zusammenhang gebracht. Dies sind alles Erkrankungen, welche mit chronischen Entzündungsprozessen einhergehen. Die Synthese von Muskelprotein steht in Verbindung mit dem anabolischen Effekt von Insulin. Kommt es nun zu einer Insulinresistenz beim Menschen, ist dies mit einem vermehrten Muskelfaserverlust, der sogenannte Sarkopenie assoziiert. Sarkopenie begünstigt wiederum die Insulinresistenz, aus welcher sich in weiterer Folge kardiovaskuläre Erkrankungen entwickeln können [Kim et al., 2013].

Kujoth et al haben anhand einer Studie beweisen können, dass eine mitochondriale Dysfunktion im Zusammenhang mit Alterserscheinungen und erhöhter Verlust von Muskelmasse steht [Kujoth et al., 2005].

Neben den physischen Krankheiten spielen auch die psychischen Erkrankungen im Alter eine Rolle [Jyrkka et al., 2011].

Zudem ist die hohe Einnahme verschiedener Medikamenten, um die im Alter auftretenden Erkrankungen bei SeniorInnen zu mindern bzw. ihnen entgegenzuwirken, erwähnenswert. Diese erhöhte Aufnahme an Medikamenten ist assoziiert mit Mangelernährung. Weiteres kann es bei dieser „Polypharmazie“ zu Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Arzneistoffen oder zu einer Nährstoff-Medikamenten-Interaktion kommen, weshalb bei älteren Menschen auch oft ein Vitaminmangel vorliegt [Jyrkka et al., 2011].

2.2 Sarkopenie

Sarkopenie kann, je nach Schweregrad, das Leben einer Person erheblich einschränken. Darum ist es wichtig, eine genaue Definition, bzw. Methode, für eine frühzeitige Diagnose und Interventionen zur Prävention zu entwickeln. Sarkopenie ist die progressive Abnahme von Muskelmasse und somit Minderung von Kraft und Funktionalität. Diagnostiziert wird Sarkopenie bei jenen Patienten, welche mindestens 2 von den folgenden 3 Eigenschaften aufweisen [Cruz-Jentoft et al., 2010, Rizzoli et al., 2013] :

- Geringe Muskelmasse
- Geringe Muskelkraft
- Geringe körperliche Leistung

Die “European Working Group on Sarcopenia in Older People“ (EWGSOP) bestimmt die körperliche Leistung durch einen 6 minütigen Gehtest. Die Muskelkraft mit, Handgriffkraft bestimmt. [Rizzoli et al., 2013]. Muskelmasse wiederum kann anhand der “Bioimpedanz Analyse“ (BIA) oder mit einem Computertomographen bestimmt werden (CT)[Cruz-Jentoft et al., 2010].

Rosenberg hat 1989 erstmals den Muskelschwund bei älteren Menschen erkannt und als Sarkopenie bezeichnet. Das Wort setzt sich aus den griechischen Worten „sarx“ für Fleisch und „penia“ für Verlust zusammen [Rosenberg, 1997]. Es gibt mehrere Faktoren, welche den Verlauf des Muskelschwundes beeinflussen, wie zum Beispiel chronische Erkrankungen, bewegungsarmer und ungesunder Lebensstil und die Einnahme verschiedener Medikamente [Paddon-Jones et al., 2008]. Es gibt mehrere Mechanismen, die an der Entwicklung und dem Verlauf von Sarkopenie beteiligt sind. Diese Mechanismen beeinflussen die Proteinsynthese, Proteolyse, die Kommunikation zwischen Muskulatur und den Neuronen und die Einlagerung von Fett in die Muskulatur [Cruz-Jentoft et al., 2010].

Je nach Ausprägung kann Sarkopenie das Risiko für Stürze und somit auch Frakturen, für verminderte und beeinträchtigte Mobilität im Alltag, für Krankenhausaufenthalte und sogar Mortalität erhöhen [Cooper et al., 2012].

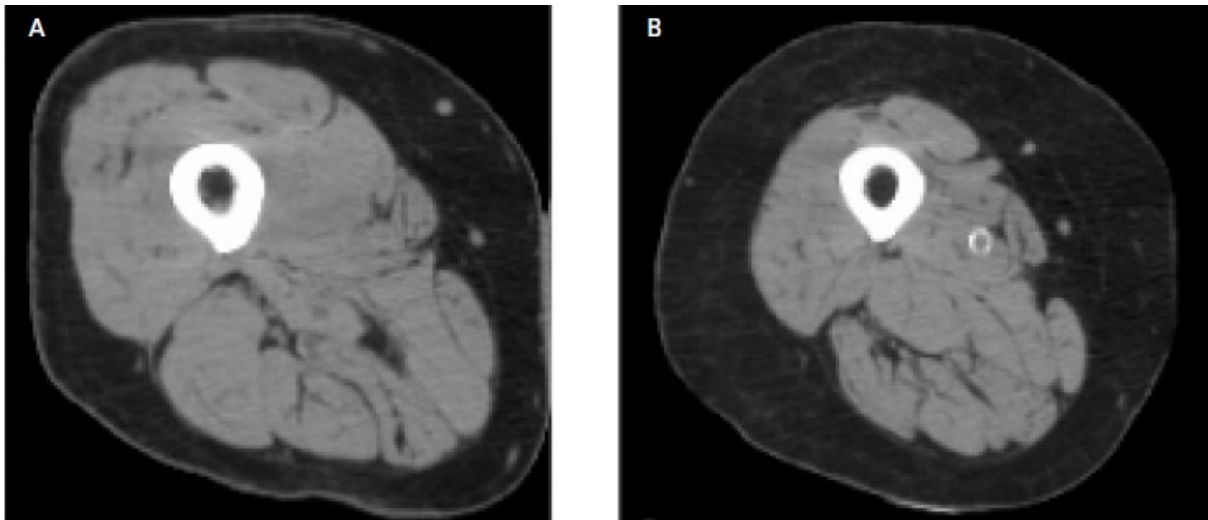


Abbildung 1: CT-Scan des Oberschenkels von A) einer 72-jährigen Frau ohne Sarkopenie und B) mit Sarkopenie. Beide Frauen haben einen BMI von 25kg/m^2 [Taaffe, 2006]

Zur Entwicklung der Sarkopenie tragen, neben dem Muskelverlust im Alter, mehrere Faktoren bei:

- Mangelernährung (sowohl Unterernährung als auch Mangel an wichtigen Proteinen) [Dreyer und Volpi, 2005]
- Geringe körperliche Aktivität [Szulc et al., 2004]
- Hormonelle Veränderungen [Szulc et al., 2004]
- Entzündungsprozesse im Alter [Visser et al., 2002]

2 von diesen Faktoren kann man beeinflussen und somit die Entwicklung von Sarkopenie beeinträchtigen. Diese Faktoren sind Sport und Ernährung [Borst, 2004]

Aus histologischer Sicht, kommt es bei Sarkopenie zu einer Verringerung der Muskelfasergröße, aber auch zum Verlust von Typ-2-Fasern [Larsson et al., 1978]. Der Muskelfaserverlust kann durch den Abbau von Muskelzellen, aufgrund von Apoptose, erklärt werden. Apoptose ist der programmierte Zelltod und wird durch einen Signalweg gesteuert. Apoptose führt zur DNS-Fragmentierung, Zellkernkondensation, Proteolyse, Auflösung der Zellmembran und Zellfragmentierung. Die übriggebliebenen Apoptosekörper werden durch Makrophagen phagozytiert. Der programmierte Zelltod wird von Caspasen kontrolliert. Die inaktiven Caspasen, auch Procaspasen genannt, befinden sich im Zytoplasma. Diese werden dann über Dimerisation oder Proteolyse aktiviert. Die

Mitochondrien spielen eine zentrale Rolle bei der Regulation der Apoptose [Marzetti und Leeuwenburgh, 2006, Dirks und Leeuwenburgh, 2002].

Zudem führt eine erhöhte viszerale Fettansammlung zur erhöhten Ausschüttung von pro-inflammatorischen Zytokinen im Körper, was wiederum einen katabolen Effekt auf die Muskelfaser nach sich ziehen und somit auch eine Insulinresistenz verursachen könnte [Kim et al., 2013].

Der Verlust von Muskelmasse und von Muskelkraft verursacht durch Sarkopenie, kann desweiteren Folgeerkrankungen mit sich bringen, wie z.B. Übergewicht und Typ 2 Diabetes [Leenders und van Loon, 2011].

2.2.1 Sarkopenie und Ernährung

Es ist bekannt, dass Vitamin D den Muskelmetabolismus beeinflusst. Eine prospektive Studie mit älteren ProbandInnen zeigte, dass höhere Konzentrationen von 25-Hydroxy-Vitamin D (25-OH-D) im Körper mit höherer Muskelmasse, erhöhter Muskelkraft und ein verbesserte Lebensqualität im Alter einhergehen [Scott et al., 2010].

Eine weitere Studie von Kim et al. zeigte, dass eine schlechte Versorgung des Körpers mit Vitamin D, im Zusammenhang mit der Entwicklung von Sarkopenie bei koreanischen SeniorInnen steht [Kim et al., 2011]. Erhöhte Vitamin-D- und Kalziumaufnahme wurde in Verbindung mit einer erhöhten fettfreier Masse und einem verringertem Risiko für Übergewicht gesetzt [Kim et al., 2013].

Der Verlust an Muskelmasse führt zu einer Verringerung der Expression von Vitamin-D-Rezeptoren. Dieses Ereignis verringert wiederum die Aufnahme und Speicherung von Vitamin D in der Muskulatur.

Es gibt 3 Möglichkeiten wie Vitamin D den Muskelmetabolismus beeinflussen könnte: Die erste Option wäre, dass Vitamin D die Calciumhomöostase reguliert. 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ fördert die Calciumabsorption, wobei Calcium eine wichtige Rolle bei der Muskelkontraktion spielt.

Die zweite Möglichkeit wäre, die Stimulation der Proliferation und Differenzierung von Myoblasten, sowie die Verringerung der Einlagerung von Fett in die Muskulatur. In der

Studie von Kim et al. korrelierte die Vitamin-D-Konzentration im Körper positiv mit der Muskelmasse und negativ mit der Fetteinlagerung in die Muskulatur.[Kim et al., 2011]

Die dritte Variante besteht darin, dass Vitamin D vor Insulinresistenz, welche den Muskelabbau beschleunigen kann, schützt. Vitamin-D-Mangel steht im Zusammenhang mit dem metabolischen Syndrom und mit Diabetes Mellitus Typ 2 [Kim et al., 2011].

Weltweit herrscht bei älteren Menschen ein Vitamin-D-Mangel [Kim et al., 2013]. Auch der österreichische Ernährungsbericht von 2012 gibt an, dass 97% der Seniorinnen und 95% der Senioren nicht genügend Vitamin D zu sich nehmen. Der Vitamin D-Status, gemessen anhand der 25-OH-Vitamin D Konzentration im Plasma, ist bei 20% der SeniorInnen sehr gering ($<25\text{nmol/L}$), bei 2/3 der SeniorInnen wiederum etwas weniger gering ($20\text{-}25\text{nmol/L}$). Der Referenzwert für eine optimale Vitamin D Versorgung ist $>50\text{nmol 25-OH-Vitamin D/L Plasma}$ [BMG, 2012].

Die Studie von Katsanos et al. verglich die Stimulation der Muskelproteinsynthese bei jungen ($30,6\text{ Jahre} \pm 2,0\text{ Jahre}$) und älteren ($66,5\text{ Jahre} \pm 2,0\text{ Jahre}$) Probanden. In jeder Gruppe war die Anzahl an Frauen und Männer etwa gleich. Sie fanden heraus, dass eine höhere Gabe ($2,8\text{g}$) an Leucin im Vergleich zu der geringeren Gabe ($1,7\text{g}$) einen signifikanten Effekt auf die Muskelprotein Synthese bei den älteren Probanden hatte. Bei den jüngeren Probanden gab es bei beiden Leucin Gaben einen signifikant höheren Unterschied der Muskelprotein-Synthese im Vergleich der Muskelprotein Synthese am Anfang der Studie. Leucin scheint somit die Muskelprotein-Synthese zu stimulieren. [Katsanos et al., 2006]. Leucin ist auch Bestandteil von dem in der „Active Ageing“ Studie benutzten Supplement „FortiFit“ (siehe Kapitel 3.1.3 Tabelle 1).

Eine an älteren Ratten durchgeführte Studie zeigte, dass eine Supplementierung von $0,1\text{g/kg KG/ Tag}$ an essentiellen Aminosäuren darunter auch $31,25\%$ Leucin dem im Alter auftretende Muskelschwund entgegenwirkt [Pansarasa et al., 2008].

Iglay et al. haben 36 ältere Männer und Frauen untersucht, welche ein 12 Wochen langes Widerstandstraining mitgemacht haben. Eine Gruppe nahm $1,2\text{g Proteine/kg KG/ Tag}$, die zweite Gruppe $0,9\text{ g Proteine/kg KG/ Tag}$ zu sich. Alle gemessenen Werte wie z.B. Muskelmasse und Kraft sind in beiden Gruppen angestiegen [Iglay et al., 2007]. Andererseits gibt es Studien, wie die von Volpi et al., welche die Muskelproteinsynthe-

se nach der Aufnahme einer Glucose-Aminosäure Mischung untersucht haben. Die Studie zeigte, dass nach der Aufnahme die Proteinsynthese bei den jüngeren Probanden erhöht war, jedoch bei den älteren Probanden gleich geblieben ist. Aus diesem Studienergebnis könnte man schließen, dass ein höheres Alter im Zusammenhang mit geringeren anabolischen Raten steht [Volpi et al., 2000]. Eine zu hohe Aufnahme an Proteinen (45% des täglichen Energiebedarfs) kann negative Effekte, wie beispielsweise Übelkeit und Diarrhö [Paddon-Jones et al., 2008], sowie erhöhte Calciumausscheidung bewirken [Allen et al., 1979]. Eine Proteinaufnahme von 20-35% des täglichen Energiebedarfs zeigt keine negativen Auswirkungen [Cordain et al., 2000].

Es besteht eine allgemeine Übereinkunft, dass eine den Empfehlungen entsprechend tägliche Proteinaufnahme von 0,8 g Protein/kg KG/ Tag die Muskelproteinsynthese verbessert und den progressiven Verlust von Muskelmasse im Alter verhindert [Campbell et al., 2002]. Zudem kann im Alter die Funktion der Niere verringert sein [Culleton et al., 1999], was bei einer erhöhten Proteinaufnahme zu Problemen führen kann. Eine erhöhte Proteinaufnahme bei Patienten mit leichter Niereninsuffizienz kann die glomeruläre Filtrationsrate erheblich verringern [Knight et al., 2003]. Paddon-Jones et al. schlagen eine tägliche Aufnahme an 10 g essentiellen Aminosäuren, beziehungsweise an 25-30g Proteinen von hoher Qualität um die Muskelmasse bei älteren Menschen zu erhalten.

Körperlich Betätigung ist genauso wichtig wie Ernährung um der Entwicklung von Sarkopenie entgegenzuwirken [Paddon-Jones et al., 2008].

2.2.2 Sarkopenie und Sport

Seit den 1980er ist wird, das Training mit Gewichten oder auch Widerstandstraining genannt als effektiv beschrieben, um der Entwicklung von Sarkopenie entgegenzuwirken. Im Vergleich zu Ausdauersport hat die Studie von Izquierdo et al. gezeigt, dass das Widerstandstraining einen besseren Effekt auf die Muskelmasse und Muskelkraft hat. Zudem zeigte die Studie eine signifikante Abnahme des Körpergewichtes und des Körperfetts während des 16 wöchigen Trainings. Ähnlich der „Active Ageing“ Studie trainierten die Senioren 2 mal pro Woche je 45-60 Minuten [Izquierdo et al., 2004]. Klinische Studien haben sogar hervorgebracht, diese Trainingsart einen positiven Effekt auf

Diabetes Mellitus Typ 2, koronaren Herzerkrankungen und Depression hat [Ades et al., 2003, Ibanez et al., 2005, Singh et al., 2005]. Es gilt hierbei allerdings zu beachten, dass der Schwierigkeitsgrad progressiv erhöht wird. Die Übungen sollen dynamisch und nicht statisch sein. Sie sollen die Hauptmuskelgruppen gezielt trainieren, indem sowohl exzentrische (langsame und kontrollierte Absenkung) als auch konzentrische (heben oder drücken) Bewegungen durchgeführt werden. Das gezielte Training der unteren Extremitäten, zum Beispiel Knie und Hüfte, aber auch der Fußmuskulatur ist wichtig, um die Mobilität und Balance beizubehalten bzw. zu verbessern und somit die Sturzgefahr zu verringern.

Das Benutzen von Therabändern hat den Vorteil, dass die Widerstände frei wählbar sind und somit auch der Schwierigkeitsgrad der Übungen individuell bestimmt werden kann. Diese elastische Bänder sind genauso effektiv wie beispielsweise Übungen an hydraulische Sportgeräten [Taaffe, 2006]. Die Therabänder wurden auch während der Trainingseinheit in der „Active Ageing“ Studie benutzt (siehe Kapitel 3.1.4).

2.3 Oxidativer Stress

Über 95% des eingeatmeten Sauerstoffs wird in den Mitochondrien reduziert und von der Cytochrom Oxidase des Enzyms Komplex IV an Wasserstoff (H_2) gebunden, wobei Energie freigesetzt wird. Wasserstoffperoxide und Radikale, wie zum Beispiel Superoxide, werden in der Atmungskette unter normalen aeroben Bedingungen gebildet und sind Teil der intrazellulären Metaboliten [Cadenas und Davies, 2000]. Superoxide werden den reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) zugeordnet. ROS ist ein Oberbegriff für verschiedene chemische Substanzen, wie beispielsweise Superoxidanionen, Wasserstoffperoxid oder Hydroxylradikale. Einige dieser Substanzen, wie z.B. Hydroxylradikale, sind überaus instabil und dementsprechend reaktiv. Superoxid-Dismutase, Glutathion-Peroxidase und Katalase halten die Anzahl der intrazellulären Radikale in einem Gleichgewichtszustand. Bei Säugetieren werden Radikale hauptsächlich von Mitochondrien erzeugt [Halliwell und Gutteridge, 2007]. Der Gleichgewichtszustand von Superoxiden in den Mitochondrien ist um das 5 bis 10-fache höher als im Zytoplasma und im Zellkern. Da die mitochondriale DNS (mtDNS) nicht von Histonen geschützt wird und von einer höheren Menge an Radikalen umgeben ist, kommt es zu einer 10 bis

20-fach höheren Oxidierungsrate von mtDNS im Vergleich zur DNS im Zellkern [Richter et al., 1988].

Die Mitochondrien produzieren die meiste Energie in der Zelle und verbrauchen somit auch am meisten Sauerstoff. Je höher die Stoffwechselrate, desto höher ist die Entstehung von ROS [Ku et al., 1993].

Oxidativer Stress wird definiert als Störung des Gleichgewichtes zwischen pro-oxidativen Stoffen, z.B. Radikale, welche sehr reaktionsfreudig sind, und den antioxidativen Schutzmechanismen des Körpers [Sies, 1997]. Zu den antioxidativen Schutzmechanismen gehören sowohl Antioxidantien, wie α -Tocopherol, aber auch antioxidativ wirkende Enzyme, wie Superoxid-Dismutase oder Katalase. Oxidativer Stress kann zu verschiedenen Zellantworten, von Mitose bis hin zu einem Zellwachstumstopp, einem dauerhaftem Wachstumstopp, Apoptose oder sogar Nekrose führen. Während der Apoptose wird die mtDNS vermehrt abgebaut [Crawford et al., 1998]. Laut Cadenas und Davies, führt oxidativer Stress zu einem erhöhten Einstrom von Calcium in die Mitochondrien, welche die mitochondrial Nuclease aktiviert. Dieses Enzym baut die mtDNS ab [Cadenas und Davies, 2000].

Altern steht im Zusammenhang mit erhöhter Radikalbildung im Körper. Zudem zeigen Mitochondrien von älteren Tieren, im Gegensatz zu den jüngeren, eine geringere Aktivität der Cytochrom C Oxidase (Komplexe IV). Dies bedeutet, dass mit dem Alter auch die Aktivität der mitochondrialen Enzymkomplexe abnimmt [Nohl et al., 1978, Hansford, 1983]. Des Weiteren befindet sich eine hohe Anzahl an Mitochondrien in sehr aktiven Zellen, beispielsweise in der Muskulatur.

Der Körper kann im hohen Alter das Gleichgewicht zwischen produzierten Radikalen und dem enzymatischen Abbau der Radikale nicht mehr aufrechterhalten [Cannizzo et al., 2011].

Die Produktion von ROS korreliert eng mit der Langlebigkeit eines Organismus. Eine Erhöhung der Konzentration von ROS zeigt folgende entscheidende Effekte: die Schädigung der Zellkomponenten und die Aktivierung von Signalwegen.

Diese beiden Effekte können jene zellulären Prozesse beeinflussen, welche mit altersbedingten Erkrankungen in Zusammenhang stehen [Nemoto et al., 2000].

ROS können neben der intrazellulär Produktion auch exogen durch Umwelteinflüsse im Körper entstehen, wie zum Beispiel durch erhöhte UV-Strahlung oder Rauchen [Gracy et al., 1999].

Eine Studie von Bejma et al. hat 8 Monate und 25 Monate alte Mäuse auf die Anzahl an gebildeten Oxidationsprodukten im Körper untersucht. Ältere Mäuse zeigten eine höhere Oxidation als jüngere Mäuse. Die Mäuse, welche sich regelmäßig im Laufrad betätigten (10 min/Tag 3 mal wöchentlich), zeigten keinen signifikanten Unterschied zu der Kontrollgruppe welche sich nicht regelmäßig körperlich betätigte [Bejma et al., 2000]. Sind die antioxidativen Schutzmechanismen nicht ausreichend, können die Radikale zur Oxidation von Proteinen, Fettsäuren und auch der DNS führen [Yu, 1994].

Eine Studie von Laufs et al., durchgeführt an Mäusen, hat gezeigt, dass geringe körperliche Aktivität im Zusammenhang mit erhöhtem oxidativem Stress steht. Die Mäuse wurden in 2 Gruppen eingeteilt. Die „Sportgruppe“ hatten die Möglichkeit durch ein zusätzliches Laufrad im Käfig sich jeder Zeit körperlich zu betätigen. Bei der Kontrollgruppe fehlte dieses Laufrad im Käfig.

Anhand der Studie sieht man außerdem, dass jene Mäuse, welche sich körperlich betätigen, eine niedrigere NADPH-Oxidaseaktivität besitzen. NADPH-Oxidase ist verantwortlich für die Bildung der meisten Radikale in den vaskulären Wänden und steht somit im Zusammenhang mit Arteriosklerose. [Laufs et al., 2005].

Erhöhter oxidative Stress im Alter kann DNS-Schäden und Chromosomenbrüche hervorrufen, welche dann durch den CBMN-Assay als Mikrokerne sichtbar werden.

Mikrokerne enthalten Chromosomenfragmente oder ganze Chromosomen, welche während der Zellteilung nicht in dem Tochterzellkern mit eingeschlossen wurden. Mikrokerne sind also ein Hinweis auf Chromosomenbrüche durch DNA-Schäden, welche nicht repariert worden sind. Sie könnten aber auch ein Hinweis auf Fehlregelungen der mitotischen Vorgänge sein. Diese Fehlregelungen und die DNS-Schäden können durch oxidativen Stress verursacht werden. Andere Gründe könnten zum Beispiel Toxine sein, welche clastogen wirken, genetische Defekte an einem oder mehreren Checkpoints des Zellzyklusses, Defekte in den DNA Reparaturmechanismen und /oder ein Mangel an Nährstoffen, welche als Cofaktoren im DNA Metabolismus mitwirken [Bonassi et al., 2007].

Scheinbar führt oxidative Schädigung der mitochondrialen DNS und der mitochondrialen Enzyme zu altersbedingten degenerativen Erkrankungen [Cadenas und Davies, 2000].

2.3.1 Inflammaging

In diesem Zusammenhang ist der Terminus „Inflammaging“ (Entzündungsaltern) entstanden. Franceschi war der Erste, welcher diese Bezeichnung benutzte. Inflammaging ist ein wichtiges Charakteristikum des Alterungsprozesses und wird durch durchgehende Antigen-Belastung und Stress verursacht [Franceschi et al., 2000].

Für den Organismus schädliche Substanzen werden durch Stoffwechselvorgänge sowohl vom Körper selbst, als auch durch die auf den Körper wirkende Umwelt produziert.

Der Körper besitzt mehrere Mechanismen auf verschiedenen Ebenen um schädliche Substanzen, wie zum Beispiel ROS zu neutralisieren bzw. zu bekämpfen.

1. Molekulare Ebene: DNS Reparaturmechanismen, Produktion von Heat-shockproteine und antioxidative Systeme
2. Zelluläre Ebene: Apoptose, Phagozytose von geschädigten Zellen und Erneuerung der Zellen durch Vorläuferzellen
3. Systemische Ebene: Immunabwehr, Entzündungsprozesse und neuroendocrine Mechanismen
4. Ebene des Organismus: Vermeidung von Gefahren

Jeder dieser Mechanismen trägt zum Überleben und zur Langlebigkeit des Organismus bei. Dennoch wird die Langlebigkeit eines Organismus von mehr als der Summe dieser Mechanismen bestimmt [Franceschi et al., 2007].

Inflammaging bezeichnet die erhöhte Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen im Alter und die damit verbundenen chronischen Erkrankungen. Es ist bekannt, dass

mit dem Alter die Cortisolkonzentration im Blut steigt. Erhöhte Cortisolausschüttung fördert die katabolen Vorgänge im Körper [Giordano et al., 2005].

Mehrere Krankheiten, wie beispielsweise Diabetes Typ 2, kardiovaskuläre Erkrankungen, Sarkopenie und Osteoporose, haben Entzündungsprozesse als Gemeinsamkeit. Es besteht noch keine Klarheit darüber, ob diese Erkrankungen die inflammatorischen Prozesse verursachen oder ob die altersbedingten Erkrankungen durch Entzündungsprozesse verursacht werden. Ungeachtet dessen, ob die inflammatorischen Prozesse nun Ursache oder Konsequenz von altersbedingten Erkrankungen sind, spielt der oxidative Stress eine erhebliche Rolle bei niedriggradigen Entzündungsprozessen.

Es gibt 2 Signalwege wie freie Radikale die inflammatorischen Prozesse im Körper aktivieren. Der erste Weg führt über die Aktivierung des Toll-like-Rezeptors und der zweite Weg führt über die NALP-3-Inflammasom. Die Aktivierung von Toll-like-Rezeptoren und NALP-3-Inflammasom führen zu einer Erhöhung von Zytokinen im Körper [Gill et al., 2010]. Bei älteren Menschen wurde eine Erhöhung an Zytokinen im Körper festgestellt wie zum Beispiel IL-6 und TNF- α [Donato et al., 2008, Visser et al., 2002]. Dadurch werden die Makrophagen, Granulozyten und dendritischen Zellen im Körper aktiviert. Dies wiederum führt zu einer weiteren Radikalbildung, welche die Entzündungsprozesse weiterhin aktivieren [Cannizzo et al., 2011, Gill et al., 2010]. Aus diesem Grund wird oft Inflammaging als Faktor für altersbedingte Erkrankungen genannt [Cevenini et al., 2013].

2.4 Mikrokernvorkommen und Chromosomenschäden

Geregelte DNS-Replikation und Reparatur ist wichtig für die Gesundheit eines Menschen. Sind die Replikation und/oder Reparaturmechanismen gestört, kann es zu Genominstabilität kommen [Bentley et al., 2002]. Dies wiederum kann zur Entstehung von Krankheiten wie Krebs führen. Das Mikrokernvorkommen hat sich als guter Biomarker für Krebsrisiko erwiesen. Eine Erhöhung der Anzahl an Mikrokernen kann auf die Entwicklung von Krebs hinweisen [Fenech et al., 1999].

Mikrokerne sind zusätzliche Zellkerne, welche sich im Zytoplasma, durch Mitose entstandene Tochterzellen, befinden [Huang et al., 2009, Utani et al., 2010]. Mikrokerne

entstehen durch Chromosomenbrüche oder ganzen Chromosomen, welche während der Zellteilung nicht in den Tochterzellkern mit eingeschlossen wurden. [Fenech et al., 1999] (Siehe Abbildung 2).

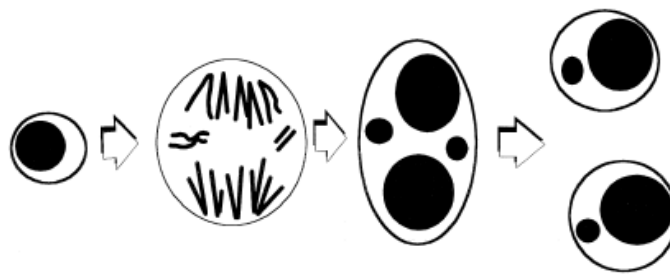


Abbildung 2: Entstehung von Mikrokernen während der Zellteilung [Fenech et al., 1999]

Mikrokerne sind also ein Indiz für Chromosomenbrüche und einen Verlust an Chromosomen [Fenech et al., 1999].

