



universität
wien

MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

„Die Auswirkungen einer Trainings- und
Ernährungsintervention auf den enzymatischen
Antioxidantienstatus bei institutionalisierten Wiener
Pensionisten(Innen)“

verfasst von

Markus Pichler, Bakk.rer.nat.

angestrebter akademischer Grad

Master of Science (MSc)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt:
Studienrichtung lt. Studienblatt:
Betreut von:

A 066 838
Ernährungswissenschaften
Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Wagner

Danksagung

...an Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Wagner für die Ermöglichung meiner Masterarbeit, für die Betreuung dieser und für die aufmunternden Worte im Labor.

...an die Stipendiumstelle Wien, die mir mein gesamtes Studium überhaupt erst ermöglicht hat.

...an George Mare für die sehr wertvollen Tipps und die Unterstützung wenn es Probleme im Labor gab sowie für die Bestellung der Chemikalien.

...an Mag. Bernhard Franzke für die aufmunternden Worte im Labor und der Unterstützung bei der Suche nach fehlenden Proben.

...an meine Eltern und insbesondere meine Schwester Melanie.

...an Marie-Therese Wagner, MA, Mag. René Rusch und Sabrina Mayer, Bakk.rer.nat. fürs Korrekturlesen meiner Masterarbeit.

...an meinen gesamten Freundeskreis, die immer ein offenes Ohr für mich hatten.

...und natürlich auch der gesamten Spange E für das nette Arbeitsklima.

Gleichheitsgrundsatz:

Aus Gründen der Lesbarkeit wurde in dieser Arbeit darauf verzichtet, durchgehend geschlechtsneutrale Formulierungen zu verwenden. Jedoch möchte der Verfasser ausdrücklich festhalten, dass maskuline Formen für beide Geschlechter zu verstehen sind.

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	VII
Abbildungsverzeichnis	VIII
Abkürzungsverzeichnis	X
1 Einleitung und Fragestellung.....	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Freie Radikale	2
2.2 Oxidativer Stress	3
2.2.1 Oxidativer Stress durch Sport	5
2.3 Antioxidative Schutzsysteme.....	8
2.3.1 Nichtenzymatische Antioxidantien	8
2.3.2 Enzymatische Antioxidantien	8
2.3.2.1 Superoxiddismutase (SOD).....	9
2.3.2.2 Glutathion-Peroxidase (GSH-Px)	10
2.3.2.3 Katalase (CAT).....	10
2.3.2.4 Zusammenspiel von GSH-Px und CAT	11
3 Material und Methoden.....	12
3.1 Forschungsplattform „Active Ageing“	12
3.1.1 Studienziel	12
3.1.2 Studiendesign	12
3.1.2.1 Probanden.....	12
3.1.2.2 Einschlusskriterien	13
3.1.2.3 Ausschlusskriterien	14
3.1.2.4 Studienablauf	14
3.1.2.5 Studienort – KWP.....	15
3.1.3 Bewegungsintervention.....	16

3.1.4 Nahrungsintervention	16
3.1.5 Kognitive Gruppe	17
3.2 Blutaufarbeitung	18
3.2.1 Herstellung des isotonischen Phosphatpuffers	18
3.3 Bestimmung von enzymatischen Antioxidantien	19
3.3.1 Bestimmung der Superoxiddismutase in Erythrozyten	19
3.3.1.1 Materialien und Geräte	19
3.3.1.2 Durchführung	20
3.3.1.3 Fehlerquellen bei der Durchführung	21
3.3.1.4 Auswertung	21
3.3.1.5 Qualitätssicherung	22
3.3.2 Bestimmung der Glutathionperoxidase in Erythrozyten	22
3.3.2.1 Materialien und Geräte	22
3.3.2.2 Durchführung	23
3.3.2.3 Fehlerquellen bei der Durchführung	24
3.3.2.4 Auswertung	24
3.3.2.5 Qualitätssicherung	25
3.3.3 Bestimmung der Katalase in Erythrozyten	25
3.3.3.1 Materialien und Geräte	25
3.3.3.2 Durchführung	26
3.3.3.3 Fehlerquellen bei der Durchführung	27
3.3.3.4 Auswertung	27
3.3.3.5 Qualitätssicherung	27
3.3.4 Bestimmung der Hämoglobin-Konzentration	28
3.3.4.1 Materialien und Geräte	28
3.3.4.2 Durchführung	28
3.3.4.3 Auswertung	29
3.3.4.4 Qualitätssicherung	29
3.4 Statistische Auswertung	29

4	Ergebnisse und Diskussion	30
4.1	Superoxiddismutase	30
4.1.1	Ausgangswerte der SOD-Aktivität	30
4.1.2	Verlauf der SOD-Aktivität	32
4.1.2.1	Gesamtkollektiv	32
4.1.2.2	Interventionsgruppen	35
4.1.3	Verlauf der SOD-Aktivität unterteilt nach Altersgruppen	37
4.2	Katalase	40
4.2.1	Ausgangswerte der CAT-Aktivität	40
4.2.2	Verlauf der CAT-Aktivität	43
4.2.2.1	Gesamtkollektiv	43
4.2.2.2	Interventionsgruppen	45
4.2.3	Verlauf der CAT-Aktivität unterteilt nach Altersgruppen	49
4