Es haben sich schon einige Studien mit dem genauen Mechanismus der Mikrokernentstehung beschäftigt. Da die MN-Entwicklung ein dynamischer und sehr komplexer Prozess ist, gibt es noch immer offene Fragen. Einige Studien zeigen, dass sich die Nuclear Buds (NBuds) in der Interphase zu Mikrokernen weiterentwickeln. In diesem Fall wären also die Mikrokerne und die NBuds ein Indikator für Genomstabilität [Utani et al., 2010]. NBuds sind kleine Ausstülpungen des Zellkerns [Fenech, 2007].

Weitere Kriterien werden im Laufe dieser Masterarbeit beschrieben (siehe Kapitel 3.2.5).

Es wurde beobachtet, dass Zellen, welche MN besitzen, oftmals im Verlauf des Zellzyklus anormale Mitosen durchlaufen. Daraus entwickeln sich Tochterzellen die Störungen aufweisen können, etwa anormal kleine Zellkerne und geschädigte DNS.

Zellen, welche NBuds besitzen und keine MN, entwickeln nach der Mitose Tochterzellen die weniger häufig oben genannte Schäden zeigen. Utani et al. konnten zudem beweisen, dass Zellen mit MN ein höheres Risiko für Apoptosen aufweisen, als Zellen ohne MN.

Für dieses Phänomen gibt es 2 Hypothesen:

- Zellen mit MN haben starken DNS-Schäden, was zur Einleitung des programmierten Zelltods, der Apoptose, führen kann.
- Durch MN funktioniert die Genexpression nicht einwandfrei, was schließlich zur Apoptose führt [Utani et al., 2010].

Neben Mikrokernen stehen die Nuclear Buds (NBuds) und Nucleoplasmic Bridges (NPBS) ebenfalls in Verbindung mit genomischer Instabilität und Krebsentstehung. NBuds sind morphologisch gesehen den Mikrokernen, bis auf die Tatsache dass NBuds noch mit dem Zellkern durch einen dünnen nucleoplasmischen Strang verbunden sind, sehr ähnlich [Utani et al., 2010, Fenech, 2007].

2.4.1 Cytokinesis-Block micronucleus Cytome Assay (CBMN-Assays)

Das CBMN-Assay ist die bevorzugte Methode zur Untersuchung von Chromosomenbrüchen in Zellen von Menschen oder Säugetieren. Durch diese Methode können mehrere Parameter erhoben werden:

- Genotoxische Parameter (MN, NBud und NPB in den Zweikernzellen)
- Cytotoxische Parameter (Anteil an Apoptosen und Nekrosen)
- Cytostatische Parameter (Anteil an Mehrkernzellen, Zweikernzellen und Einkernzellen)

Nachdem die Zellen einmal zur Teilung angeregt worden sind, wird die Zellteilung durch Cytochalasin B gestoppt. Die Zellen besitzen zu diesem Zeitpunkt zwei Kerne. Die Zweikernzellen müssen sich einmal geteilt haben, da es nur so möglich die genotoxischen Parameter zu erkennen [Fenech, 2007, Fenech, 2000, Fenech und Crott, 2002, Fenech und Morley, 1985]. Das CBMN-Assay dient zudem als ein Biomarker für chromosomale Schäden und als erster Hinweis auf eine mögliche Krebsentstehung. [Pampalona et al., 2010].

In den vergangenen Jahren hat sich das CBMN-Assay als eine der führenden Methoden zur Messung von Chromosomenverlust, Chromosomenbrüche, Nekrose, Apoptose und Zellwachstumsstopp etabliert [Fenech und Morley, 1986].

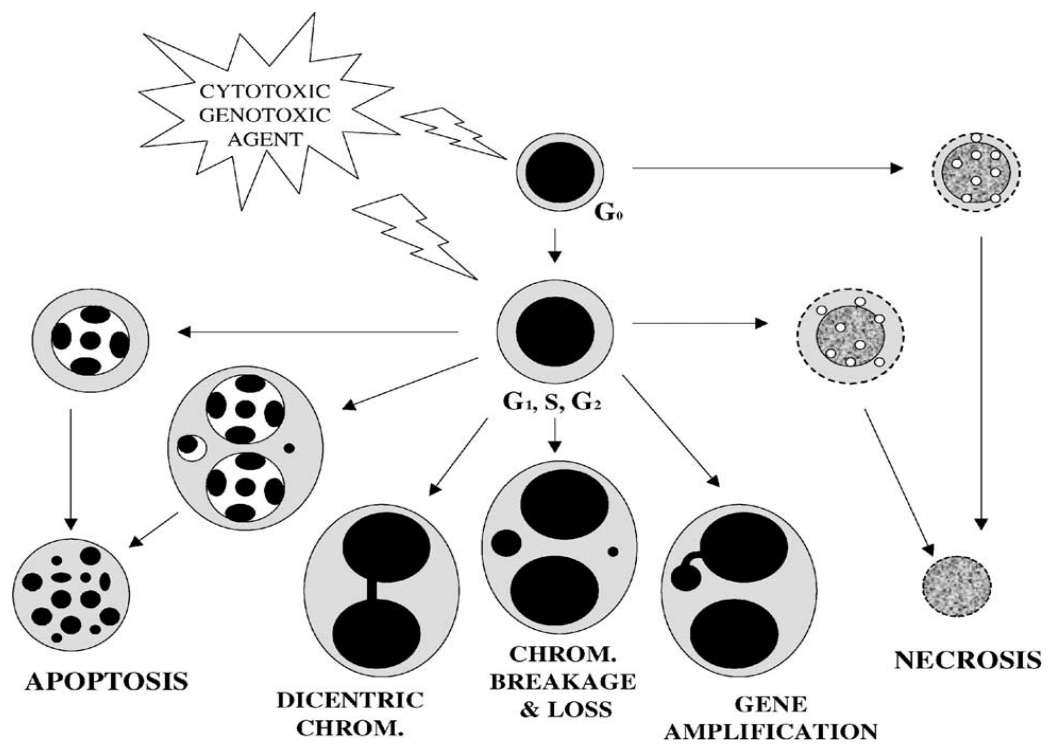


Abbildung 3: Parameter des CBMN-Assays [Fenech und Crott, 2002]

Der CBMN Assay wird auch benutzt um die NPBs und die NBuds zu messen.

NBuds sind Biomarker für Genamplifikationen, Bridges für die Formveränderung von Chromosomen entstanden durch die Verschmelzung von Telomeren aber auch durch falsche DNS Reparatur [Fenech, 2007]. Telomere sind die repetitiven Nucleotidsequenz am Ende eines Chromosoms welche die Chromosome vor Schäden und Verschmelzung untereinander schützen sollen [Halliwell und Gutteridge, 2007].

NPBs entstehen in der Anaphase der Mitose. Durch das Auseinanderziehen der Chromosomenpaare mit 2 Zentromeren während der Zellteilung kommt es zur Entstehung von sogenannten „Bridges=Brücken“ welche die Tochterzellkerne miteinander verbinden. NPBs können in der späten Anaphase brechen und somit können Mikrokerne entstehen [Hoffelder et al., 2004, IAEA, 2001].

NBuds sind ein Maß für Genamplifikationen und NPBs für Chromosomen Reorganisationen. Es wird behauptet, dass der Zellkern “erkennt” wenn sich zu viel DNS im Zellkern befinden. Aufgrund dessen könnte die überschüssige DNS in Form von NBuds oder Mikrokernen aus dem Zellkern entfernt werden. Die Entstehung von NBuds findet während der S Phase der Mitose statt. Die NBuds haben eine sehr ähnliche Morphologie wie Mikrokerne, nur sind die NBuds noch durch nukleoplasmisch Material an den Zellkern gebunden. Es ist noch nicht bekannt wie lange NBuds an dem Zellkern verbunden bleiben und ab welchem Zeitpunkt die NBuds zu Mikrokernen werden [Shimizu et al., 1998].

2.4.2 Alter und Geschlecht

2.4.2.1 Alter

Fenech und Morley haben als Erste in den 1980er Jahre einen Zusammenhang zwischen Mikrokernvorkommen, Alter und Geschlecht erkannt. Sie konnten beweisen, dass die MN-Anzahl in Lymphozyten mit dem Alter positiv korreliert [Fenech und Morley, 1986]. Dieses Phänomen hängt mit verschiedenen Faktoren zusammen.

- Mutationen der Gene, welche einen Effekt auf die DNS-Reparaturmechanismen haben
- Mutationen jener Gene, welche Einfluss auf den Zellzyklus und die Chromosomensegregation haben
- Strukturveränderungen der Chromosomen, verursacht durch genotoxische Substanzen oder ungesundem Lebensstil [Tucker et al., 1996].

Zudem hat die Studie von Huang et al. denselben Beweis erbringen können. Sie untersuchten 208 japanische Metallarbeiter auf ihre MN-Häufigkeit in Lymphozyten. Die Probanden waren zwischen 20 und 59 Jahre alt. Sie konnten belegen, dass mit steigendem Alter der Mittelwert der MN-Anzahl signifikant ansteigt. [Huang et al., 2009]

Wojda et al. fanden heraus, ganz im Gegensatz zu den oben genannten Aussagen, dass die MN-Häufigkeit bei der Altersgruppe 60-68 Jahren am höchsten war, sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern. Die MN-Häufigkeit nahm in der Altersgruppe ≥ 70 Jahre wieder ab. Die Abnahme der MN-Häufigkeit bei der Altersgruppe ≥ 70 Jahre war nur bei den Frauen signifikant das ruht daher dass in dieser Altersgruppe die Anzahl der Männer geringer war (Anzahl ♂ = 16; Anzahl ♀=57). Die älteste Probandin war 108 Jahre alt [Wojda et al., 2007].

2.4.2.2 Geschlecht

Frauen haben im Vergleich zu Männern eine höhere Anzahl an Mikrokernen, da das X-Chromosom eine höhere Tendenz dazu hat Mikrokerne zu bilden. Da Männer im Vergleich zu Frauen nur ein X-Chromosom besitzen, haben sie tendenziell weniger MN [Tucker et al., 1996, Bukvic et al., 2001]

Wojda et al. haben gezeigt dass die MN Häufigkeit bei Frauen signifikant höher ist als bei den Männern. Dies galt aber nur für die Altersgruppe ≤ 60 Jahre. Waren die ProbandInnen jedoch älter als 60 Jahre gab es keinen signifikanten Unterschied in der MN-Häufigkeit zwischen Männer und Frauen. [Wojda et al., 2007]

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Wojda, zeigte die Studie von Ishikawa, dass Männer eine signifikant höhere MN-Häufigkeit vorweisen. 71 gesunde ProbandInnen, davon 38 Männer und 33 Frauen, wurden auf MN untersucht. Das Durchschnittsalter lag hier bei den Männern bei 38,8 Jahren und bei den Frauen bei 33,3 Jahren. Ishikawa et al. haben die Hypothese aufgestellt, dass die Stabilität des Y-Chromosoms geringer ist und somit die MN-Anzahl bei Männer häufiger ist. Man sollte aber beachten dass bei dieser Studie, in der Männergruppe von 38 Probanden 23 Raucher waren und dass in der Frauengruppe nur 3 Raucherinnen von 33 Probandinnen waren [Ishikawa et al., 2003a].

2.4.3 Ernährung und Sport

2.4.3.1 Ernährung

Die Wahl und die Menge der Lebensmittel haben einen erheblichen Einfluss auf die Mikronährstoffkonzentrationen welche wiederum einen Einfluss auf Gesundheit und Langlebigkeit des Menschen haben [Ames et al., 1993]. Durch die Atmungskette entstehen Oxidationsprodukte im Körper welche durch körpereigene Systeme (z.B. Enzyme) aber auch durch Mikronährstoffe, welche selber als Antioxidantien oder als Teil eines antioxidativem Enzyms agieren, inaktiviert werden. Enzyme und Proteine, welche in der DNS-Synthese und/oder DNS-Reparatur mitwirken, benötigen Mikronährstoffe als Substrate oder als Cofaktoren [Halliwell und Gutteridge, 2007].

Kazimirova et al. untersuchten den Einfluss einer Vitamin und Mineralstoffsupplementierung auf die Entstehung von Chromosomen-Anomalitäten und Brüchen. Die Probanden (ausschließlich Männer) erhielten jeden Tag, 3 Monate lang, ein Supplement mit 100mg Vitamin C, 100 mg Vitamin E, 6mg β -Carotin und 50 μ g Selen [Kazimirova et al., 2006]. Die Menge an Vitamin E (Empfehlung: 12-15mg Tocopherol-Äquivalent/Tag) und β -Carotin (Empfehlung: 2-4mg β -Carotin/ Tag) übersteigen die täglich empfohlene Aufnahme der DACH- Referenzwerte. Es hat sich herausgestellt, obwohl die Supplementierung teilweise höher ist als die DACH-Empfehlungen, dass die Mikronährstoffsupplementierung einen signifikant ($p \leq 0,05$) positiven Effekt auf die Chromosomenbrüche hat. Dieser Effekt war auch bei der Rauchergruppe sichtbar obwohl die β -Carotin Supplementierung höher war als empfohlen [Kazimirova et al., 2006, Elmadfa und Leitzmann, 2004, DGE, 2014].

Fenech et al. untersuchten 190 gesunde Teilnehmer auf Genomschäden anhand der CBMN-Methode und eines Fragebogens zum Lebensmittelkonsum. Sie wollten herausfinden, ob eine Supplementierung über 6 Monate mit β -Carotin (18 mg), Vitamin C (900 mg), Vitamin E (250 mg) und Zink (12mg) die Genomstabilität verbessert. Die Studie zeigte, dass die Supplementierung mit Zink, Vitamin E, β -Carotin und Vitamin C die MN-Häufigkeit in der Supplementierungsgruppe nach 6 Monaten signifikant gegenüber der Kontrollgruppe reduzierte. Die Studie hat neben den supplementierten Vitaminen auch noch die protektiven Eigenschaften von Folsäure, Calcium und Niacin auf die Genomstabilität untersucht. Diese Studie zeigte, dass 5 Mikronährstoffe, Niacin, Fol-

säure, Vitamin E, Retinol und Calcium, eine Schutzfunktion auf die Stabilität des Genoms haben [Fenech et al., 2005].

Im Vergleich zu den D-A-CH Referenzwerten sind die Menge an Vitaminen und Mineralstoffen, welche den Probanden in der Studie von Fenech et al. [Fenech et al., 2005] gegeben wurde, sehr hoch [DGE, 2014].

Calcium spielt eine wichtige Rolle bei der Chromosomenverteilung, Zellproliferation, Apoptosevorgang und der Zelldifferenzierung. [Cho et al., 2004].

Niacin, ein Sammelbegriff für Nikotinsäureamide und Nikotinsäure, ist ein wichtiger Baustein von Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD⁺) und Nikotinamid-Adenin-Dinukleotidphosphat (NADP⁺) und ein Cofaktor der PolyADPribose-polymerase (PARP). PARP wird benötigt um beschädigte DNS zu reparieren, für den Erhalt der Telomere, Chromosomenverteilung und für den einwandfreien Verlauf der Apoptose. Zusätzlich ist Niacin ein Cofaktor der SIR2-Histone-Deacetylase, welche Histone deacetyliert und somit die Chromosomen „schließt“ und folglich das Risiko eines Chromosomenbruchs vermindert [Hasty, 2001, Blander und Guarente, 2004].

β-Carotin zeigte sowohl bei einer niedrigen Aufnahme, als auch bei einer hohen Aufnahme negative Effekte auf das Genom. Eine Erklärung dafür wäre, dass β-Carotin durch Radikale oxidiert wird, und somit genotoxische Produkte entstehen. Ist die Aufnahme an β-Carotin zu gering, kann nur wenig Retinol gebildet werden. Retinol unterdrückt die Expression von NFκB (Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells). NFκB ist für Entzündungsprozesse verantwortlich und verhindert die Apoptose. Die MN-Häufigkeit kann somit erhöht werden [Carlsen et al., 2004].

Folsäuremangel führt zu Hypomethylierung der DNS und zu erhöhter Uracileinlagerungen in die DNS [Crott et al., 2001b]. Erhöhte Uracileinlagerungen können zu Strangbrüchen in der DNS führen und somit in Verbindung mit einer erhöhten MN-Häufigkeit stehen [Kimura et al., 2004].

Dies sind zwei Ereignisse, welche zur MN-Entstehung beitragen. Verschiedene Interventionsstudien haben herausgefunden, dass $\geq 200 \mu\text{g}$ Folsäure pro Tag benötigt werden, um die Genomstabilität zu gewährleisten [Fenech et al., 1998].

Eine erhöhte Aufnahme von Biotin ($\geq 25,50\mu\text{g}/\text{Tag}$), Pantothersäure ($\geq 5,65\text{mg}/\text{Tag}$) und Riboflavin ($\geq 2,42\text{mg}/\text{Tag}$) erhöhen wiederum die Häufigkeit von MN [Fenech et al., 2005]

Folsäure und Vitamin B12 sind wichtig für den korrekten Ablauf des DNS-Metabolismus, da diese Vitamine Methylgruppen bereitstellen. Folsäure wird für die Synthese von Deoxythymidine Monophosphaten (dTMP) aus Deoxyuridin Monophosphat (dUMP) benötigt (siehe auch Abbildung 3). dTMP spielt eine führende Rolle bei der Methylierung von DNS [Eto und Krumdieck, 1986].

Ein Mangel an Vitamin B12 hat ähnliche Auswirkungen, da Folsäure ohne Vitamin B12 nicht in die Form umgewandelt werden kann, die benötigt wird um dTMP zu synthetisieren [Wagner, 1995].

Außerdem wird Vitamin B12 und Folsäure für die Synthese von Methionin aus Homocystein und die Synthese von S-adenosylmethionin (SAM) benötigt [Chiang et al., 1996].

Eine Studie untersuchte Männer im Alter zwischen 50 und 70 Jahren und die Häufigkeit von MN in Bezug auf Folsäurekonzentration im Plasma. Eine erhöhte MN-Häufigkeit zeigte sich bei Männern mit einer Folsäurekonzentrationen von $< 6,8\text{nmol}/\text{l}$, B12 von $< 150\text{pmol}/\text{l}$ und Homocysteinkonzentration von $> 10\mu\text{mol}/\text{l}$. Studienteilnehmer, welche ausreichend mit Vitamin B12 und Folsäure versorgt waren, aber einen Homocysteinkonzentration von über $10\mu\text{mol}/\text{l}$ hatten, hatten eine höhere Anzahl von Mikrokernen im Vergleich zu Probanden mit einer niedrigeren Homocysteinkonzentration [Fenech et al., 1997].

Des Weiteren konnten Fenech und Crott zeigen, dass durch einen Mangel an Folsäure, neben den Mikrokernen auch die Anzahl der NBuds und der NPBs erhöht waren. Die Lymphozyten von 20 ProbandInnen wurden in vitro kultiviert und mit entweder 12, 24,60 oder 120nM Folsäure versetzt. Die optimale Konzentration an Folsäure um die Genomstabilität zu minimieren war 60nM [Crott et al., 2001a].

Nun stellt sich die Frage, welche Ernährungsweise im Hinblick auf Mikrokernentstehung präventiver wirkt. Vegetarier haben im Vergleich zu Mischköstler höhere Selenkonzentrationen im Plasma, aber dieselbe Zinkkonzentration. Andererseits fehlt Vitamin D in pflanzlichen Lebensmitteln. Bei Vegetariern tritt häufiger ein Mangel an Eisen, Calcium, Vitamin B12, und Proteinen auf. Ein Mangel an Vitamin B12, B6, C, E, Folsäure, Niacin, oder Eisen kann zu einem Bruch in einem Strang oder sogar an zwei DNS-Strängen kommen und somit zum Chromosomenbruch führen. Die Ernährungsweise die die geringsten DNS-Schäden hervorruft, ist die lacto-vegetarische Ernährung. Diese Ernährungsweise scheint oxidativem Stress am besten entgegenzuwirken [Kazimirova et al., 2004]. In einer weiteren Studie von Kazimirova et al. wurden 48 gesunde Probanden (Alter zwischen 20 und 62 Jahre) untersucht, 24 waren Vegetarier und 24 waren Mischköstler. Die Vegetarier hatten höhere Vitamin C- und β -Carotinkonzentrationen. Nicht signifikant, aber dennoch höher war die Vitamin E-Plasmakonzentration bei den Vegetariern.

Es zeigte sich, dass die MN-Häufigkeit weder bei Vegetarier noch bei Mischköstler signifikant unterschiedlich war. Die niedrigste, aber nicht signifikante, Anzahl an Mikrokernen war bei den Ovo-Lacto-Vegetariern zu erkennen [Kazimirova et al., 2006].

2.4.3.2 Sport

Wie bereits bekannt, hat Sport einen gesundheitsfördernden Effekt. Dennoch, wenn der Sport für die jeweilige Person zu anstrengend und ungewohnt ist, kann es zu erhöhtem Sauerstofffluss in den Muskeln kommen und somit zu einem erhöhten oxidativem Stress. Allerdings haben Studien gezeigt, dass Menschen aller Altersgruppen, welche sich sportlich betätigen, von dem antioxidativen Effekt profitieren können, da sich der Körper an den regelmäßigen Sport angepasst hat.

Des Weiteren wurde gezeigt, dass das Lebensalter durch regelmäßige sportliche Betätigung um durchschnittlich zwei Jahre verlängert werden kann [Paffenbarger et al., 1993].

Fenech und Bonassi haben 6 Studien miteinander verglichen, welche den Einfluss von Sport auf die Mikrokernentstehung zeigen. Alle 6 Studien weisen unterschiedliche Ergebnisse auf, da sowohl die Studiendesigns, die Studienteilnehmer und die Trainingsin-

tensitäten sehr stark variieren. Die Ergebnisse reichen von einer Reduktion der MN-Anzahl als Antwort auf eine moderate Trainingsintensität oder sogar als Antwort auf einen Triathlon, bis hin zu keinem Effekt [Fenech und Bonassi, 2011].

Die Studie von Reichhold et al. untersucht den Einfluss einer sehr intensiven sportlichen Belastung, in diesem Fall eines Triathlons, auf die MN-Häufigkeit. Nach dem Iron-Man-Triathlon kam es zu keinem Anstieg der MN-Anzahl. [Reichhold et al., 2008]. Eine Studie, durchgeführt von Pittaluga et al., untersuchten 18 junge Athleten als auch Hobbysportler auf die MN- und Apoptosenhäufigkeit nach einem körperlich anstrengenden Training. Es zeigte sich, dass die Athleten die höchste MN-Anzahl nach dem Training hatten. Die Apoptosenhäufigkeit zeigte sowohl bei den Hobbysportlern als auch bei den Athleten eine leichte Erhöhung kurz nach dem Training und eine komplette Wiederherstellung der Apoptosenhäufigkeit [Pittaluga et al., 2006].

Huang et al. untersuchten 208 japanische Metallarbeiter auf den Einfluss des Lebensstils auf ihre jeweilige MN-Häufigkeit. Es konnte gezeigt werden dass ein regelmäßige körperliche Betätigung (≥ 2 Mal/ Woche) die MN Anzahl signifikant verringert im Gegensatz zu der MN Anzahl der Metallarbeitern welche kaum Sport betrieben. Die Probanden dieser Studie waren um einiges jünger (Durchschnittsalter 43,7 Jahre) als die ProbandInnen der „Active Ageing“ Studie [Huang et al., 2009] (siehe Kapitel 4.1).

Eine weitere Studie wurde an 9 älteren Männern ($66,6 \text{ Jahre} \pm 3,1 \text{ Jahre}$) mit Typ 2 Diabetes durchgeführt, welche an einem 16-wöchigen Trainingsprogram mit ausschließlich progressivem Krafttraining teilgenommen haben. Die Studie konnte zeigen dass das progressive Krafttraining einen signifikant positiven Effekt auf das viszerale Fett und die Insulinsensitivität der Probanden hatte. 2 Mal pro Woche mussten die Probanden je 45-60 Minuten das Krafttraining durchführen [Ibanez et al., 2005]. Das progressive Krafttraining wurde auch während der „Active Ageing“-Studie als Trainingsintervention genutzt (siehe Kapitel 3.1.3). Das progressive Krafttraining wird als Training definiert bei welchem der Muskel progressiv den Kraftaufwand erhöhen muss [Ibanez et al., 2005].

Durch die unterschiedlichen Studiendesigns kann bis dato noch keine einheitliche Aussage zum Einfluss von Sport auf die MN-Häufigkeit getroffen werden.

2.4.4 Lebensstil

Neben Ernährung und Sport hat auch der Lebensstil einen erheblichen Einfluss auf die Mikrokernentstehung. Ein ungesunder Lebensstil, zum Beispiel Alkoholabusus, Rauchen, wenig Schlaf und Stress, werden oft mit kardiovaskulären Erkrankungen und Krebsentstehung in Verbindung gebracht. Da MN als Biomarker für Krebsentstehung gilt, hat Huang P. et al. eine Studie durchgeführt, welche den Einfluss vom Lebensstil auf die Häufigkeit der MN-Entstehung untersucht hat. Es hat sich herausgestellt, dass die Qualität des Lebensstils negativ mit der MN-Häufigkeit korreliert. Unausgewogene Ernährung, wenig körperliche Bewegung (< 2 Mal/ Woche), zu wenig Schlaf (< 6 Stunden/Nacht) und mehr als 9 Stunden Arbeit pro Tag führen zu einer signifikant höheren Anzahl an MN. In der Rauchergruppe war die MN-Anzahl nur bei den starken Rauchern signifikant erhöht. Psychischer Stress und Alkohol hatten in dieser Studie keinen signifikanten Einfluss auf die MN-Entstehung [Huang et al., 2009].

Exzessiver Alkoholkonsum ist ein Risikofaktor für Krebsentstehung [Ishikawa et al., 2007]. Einige Studien haben den Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und MN-Vorkommen in Lymphozyten untersucht und beweisen können, dass exzessiver Alkoholkonsum die MN-Anzahl erhöht [Kim et al., 2005, Ishikawa et al., 2007, Maffei et al., 2000]. Alkohol wird mithilfe der Alkoholdehydrogenase (ALDH1B) zu Acetaldehyd metabolisiert. Acetaldehyd wird durch die ALDH2 in Acetat umgewandelt. Genetische Polymorphismen der ALDH2 und ALDH1B können die Umwandlung von Alkohol in Acetat erheblich verändern und somit auch einen Einfluss auf die MN-Entstehung haben [Whitfield, 1994]. Eine inaktive ALDH2 hat gezeigt, dass die MN-Rate bei Alkoholkonsum deutlich, im Vergleich zu Probanden mit normaler ALDH2-Aktivität, erhöht war [Ishikawa et al., 2003b, Whitfield, 1994]. Es wurde gezeigt, dass der Konsum von alkoholfreiem rotem Wein einen positiven Effekt auf die MN-Anzahl hat im Vergleich zu alkoholhaltigem rotem Wein. Grund dafür könnte der antioxidativ wirkende sekundäre Pflanzenstoff Resveratrol sein [Greenrod et al., 2005].

Die oben genannten Daten aus der Literatur lassen erhoffen dass, die Training und Ernährungsintervention, die MN-Häufigkeit der ProbandInnen der „Active Ageing“ Studie beeinflusst. Das Supplement „FortiFit“, welches den ausgewählten Wiener Pensionistenwohnheimen zur Verfügung stand, enthält alle wichtigen Mikronährstoffe die mit MN-Häufigkeit in Verbindung stehen. Zudem enthält es die im Bezug auf Sarkopenie, wichtige Aminosäuren wie Leucin. Auch die Trainingseinheiten der „Active Ageing“ Studie enthielten wichtige Komponente welche schon in einigen Studien einen positiven Effekt auf die MN-Entstehung zeigten. Es wurde ein progressives Krafttraining mit Eigengewicht oder mit Hilfe von Therabändern gewählt da dieses Training im Bezug auf die Verbesserung von Sarkopenie und MN-Anzahl am vielversprechendsten war. Der CBMN-Assay wurde zur Ermittlung der Chromosomenbrüche in der „Active Ageing“ Studie gewählt da sich dieser Assay in den vergangenen Jahren als eine der führenden Methoden zur Messung von genotoxischen Parameter, Nekrose und Apoptose etabliert hat. [Fenech und Crott, 2002]

3. Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Diese Arbeit ist im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“ entstanden. Die durchgeführte Studie untersuchte die Auswirkung von einer Kraft- und Ernährungsintervention auf die körperliche Leistungsfähigkeit von Senioren.

Das regelmäßige progressive Krafttraining (Definition: siehe Kapitel 2.6.2) und die Ernährungssupplementation sollten der Entwicklung von Sarkopenie entgegenwirken und somit zu gesteigerter Lebensqualität und Unabhängigkeit im Alter führen.

Es handelte sich dabei um eine Interventionsstudie welche randomisiert, kontrolliert und Beobachter-blind war. Die Probanden wurden in 3 Gruppen eingeteilt:

- Trainings- und Ernährungsintervention
- Trainingsintervention
- Kognitives Training

Diese Arbeit beschreibt nur einen Teil der Studie nämlich den CBMN-Assay bzw. dessen Auswertung. Dieser bestimmt die Mikrokernfrequenz und wurde im Rahmen der Studie bei allen ProbandInnen der 3 Gruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt:

- T0 (Beginn)
- T1 (nach 3 Monaten)
- T2 nach (6 Monaten)
- T3 (nach 12 Monaten)

Weitere Untersuchungen fanden zum Zeitpunkt T4 (nach 18 Monaten) statt welche sich in den Arbeiten von Birgitt Fuchs und Evelyn Bacher wiederfinden wird.

3.1.1 Probandenrekrutierung

Nachdem die Ethikkommission der Stadt Wien die Studie zugelassen hat wurden Pensionistenwohnhäuser mit Hilfe des „Kuratorium Wiener Pensionistenhäuser“ (KWP) ausgewählt. In den selektierten Pensionistenhäusern wurden die Probanden ausführlich über den Verlauf der Studie aufgeklärt. SeniorInnen, welche an der Studie teilnehmen wollten, mussten eine Einverständniserklärung unterschreiben. Desweiteren gab es Ein- und Ausschlusskriterien, welche bei der Wahl der SeniorInnen beachtet werden mussten.

Insgesamt wurden in 5 verschiedenen Pensionistenwohnhäusern 117 Probanden im Alter von 65 bis 93 Jahren rekrutiert. Gleich am Anfang der Studie schieden nochmals 18 Probanden aus, somit nahmen insgesamt 99 SeniorInnen teil. Da der Frauenanteil in den ausgewählten Pensionistenwohnhäusern sehr hoch war, nahmen auch deutlich mehr Frauen an der Studie teil als Männer (12 Männer und 87 Frauen).

Einschlusskriterien:

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

Ausschlusskriterien:

- Fehlende schriftliche Einverständniserklärung zur Testung der körperlichen Leistungsfähigkeit
- Kardiovaskuläre Erkrankungen
- Einnahme von Gerinnungshemmern
- Manifeste Osteoporose
- Diabetische Retinopathie
- Erkrankungen, welche eine medizinische Trainingstherapie kontraindizieren
- Regelmäßige Einnahme von Cortison oder Kortison-haltigen Medikamenten

- Regelmäßiges Krafttraining (>1x/Woche) in den letzten 6 Monaten vor Einschluss in die Studie
- Probanden der Supplementgruppe: Einnahme <5 Portionen „FortiFit“/Woche über den Durchrechnungszeitraum bzw. <5 Portionen „FortiFit“ in jeder der beiden letzten Wochen vor den Tests („FortiFit“ siehe Kapitel 3.1.4)
- Probanden der Trainingsgruppen: Wenn weniger als 70% der möglichen Trainingseinheiten besucht werden bzw. bei weniger als 3 Einheiten in den letzten beiden Wochen vor den einzelnen Tests besucht wurden

3.1.2 Interventionsphase

In den ersten 6 Monaten wurden die Probanden 2 mal wöchentlich gemäß ihrer Gruppenzugehörigkeit betreut. In den darauffolgenden 6 Monaten wurden die Probanden nur noch einmal wöchentlich betreut. Die zweite Trainingseinheit musste von den ProbandInnen selbstständig durchgeführt werden. In den letzten 6 Monaten der Studie mussten die SeniorInnen in der Lage sein ihrem Training selbstständig 2 Mal wöchentlich nachzukommen.

Zu jedem Zeitpunkt T0, T1, T2 und T3 fanden morgens im nüchternen Zustand Blutabnahmen statt, die am selben Morgen gleich im Labor für die verschiedenen Untersuchungen, zu ihnen zählte auch die CBMN-Assay, weiterverarbeitet wurden.

3.1.3 Trainingsintervention

Jede Trainingseinheit begann mit einem 10-minütigen Aufwärmen, welches aus Balance- und Mobilisierungsübungen bestand. Danach folgte ein 30-minütiges Kraft- und Stabilisationstraining. Diese Übungen wurden mit Hilfe von Therabändern und dem eigenen Körpergewicht durchgeführt. War die Intensität der Therabänder zu leicht oder zu schwer, konnte eine andere Intensität des Therabandes ausgewählt werden. Es wurden in jeder Einheit 6 Muskelgruppen mithilfe von 6 bis 8 Übungen zu jeweils 2 Sätzen gezielt trainiert. Ein Satz bestand aus 10 bis 12 Wiederholungen bei einer Intensität von

60 bis 80 % des One Repetition Maximums (1 RM). Wurden mehr als 15 Wiederholungen geschafft, wurde die Intensität mit stärkeren Therabändern erhöht, ganz nach dem Konzept des progressiven Trainings (siehe auch Kapitel 2.6.2). Jede Einheit wurde mit Entspannungs- und Dehnungsübungen abgeschlossen und dauerte 50 bis 60 Minuten.

Das Training wurde am Anfang zwei Mal pro Woche von Sportwissenschaftlern betreut. Das betreute Training wurde 6 Monate lang durchgeführt.

Danach wurden weitere 6 Monate lang nur mehr ein Mal pro Woche angeleitet trainiert und die zweite Trainingseinheit sollte von den SeniorInnen eigenständig absolviert werden. Anschließend wurden weitere 6 Monate nur noch eigenständig trainiert und es wurde lediglich die Trainingsfrequenz erhoben.

3.1.4 Ernährungsintervention

Eine der beiden Trainingsgruppen musste zusätzlich zum Training täglich ein Nahrungsergänzungsmittel namens „FortiFit“ zum Frühstück zu sich nehmen. Ergänzend wurde zwei Mal pro Woche jeweils eine Portion „FortiFit“ nach der Trainingsstunde eingenommen.

„FortiFit“ wird in Pulverform mit Wasser gemischt. Eine Portion besteht aus 6 Messlöffeln, welche mit 125 ml Wasser vermennt werden. Die Zubereitung erfolgte über das Küchenpersonal im Heim.

„FortiFit“ enthält neben wichtigen Vitaminen und Mineralstoffen auch essentielle Aminosäuren (Siehe Tabelle 1 und 2). Hauptaugenmerk liegt hier auf der Aminosäure Leucin, welche eine wichtige Rolle in der Muskelproteinsynthese spielt. Vitamin D und diverse essentielle Aminosäuren unterstützen gemeinsam mit Leucin den Muskelaufbau (siehe Kapitel 2.2).

Des Weiteren enthält „FortiFit“ wichtige Antioxidantien wie zum Beispiel Vitamin C und andere Mikronährstoffe wie Folsäure oder Magnesium (siehe Tabelle 2).

Zusammensetzung von „FortiFit“:

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

Tabelle 1: Makronährstoffe und Energiegehalt von „FortiFit“

Vitamine		Mineralstoffe und Spurenelemente	
Vitamin A	150 µg-RE	Na	150 mg
Vitamin D ₃	20 µg	Cl	70 mg
Vitamin E	7,5 mg-α-TE	K	279 mg
Vitamin K	11 µg	Ca	500 mg
Thiamin	225 µg	P	250 mg
Riboflavin	250 µg	Mg	37 mg
Niacin	2,7 mg-NE	Fe	2,4 mg
Pantothensäure	800 µg	Zn	2,2 mg
Vitamin B ₆	750 µg	Cu	270 µg
Folsäure	200 µg	Mn	500 µg
Vitamin B ₁₂	3 µg	F	150 µg
Biotin	6 µg	Mo	14 µg
Vitamin C	32 µg	Se	15 µg
		Cr	7,4 µg
		I	20 µg

Tabelle 2: Mikronährstoffgehalt/Portion „FortiFit“ (=150 ml)

3.1.5 Kognitives Training

Die Probanden in der kognitiven Gruppe dienten als Kontrollgruppe. Die Teilnehmer dieser Gruppe wurden genauso betreut, wie die SeniorInnen in den anderen zwei Gruppen. Die Teilnehmer in der Kontrollgruppe bekamen weder „FortiFit“, noch nahmen sie an dem progressiven Training teil (siehe Kapitel 3.1.4). Sie wurden regelmäßig in der Gruppe betreut und sollten kognitiv Aufgaben lösen. Es wurden Aufgaben und Spiele durchgeführt welche sich gezielt auf das Gedächtnis und dessen kognitiven Leistungsfähigkeit auswirken.

3.2 Der CBMN-Assay

3.2.1 Verwendete Materialien

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

Tabelle 3: Verwendete Materialien für den CBMN-Assay

3.2.2 Verwendete Reagenzien für den CBMN-Assay

- RPMI 1640 Steril
- Sodium-L-Pyruvat Steril
- Fetal Bovine Serum (FBS)
- L-Glutamin Steril
- Cytochlasin B
- Trypanblau
- Diff-Quick Stining Set
- Diff-Quick II
- Dulbeccos Posphate buffered saline Steril (PBS)
- Phytohaemoglutinin (PHA)
- Dimethylsulfoxid (DMSO)
- Entellan

Das CBMN-Assay ist eine Methode zur Untersuchung der MN-Häufigkeit in Lymphozyten. Die MN-Häufigkeit ist ein Parameter von vielen, welche im Rahmen der „Active

Ageing“ Studie erhoben wurden. Den ProbandInnen wurden zu diesem Zweck zu folgenden Zeitpunkten Blut abgenommen.

- T0 Beginn der Studie
- T1 nach 3 Monaten,
- T2 nach 6 Monaten.
- T3 nach 12 Monaten
- T4 nach 18 Monaten

Dieses Kapitel, das Kapitel der Zählkriterien als auch das Kapitel der statistischen Datenauswertung wurden gemeinsam mit meiner Kollegin und Laborpartnerin Ariane Cremer erarbeitet.

3.2.3 Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien wurden unter sterilen Bedingungen vorbereitet. Das bedeutet, es wurde ausschließlich im Lamina Flow (sterile Werkbank) gearbeitet.

Alle Behältnisse und Materialien werden mit 70-prozentigem Alkohol besprüht, bevor sie in den Lamina Flow gestellt werden können.

500 µl PHA werden aus der Stocklösung in Cryovials überführt und eingefroren. PHA (Pythohemagglutinin) ist ein Mitogen und regt die Zellteilung an [Fenech, 2007].

1750 µl DMSO werden ebenfalls aus der Stocklösung in Cryovials überführt.

Besondere Vorsicht war bei der Vorbereitung der Cytochalasin B Lösung aus der Stocklösung geboten, da Cytochalasin B ein Zellgift ist und die Zellteilung stoppt. Die Actinpolymerisierung wird gestoppt und somit kann sich das Cytoplasma nicht teilen [Ballestrem et al., 1998].

5mg Cytochalasin B wurde unter dem Lamina, mit Mundschutz, 2 Paar übereinander angezogenen Handschuhen und Schutzbrille in 8,3 ml DMSO (steril) gelöst.

RPMI ist ein komplexes Wachstumsmedium, welches hauptsächlich für die Kultivierung von Lymphozyten und Leukämiezellen benutzt wird. Es besteht aus Phenolrot als Indikator für den PH-Wert, Hydrogencarbonat als Puffersystem, Vitamine, Salze, Glukose und Aminosäuren [Lindl, 2002].

3.2.4 Probenaufbereitung

Alle Schritte bis auf die Zellzahlbestimmung und die Schritte an Tag 3 (siehe Seite 40-41) wurden steril unter dem Lamina vorgenommen.

Tag 1

Medium

Zuerst wurde das Medium hergestellt. Dazu mussten die Reagenzien erwärmt werden, bevor sie wie folgt zusammengemischt wurden: 3,3 ml FBS, 30 ml RPMI, 330 µl L-Glutamin und 330 µl Sodium-L-Pyruvat. Das Medium reichte für 14 Proben im Doppelansatz aus.

Isolierung der Lymphozyten aus dem frischen Blut

Eine Stunde bevor man das frische Vollblut erhielt, musste man die Leucoseptröhrchen aus dem Kühlschrank nehmen. Man erhielt von jedem Probanden zwei Heparinröhrchen gefüllt mit Blut, welches mit einer Pasteurpipette in Leucoseptröhrchen überführt wurde (jeweils im Doppelansatz und jeweils 7-8ml Blut in jedes Leucoseptröhrchen). Diese wurden anschließend 15 min bei 16 °C und 2400 rpm (rounds per minute) ohne Bremse zentrifugiert, um das Plasma von den Lymphozyten und den roten Blutkörperchen zu trennen.

Danach wurde auf Eis weitergearbeitet.

Durch die Zentrifugation hatten sich „Schichten“ gebildet, wobei man ganz vorsichtig mit einer Pasteurpipette die mittlere „wolkenartige Schicht“ (Lymphozyten) abgehoben hat und in ein neues Zentrifugenröhrchen überführt hat (siehe Abb. 5).

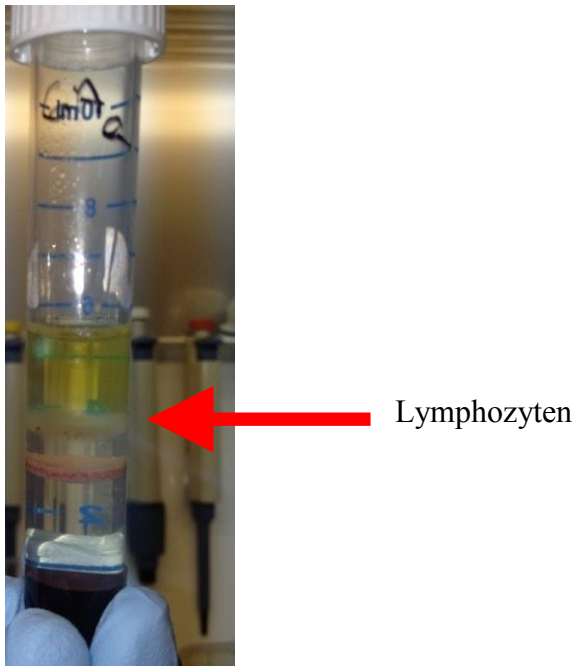


Abbildung 5: Leucoseptröhrchen nach dem Zentrifugieren [Bild gemacht von Laborpartnerin Ariane Cremer, 2013]

Die Zentrifugenröhrchen wurden dann mit Hilfe einer Glaspipette auf 15 ml mit PBS aufgefüllt und 5 Mal geschwenkt.

Im Anschluss wurden die Röhrchen bei 4 °C und 1300 rpm mit Bremse für 15 min zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren hatte sich am Boden der Röhrchen ein weißes Pellet gebildet. Dies waren die sedimentierten Lymphozyten. Die Flüssigkeit oberhalb des Pellets (PBS) wurde abgesaugt.

Die Pellets wurden mit 1 ml frischer PBS aufgelöst und die Röhrchen mit 10 ml PBS aufgefüllt. Es folgte ein weiterer Zentrifugationsschritt → 10 min, 4°C, 1300rpm. Der Überstand wurde wie zuvor abgesaugt und die Pellets wurden noch einmal in 1 ml PBS aufgelöst. Die im Doppelansatz aufbereiteten Proben wurden nun in einem Röhrchen vereint.

Zellzahlbestimmung

Um in jedem Röhrchen eine ungefähr gleiche Zellzahl zu haben, musste diese zuvor anhand der Countess bestimmt werden. Dazu wurden 40 µl PBS in ein Mikrozentrifugenröhrchen pipettiert und mit 20 µl einer Probe vermischt. Es wurden dann 10 µl dieser Mischung mit 10 µl Trypanblau in einem weiteren Mikrozentrifugenröhrchen vermischt und 10 µl aus der nun entstandenen Mischung auf eine Neubauer Zählkammer

aufgetragen und in die Countess geschoben. Diese zählte automatisch sowohl nicht vitale als auch vitale Zellen.

Inkubation

Die vereinte Suspension wurde bei 22 °C, 1300 rpm und bei einer Dauer von 10 Minuten mit Bremse zentrifugiert. Danach wurde der Überstand abgesaugt und mit 1880 µl PBS aufgelöst.

Nun wurde wieder im Doppelansatz gearbeitet.

In ein Falconröhrchen wurden anhand einer Formel im Excel die Menge der Zellsuspension und die Menge des Mediums berechnet. Das Endvolumen sollte in jedem Röhrchen 750 µl und die Zellkonzentration $1 \times 10^6/\text{ml}$ betragen.

Danach wurde 15 µl PHA zu jeder Probe hinzugegeben um die mitotische Zellteilung zu stimulieren. Da nur 3 Proben am Tag in der Zentrifuge Platz hatten, wurde PHA in einem Abstand von 20 Minuten hinzugegeben. In der Zwischenzeit wurden die anderen Proben mit Alufolie bedeckt. Ist überall PHA hinzugegeben worden, so werden die Proben bei 37°C und 5% CO₂ für genau 44 Stunden inkubiert.

Tag 2 (nach 44 Stunden)

Cytocalasin B und RPMI wurden im Wasserbad erwärmt. 180 µl Cytochalasin B wurde mit 1620 µl RPMI vermischt. Cytochalasin B ist ein Zellgift, welches die Zellteilung stoppt. Man sollte hier mit besonderer Vorsicht arbeiten.

Von jedem Falconröhrchen aus dem Inkubator wurden 56,2 µl des Überstandes entfernt und mit genau 56,2 µl Cytochalasin B-Gemisch versetzt. Auch dies geschah wieder in einem 20 minütigem Abstand. Cytochalasin B stoppte die Zellteilung.

Die Falconröhrchen wurden für weitere 28 Stunden bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert.

Tag 3 (nach 72 Stunden)

An diesem Tag wurde nicht mehr unter sterilen Bedingungen gearbeitet.

Tag 3 bestand aus dem Auftragen der Zellen auf Objektträgern und die Färbung der Zellen. Dafür wurden die Objektträger zuerst für den Cytospin vorbereitet. Mit einer Klammer wurden Trichter, Objektträger und Filterpapier befestigt und diese schon in

den Cytospin hineingelegt. Danach wurden von der Zellsuspension 200 µl des Überstandes entfernt und 46 µl DMSO hinzugefügt. Erst dann wurde die Zellsuspension vorsichtig durch Klopfen vermischt. 120 µl der Zellsuspension wurden in die Trichter hineinpipetiert. Pro Falconröhrchen erhielt man 2 Objektträger, das bedeutete für einen Probanden erhielt man 4 Objektträger. Die Zellsuspension wurde durch 5-minütiges zentrifugieren im Cytospin auf die Objektträger aufgetragen. Danach wurden die Objektträger 10 Minuten lang getrocknet. Man durfte die Objektträger auf keinen Fall länger trocknen lassen, da sich sonst das Aussehen der Zellen verändern konnte und das Zählen dadurch im Nachhinein erschwert sein konnte.

Fixierung und Färbung der Zellen

Nach dem Trocknen wurden die Zellen mit Hilfe einer Färbehalterung für 10 Minuten in eine Wanne mit Diff Quick Fix (Ethanol) gelegt. Der nächste Schritt bestand aus der Färbung der Zellen mit Diff Quick I und Diff Quick II. Die Objektträger mit der Färbehalterung wurden 10-mal in Diff Quick I getaucht und 8-mal in Diff Quick II.

Danach wurden die Objektträger kurz mit der Zellsuspensionsseite zum Trocknen auf ein Papier gelegt. Nach ca. einer Minute wurden die Objektträger umgedreht, mit der Seite der Zellsuspension nach oben. Nach dem Trocknen wurden die Objektträger verschlossen. Dazu wurde Entellan aufgetragen und mit Deckgläsern verschlossen.

3.2.5 Zählkriterien

Die Zählkriterien wurden mit Hilfe der Literatur von Fenech et al. und der gemeinsamen Absprache mit Karin Geider und Birgit Koller, welche T0 und T1 im CBMN-Assay durchgeführt haben, bestimmt. Gezählt wurden:

- Einkernzellen
- Zweikernzellen (BNCs)
- Mehrkernzellen
- Zweikernzellen mit:
 - Mikrokerne

- Nuclear Buds (NBuds)
- Nucleoplasmic Bridges (Brücken) (NPBs)
- Apoptosen
- Nekrosen

[Fenech et al., 2003]

Ein-, Zwei- und Mehrkernzellen wurden nur gezählt, wenn sie eine schöne Morphologie aufweisen. Dies war gegeben, wenn das Zytoplasma einer Zelle die Zellkerne vollständig umschloss.

Wie bereits erwähnt wurde die Probe eines Probanden auf 4 Objektträger aufgeteilt, wobei man bei jedem Objektträger bis zu 500 Zweikernzellen zählte.

Bis 250 Zweikernzellen wurden folgende Zellen gezählt:

- Einkernzellen
- Mehrkernzellen
- BNCs mit NBuds
- BNCs mit NPB
- BNCs mit MN und Gesamtanzahl an MN in BNC
- Apoptosen
- Nekrosen

Ab 250 Zweikernzellen wurden nur noch folgende Zellen gezählt:

- BNCs mit NBuds
- BNCs mit NPB
- BNCs mit MN und Gesamtanzahl an MN in BNC

Zweikernzellen

Zweikernzellen besitzen, wie sich aus dem Namen schließen lässt, 2 Zellkerne. Diese sollten intakt sein und vom Zytoplasma stammen [Fenech, 2007]. Die Zellkerne sollten sich nicht überlappen, taten sie das doch, so musste die Abgrenzung der zwei Zellen klar erkennbar sein. Die Zellkerne sollten dieselbe Färbung und Farbtintensität haben.

BCN mit Mikrokernen

Die Mikrokerne mussten klar von den anderen Zellkernen abgegrenzt sein. Die Mikrokorne durften nicht grösser als $\frac{1}{3}$ eines vorhandenen Zellkernes und nicht kleiner als $\frac{1}{16}$ davon sein. Die Mikrokorne waren rund und oval und niemals mit den Zellkernen verbunden [Fenech, 2007]. (Siehe Abbildung 6 Bild a))

BCN mit NBuds

NBuds waren mit dem Zellkern über Brücken verbunden und hatten eine „knospenähnliche“ Erscheinung [Fenech, 2007]. Die Brücke war schmaler als der Durchmesser des NBuds. Die NBuds könnten sich aber auch in einer Vakuole befinden. Kamen mehrere NBuds in einer Zelle vor, wurde trotzdem nur eine gezählt. (Siehe Abbildung 6 Bild b))

BCN mit NPB

Die Dicke der NPBs war sehr unterschiedlich, sie durften jedoch nicht dicker sein als $\frac{1}{4}$ des Zellkerns der BCN [Fenech, 2007]. Wie bei den NBuds, wurde auch hier beim Vorkommen mehrerer Bridges nur eine gezählt. Sind aber sowohl eine NPB und ein MN in einer BCN vorhanden gewesen, wurden beide Merkmale gezählt. (Siehe Abbildung 6 Bild c))

Mehr kernzellen

Die Mehr kernzellen durften weder NBuds noch NPBs noch MN enthalten. Die Zellkerne mussten intakt sein und es mussten mehr als 2 Kerne vorhanden sein deren Größe sich nicht erheblich voneinander unterschieden [Fenech, 2007].

Apoptosen

Die Apoptose ist der programmierte Zelltod einer Zelle. Es gibt eine frühe und eine späte Phase der Apoptose. Sowohl das Zytoplasma als auch die Zellmembran waren bei beiden Phasen intakt.

Apoptotische Zellen hatten einen dunkelgefärbten und fragmentierten Zellkern. Zudem war das Zytoplasma im Vergleich zu den lebenden Zellen auch intensiver gefärbt [Fenech, 2007] (Siehe Abbildung 6 Bild d)).

Nekrosen

Die Nekrose ist eine Art des Zelltodes. Im Gegensatz zur Apoptose waren das Zytoplasma und die Zellmembran kaum vorhanden bzw. nicht mehr intakt [Fenech, 2007]. Das sehr helle Zytoplasma musste den Zellkern noch umschließen. Sowohl das Zytoplasma als auch der Zellkern konnten von mehreren winzigen Vakuolen „durchlöchert“ sein (Siehe Abbildung 6 Bild e)).

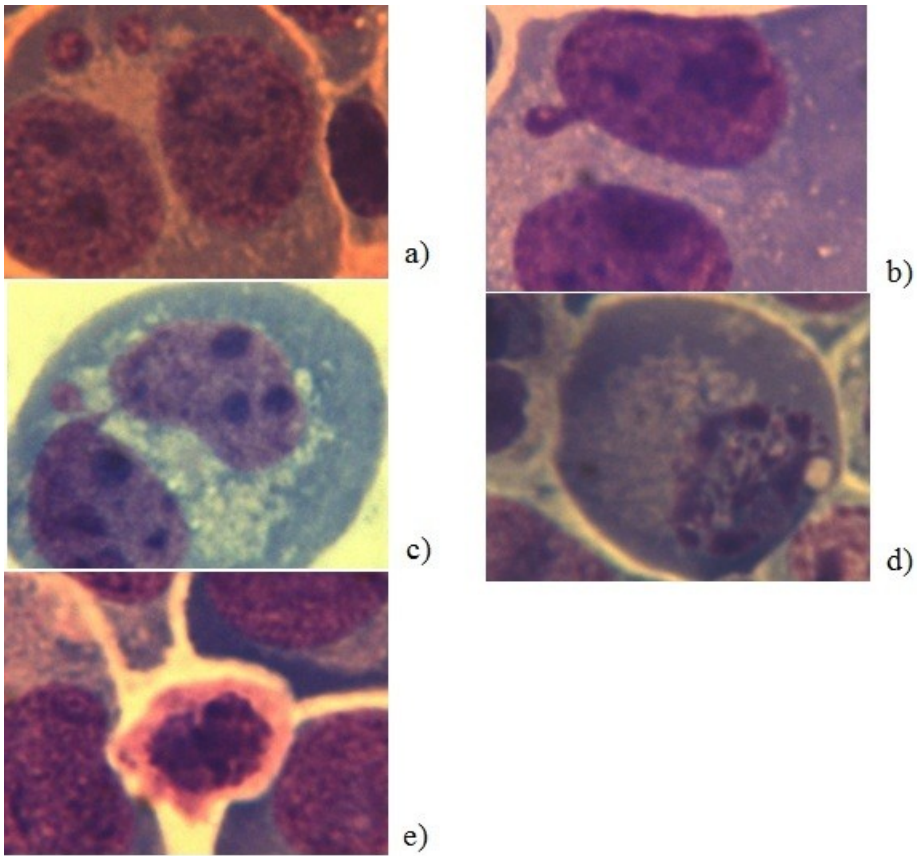


Abbildung 6: Mutationsarten; a) BNC mit 2 MN, b) BNC mit Bud, c) BNC mit Bridge und MN, d) Apoptose, e) Nekrose [Fotos gemacht von Ariane Cremer, Birgit Koller und Beatrice Pierson]

3.3 Statistische Datenauswertung

Die Anzahl der verschiedenen Zellen pro Slide wurden mit Hilfe von Microsoft Excel 2007 protokolliert.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS 20.0. Die Werte wurden anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung getestet. Bei diesem Test waren die Ergebnisse signifikant, also konnte man eine Normalverteilung ausschließen.

Nun wurde der Wilcoxon-Test, ein nicht-parametrischer Test für verbundene Stichproben, angewandt. Ausreißer wurden ausgeschlossen, wobei Extremwerte in den Test mit eingeschlossen wurden.

Zum Vergleich der Kontrollgruppe mit der Trainings- und Ernährungsgruppe zu den verschiedenen Zeitpunkten wurde der Mann-Whitney Test angewendet.

Die Korrelation zwischen den untersuchten Parametern und dem Alter, den einzelnen Interventionsgruppen als auch dem Geschlecht wurde nach Pearson berechnet.

Es galt ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$.

4 Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik

Die in diesem Kapitel angeführten Daten sind Teilergebnisse, da die Untersuchungen an den Zeitpunkten T2 (Intervention nach 6 Monaten) und T3 (Intervention nach 12 Monaten) stattgefunden haben.

Die Zeitpunkte T2 und T3 wurden mit dem Zeitpunkt T0 (Beginn der Studie) verglichen. Die Ergebnisse der Intervention nach 3 Monaten (T1) wurden in den Arbeiten von Karin Geider, Birgit Koller, Klemens Krejci und Heidemarie Peherstorfer vorgestellt. Aus diesem Grund ist der Balken zum Zeitpunkt T1 grau gefärbt.

Die Ergebnisse der Gruppe „Training“ wurden in der Arbeit meiner Kollegin Ariane Cremer genauer analysiert.

Am Zeitpunkt T0 nahmen 99 SeniorInnen an der Studie teil. Davon sind 12 (12,1%) Männer und 87 Frauen (87,9%).

Die Probanden sind folgendermaßen in die 3 Interventionsgruppen aufgeteilt worden:

Altersgruppe	Häufigkeit	TE	Trainingsgruppe	Gedächtnisgruppe
65-74 Jahre	12	5	4	3
75-84 Jahre	40	9	18	13
≥ 85 Jahre	47	16	14	17
Gesamt	99	30	36	33

Tabelle 4: Verteilung der ProbandInnen nach Interventionsgruppe und Alter zum Zeitpunkt T0, TE=Training und Ernährungsgruppe

Die Altersgruppe 65-74 Jahre bestand zum Zeitpunkt T0 aus 12 SeniorInnen, die Altersgruppe 75-84 Jahre bestand aus 40 SeniorInnen und die Altersgruppe ≥85 Jahre hatte mit 47 ProbandInnen die höchste Anzahl.

4.2 Ergebnisse der Trainings- und Ernährungsgruppe

Es wurden insgesamt 30 SeniorInnen in die Gruppe „Training und Ernährung“ zum Zeitpunkt T0 aufgenommen

	<u>Häufigkeit</u>	<u>Prozent</u>
65-74 Jahre	5	16,7
75-84 Jahre	9	30,0
≥ 85 Jahre	16	53,3
Gesamt	30	100,0

Tabelle 5: Häufigkeitstabelle der SeniorInnen (nach Alter) in der Gruppe Training und Ernährung zum Zeitpunkt T0

	<u>Häufigkeit</u>	<u>Prozent</u>
Männlich	4	13,3
Weiblich	26	86,7
Gesamt	30	100,0

Tabelle 6: Häufigkeitstabelle der SeniorInnen (nach Geschlecht) in der Gruppe Training und Ernährung zum Zeitpunkt T0

4.2.1 Mikrokerne

	N	Mittelwert	Standardabweichung
BCNs mit MN T0	28	20,35	8,94
BCNs mit MN T1	26	17,30	8,13
BCNs mit MN T2	22	18,57	12,21
BCNs mit MN T3	16	21,44	17,71
MN total T0	28	27,12	10,31
MN total T1	26	20,91	10,78
MN total T2	22	22,00	14,61
MN total T3	16	24,81	14,33

Tabelle 7: Training und Ernährungsgruppe : Anzahl der BNCs mit MN und Gesamtanzahl der MN an den verschiedenen Zeitpunkte T0-T3

Abbildung 9 zeigt die Tendenz zur Reduktion der MN Anzahl von T0 auf T2 wobei sich die Anzahl der MN von T2 auf T3 wieder erhöht. Jedoch sind die Unterschiede nicht signifikant. Zwischen den Zeitpunkten T0 und T2 ($p=0,370$) ist kein signifikanter Unterschied zu erkennen, genauso wie für den Vergleich von T0 mit T3 ($p=0,820$) und T2 mit T3 ($p=0,124$). Es wurden in allen Diagrammen der Zeitpunkt T1 dargestellt aber statistisch, in dieser Arbeit, nicht ausgewertet. Der statistische Vergleich zwischen den Zeitpunkten T0 und T1 wurden bereits in den Arbeiten von Karin Geider, Birgit Koller, Klemens Krejci und Heidemarie Peherstorfer beschrieben. Aus diesem Grund ist der Balken, von Zeitpunkt T1, in jedem Diagramm grau.

Die Zeitpunkte der Untersuchungen wurden beschrieben als:

- T0: Beginn der Studie
- T1: nach 3 Monaten Intervention
- T2: nach 6 Monaten Intervention
- T3 nach 12 Monaten Intervention

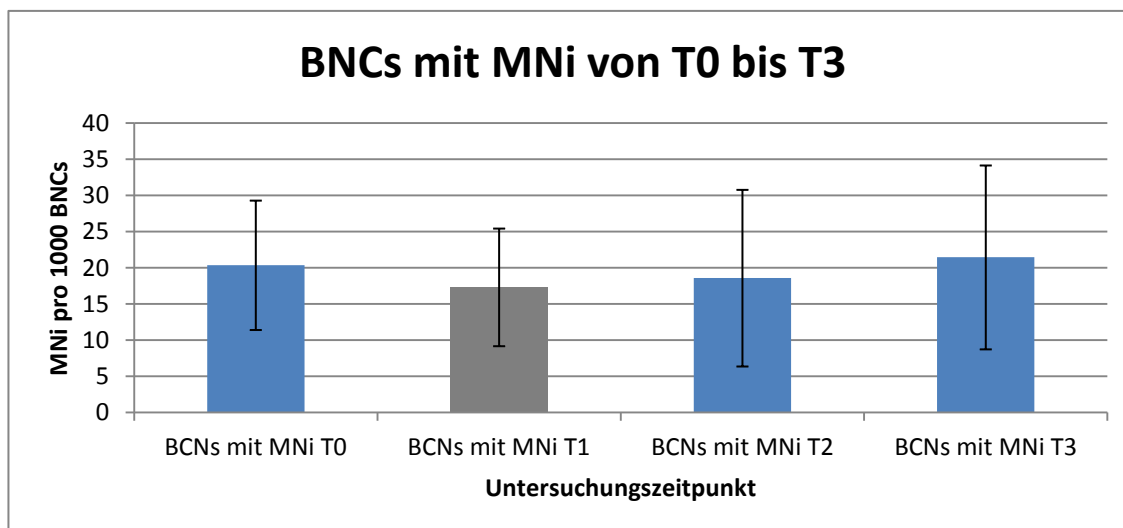


Abbildung 7: Training und Ernährungsgruppe: Vergleich der Mittelwerte von BNCs mit MN zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Dasselbe Bild zeigt sich bei der Gesamtanzahl der MN. Auch hier gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen T0 und T2 ($p=0,217$), zwischen T0 und T3 ($p=0,460$) und zwischen T2 und T3 ($p=0,124$).

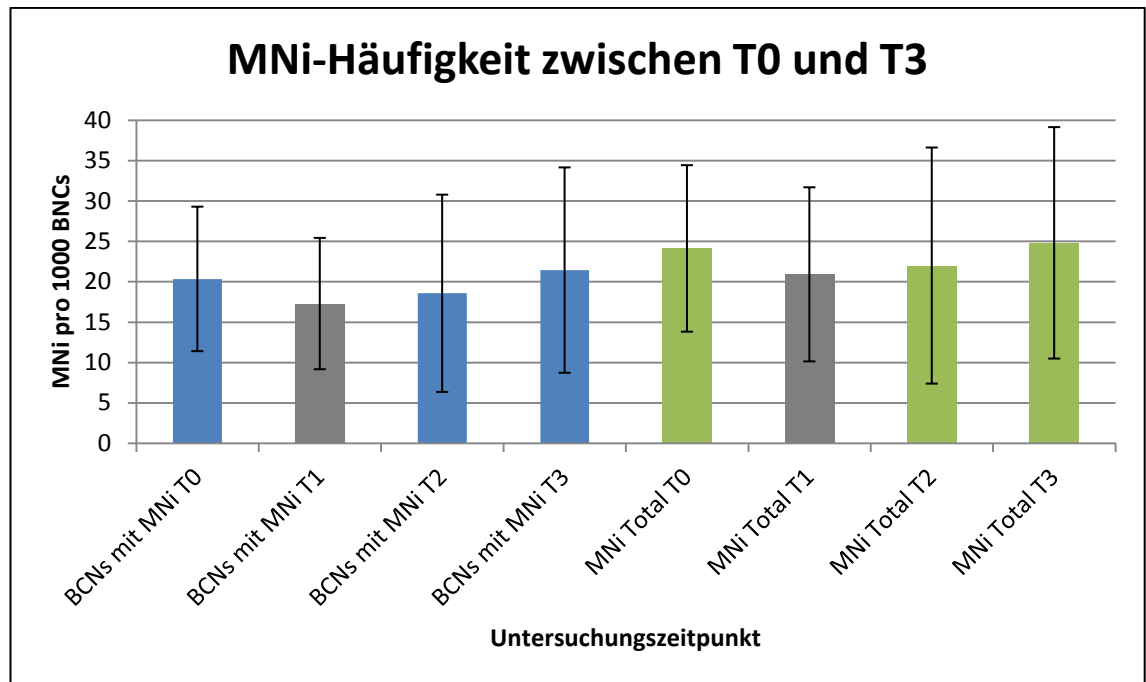


Abbildung 8: Vergleich von Mittelwerte der MN total und BNCs mit MN zu den Zeitpunkten T0 bis T3 innerhalb der Trainings- und Ernährungsgruppe

4.2.2 Nuclear Buds

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NBuds T0	29	3,35	2,62
NBuds T1	27	2,59	2,42
NBuds T2	22	2,98	2,35
NBuds T3	16	2,88	0,83

Tabelle 8: Gruppe Training und Ernährung: Anzahl der NBuds an den Zeitpunkten T0-T3

Die Anzahl der NBuds wurde zwischen T0 und T2 geringer. Desweiteren sinkt die Anzahl der NBuds nochmals von T2 auf T3 ($p=0,040$). Im Vergleich zu der Verringerung der Anzahl an NBuds von T2 auf T3 ist die Verringerung von T0 auf T2 ($p=0,602$) und von T0 auf T3 ($p=0,318$) nicht signifikant.

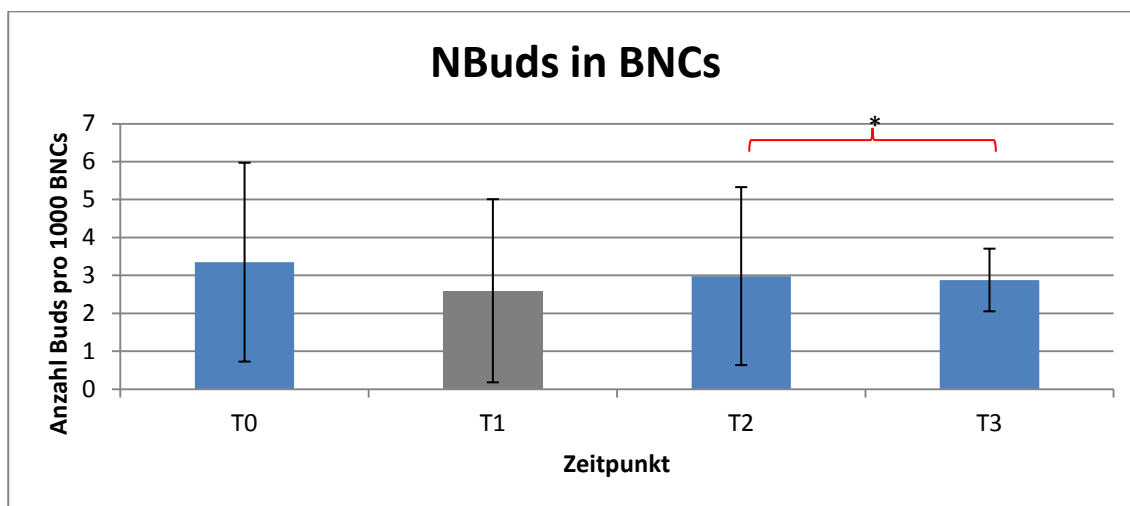


Abbildung 9: Anzahl der NBuds in BNCs in der Gruppe Training und Ernährung zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.2.3 Nucleoplasmic Bridges

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NPB T0	29	0,88	0,89
NPB T1	27	0,52	0,61
NPB T2	22	0,59	1,16
NPB T3	16	0,31	0,44

Tabelle 9: Gruppe Training und Ernährung: Anzahl der NPB an den Zeitpunkte T0-T3

Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen T0 und T2 ($p=0,151$) oder T2 und T3 ($p=0,564$). Dennoch ist die Verringerung der Anzahl der NPB vom Zeitpunkt T0 zu T3 ($p=0,024$) signifikant.

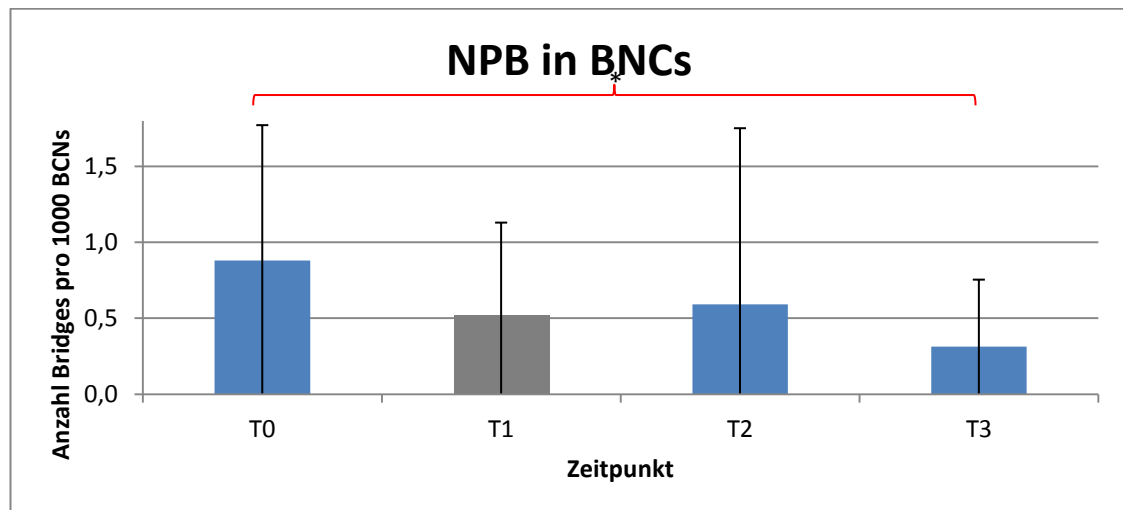


Abbildung 10: Gruppe Training und Ernährung: Anzahl der NPBs in BNCs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.2.4 Apoptosen

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptose T0	29	0,70	0,37
Apoptose T1	27	0,50	0,34
Apoptose T2	22	0,48	0,23
Apoptose T3	16	0,49	0,29

Tabelle 10: Gruppe Training und Ernährung: Häufigkeit der Apoptosen in % zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Verringerung der Apoptosenhäufigkeit vom Zeitpunkt T0 auf T2 ($p=0,003$) und T0 auf T3 ($p=0,026$) ist signifikant. Die Apoptosenhäufigkeit vom Zeitpunkt T2 auf T3 hat sich hingegen kaum verändert ($p=0,826$).

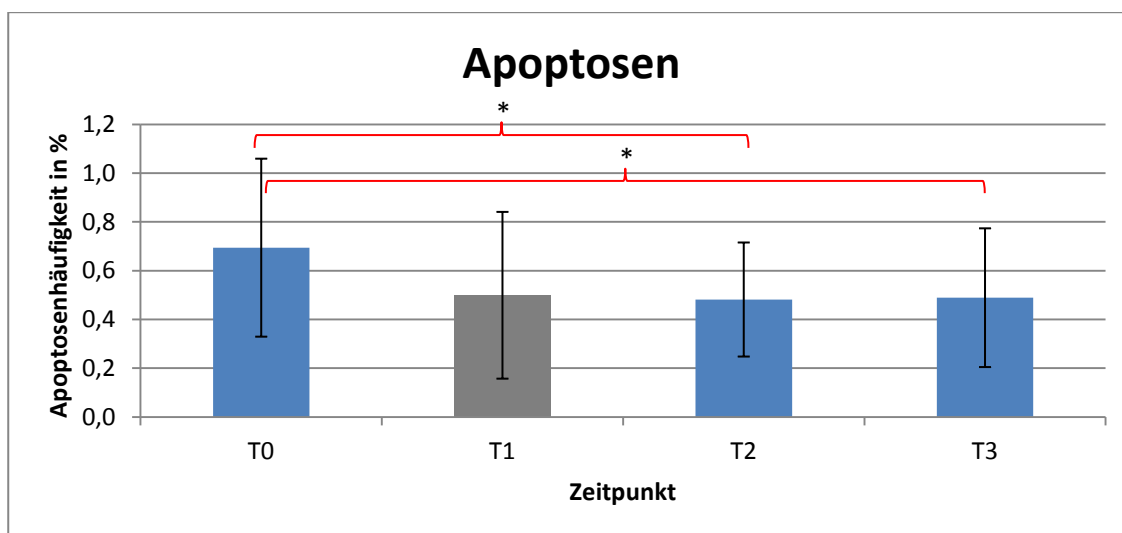


Abbildung 11: Gruppe Training und Ernährung: Vergleich der Apoptosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.2.5 Nekrosen

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nekrose T0	29	0,66	0,35
Nekrose T1	27	0,62	0,56
Nekrose T2	22	0,41	0,26
Nekrose T3	16	0,27	0,15

Tabelle 11: Gruppe Training und Ernährung: Nekrosenhäufigkeit in % zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Nekrosenhäufigkeit reduziert sich kontinuierlich von Zeitpunkt T0 bis zum Zeitpunkt T3.

Die Reduktion der Nekrosen ist signifikant zwischen den Zeitpunkten T0 und T2 ($p=0,001$), T0 und T3 ($p=0,001$) und zwischen den Zeitpunkten T2 und T3 ($p=0,006$).

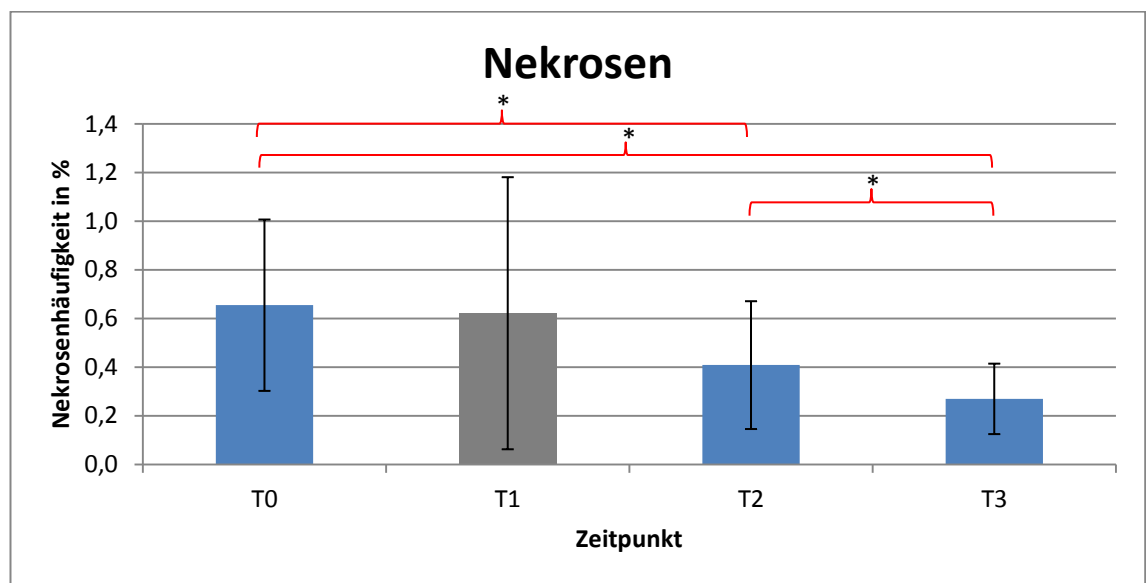


Abbildung 12: Gruppe Training und Ernährung: Vergleich Nekrosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.3 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 33 ProbandInnen, welche wie folgt in die Altersgruppen eingeteilt waren:

	Häufigkeit	Prozent
65-74 Jahre	3	9,1
75-84 Jahre	13	39,4
≥ 85 Jahre	17	51,5
Weiblich	4	12,1
Männlich	29	87,9
Gesamt	33	100

Tabelle 12: Häufigkeitstabelle der ProbandInnen der Gedächtnisgruppe zum Zeitpunkt T0

4.3.1 Mikrokerne

	N	Mittelwert	Standardabweichung
BCNs mit MN T0	32	21,53	9,17
BCNs mit MN T1	22	16,26	6,23
BCNs mit MN T2	22	18,56	9,55
BCNs mit MN T3	17	25,37	7,82
MN total T0	32	25,52	11,07
MN total T1	22	19,41	7,64
MN total T2	22	23,03	12,63
MN total T3	17	29,67	8,93

Tabelle 13: Gruppe Kontrollgruppe: Anzahl BNCs mit MN und Gesamtanzahl der MN zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Im Vergleich zeigt sich, dass sich die BNCs mit MN von T0 auf T2 nicht signifikant ($p=0,543$) verringert haben. Der Mittelwert der BNCs mit MN von T0 auf T3 ($p=0,034$) hat jedoch signifikant zugenommen (Beschreibung der Zeitpunkte siehe Kapitel 3.2.5 oder 4.2.1)

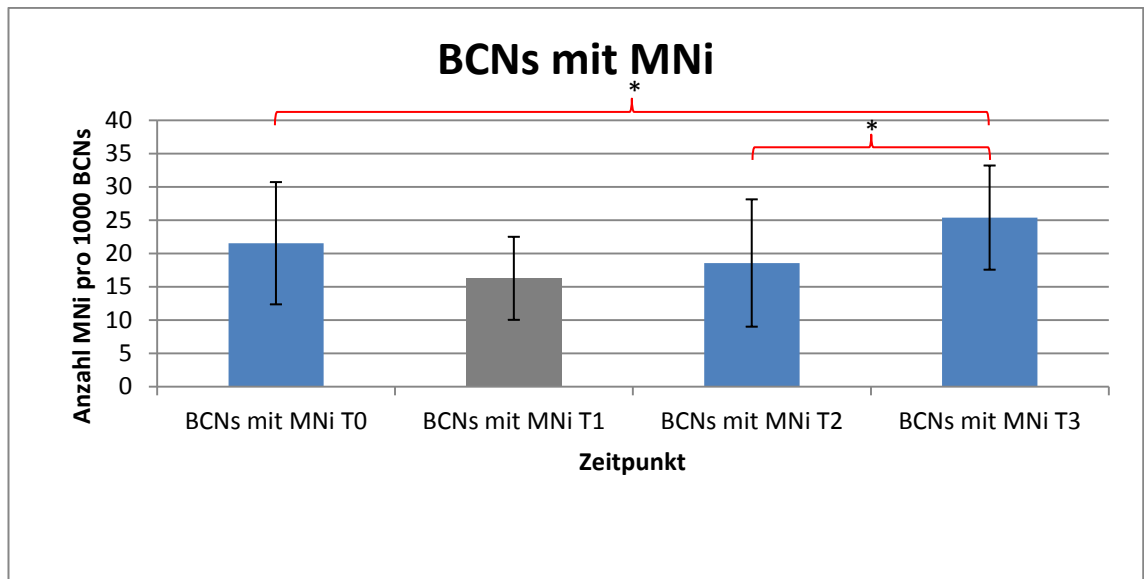


Abbildung 13: Kontrollgruppe: Vergleich der Mittelwerte der BNCs mit MN zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Mittelwerte der Gesamtanzahl der MN zeigen einen ähnlichen Verlauf wie die BNCs mit MN, jedoch zeigt sich nur ein signifikanter Unterschied zwischen den Zeitpunkten T2 zu T3 (Abb.16).

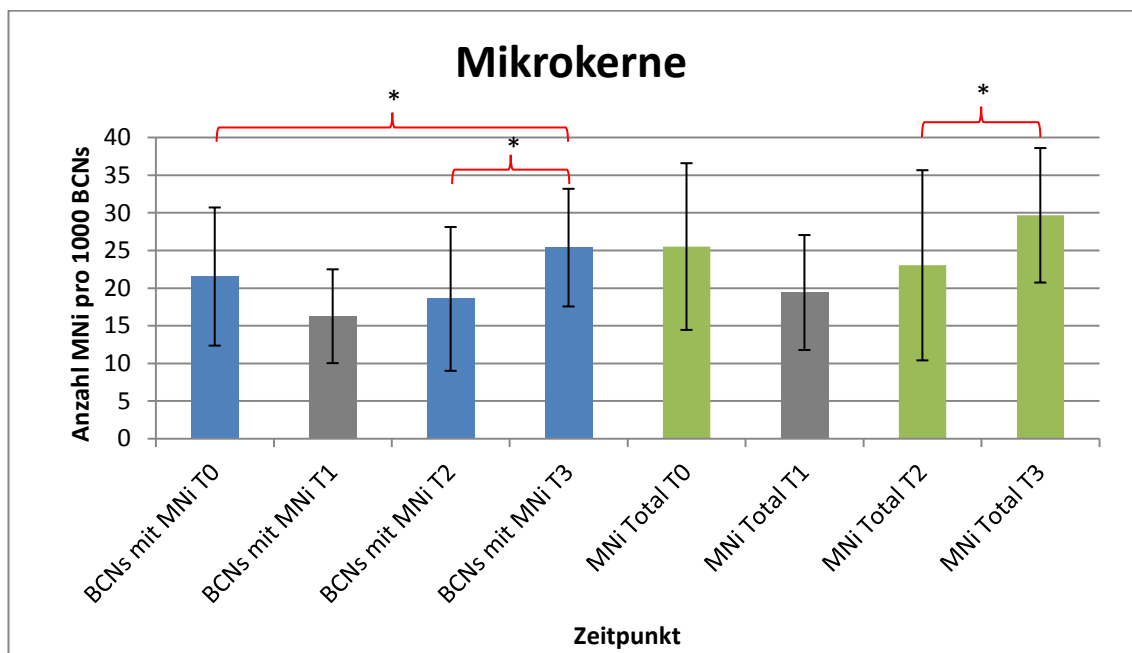


Abbildung 14: Kontrollgruppe: Vergleich der Mittelwerte von BNCs mit MN und Gesamtanzahl der MN zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.3.2 Nuclear Buds

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NBuds T0	32	4,30	4,63
NBuds T1	22	3,53	3,83
NBuds T2	22	3,03	3,08
NBuds T3	17	3,17	2,75

Tabelle 14: Kontrollgruppe: Anzahl der NBuds zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Das Diagramm zeigt eine kontinuierliche Verringerung der Mittelwerte der NBuds von T0 bis T3. Allerdings sind die Unterschiede nicht signifikant, weder für die Mittelwerte von T0 auf T2 ($p=0,455$) noch von T0 auf T3 ($p=0,334$) oder von T2 auf T3 ($p=0,073$).

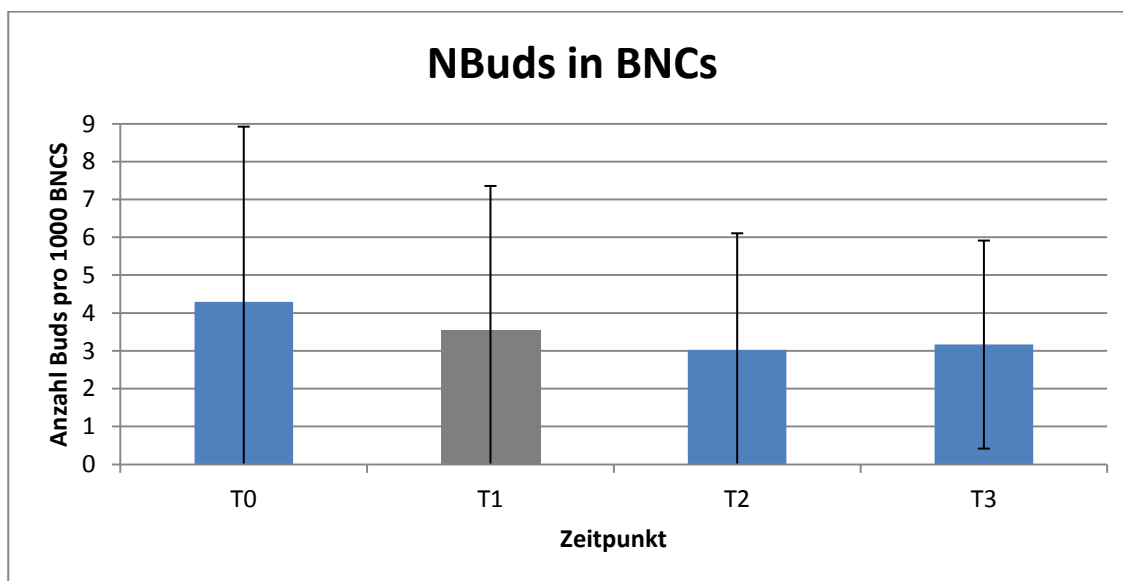


Abbildung 15: Kontrollgruppe: Vergleich der Mittelwerte von NBuds in BNCs zu den verschiedenen Zeitpunkten T0 bis T3

4.3.3 Nucleoplasmic Bridges

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NPB T0	32	1,25	1,05
NPB T1	22	0,57	0,63
NPB T2	22	0,64	0,85
NPB T3	17	0,35	0,46

Tabelle 15: Kontrollgruppe: Mittelwert der Anzahl der NPBs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Anzahl der Nucleoplasmic Bridges haben sich von Anfang der Untersuchung verringert. Signifikant ist der Unterschied zwischen T0 und T3 ($p=0,001$). Von T0 auf T2 ($p=0,058$) und von T2 auf T3 ($p=0,776$) kommt es zu einer Reduktion der NPBs. Jedoch sind die Unterschiede nicht signifikant.

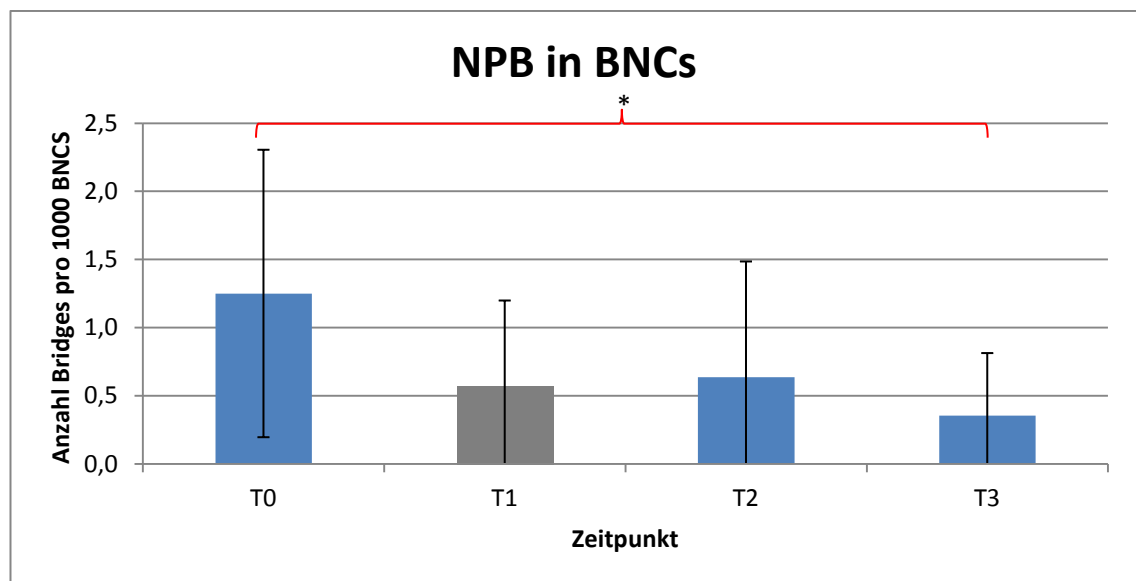


Abbildung 16: Kontrollgruppe, Vergleich von den Mittelwerten von NPBs in BNCs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.3.4 Apoptose

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptose T0	32	0,68	0,52
Apoptose T1	22	0,62	0,35
Apoptose T2	22	0,43	0,23
Apoptose T3	17	0,34	0,24

Tabelle 16: Kontrollgruppe: Häufigkeit der Apoptosen zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Mittelwerte der Apoptosenhäufigkeit reduzierten sich kontinuierlich, wobei der Unterschied zwischen T0 und T2 ($p=0,012$) und T0 und T3 ($p=0,002$) signifikant ist. Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Zeitpunkten T2 und T3 ($p=0,576$).

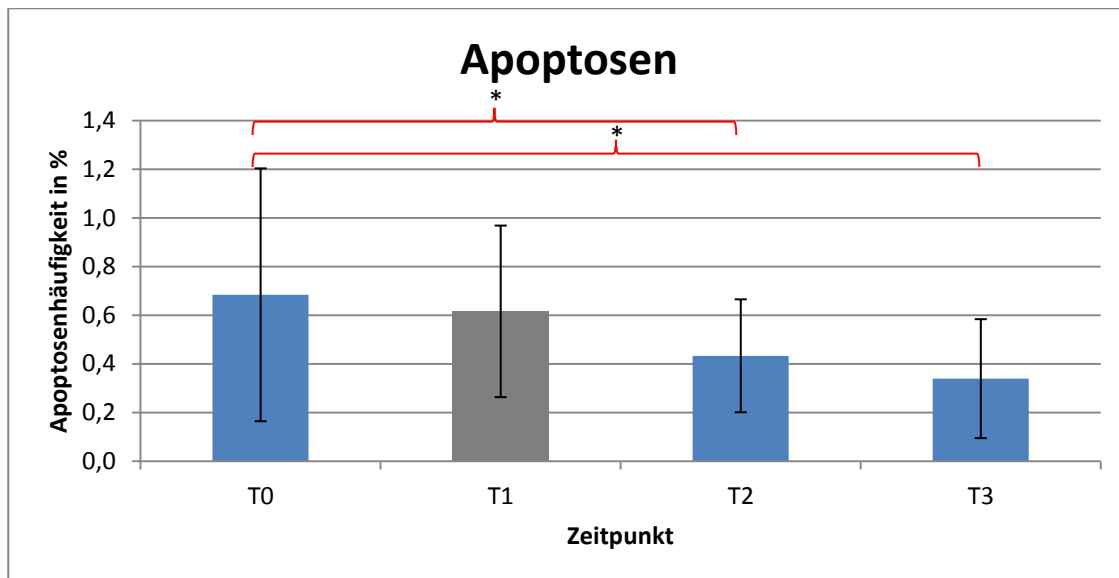


Abbildung 17: Kontrollgruppe: Vergleich der Apoptosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.3.5 Nekrosen

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nekrose T0	32	0,57	0,40
Nekrose T1	22	0,54	0,38
Nekrose T2	22	0,46	0,27
Nekrose T3	17	0,19	0,12

Tabelle 17: Kontrollgruppe: Mittelwert der Nekrosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Zusätzlich zur Apoptosenhäufigkeit, hat sich auch die Nekrosenhäufigkeit kontinuierlich reduziert. Es besteht zwischen T0 und T3 ($p=0,002$) als auch zwischen T2 und T3 ($p=0,023$) eine statistische Signifikanz, jedoch nicht zwischen T0 und T2 ($p=0,375$).

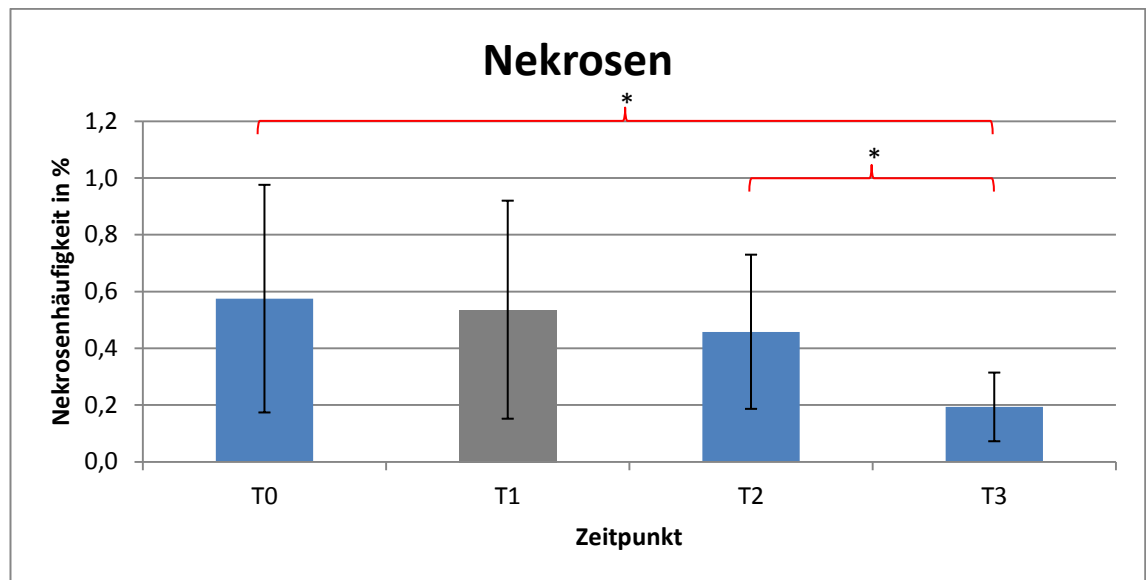


Abbildung 18: Kontrollgruppe: Nekrosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.4 Deskriptive Statistik (65-74 jährige ohne die Gedächtnisgruppe)

Folgende Statistik beinhaltet sowohl die Trainingsgruppe, als auch die Ernährungs- und Trainingsgruppe, aufgeteilt in die verschiedenen Altersgruppen. Ziel ist es herauszufinden, ob es signifikante Unterschiede hinsichtlich der Anzahl der Mutationen in den verschiedenen Altersgruppen gibt.

4.4.1 Mikrokerne

	N	Mittelwert	Standardabweichung
BCNs mit MN T0	8	25,25	10,95
BCNs mit MN T1	6	19,10	5,19
BCNs mit MN T2	7	17,40	7,28
BCNs mit MN T3	3	12,50	6,76
MN total T0	8	28,88	11,85
MN total T1	6	20,92	5,53
MN total T2	7	20,41	8,55
MN total T3	3	14,67	7,52

Tabelle 18: BCNs mit MN und Anzahl der MN in der Altersgruppe 65-74 Jährigen

Die Mittelwerte der BNCs mit MN und die Mittelwerte der MN total zeigen eine kontinuierliche Reduktion von Zeitpunkt T0 bis zu Zeitpunkt T3. Allerdings sind die Minimierungen zu keinem Zeitpunkt signifikant, was auf die doch sehr geringe Zellzahl in dieser Gruppe zurückzuführen ist. (Beschreibung der Zeitpunkte siehe Kapitel 3.2.5 oder 4.2.1)

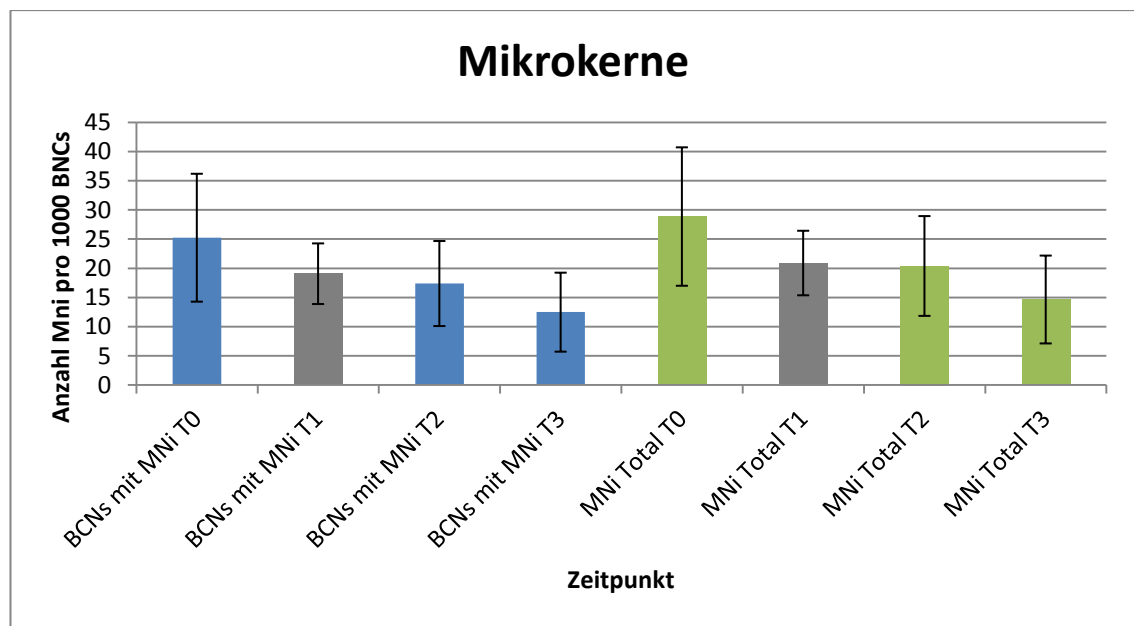


Abbildung 19: Altersgruppe 65-74; Vergleich der BNCs mit MN und MN-Gesamt zu den Zeitpunkten T0-T3

4.4.2 Nuclear Buds

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NBuds T0	8	2,75	1,83
NBuds T1	6	1,25	1,64
NBuds T2	7	4,11	5,66
NBuds T3	3	3,33	0,76

Tabelle 19: Altersgruppe 65-74, Mittelwerte der Anzahl der NBuds zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Der Abbildung 22 zufolge hat sich die Anzahl der NBuds zuerst verringert, bevor sie in T2 wieder angestiegen ist. Die Anzahl der Nuclear Buds hat sich dann von T2 auf T3 verringert. Es besteht zwischen den verschiedenen Zeitpunkten keine statistische Signifikanz.

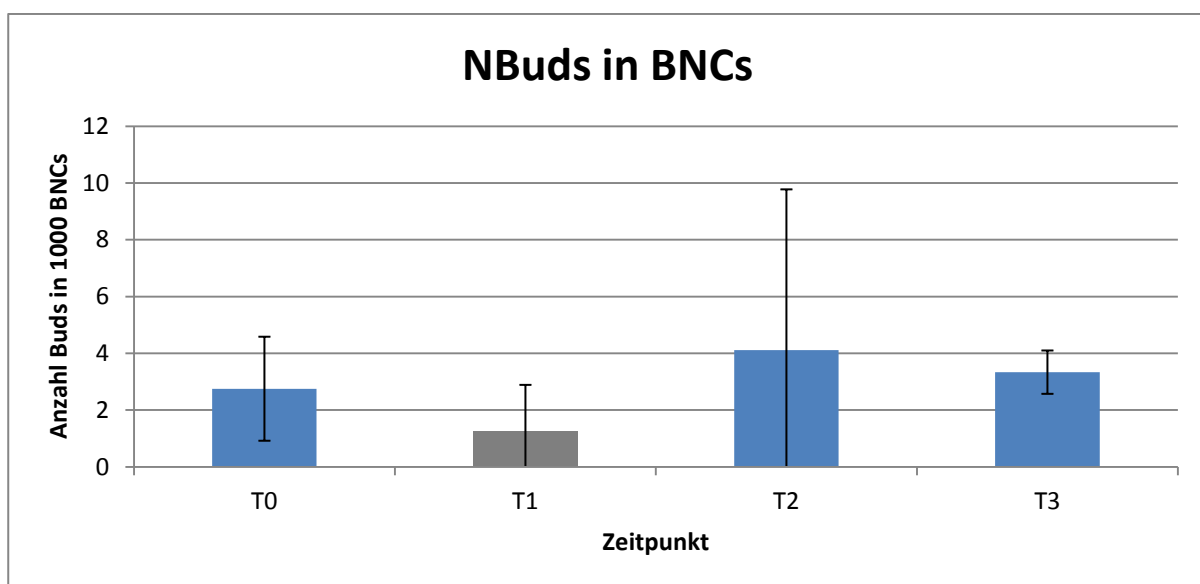


Abbildung 20: Altersgruppe 65-74, Vergleich der Mittelwerte der NBuds in BNCs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.4.3 Nucleoplasmic Bridges

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NPB T0	8	0,81	0,96
NPB T1	6	0,25	0,27
NPB T2	7	0,36	0,48
NPB T3	3	0,17	0,29

Tabelle 20: Altersgruppe 65-74, Mittelwerte der Anzahl der NPB zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Nucleoplasmic Bridges zeigen eine ähnliche Verhaltensweise auf, als die Nuclear Buds in Abbildung 23. Auch hier liegt keine Signifikanz vor.

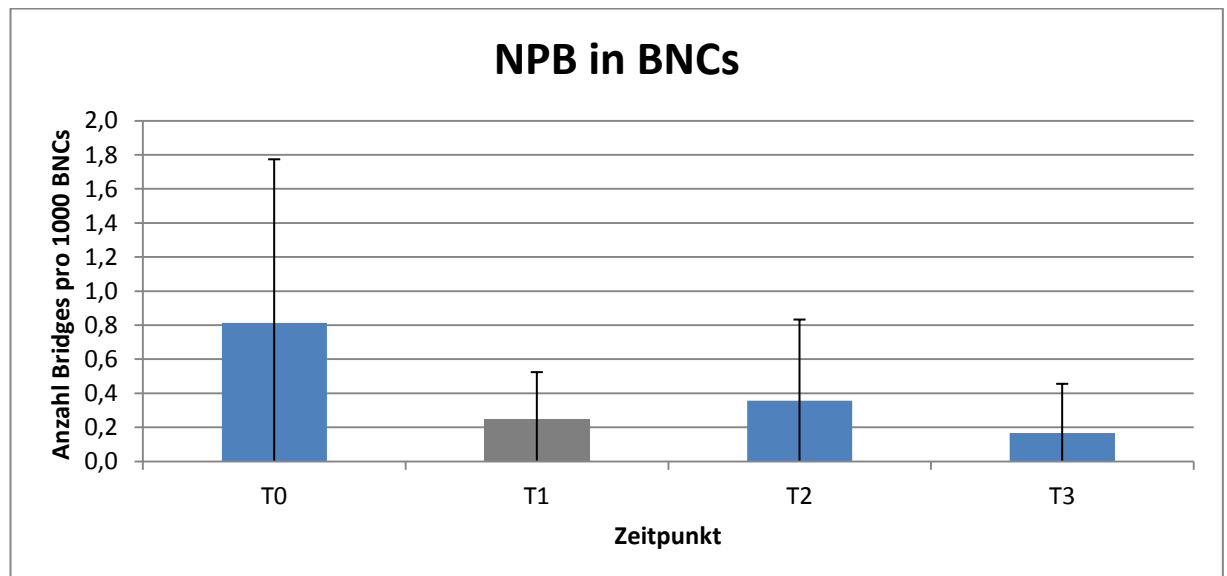


Abbildung 21: Altersgruppe 65-74, Vergleich der Mittelwerte der NPBs in BNCs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.4.4 Apoptosen und Nekrosen

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptose T0	8	0,57	0,11
Apoptose T1	6	0,41	0,24
Apoptose T2	7	0,49	0,14
Apoptose T3	3	0,39	0,17
Nekrose T0	8	0,76	0,52
Nekrose T1	6	0,77	0,86
Nekrose T2	7	0,31	0,22
Nekrose T3	3	0,29	0,10

Tabelle 21: Altersgruppe 65-74, Mittelwerte Apoptosen und Nekrosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Häufigkeit der Apoptosen und Nekrosen verringert sich von T0 auf T2 in der Altersgruppe 65-74. Die Werte der Nekrosenhäufigkeit sind bei T0 auf T2 signifikant ($p=0,018$). Die Häufigkeit der Nekrosen und Apoptosen nimmt von T2 auf T3 ab, wobei keiner dieser Werte eine statistische Signifikanz aufzeigt.

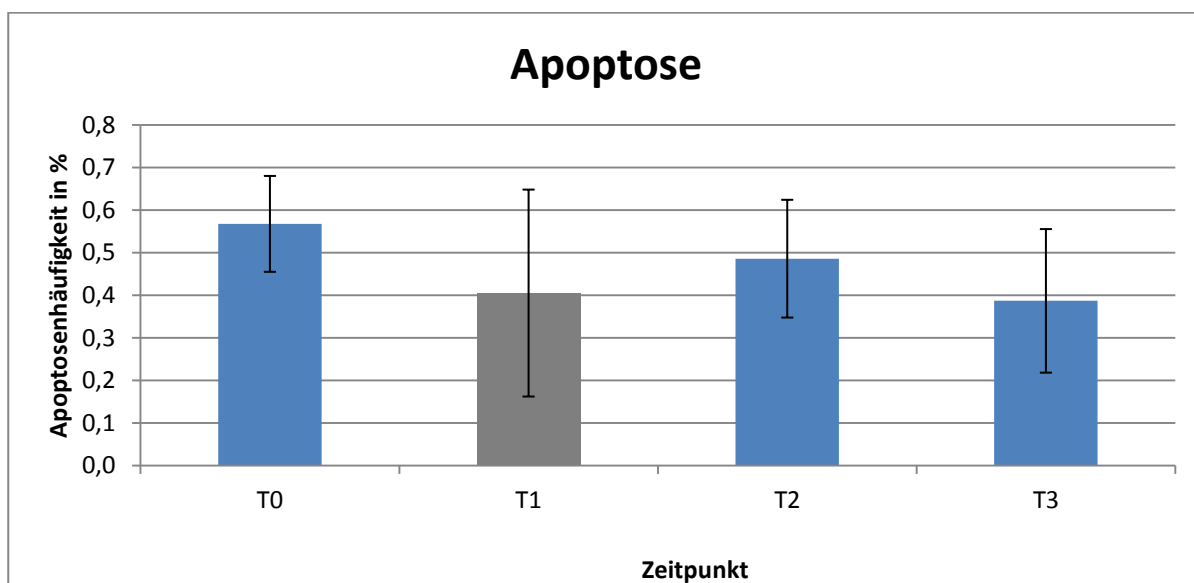


Abbildung 22: Altersgruppe 65-74, Vergleich der Apoptosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

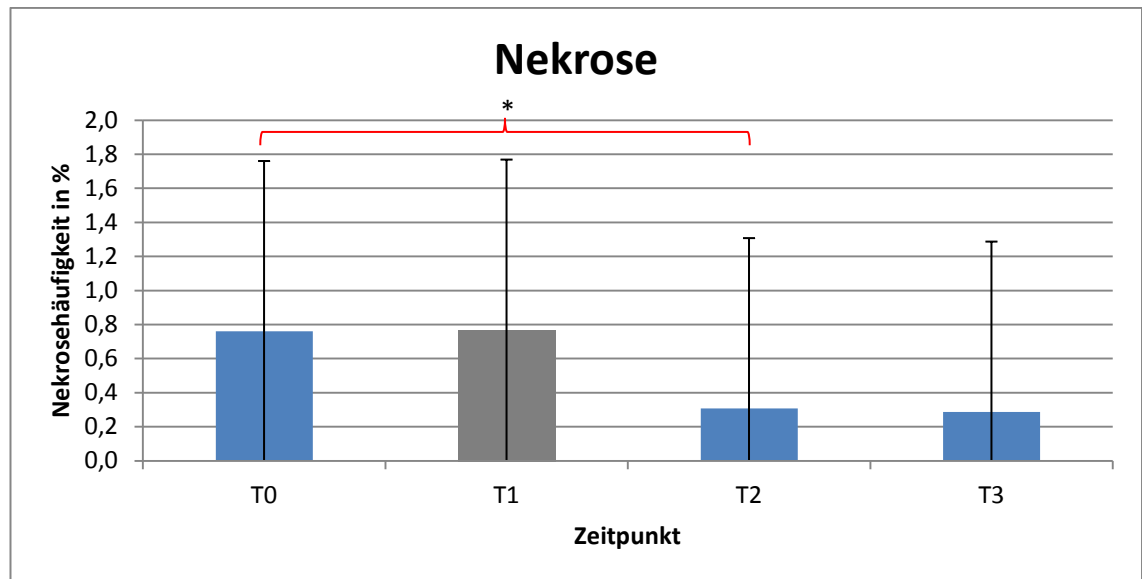


Abbildung 23: Altersgruppe 65-74, Vergleich der Nekrosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.5 Altersgruppe 75-84

Folgende Tabellen und Diagramme vergleichen die genotoxischen Parameter (Erklärung siehe Kapitel 2.4.1) des CBMN-Assay zu den verschiedenen Zeitpunkten T0 bis T3 innerhalb der Altersgruppe 75-84.

4.5.1 Mikrokerne

	N	Mittelwert	Standardabweichung
BCNs mit MN T0	26	22,86	12,41
BCNs mit MN T1	21	16,47	6,53
BCNs mit MN T2	21	16,79	8,86
BCNs mit MN T3	11	16,77	8,19
MN total T0	26	27,05	15,26
MN total T1	21	20,25	8,60
MN total T2	21	20,05	10,40
MN total T3	11	20,86	9,49

Tabelle 22: BCNs mit MN und Anzahl der MN in der Altersgruppe 75-84 Jährigen

Sowohl die Mittelwerte der MN in BNCs als auch die Mittelwerte der Gesamtanzahl an MN zeigen in Abbildung 26 eine kontinuierliche Reduktion von T0 bis hin zum Zeitpunkt T3. Statistische Signifikanz ist nur bei den Werten vom Zeitpunkt T2 auf T3 gegeben (BCNs mit MN T2→T3: $p=0,15$ und MN total: $p=0,15$) (Beschreibung der Zeitpunkte siehe Kapitel 3.2.5 oder 4.2.1).

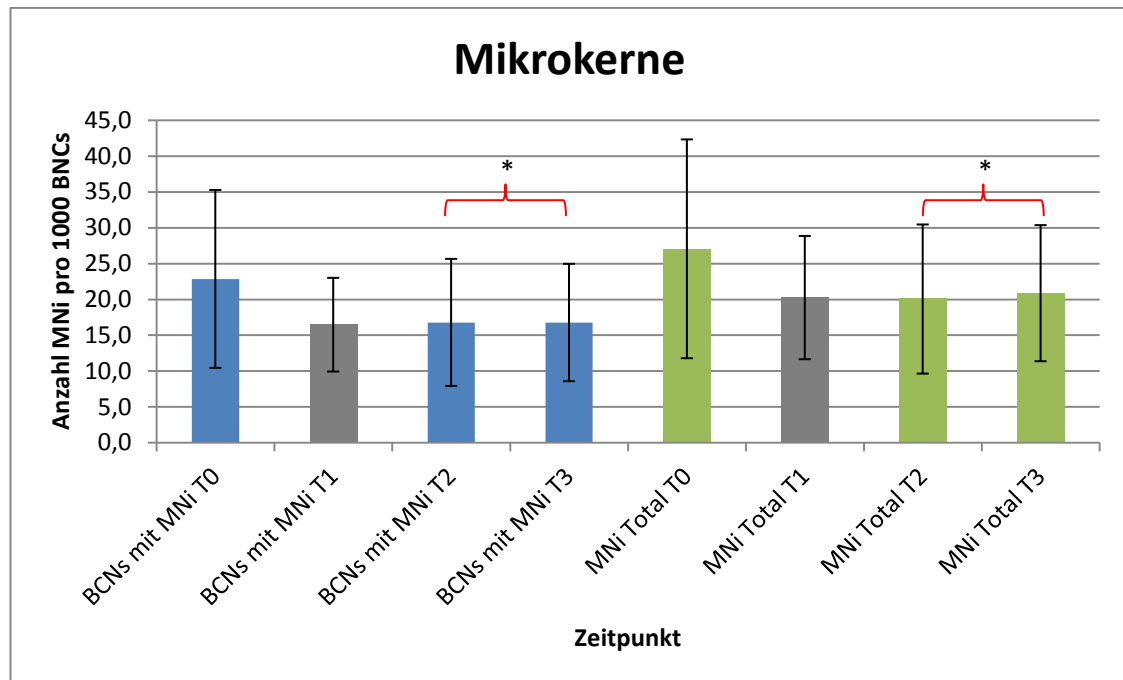


Abbildung 24: Altersgruppe 75-84, Vergleich der BNCs mit MN und MN Gesamt zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.5.2 Nuclear Buds

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NBuds T0	26	3,58	2,35
NBuds T1	22	2,89	2,37
NBuds T2	21	2,91	2,53
NBuds T3	12	2,79	0,86

Tabelle 23: Altersgruppe 75-84, Mittelwerte der Anzahl der NBuds zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Dem Diagramm zufolge scheinen die Mittelwerte der NBuds vom T0 auf T3 geringer geworden zu sein. Allerdings gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen T0 und T2 ($p=0,643$), T0 und T3 ($p=0,135$) und zwischen T2 und T3 ($p=0,150$).

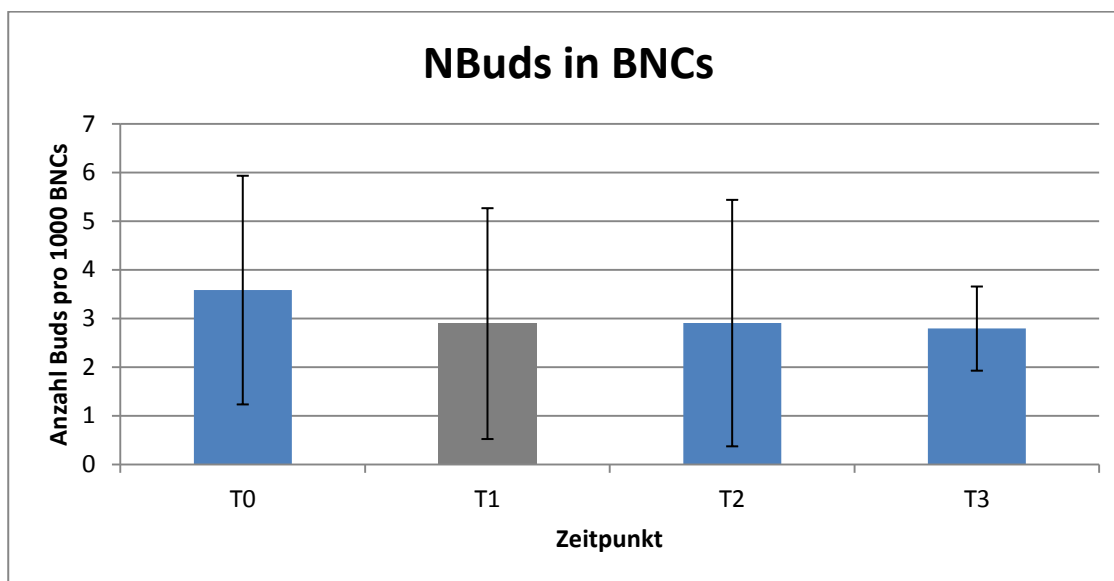


Abbildung 25: Altersgruppe 75-84, Vergleich der Mittelwerte der NBuds in BNCs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.5.3 Nucleoplasmic Bridges

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NPB T0	26	1,08	0,88
NPB T1	22	0,45	0,63
NPB T2	21	0,33	0,60
NPB T3	12	0,29	0,40

Tabelle 24: Altersgruppe 75-84, Mittelwerte der Anzahl der NPBs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Auch bei den NPBs kommt es zu einer stetigen Abnahme der Mittelwerte, wobei die Werte zu den Zeitpunkten T0 und T2 ($p=0,009$) und T0 und T3 ($p=0,044$) statistisch signifikant sind.

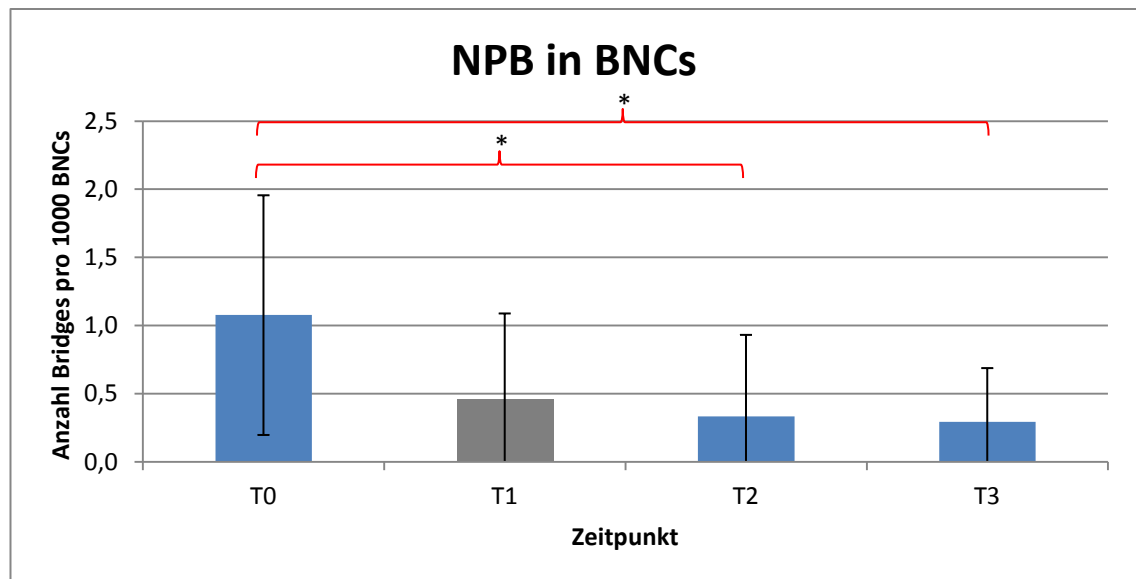


Abbildung 26: Altersgruppe 75-84, Vergleich der NPBs Mittelwerte zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.5.4 Apoptosen und Nekrosen

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Nekrose T0	26	0,67	0,38
Nekrose T1	22	0,66	0,44
Nekrose T2	21	0,46	0,32
Nekrose T3	12	0,22	0,08
Apoptose T0	26	0,82	0,49
Apoptose T1	22	0,59	0,34
Apoptose T2	21	0,55	0,38
Apoptose T3	12	0,37	0,27

Tabelle 25: Altersgruppe 75-84, Mittelwert der Häufigkeiten der Nekrosen und Apoptosen zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Nekrosen- und Apoptosenhäufigkeit hat vom Zeitpunkt T0 bis T3 (Apoptose $p=0,005$; Nekrose $p=0,002$) signifikant abgenommen. Die Unterschiede zwischen T0 und T2 sowie zwischen T2 und T3 sind sowohl bei der Nekrosenhäufigkeit als auch bei der Apoptosenhäufigkeit signifikant.

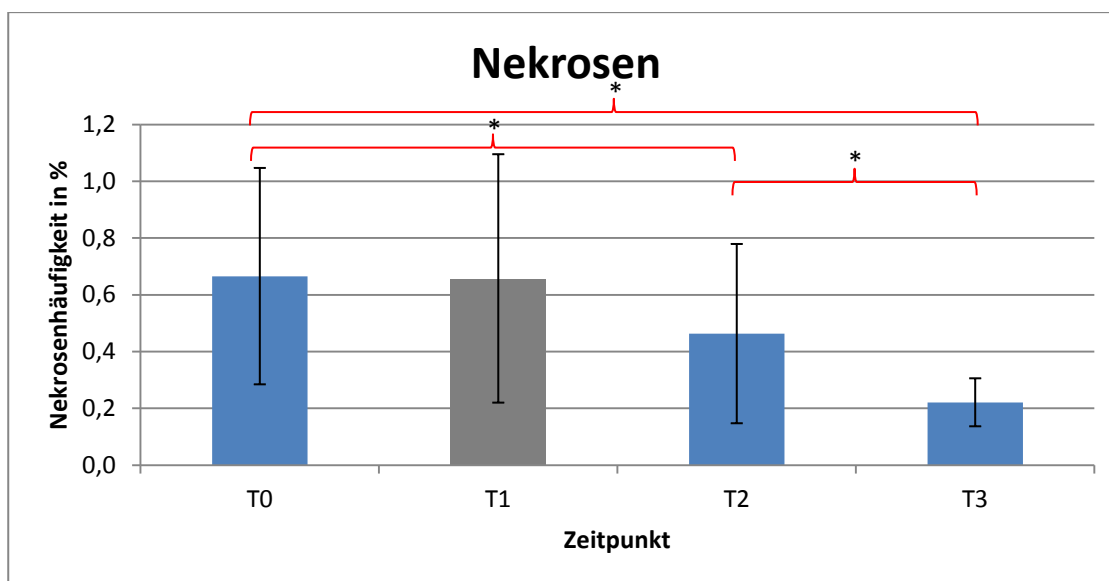


Abbildung 27: Altersgruppe 75-84, Vergleich der Mittelwerte der Nekrosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

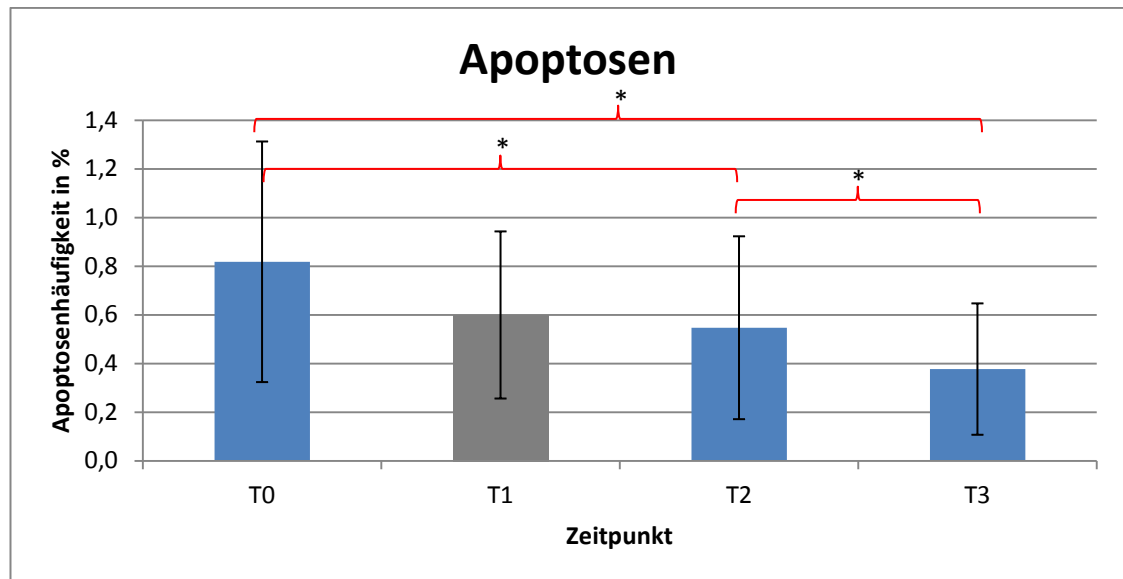


Abbildung 28: Altersgruppe 75-84, Vergleich der Mittelwerte der Apoptosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.6 Altersgruppe ≥ 85

Diese Altersgruppe beinhaltet die meisten rekrutierten SeniorInnen. Auch hier sind sowohl die Trainings- und Ernährungsgruppe als auch die Trainingsgruppe mit eingeschlossen. Die Gedächtnisgruppe ist hier nicht berücksichtigt.

4.6.1 Mikrokerne

	N	Mittelwert	Standardabweichung
BCNs mit MN T0	29	21,08	9,83
BCNs mit MN T1	21	16,68	8,07
BCNs mit MN T2	20	21,83	13,89
BCNs mit MN T3	12	22,02	12,82
MN total T0	29	24,00	12,08
MN total T1	21	20,33	10,99
MN total T2	20	26,38	17,83
MN total T3	13	26,90	15,91

Tabelle 26: BCNs mit MN und Anzahl der MN in der Altersgruppe ≥ 85 J

Die Anzahl der MN hat sich in der Altersgruppe 85 plus tendenziell gesteigert. Die Werte weisen dennoch keine statistische Signifikanz auf (Beschreibung der Zeitpunkte siehe Kapitel 3.2.5 oder 4.2.1).

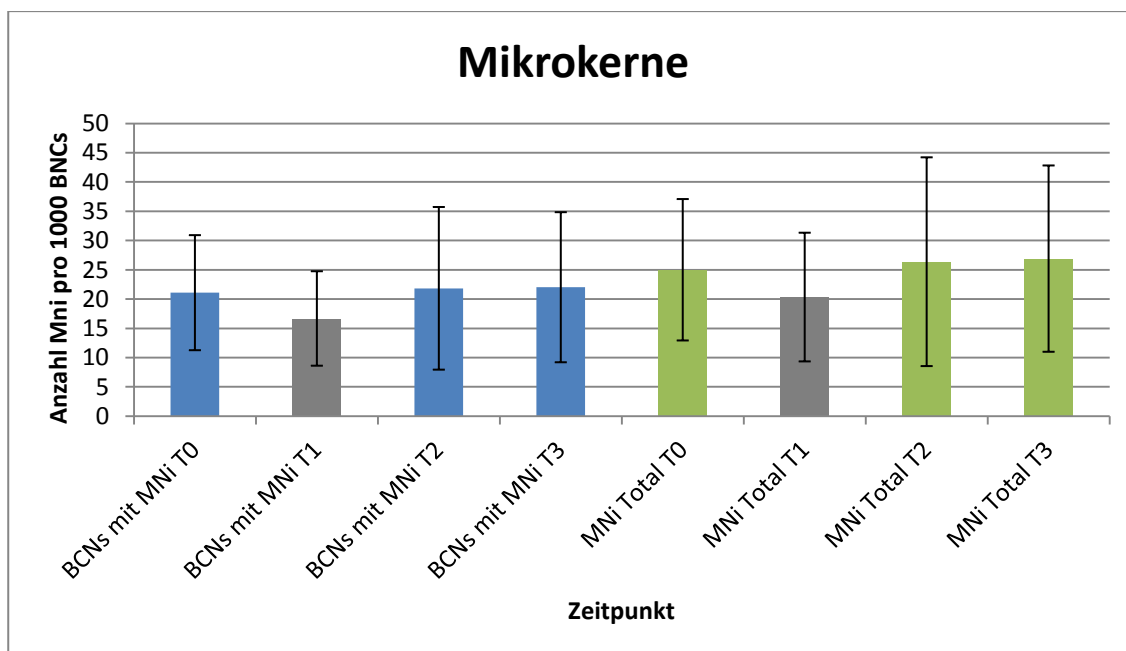


Abbildung 29: Altersgruppe 75-84, Vergleich der BCNs mit MN und MN Gesamt zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.6.2 Nuclear Buds

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NBuds T0	30	3,55	3,13
NBuds T1	22	3,33	2,43
NBuds T2	20	3,89	3,12
NBuds T3	13	2,59	0,79

Tabelle 27: Mittelwerte der NBuds Anzahl der Altersgruppe ≥ 85 J. zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Der Unterschied der Mittelwerte der NBuds von T0 auf T3 ist signifikant ($p=0,034$).

In Abbildung 32 ist zu erkennen, dass es zuerst zu einer Abnahme der Anzahl an NBuds kommt, bevor die Anzahl dann zum Untersuchungszeitpunkt T2 wieder steigt. Nach T2 kommt es zu einer nicht signifikanten Reduktion der NBuds.

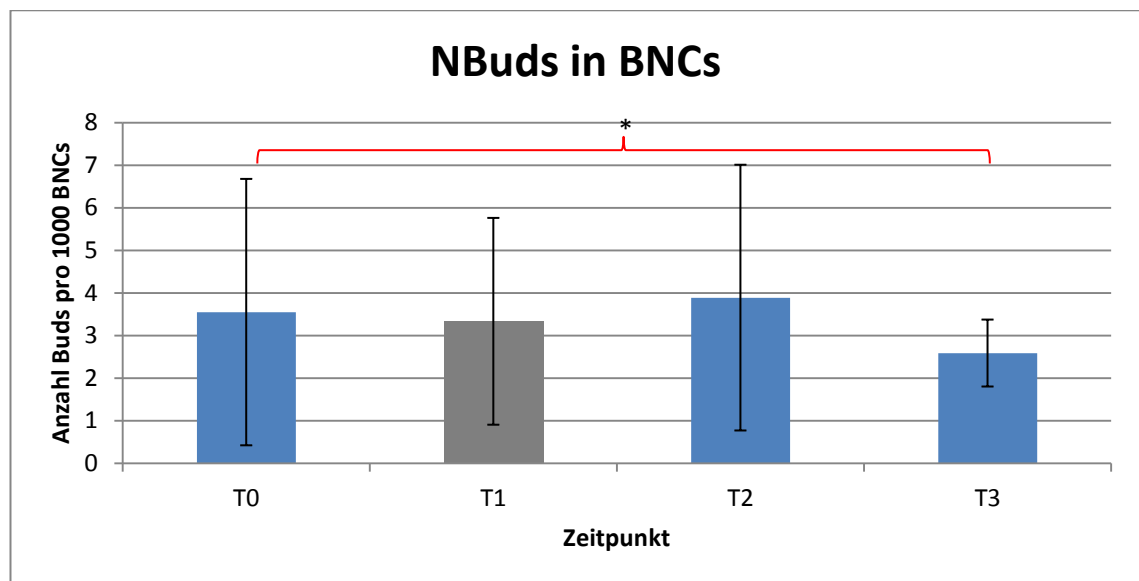


Abbildung 30: Altersgruppe ≥ 85 , Vergleich der Mittelwerte der Anzahl der NBuds in BNCs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.6.3 Nucleoplasmic Bridges

	N	Mittelwert	Standardabweichung
NPB T0	30	1,02	1,19
NPB T1	22	0,67	0,73
NPB T2	20	0,83	1,10
NPB T3	13	0,23	0,39

Tabelle 28: Mittelwerte der NPBs Anzahl der Altersgruppe ≥ 85 J zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Anzahl der Nucleoplasmic Bridges hat sich von den Zeitpunkten T0 bis zum Zeitpunkt T3 ($p=0,003$) signifikant reduziert.

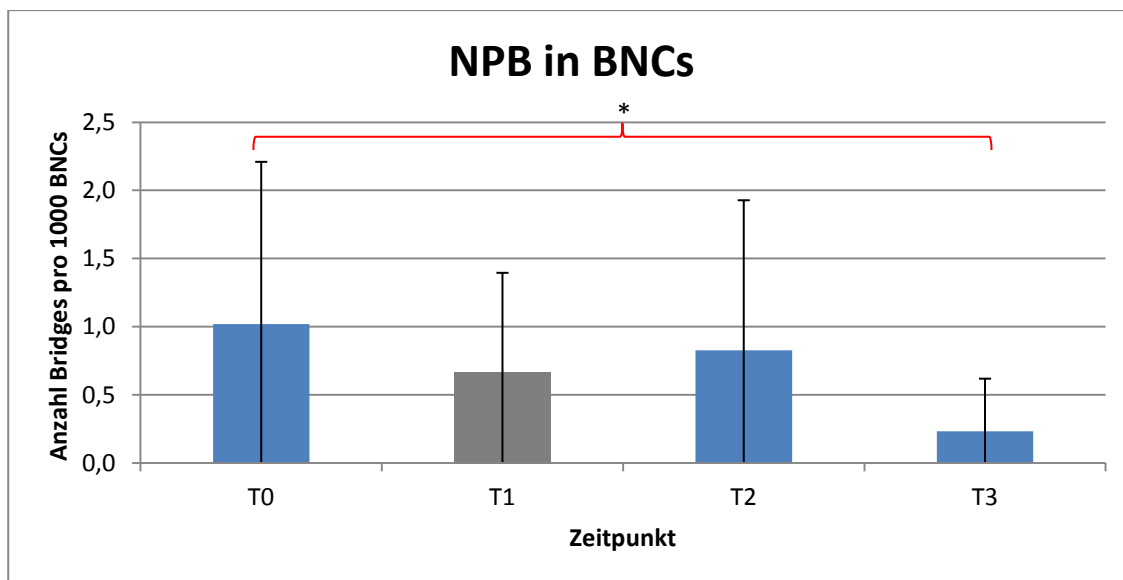


Abbildung 31: Altersgruppe ≥ 85 , Vergleich der Mittelwerte der NPBs Anzahl in BNCs zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.6.4 Apoptosen und Nekrosen

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Apoptose T0	30	0,78	0,63
Apoptose T1	22	0,50	0,30
Apoptose T2	20	0,45	0,20
Apoptose T3	13	0,46	0,25
Nekrose T0	30	0,71	0,44
Nekrose T1	22	0,47	0,37
Nekrose T2	20	0,44	0,18
Nekrose T3	13	0,31	0,17

Tabelle 29: Mittelwerte der Nekrosen und Apoptosenhäufigkeit der Altersgruppe ≥ 85 zu den Zeitpunkten T0 bis T3

Die Apoptosen- und Nekrosenhäufigkeit zeigen eine tendenzielle Abnahme vom Zeitpunkt T0 bis zum Zeitpunkt T3. Der Unterschied der Mittelwerte der Apoptosenhäufigkeit von den Zeitpunkten T0 zu T2 ist signifikant ($p=0,035$). Die Nekrosenhäufigkeit von den Zeitpunkten T0 auf T2 ($p=0,005$), von T0 auf T3 ($p=0,003$) und von T2 auf T3 ($p=0,005$) haben sich signifikant reduziert.

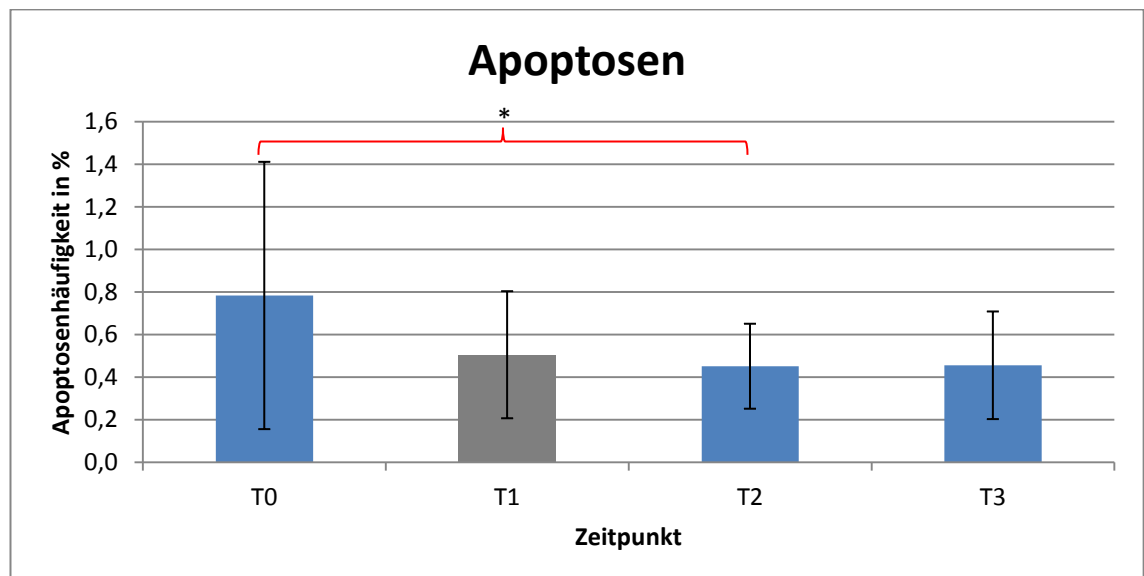


Abbildung 32: Altersgruppe ≥ 85 , Vergleich der Mittelwerte der Apoptosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

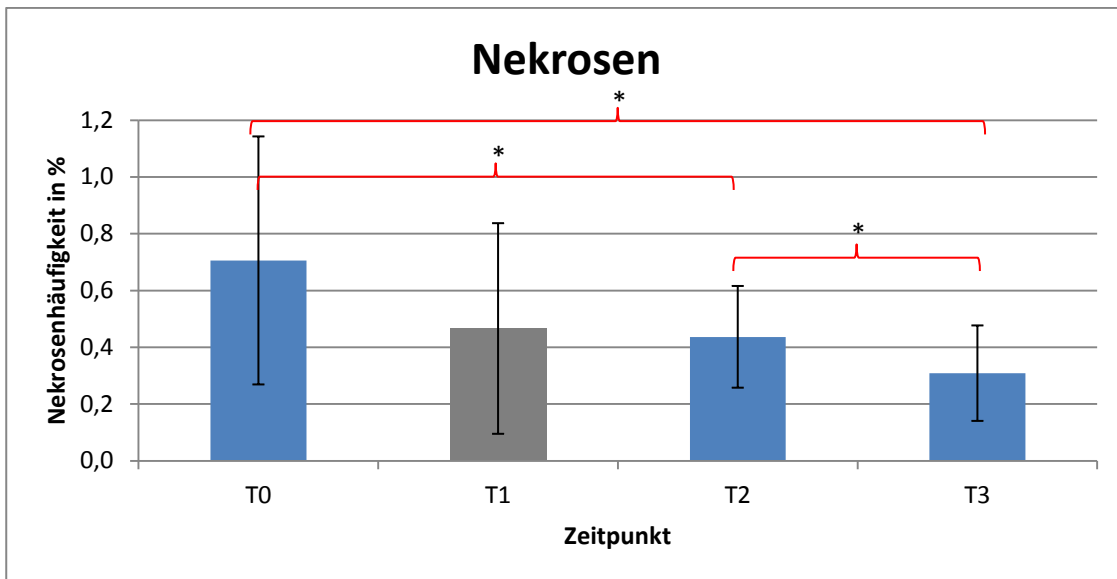


Abbildung 33: Altersgruppe ≥ 85 , Vergleich der Mittelwerte der Nekrosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3

4.7 Vergleich von Training und Ernährung mit der Kontrollgruppe:

Im folgenden Kapitel wurden die verschiedenen genotoxischen Parameter zu den verschiedenen Zeitpunkten zwischen der Kontrollgruppe (KG) und der Trainings- und Ernährungsgruppe (TE) untersucht.

4.7.1 Mikrokerne

Vergleicht man die Anzahl der Mikrokerne in den BNCs in der Kontrollgruppe und in der Trainingsgruppe zu den verschiedenen Zeitpunkten kann man einen ähnlichen Verlauf der MN-Anzahl in den 2 Gruppen erkennen. Obwohl ein Unterschied zwischen den verschiedenen Zeitpunkten in den 2 Gruppen ersichtlich ist gibt es keinen signifikanten Unterschied (Beschreibung der Zeitpunkte siehe Kapitel 3.2.5 oder 4.2.1).

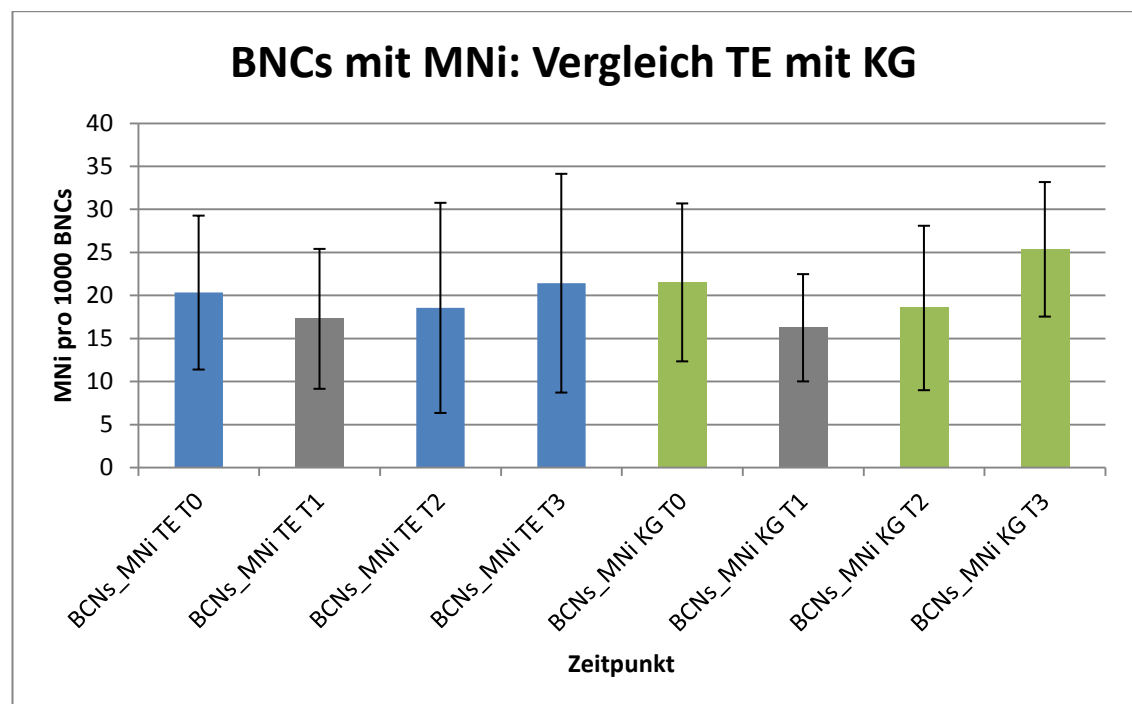


Abbildung 34: Vergleich der Training- und Ernährungsgruppe (TE) mit der Kontrollgruppe (KG) im Hinblick auf die Mittelwerte der Anzahl der BNCs mit MN zu den Zeitpunkten T0 bis T3.

In der Abbildung 37 ist ersichtlich dass der Verlauf der gesamten MN-Anzahl in beiden Gruppen (TE und KG) ähnlich ist. Auch hier ist der Unterschied der MN-Anzahl zwischen den 2 Gruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten nicht signifikant.

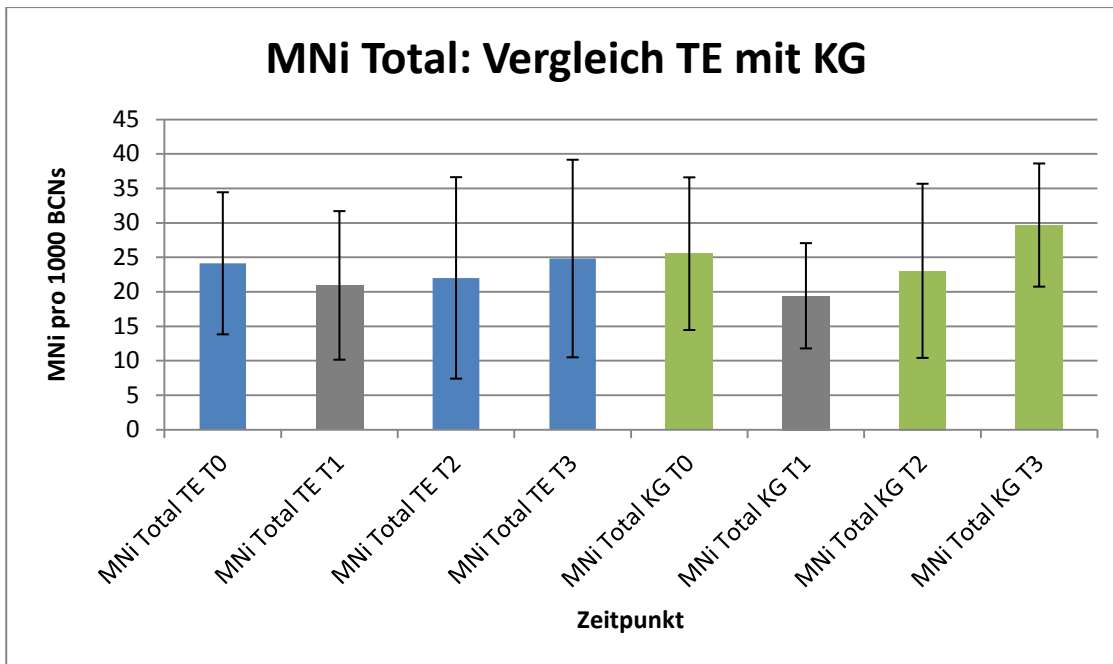


Abbildung 35: Vergleich der Training- und Ernährungsgruppe (TE) mit der Kontrollgruppe (KG) im Hinblick auf die Mittelwerte der Gesamtanzahl der MN zu den Zeitpunkten T0 bis T3.

4.7.2 Nucleoplasmic Bridges und Nuclear Buds

Der Verlauf der Häufigkeit der NPBs ist in beiden Gruppen ähnlich. Es ist ersichtlich dass zu Beginn der Studie die NPB Häufigkeit bei der Kontrollgruppe etwas höher ist ($1,25 \pm 1,05$) als bei der TE Gruppe ($0,88 \pm 0,89$). Dennoch gibt es zwischen den 2 Gruppen zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied in der NPB Häufigkeit.

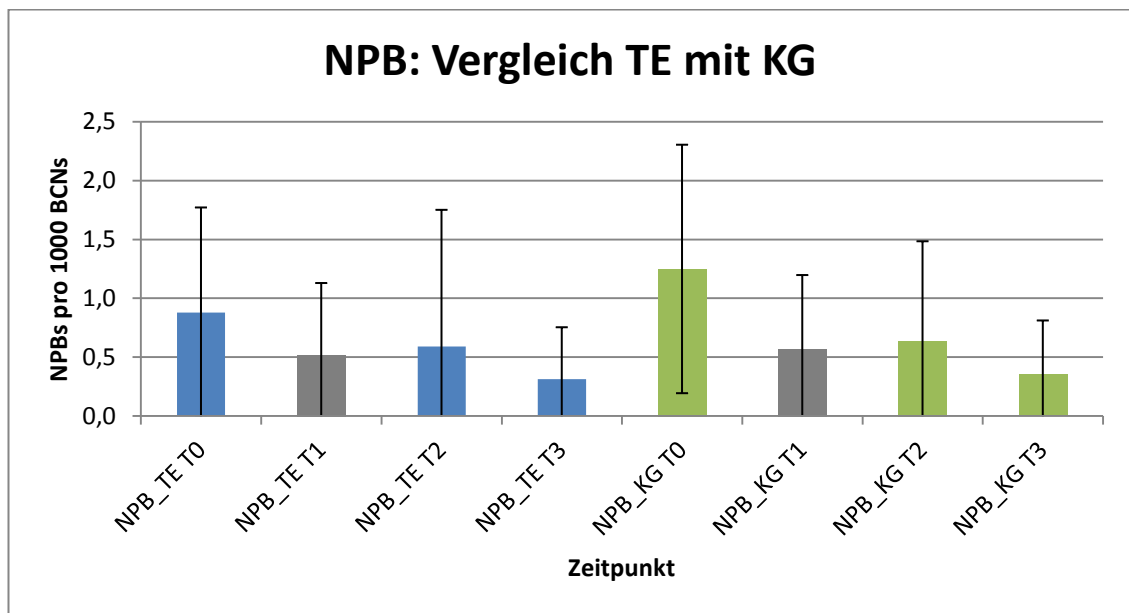


Abbildung 36: Vergleich der TE mit KG im Hinblick auf die Mittelwerte der NPBs Anzahl zu den Zeitpunkten T0 bis T3.

Der Verlauf der der Häufigkeit der NBuds vom Zeitpunkt T0 bis zum Zeitpunkt T3 ist in beiden Gruppen ungefähr gleich. Es ist zu erkennen dass der Anfangs- und der Endwert der KG höher ist als im Vergleich zur TE Gruppe. Es gibt jedoch keinen statistischen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Gruppen.

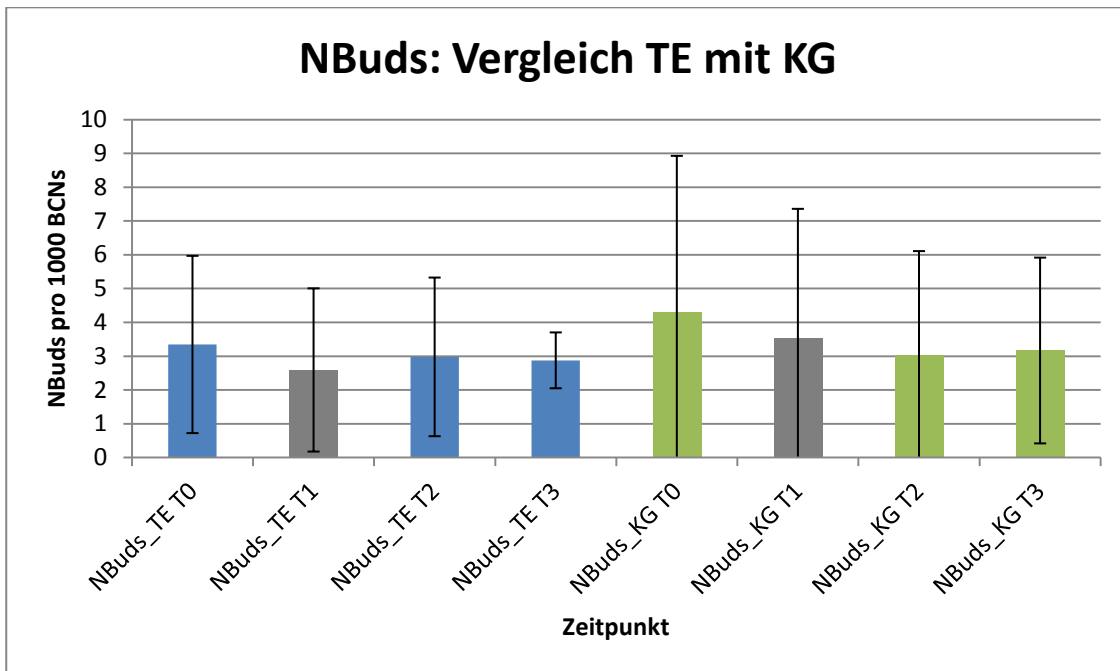


Abbildung 37: Vergleich der TE mit KG im Hinblick auf die Mittelwerte der NBuds Anzahl zu den Zeitpunkten T0 bis T3.

4.7.3 Apoptosen und Nekrosen

Auch hier ist der Verlauf der Apoptosenhäufigkeit in beiden Gruppen ähnlich. Die Apoptosenhäufigkeit bei KG($0,34\% \pm 0,24$) ist zu dem Zeitpunkt T3 deutlich aber nicht signifikant niedriger als in der TE($0,49\% \pm 0,28\%$) Gruppe. Obwohl die Unterschiede in dem Diagramm sichtbar sind, gibt es keinen signifikanten Unterschied in der Apoptosenhäufigkeit zu den verschiedenen Zeitpunkten in den 2 Gruppen.

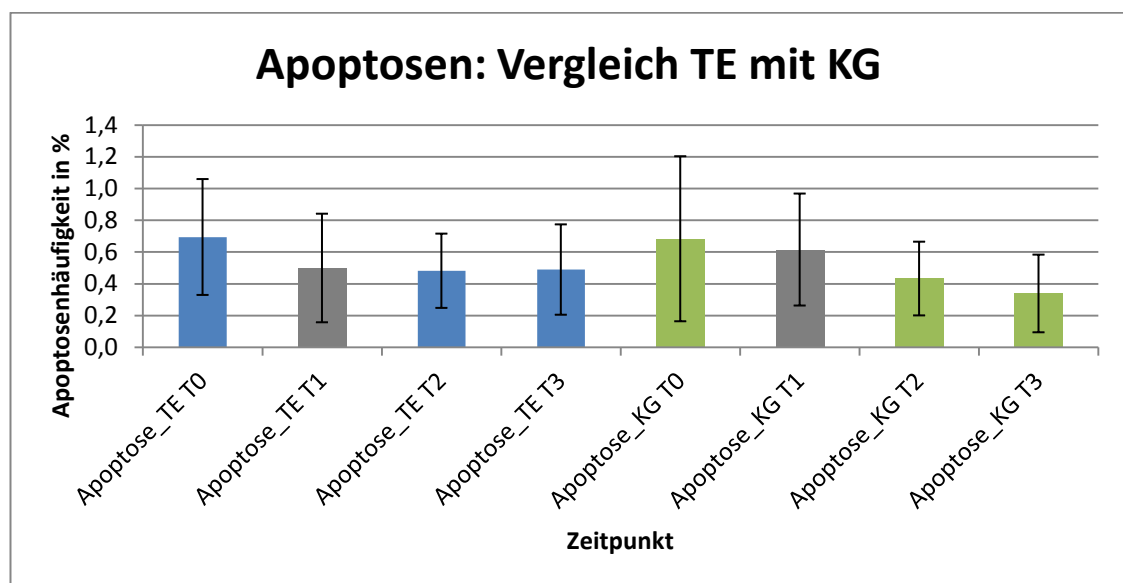


Abbildung 38: Vergleich der TE mit KG im Hinblick auf die Mittelwerte der Apoptosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3.

Die Nekrosenhäufigkeit unterscheidet sich zu keinem Zeitpunkt in den beiden Gruppen signifikant voneinander.

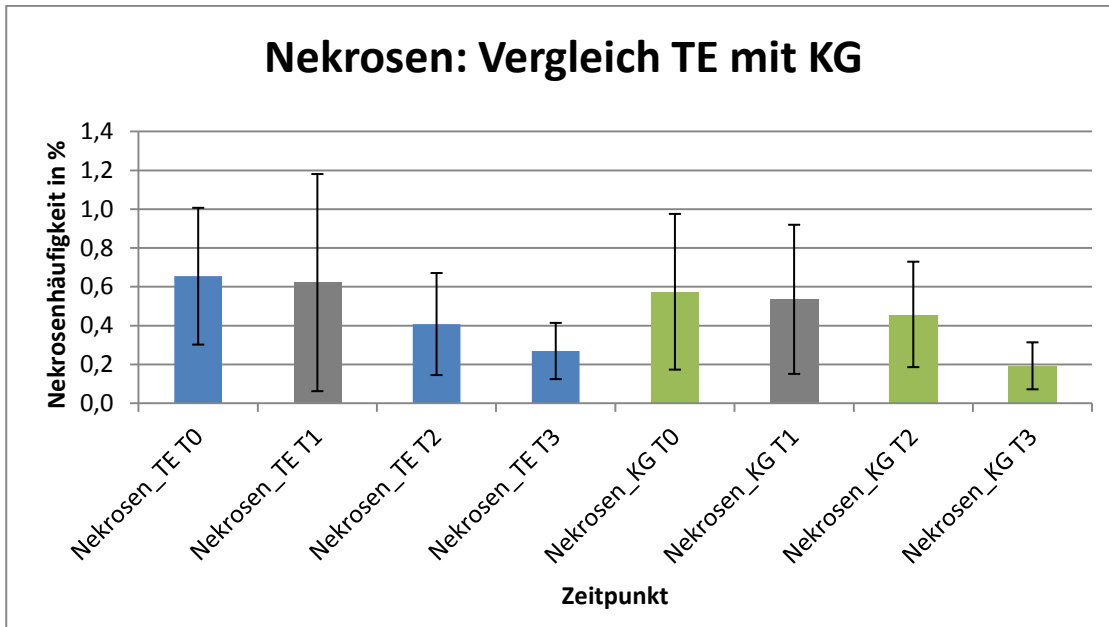


Abbildung 39: Vergleich der TE mit KG im Hinblick auf die Mittelwerte der Nekrosenhäufigkeit zu den Zeitpunkten T0 bis T3.

4.8. Korrelation nach Pearson

Die getestete Korrelation zwischen den genotoxischen Parameter, dem Alter und dem Geschlecht hat kaum einen Zusammenhang hervorgebracht. Es wurde ein Zusammenhang zwischen Apoptosenhäufigkeit zum Zeitpunkt T3 und Alter festgestellt. Des Weiteren wurde auch ein Zusammenhang zwischen der Nekrosenhäufigkeit zum Zeitpunkt T3 und dem Alter. Beide sowohl die Apoptosenhäufigkeit (Korrelationskoeffizient=0,684) als auch die Nekrosenhäufigkeit (Korrelationskoeffizient=0,752) korrelieren positive mit dem Alter. Es wurde jedoch auf eine Abbildung der Korrelation zwischen Alter und Apoptosen- und Nekrosenhäufigkeit verzichtet, da sie nicht durgehend zu jedem Untersuchungszeitpunkt auftritt.

5. Diskussion

Es ist zu erwähnen, dass die Ergebnisse dieser Arbeit nur Teilergebnisse einer Studie sind, welche der Forschungsplattform „Active Ageing“ angehört. Zudem wurden die Daten des Zeitpunktes T1 statistisch in dieser Arbeit nicht ausgewertet da dieser Zeitpunkt in den Arbeiten von Karin Geider, Birgit Koller, Klemens Krejci und Heidemarie Peherstorfer behandelt wurde. Des Weiteren fehlen die T3 Daten des Pensionistenwohnheims „Leopoldau“ das bedeutet dass ein Drittel der Daten zum Zeitpunkt T3 nicht in dieser Arbeit enthalten sind. Die fehlenden T3 Daten wurden von Birgit Fuchs und Evelyn Bacher behandelt.

Mikrokerne

Angesichts der Ergebnisse der Trainings- und Ernährungsgruppe könnte man sagen, dass die MN-Häufigkeit zu den frühen Untersuchungszeitpunkten abnimmt, bevor sie dann von T2 auf T3 wieder ansteigt. Allerdings sind diese Unterschiede statistisch nicht signifikant. Es sollte dabei berücksichtigt werden, dass die ProbandInnen schon älter und erheblich mehr ProbandInnen über 85 Jahre alt sind. Wojda et al. fanden heraus dass die MN-Häufigkeit bei der Altersgruppe 60-68 Jahren am höchsten war, sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern. In der Altersgruppe ≥ 70 Jahre nahm die MN-Häufigkeit wieder ab. Die Abnahme der MN-Häufigkeit bei der Altersgruppe ≥ 70 Jahre war nur bei den Frauen signifikant, dies ruht daher dass in dieser Altersgruppe die Anzahl der Männer deutlich geringer war (Anzahl ♂ = 16; Anzahl ♀=57). [Wojda et al., 2007].

In der „Active Ageing“ Studie ist der Anteil an Frauen (87,9%) deutlich höher im Vergleich zu dem Anteil der Männer (12,1%) (siehe Kapitel 4.1).

Die Studie von Reichhold et al. konnte zeigen, dass eine körperliche Aktivität, auch wenn sie noch so anstrengend für den Körper ist, die MN-Anzahl weder langfristig noch kurzfristig erhöht. Man muss hierbei erwähnen, dass diese Studie an jungen Athleten ($31,7 \pm 6,1$ Jahre) durchgeführt worden ist [Reichhold et al., 2008].

Dennoch ist es wichtig, dass neben einer körperlichen Betätigung auch eine angemessene Ernährung oder sogar Supplementierung, auch im hohen Alter, aufrechterhalten werden sollte. Die Supplementierung mit Leucin neben einer ausgewogenen Er-

nährung kann dazu führen, dass die Muskelproteinsynthese aufrechterhalten bleibt bzw. sogar gesteigert wird. Dies wiederum führt zu einer Verbesserung der Lebensqualität von älteren Menschen [Paddon-Jones und Rasmussen, 2009]. Es wurde auch gezeigt, dass zumindest Folsäure und Vitamin B12, welche auch im „FortiFit“ enthalten sind, die MN-Entstehung verringern können. Weitere 8 Mikronährstoffe (Biotin, Niacin, Vitamin E, Calcium, Riboflavin, Pantothersäure, β -Carotin und Retinol) zeigten, dass sie die MN-Anzahl verringern können [Fenech, 2008]. Diese Mikronährstoffe sind alle in „FortiFit“ enthalten (siehe Tabelle 2, Kapitel 3.1.5).

Unerwarteter Weise ist der Verlauf der MN-Anzahl bei der Kontrollgruppe ähnlich wie bei der Trainings- und Ernährungsgruppe. Es gab zwischen der Kontrollgruppe und der Trainings- und Ernährungsgruppe zu keinem Zeitpunkt einen statistisch signifikanten Unterschied. Die MN-Anzahl nimmt, in beiden Gruppen, bis zu T2 ab und steigt zum Zeitpunkt T3 wieder an. Im Gegensatz zur Trainings- und Ernährungsgruppe ist der Unterschied der MN-Anzahl bei der Kontrollgruppe von T2 auf T3 signifikant höher. In der Kontrollgruppe sind die Werte zum Zeitpunkt T3 sogar höher als die Werte zum Zeitpunkt T0. Dies kann auf das fortschreitende Alter und die eventuellen Erkrankungen zurückzuführen sein. Der Unterschied der Mittelwerte der BCNs mit MN ist von Zeitpunkt T0 auf T3 sogar signifikant. Die Minderung der MN in der Anfangsphase der Studie, kann auf den Sozialisierungsfaktor zurückzuführen sein. Trotzdem ist die MN-Anzahl nach 12 Monaten in der TE-Gruppe deutlich geringer als in der KG-Gruppe auch wenn dieser Unterschied nicht statistisch signifikant ist. Dieses Ergebnis ist auf den positiven Einfluss von Sport und Ernährung auf die MN-Anzahl zurückzuführen, welche in vielen Studien an jüngeren ProbandInnen belegt wurde [Fenech und Bonassi, 2011, Huang et al., 2009, Reichhold et al., 2008].

Betrachtet man nun die Altersgruppen 65-74 Jahre und 75-84 Jahre, kommt es zu einer kontinuierlichen Verringerung der BCNs mit MN und der Gesamtanzahl der MN. Diese Gruppen, aufgeteilt nach Alter, enthalten sowohl die Ernährungs- und Trainingsgruppe, als auch die Trainingsgruppe. Die Kontrollgruppe wurde nicht mit einbezogen. In der Altersgruppe 75-84 Jahre sind die Unterschiede von T2 auf T3 sogar signifikant. Hier kann man erkennen, dass obwohl die Trainings- und Ernährungsgruppe einen Anstieg der MN-Anzahl zum Zeitpunkt T3 anzeigt, eine Trainingsintervention im hohen Alter die MN-Anzahl bzw. die BCNs mit MN verringern kann und das sogar signifikant, wie

in der Altersgruppe 75-84 Jahre. Ein Grund dafür, dass die MN-Werte der Altersgruppe 65-74 Jahre nicht signifikant sind, ist wahrscheinlich jener, dass diese Gruppe die geringste Probandenanzahl hat.

In der Altersgruppe 85 plus unterscheidet sich der Verlauf der Daten durch eine Zunahme der MN-Anzahl zum Zeitpunkt T2, im Vergleich zu den andern zwei Altersgruppen. Die Unterschiede zeigen allerdings keine statistische Signifikanz.

Apoptosen und Nekrosen

Die Apoptosen- und Nekrosenhäufigkeit hat sich bei allen Altersgruppen und bei der Kontrollgruppe und der Trainings- und Ernährungsgruppe von T0 auf T3 reduziert. Leider weisen nicht alle Werte eine statistische Signifikanz auf. Dieses Ereignis kann als positiv bewertet werden, weil die Anzahl der Apoptosen und Nekrosen im Alter zunehmen. Die Ausschüttung von Zytokinen und anderen Entzündungsfaktoren, kann im Alter zunehmen und somit oxidativen Stress in den Zellen erhöhen. Ist der oxidative Stress, welcher auf die Zelle einwirkt, zu stark, so kann es zum programmierten Zelltod kommen bzw. sogar zur Nekrose, da die DNS zu stark beschädigt ist. Die Reparatur der DNS der betroffenen Zelle ist dann nicht mehr möglich [Finkel und Holbrook, 2000]. Bei der Kontrollgruppe zeigt sich, dass sowohl bei der Nekrosenhäufigkeit als auch bei der Apoptosenhäufigkeit die Abnahme von T0 auf T3 signifikant ist. Diese Ergebnisse könnten auch auf die Faktoren der Sozialisierung zurückzuführen sein.

Vergleicht man die Häufigkeit der Apoptosen und Nekrosen der Kontrollgruppe mit der Training und Ernährungsgruppe gibt es auch hier keinen signifikanten Unterschied auch wenn zum Zeitpunkt T3 die Häufigkeit der Apoptosen und Nekrosen in der Trainings- und Ernährungsgruppe geringer ist.

Nuclear Buds und Nucleoplasmic Bridges

Nuclear Buds und Nucleoplasmic Bridges sind neben den Mikrokernen ein Indikator für chromosomale Schäden [Pampalona et al., 2010].

Die Untersuchungen der Trainings- und Ernährungsgruppe haben ergeben, dass sich die Anzahl der NPBs und NBuds vom Zeitpunkt T0 bis zum Zeitpunkt T3 verringert haben. Die Anzahl der NBuds hat sich von T0 auf T3 und die Anzahl der NPBs von T2 auf T3 signifikant reduziert. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe zeigen, dass sich die Anzahl der Nucleoplasmic Bridges von Zeitpunkt T0 bis Zeitpunkt T3 signifikant reduziert hat. Auch die Anzahl der NBuds hat sich verringert, allerdings ohne statistische Signifikanz. Jede Altersgruppe zeigt eine Verringerung der NPBs und NBuds auf, bis auf die Altersgruppe 65-74 Jahre, bei welcher die Anzahl der NBuds von T0 auf T3 angestiegen ist, jedoch ohne statistische Signifikanz. In der Studie von Reichhold et al. wurde gezeigt, dass sich die Anzahl der NBuds und NPBs während dem Training nicht verändert hat. Einzig bei der Athletengruppe zeigte sich nach dem Ironman Triathlon eine Erhöhung der NBuds und NPBs, welche sich dann nach 19 Tagen wieder verringert hatte. Die Anzahl der NBuds und NPBs waren 2 Tage vor dem Ironman höher, verglichen mit der Anzahl 19 Tagen nach dem Rennen. Nach 19 Tagen war die Anzahl der NBuds und NPBs gleich dem Ausgangswert [Reichhold et al., 2008]. Man kann also behaupten dass ein anstrengende körperliche Betätigung die genotoxischen Parameter nicht erhöht anders wie oft vermutet wurde [Schiffl et al., 1997]. Dennoch muss beachtet werden dass die jungen Probanden regelmäßig für den Ironman trainiert hatten. Regelmäßiges Training könnte einen adaptiven Effekt haben auf die DNS Reparaturmechanismen [Reichhold et al., 2008]. Vergleicht man die Anzahl der NBuds und NPBs der Kontrollgruppe mit der Training und Ernährungsgruppe gibt es keinen signifikanten Unterschied.

Zusammenfassend kann man sagen, dass obwohl sich die Gesamtanzahl der MN und die Anzahl der BNCs mit MN nicht signifikant verringert haben, die Intervention bis jetzt einen positiven Effekt auf die NBuds und die NPBs hatte, und sich auch die Nekrosen- und Apoptosenhäufigkeit verringert hat.

Allerdings gibt es bis jetzt keine vergleichbare Studie, mit welcher man die Ergebnisse diskutieren könnte. Die Studie von Huang et al. zeigt, dass körperliche Betätigung,

mindestens 2 Mal die Woche, und gesunde Ernährung einen positiven Einfluss auf die MN-Anzahl haben. Der Einfluss von Training verursacht eine stärkere Verringerung ($p < 0,001$) der MN-Anzahl als der Einfluss von Ernährung ($p < 0,005$). Es gab allerdings in dieser Studie keine Sport- oder Ernährungsintervention, sondern die Art der Ernährung und die Anzahl an Sportstunden wurden von jedem Probanden selbst eingeschätzt. Zudem waren die Probanden dieser Studie wesentlich jünger als die SeniorInnen aus der „Active Ageing“ Studie [Huang et al., 2009].

Es gibt einige Studien die berichten, dass die MN-Häufigkeit mit dem Alter ansteigt [Wojda et al., 2007, Huang et al., 2009]. Wojda et al. konnte zeigen dass die MN-Häufigkeit in dem Alter von 20 bis 68 Jahren tendenziell stieg und dass diese Häufigkeit bis zu einem Alter von 110 Jahren sich wieder verringert. Diese negative Korrelation der MN-Häufigkeit ab einem Alter von 69 Jahren wurde nur bei den Frauen festgestellt weil die Anzahl der Männer im Gegensatz zu der Anzahl der Frauen deutlich geringer war (Anzahl der Frauen ≥ 69 Jahren=57; Anzahl der Männer ≥ 69 Jahre=16) [Wojda et al., 2007]. Auch die Ergebnisse von T1 der „Active Ageing“ Studie zeigen auf eine nicht ansteigende MN-Häufigkeit im Alter hin.

Wie in der Studie von Wojda et al. waren deutlich mehr Frauen als Männer in der „Active Ageing“ Studie untersucht worden. Es ist wissenschaftlich belegt, dass Frauen eine höhere MN-Häufigkeit aufweisen als Männer [Wojda et al., 2007, Bukvic et al., 2001].

Die Faktoren Alter und Geschlecht könnte mithin ein Grund sein, weshalb die Verringerung der MN-Anzahl nicht in jeder Altersgruppe und nicht zu jedem Untersuchungszeitpunkt signifikant ist. Zudem beeinflusst die große Streuung des Kollektivs durch die heterogenen Gesundheitszustände die Ergebnisse zusätzlich.

6. Schlussbetrachtung

Die Resultate dieser Arbeiten zeigen, dass sich nach einer einjährigen Trainings- und Ernährungsintervention die MN-Häufigkeit aus Lymphozyten von der MN-Häufigkeit der Kontrollgruppe nicht unterscheidet.

Regelmäßige körperliche Betätigung und sogar eine extreme körperliche Belastung zeigen keinen negativen Effekt auf die MN-Häufigkeit. 20 Ironman Triathleten welche 3,8 km Schwimmen, 180 km Radfahren und 42 km Laufen bewältigen mussten, zeigten keine signifikant erhöhte Mutationsrate [Reichhold et al., 2008]. Auch die Studie von Huang et al. konnte zeigen dass die Probanden welche mindestens 2 Mal pro Woche Sport betrieben, eine signifikant geringere MN-Anzahl hatten. Dennoch muss man beachten dass die Probanden in beiden Studien um einiges jünger waren als die ProbandInnen der „Active Ageing“ Studie [Huang et al., 2009].

Neben dem Training und der Ernährung gibt es mehrere Faktoren welche die MN Häufigkeit beeinflussen können wie zum Beispiel regelmäßiger Alkoholkonsum, Alter, Geschlecht, Sozialisierungsfaktor oder Erkrankungen. Alter spielt eine wesentliche Rolle bei der Entstehung von MN. Wojda et al. konnte zeigen, dass es zwischen dem Alter von 20 bis 68 einen signifikanten MN Anstieg gibt. Erst ab einem Alter von 69 Jahren kommt es zu einer Stagnation bzw einer leichten Reduktion. Zudem war der Anteil der Frauen (87,9%) in der „Active Ageing“ Studie erheblich höher als der Anteil der Männer (12,1%). Es könnte sein dass ab einem gewissen Alter, trotz Einfluss von Sport und gesunder Ernährung, sich die MN-Häufigkeit nicht mehr erheblich ändert.

Welche Faktoren nun die genotoxischen Parameter am meisten beeinflussen ist nicht eindeutig. In der Kontrollgruppe zeigt sich, unerwarteterweise, eine Verringerung der MN-Häufigkeit als auch der anderen genotoxischen Parameter. Dies könnte auf die regelmäßige Betreuung und den erhöhten Kontakt mit der Gruppe im Zusammenhang stehen. Ob nun der Sozialisierungsfaktor eine Rolle spielt bei dem Trend der genotoxischen Parameter der Kontrollgruppe und dies der Grund dafür ist, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der Interventionsgruppe gibt ist nicht klar aber auch nicht ausschließbar.

Die Nekrose- und Apoptosenhäufigkeit waren jene Parameter, welche sich in allen Altersgruppen, in der Kontrollgruppe und in der Trainings- und Ernährungsinterventionsgruppe stetig verringert haben.

Auch in den verschiedenen Altersgruppen (Kontrollgruppe ausgeschlossen) kam es zu keiner kontinuierlich signifikanten Abnahme der MN-Anzahl. In der Altersgruppe 65-74 Jahre kam es zu keinem signifikanten Unterschied der genotoxischen Parameter zu den verschiedenen Zeitpunkten weil diese Gruppe die geringste Anzahl an ProbandInnen betrug. Dennoch kommt es bei den Altersgruppen 75-84 und ≥ 85 Jahre zu einer signifikanten Verringerung der NBuds und NPBs welche neben den MN auch zu den genotoxischen Parametern zählen und auch in Verbindung mit genomischer Instabilität stehen [Utani et al., 2010].

Aufgrund dessen dass es keine anderen Studien publiziert sind, welche eine Ernährungs- und Trainingsintervention über einen längeren Zeitraum auf Mutationen und Chromosomenschäden bei SeniorInnen untersuchen, kann kein wirklicher Vergleich gezogen werden. Zudem fehlen noch einige Daten des Untersuchungszeitpunktes T3. Es ist abzuwarten, welchem Trend die Ergebnisse der Untersuchungszeitpunkte T3 und T4 folgen.

Eine Verlängerung der Studie um mindestens 1 Jahr könnte über den weiteren Verlauf der genotoxischen Parameter, sowohl im Hinblick auf die Interventionsgruppen als auch auf die Kontrollgruppe, Aufschluss geben.

7. Zusammenfassung

Der WHO (World Health Organisation) zufolge, wird Anzahl der über 60-jährigen in den Jahren zwischen 2000 und 2050 von 600 Millionen auf 2 Milliarden steigen. Um die Leistungsfähigkeit und die Unabhängigkeit älterer Menschen so lang wie möglich zu gewährleisten hat sich die Forschungsplattform „Active Ageing“ der Universität Wien zur Aufgabe gemacht den Einfluss von Ernährung und regelmäßigem progressivem Krafttraining auf die Gesundheit von älteren Menschen zu untersuchen.

Ziel dieser Masterarbeit war es, den Effekt einer einjährigen Trainings- und Ernährungsintervention auf die Entstehung von Mutationen und Chromosomenschäden bei institutionalisierten SeniorInnen zu analysieren. Aus mehreren Pensionistenhäusern der Stadt Wien, wurden interessierte PensionistInnen, welche nach bestimmten Kriterien ausgewählt worden sind, randomisiert in 3 Interventionsgruppen eingeteilt, und zwar die Trainingsgruppe, die Trainings- und Ernährungsgruppe und die Kognitive Gruppe, welche als Kontrollgruppe diente. Die Ernährungsintervention bestand aus einer täglichen Supplementierung mit „FortiFit“, welches präventiv gegen die Entwicklung von Sarkopenie wirken soll. Das einstündige progressive Training wurde zwei Mal pro Woche durchgeführt.

Zur Beurteilung der Chromosomenbrüche wurde anhand des CBMN-Assay die Anzahl der genotoxischen Parameter (MN, NBud und NPB) und die Häufigkeit der Apoptosen und Nekrosen in den Lymphozyten der ProbandInnen zu den Zeitpunkten T0 (Beginn der Studie), T1 (nach 3 Monaten), T2 (nach 6 Monaten) und T3 (nach 12 Monaten) untersucht.

Es gibt zu keinem Zeitpunkt einen statistischen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der Trainings- und Ernährungsgruppe. Auch bei der Altersgruppe 65-74 Jahren (Kontrollgruppe ausgeschlossen) gab keinen signifikanten Unterschied der MN, NBuds und NPBs nach der 1 jährigen Intervention. Dennoch darf nicht außer Acht gelassen werden, dass sich die Anzahl der NPBS ($p=0,001$) und die Häufigkeit der Nekrosen ($p=0,002$) und Apoptosen ($p=0,002$) signifikant nach der einjährigen Intervention reduziert haben. Zusammenfassend kann man sagen, dass obwohl sich die Gesamtanzahl der MN und die Anzahl der BNCs mit MN nicht signifikant verringert ha-

ben, die Intervention bis jetzt einen positiven Effekt auf die NBuds und die NPBS hatte, und sich auch die Nekrosen- und Apoptosenhäufigkeit verringert hat.

8. Summary

WHO (World Health Organization) expects that the number of people, older than 60 years of age, will rise from 600 Million to 2 billion until the year 2050. To ensure an improved longevity and independence of elderly people, the research platform “Active Ageing” of the University of Vienna examines the influence of nutrition and regular progressive strength training on the health status of institutional, elderly people.

The aim of this master-thesis was to analyse the effect of a one-year training and nutritional intervention on the formation of mutation and chromosomal damage in institutionalized seniors. Seniors from different retirement homes from Vienna, who were interested in the study, had to fulfill defined criteria for inclusion in the research study. The seniors were randomly divided into 3 groups, the training group, the training and nutrition group and the cognitive group, which served as control group. The nutritional intervention consisted of a supplementation with “FortiFit”, which should be preventive against sarcopenia. The one-hour progressive training took place twice a week.

The genotoxic parameter (MN, NBud and NPB) and the rate of necrosis and apoptosis in the lymphocytes of the subjects were analyzed at the time points T0 (beginning of the study), T1 (after 3 months), T2 (after 6 months) and T3 (after 12 months) by the CBMN-Assay which is a common method to analyze chromosomal breakage.

There were no statistically significant differences between the control group and the training and nutrition group at any point of time. Even in the group of subjects aged between 65-74 years (control group excluded), there were hardly any significant differences in the number of MN, NBuds and NPBs after the one-year intervention. The reason can be the small number of the subjects in this group. Nevertheless, the number of NPBs ($p=0,001$) and the rate of necrosis ($p=0,002$) and apoptosis ($p=0,002$) have been significantly reduced after the one-year intervention. In conclusion it can be said, that the intervention has a positive impact on the number of NBuds, NPBS and the rate of necrosis and apoptosis even if it has no impact on the number of total MN and MN in BNCs.

9. Literaturverzeichnis

- ADES, P. A., SAVAGE, P., CRESS, M. E., BROCHU, M., LEE, N. M. & POEHLMAN, E. T. Resistance training on physical performance in disabled older female cardiac patients. *Med Sci Sports Exerc*, 2003; 35, 1265-70.
- ALLEN, L. H., ODDOYE, E. A. & MARGEN, S. Protein-induced hypercalciuria: a longer term study. *Am J Clin Nutr*, 1979; 32, 741-9.
- AMES, B. N., SHIGENAGA, M. K. & HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993; 90, 7915-22.
- ANDREASSI, M. G., BOTTO, N., COCCI, F., BATTAGLIA, D., ANTONIOLI, E., MASETTI, S., MANFREDI, S., COLOMBO, M. G., BIAGINI, A. & CLERICO, A. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism, homocysteine, vitamin B12, and DNA damage in coronary artery disease. *Hum Genet*, 2003; 112, 171-7.
- BALLESTREM, C., WEHRLE-HALLER, B. & IMHOF, B. A. Actin dynamics in living mammalian cells. *J Cell Sci*, 1998; 111 (Pt 12), 1649-58.
- BEJMA, J., RAMIRES, P. & JI, L. L. Free radical generation and oxidative stress with ageing and exercise: differential effects in the myocardium and liver. *Acta Physiol Scand*, 2000; 169, 343-51.
- BENTLEY, D. J., HARRISON, C., KETCHEN, A. M., REDHEAD, N. J., SAMUEL, K., WATERFALL, M., ANSELL, J. D. & MELTON, D. W. DNA ligase I null mouse cells show normal DNA repair activity but altered DNA replication and reduced genome stability. *J Cell Sci*, 2002; 115, 1551-61.
- BLANDER, G. & GUARENTE, L. The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu Rev Biochem*, 2004; 73, 417-35.
- BONASSI, S., ZNAOR, A., CEPPI, M., LANDO, C., CHANG, W. P., HOLLAND, N., KIRSCH-VOLDERS, M., ZEIGER, E., BAN, S., BARALE, R., BIGATTI, M. P., BOLOGNESI, C., CEBULSKA-WASILEWSKA, A., FABIANOVA, E., FUCIC, A., HAGMAR, L., JOKSIC, G., MARTELLI, A., MIGLIORE, L., MIRKOVA, E., SCARFI, M. R., ZIJNO, A., NORPPA, H. & FENECH, M. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*, 2007; 28, 625-31.
- BORST, S. E. Interventions for sarcopenia and muscle weakness in older people. *Age Ageing*, 2004; 33, 548-55.
- BUKVIC, N., GENTILE, M., SUSCA, F., FANELLI, M., SERIO, G., BUONADONNA, L., CAPURSO, A. & GUANTI, G. Sex chromosome loss, micronuclei, sister chromatid exchange and aging: a study including 16 centenarians. *Mutat Res*, 2001; 498, 159-67.
- CADENAS, E. & DAVIES, K. J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med*, 2000; 29, 222-30.

- CAMPBELL, W. W., TRAPPE, T. A., JOZSI, A. C., KRUSKALL, L. J., WOLFE, R. R. & EVANS, W. J. Dietary protein adequacy and lower body versus whole body resistive training in older humans. *J Physiol*, 2002; 542, 631-42.
- CANNIZZO, E. S., CLEMENT, C. C., SAHU, R., FOLLO, C. & SANTAMBROGIO, L. Oxidative stress, inflamm-aging and immunosenescence. *J Proteomics*, 2011; 74, 2313-23.
- CARLSEN, H., ALEXANDER, G., AUSTENAA, L. M., EBIHARA, K. & BLOMHOFF, R. Molecular imaging of the transcription factor NF-kappaB, a primary regulator of stress response. *Mutat Res*, 2004; 551, 199-211.
- CEVENINI, E., MONTI, D. & FRANCESCHI, C. Inflamm-aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2013; 16, 14-20.
- CHIANG, P. K., GORDON, R. K., TAL, J., ZENG, G. C., DOCTOR, B. P., PARDHASARADHI, K. & MCCANN, P. P. S-Adenosylmethionine and methylation. *FASEB J*, 1996; 10, 471-80.
- CHO, E., SMITH-WARNER, S. A., SPIEGELMAN, D., BEESON, W. L., VAN DEN BRANDT, P. A., COLDITZ, G. A., FOLSOM, A. R., FRASER, G. E., FREUDENHEIM, J. L., GIOVANNUCCI, E., GOLDBOHN, R. A., GRAHAM, S., MILLER, A. B., PIETINEN, P., POTTER, J. D., ROHAN, T. E., TERRY, P., TONIOLO, P., VIRTANEN, M. J., WILLETT, W. C., WOLK, A., WU, K., YAUN, S. S., ZELENIOUCH-JACQUOTTE, A. & HUNTER, D. J. Dairy foods, calcium, and colorectal cancer: a pooled analysis of 10 cohort studies. *J Natl Cancer Inst*, 2004; 96, 1015-22.
- COOPER, C., DERE, W., EVANS, W., KANIS, J. A., RIZZOLI, R., SAYER, A. A., SIEBER, C. C., KAUFMAN, J. M., ABELLAN VAN KAN, G., BOONEN, S., ADACHI, J., MITLAK, B., TSOUDEROS, Y., ROLLAND, Y. & REGINSTER, J. Y. Frailty and sarcopenia: definitions and outcome parameters. *Osteoporos Int*, 2012; 23, 1839-48.
- CORDAIN, L., MILLER, J. B., EATON, S. B., MANN, N., HOLT, S. H. & SPETH, J. D. Plant-animal subsistence ratios and macronutrient energy estimations in worldwide hunter-gatherer diets. *Am J Clin Nutr*, 2000; 71, 682-92.
- CRAWFORD, D. R., ABRAMOVA, N. E. & DAVIES, K. J. Oxidative stress causes a general, calcium-dependent degradation of mitochondrial polynucleotides. *Free Radic Biol Med*, 1998; 25, 1106-11.
- CROTT, J. W., MASHIYAMA, S. T., AMES, B. N. & FENECH, M. The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2001a; 10, 1089-96.
- CROTT, J. W., MASHIYAMA, S. T., AMES, B. N. & FENECH, M. F. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism does not alter folic acid deficiency-induced uracil incorporation into primary human lymphocyte DNA in vitro. *Carcinogenesis*, 2001b; 22, 1019-25.
- CRUZ-JENTOFT, A. J., BAEYENS, J. P., BAUER, J. M., BOIRIE, Y., CEDERHOLM, T., LANDI, F., MARTIN, F. C., MICHEL, J. P., ROLLAND, Y., SCHNEIDER, S. M., 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 Ageing*, 2010; 39, 412-23.

- CULLETON, B. F., LARSON, M. G., EVANS, J. C., WILSON, P. W., BARRETT, B. J., PARFREY, P. S. & LEVY, D. Prevalence and correlates of elevated serum creatinine levels: the Framingham Heart Study. *Arch Intern Med*, 1999; 159, 1785-90.
- DGE. 2014. *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr* [Online]. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE), die Österreichische Gesellschaft für Ernährung (ÖGE), die Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung (SGE), Schweizerische Vereinigung für Ernährung (SVE). Available: <http://www.dge.de/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=3>.
- DIRKS, A. & LEEUWENBURGH, C. Apoptosis in skeletal muscle with aging. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2002; 282, R519-27.
- DONATO, A. J., BLACK, A. D., JABLONSKI, K. L., GANO, L. B. & SEALS, D. R. Aging is associated with greater nuclear NF kappa B, reduced I kappa B alpha, and increased expression of proinflammatory cytokines in vascular endothelial cells of healthy humans. *Aging Cell*, 2008; 7, 805-12.
- DREYER, H. C. & VOLPI, E. Role of protein and amino acids in the pathophysiology and treatment of sarcopenia. *J Am Coll Nutr*, 2005; 24, 140S-145S.
- ELMADFA, I., HASENEGGER, V., WAGNER, K., PUTZ, P., WEIDL, N. M., WOTTAWA, D., KUEN, T., SEIRINGER, G., MEYER, A. L., STURTZEL, B., KIEFER, I., ZILBERSZAC, A., SGARABOTTOLO, V., MEIDLINGER, B. & RIEDER, A. 2012. Österreichischer Ernährungsbericht 2012. Wien: Institut für Ernährungswissenschaften, Bundesministerium für Gesundheit.
- ELMADFA, I. & LEITZMANN, C. 2004. Ernährung des Menschen. *Ernährung des Menschen*. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.
- ETO, I. & KRUMDIECK, C. L. Role of vitamin B12 and folate deficiencies in carcinogenesis. *Adv Exp Med Biol*, 1986; 206, 313-30.
- FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res*, 2000; 455, 81-95.
- FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytochrome assay. *Nat Protoc*, 2007; 2, 1084-104.
- FENECH, M. Genome health nutrigenomics and nutrigenetics--diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. *Food Chem Toxicol*, 2008; 46, 1365-70.
- FENECH, M., AITKEN, C. & RINALDI, J. Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis*, 1998; 19, 1163-71.
- FENECH, M., BAGHURST, P., LUDERER, W., TURNER, J., RECORD, S., CEPPI, M. & BONASSI, S. Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, beta-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability--results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. *Carcinogenesis*, 2005; 26, 991-9.
- FENECH, M. & BONASSI, S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*, 2011; 26, 43-9.

- FENECH, M., CHANG, W. P., KIRSCH-VOLDERS, M., HOLLAND, N., BONASSI, S. & ZEIGER, E. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res*, 2003; 534, 65-75.
- FENECH, M. & CROTT, J. W. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutat Res*, 2002; 504, 131-6.
- FENECH, M., HOLLAND, N., CHANG, W. P., ZEIGER, E. & BONASSI, S. The HUman MicroNucleus Project--An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res*, 1999; 428, 271-83.
- FENECH, M. & MORLEY, A. A. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res*, 1985; 147, 29-36.
- FENECH, M. & MORLEY, A. A. Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of in vivo ageing and low dose X-irradiation. *Mutat Res*, 1986; 161, 193-8.
- FENECH, M. F., DREOSTI, I. E. & RINALDI, J. R. Folate, vitamin B12, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men. *Carcinogenesis*, 1997; 18, 1329-36.
- FINKEL, T. & HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 2000; 408, 239-47.
- FRANCESCHI, C., BONAFA, M., VALENSIN, S., OLIVIERI, F., DE LUCA, M., OTTAVIANI, E. & DE BENEDICTIS, G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*, 2000; 908, 244-54.
- FRANCESCHI, C., CAPRI, M., MONTI, D., GIUNTA, S., OLIVIERI, F., SEVINI, F., PANOURGIA, M. P., INVADIA, L., CELANI, L., SCURTI, M., CEVENINI, E., CASTELLANI, G. C. & SALVIOLI, S. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev*, 2007; 128, 92-105.
- GILL, R., TSUNG, A. & BILLIAR, T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radic Biol Med*, 2010; 48, 1121-32.
- GIORDANO, R., BO, M., PELLEGRINO, M., VEZZARI, M., BALDI, M., PICU, A., BALBO, M., BONELLI, L., MIGLIARETTI, G., GHIGO, E. & ARVAT, E. Hypothalamus-pituitary-adrenal hyperactivity in human aging is partially refractory to stimulation by mineralocorticoid receptor blockade. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005; 90, 5656-62.
- GRACY, R. W., TALENT, J. M., KONG, Y. & CONRAD, C. C. Reactive oxygen species: the unavoidable environmental insult? *Mutat Res*, 1999; 428, 17-22.
- GREENROD, W., STOCKLEY, C. S., BURCHAM, P., ABBEY, M. & FENECH, M. Moderate acute intake of de-alcoholized red wine, but not alcohol, is protective against radiation-induced DNA damage ex vivo -- results of a comparative in vivo intervention study in younger men. *Mutat Res*, 2005; 591, 290-301.

- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. M. C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*, United States, Oxford University Press Inc.
- HANSFORD, R. G. Bioenergetics in aging. *Biochim Biophys Acta*, 1983; 726, 41-80.
- HASTY, P. The impact energy metabolism and genome maintenance have on longevity and senescence: lessons from yeast to mammals. *Mech Ageing Dev*, 2001; 122, 1651-62.
- HOFFELDER, D. R., LUO, L., BURKE, N. A., WATKINS, S. C., GOLLIN, S. M. & SAUNDERS, W. S. Resolution of anaphase bridges in cancer cells. *Chromosoma*, 2004; 112, 389-97.
- HUANG, P., HUANG, B., WENG, H., NAKAYAMA, K. & MORIMOTO, K. Effects of lifestyle on micronuclei frequency in human lymphocytes in Japanese hard-metal workers. *Prev Med*, 2009; 48, 383-8.
- IAEA 2001. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment. Vienna: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY.
- IBANEZ, J., IZQUIERDO, M., ARGUELLES, I., FORGA, L., LARRION, J. L., GARCIA-UNCITI, M., IDOATE, F. & GOROSTIAGA, E. M. Twice-weekly progressive resistance training decreases abdominal fat and improves insulin sensitivity in older men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2005; 28, 662-7.
- IGLAY, H. B., THYFAULT, J. P., APOLZAN, J. W. & CAMPBELL, W. W. Resistance training and dietary protein: effects on glucose tolerance and contents of skeletal muscle insulin signaling proteins in older persons. *Am J Clin Nutr*, 2007; 85, 1005-13.
- ISHIKAWA, H., ISHIKAWA, T., YAMAMOTO, H., FUKAO, A. & YOKOYAMA, K. Genotoxic effects of alcohol in human peripheral lymphocytes modulated by ADH1B and ALDH2 gene polymorphisms. *Mutat Res*, 2007; 615, 134-42.
- ISHIKAWA, H., TIAN, Y. & YAMAUCHI, T. Influence of gender, age and lifestyle factors on micronuclei frequency in healthy Japanese populations. *J Occup Health*, 2003a; 45, 179-81.
- ISHIKAWA, H., YAMAMOTO, H., TIAN, Y., KAWANO, M., YAMAUCHI, T. & YOKOYAMA, K. Effects of ALDH2 gene polymorphisms and alcohol-drinking behavior on micronuclei frequency in non-smokers. *Mutat Res*, 2003b; 541, 71-80.
- IZQUIERDO, M., IBANEZ, J., K, H. A., KRAEMER, W. J., LARRION, J. L. & GOROSTIAGA, E. M. Once weekly combined resistance and cardiovascular training in healthy older men. *Med Sci Sports Exerc*, 2004; 36, 435-43.
- JYRKKA, J., ENLUND, H., LAVIKAINEN, P., SULKAVA, R. & HARTIKAINEN, S. Association of polypharmacy with nutritional status, functional ability and cognitive capacity over a three-year period in an elderly population. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2011; 20, 514-22.
- KATSANOS, C. S., KOBAYASHI, H., SHEFFIELD-MOORE, M., AARSLAND, A. & WOLFE, R. R. A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006; 291, E381-7.

- KAZIMIROVA, A., BARANCOKOVA, M., KRAJCOVICOVA-KUDLACKOVA, M., VOLKOVOVA, K., STARUCHOVA, M., VALACHOVICOVA, M., PAUKOVA, V., BLAZICEK, P., WSOLOVA, L. & DUSINSKA, M. The relationship between micronuclei in human lymphocytes and selected micronutrients in vegetarians and non-vegetarians. *Mutat Res*, 2006; 611, 64-70.
- KAZIMIROVA, A., BARANCOKOVA, M., VOLKOVOVA, K., STARUCHOVA, M., KRAJCOVICOVA-KUDLACKOVA, M., WSOLOVA, L., COLLINS, A. R. & DUSINSKA, M. Does a vegetarian diet influence genomic stability? *Eur J Nutr*, 2004; 43, 32-8.
- KIM, J. S., KIM, Y. J., KIM, T. Y., SONG, J. Y., CHO, Y. H., PARK, Y. C. & CHUNG, H. W. Association of ALDH2 polymorphism with sensitivity to acetaldehyde-induced micronuclei and facial flushing after alcohol intake. *Toxicology*, 2005; 210, 169-74.
- KIM, M. K., BAEK, K. H., SONG, K. H., IL KANG, M., PARK, C. Y., LEE, W. Y. & OH, K. W. Vitamin D deficiency is associated with sarcopenia in older Koreans, regardless of obesity: the Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Surveys (KNHANES IV) 2009. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011; 96, 3250-6.
- KIM, T. N., PARK, M. S., LIM, K. I., CHOI, H. Y., YANG, S. J., YOO, H. J., KANG, H. J., SONG, W., CHOI, H., BAIK, S. H., CHOI, D. S. & CHOI, K. M. Relationships between sarcopenic obesity and insulin resistance, inflammation, and vitamin D status: the Korean Sarcopenic Obesity Study. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2013; 78, 525-32.
- KIMURA, M., UMEGAKI, K., HIGUCHI, M., THOMAS, P. & FENECH, M. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. *J Nutr*, 2004; 134, 48-56.
- KNIGHT, E. L., STAMPFER, M. J., HANKINSON, S. E., SPIEGELMAN, D. & CURHAN, G. C. The impact of protein intake on renal function decline in women with normal renal function or mild renal insufficiency. *Ann Intern Med*, 2003; 138, 460-7.
- KU, H. H., BRUNK, U. T. & SOHAL, R. S. Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radic Biol Med*, 1993; 15, 621-7.
- KUJOTH, G. C., HIONA, A., PUGH, T. D., SOMEYA, S., PANZER, K., WOHLGEMUTH, S. E., HOFER, T., SEO, A. Y., SULLIVAN, R., JOBLING, W. A., MORROW, J. D., VAN REMMEN, H., SEDIVY, J. M., YAMASOBA, T., TANOKURA, M., WEINDRUCH, R., LEEUWENBURGH, C. & PROLLA, T. A. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*, 2005; 309, 481-4.
- LARSSON, L., SJODIN, B. & KARLSSON, J. Histochemical and biochemical changes in human skeletal muscle with age in sedentary males, age 22-65 years. *Acta Physiol Scand*, 1978; 103, 31-9.
- LAUFS, U., WASSMANN, S., CZECH, T., MUNZEL, T., EISENHAEUER, M., BOHM, M. & NICKENIG, G. Physical inactivity increases oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005; 25, 809-14.

- LEENDERS, M. & VAN LOON, L. J. Leucine as a pharmaconutrient to prevent and treat sarcopenia and type 2 diabetes. *Nutr Rev*, 2011; 69, 675-89.
- MAFFEI, F., FIMOIGNARI, C., CASTELLI, E., STEFANINI, G. F., FORTI, G. C. & HRELIA, P. Increased cytogenetic damage detected by FISH analysis on micronuclei in peripheral lymphocytes from alcoholics. *Mutagenesis*, 2000; 15, 517-23.
- MARZETTI, E. & LEEUWENBURGH, C. Skeletal muscle apoptosis, sarcopenia and frailty at old age. *Exp Gerontol*, 2006; 41, 1234-8.
- MENG, S. J. & YU, L. J. Oxidative stress, molecular inflammation and sarcopenia. *Int J Mol Sci*, 2010; 11, 1509-26.
- NEMOTO, S., TAKEDA, K., YU, Z. X., FERRANS, V. J. & FINKEL, T. Role for mitochondrial oxidants as regulators of cellular metabolism. *Mol Cell Biol*, 2000; 20, 7311-8.
- NOHL, H., BREUNINGER, V. & HEGNER, D. Influence of mitochondrial radical formation on energy-linked respiration. *Eur J Biochem*, 1978; 90, 385-90.
- PADDON-JONES, D. & RASMUSSEN, B. B. Dietary protein recommendations and the prevention of sarcopenia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2009; 12, 86-90.
- PADDON-JONES, D., SHORT, K. R., CAMPBELL, W. W., VOLPI, E. & WOLFE, R. R. Role of dietary protein in the sarcopenia of aging. *Am J Clin Nutr*, 2008; 87, 1562S-1566S.
- PAFFENBARGER, R. S., JR., HYDE, R. T., WING, A. L., LEE, I. M., JUNG, D. L. & KAMPERT, J. B. The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. *N Engl J Med*, 1993; 328, 538-45.
- PAMPALONA, J., SOLER, D., GENESCA, A. & TUSELL, L. Telomere dysfunction and chromosome structure modulate the contribution of individual chromosomes in abnormal nuclear morphologies. *Mutat Res*, 2010; 683, 16-22.
- PANSARASA, O., FLATI, V., CORSETTI, G., BROCCA, L., PASINI, E. & D'ANTONA, G. Oral amino acid supplementation counteracts age-induced sarcopenia in elderly rats. *Am J Cardiol*, 2008; 101, 35E-41E.
- PITTALUGA, M., PARISI, P., SABATINI, S., CECI, R., CAPOROSSI, D., VALERIA CATANI, M., SAVINI, I. & AVIGLIANO, L. Cellular and biochemical parameters of exercise-induced oxidative stress: relationship with training levels. *Free Radic Res*, 2006; 40, 607-14.
- REICHOLD, S., NEUBAUER, O., EHRLICH, V., KNASMULLER, S. & WAGNER, K. H. No acute and persistent DNA damage after an Ironman triathlon. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008; 17, 1913-9.
- RICHTER, C., PARK, J. W. & AMES, B. N. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988; 85, 6465-7.

- RIZZOLI, R., REGINSTER, J. Y., ARNAL, J. F., BAUTMANS, I., BEAUDART, C., BISCHOFF-FERRARI, H., BIVER, E., BOONEN, S., BRANDI, M. L., CHINES, A., COOPER, C., EPSTEIN, S., FIELDING, R. A., GOODPASTER, B., KANIS, J. A., KAUFMAN, J. M., LASLOP, A., MALAFARINA, V., MANAS, L. R., MITLAK, B. H., OREFFO, R. O., PETERMANS, J., REID, K., ROLLAND, Y., SAYER, A. A., TSOUDELOS, Y., VISSER, M. & BRUYERE, O. Quality of life in sarcopenia and frailty. *Calcif Tissue Int*, 2013; 93, 101-20.
- ROBINSON, S., COOPER, C. & AITIE SAYER, A. Nutrition and sarcopenia: a review of the evidence and implications for preventive strategies. *J Aging Res*, 2012; 2012, 510801.
- ROSENBERG, I. H. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J Nutr*, 1997; 127, 990S-991S.
- SCHIFFL, C., ZIERES, C. & ZANKL, H. Exhaustive physical exercise increases frequency of micronuclei. *Mutat Res*, 1997; 389, 243-6.
- SCHMUCKER, D. L. Liver function and phase I drug metabolism in the elderly: a paradox. *Drugs Aging*, 2001; 18, 837-51.
- SCOTT, D., BLIZZARD, L., FELL, J., DING, C., WINZENBERG, T. & JONES, G. A prospective study of the associations between 25-hydroxy-vitamin D, sarcopenia progression and physical activity in older adults. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2010; 73, 581-7.
- SHIMIZU, N., ITOH, N., UTIYAMA, H. & WAHL, G. M. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase. *J Cell Biol*, 1998; 140, 1307-20.
- SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, 1997; 82, 291-5.
- SINGH, N. A., STAVRINOS, T. M., SCARBEEK, Y., GALAMBOS, G., LIBER, C. & FIATARONE SINGH, M. A. A randomized controlled trial of high versus low intensity weight training versus general practitioner care for clinical depression in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2005; 60, 768-76.
- SZULC, P., DUBOEUF, F., MARCHAND, F. & DELMAS, P. D. Hormonal and lifestyle determinants of appendicular skeletal muscle mass in men: the MINOS study. *Am J Clin Nutr*, 2004; 80, 496-503.
- TAAFFE, D. R. Sarcopenia--exercise as a treatment strategy. *Aust Fam Physician*, 2006; 35, 130-4.
- TUCKER, J. D., NATH, J. & HANDO, J. C. Activation status of the X chromosome in human micronucleated lymphocytes. *Hum Genet*, 1996; 97, 471-5.
- UTANI, K., KOHNO, Y., OKAMOTO, A. & SHIMIZU, N. Emergence of micronuclei and their effects on the fate of cells under replication stress. *PLoS One*, 2010; 5, e10089.
- VISSER, M., PAHOR, M., TAAFFE, D. R., GOODPASTER, B. H., SIMONSICK, E. M., NEWMAN, A. B., NEVITT, M. & HARRIS, T. B. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2002; 57, M326-32.

- VOLPI, E., MITTENDORFER, B., RASMUSSEN, B. B. & WOLFE, R. R. The response of muscle protein anabolism to combined hyperaminoacidemia and glucose-induced hyperinsulinemia is impaired in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85, 4481-90.
- WAGNER, C. 1995. Biochemical role of folate in cellular metabolism. *In*: BAILEY, L. B. (ed.) *Folate in Health and Disease*. United States of America.
- WHITFIELD, J. B. ADH and ALDH genotypes in relation to alcohol metabolic rate and sensitivity. *Alcohol Alcohol Suppl*, 1994; 2, 59-65.
- WHO 2002. ACTIVE AGEING: A POLICY FRAMEWORK. Spain: WHO.
- WOJDA, A., ZIETKIEWICZ, E. & WITT, M. Effects of age and gender on micronucleus and chromosome nondisjunction frequencies in centenarians and younger subjects. *Mutagenesis*, 2007; 22, 195-200.
- YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 1994; 74, 139-62.

10. Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Pierson Béatrice , Bakk. rer. nat.

Geburtsdatum:	21. Juni 1988
Geburtsort:	Luxemburg/Dudelingen
Familienstand:	ledig
Kinder:	keine
Staatsbürgerschaft:	Luxemburg

Schulische Ausbildung

Seit Oktober 2012	Praktische Masterarbeit in der Arbeitsgruppe von Univ.-Prof.Mag. Dr. Karl- Heinz Wagner
Seit Oktober 2011	Masterstudium „Molekulare Ernährung“ an der Universität Wien
Juni bis August 2010	Praktikum bei der Forschungsgruppe Haslberger Hps. im Bereich der „Genomics“
Seit Oktober 2007	Studium an der Universität Wien, Studienrichtung Ernährungswissenschaft
2000 - 2007	Lycée de Garçons Esch-sur-Alzette/Luxemburg Fachrichtung Naturwissenschaften
1994 – 2000	Volkschule Widdem/Faubourg Kayl

Sprachkenntnisse

Deutsch:	In Wort und Schrift
Englisch:	In Wort und Schrift
Französisch:	In Wort und Schrift
Spanisch:	In Wort und Schrift
Luxemburgisch:	In Wort und Schrift

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen übernommenen Informationen sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch nicht veröffentlicht.

Wien, März 2014

Pierson Béatrice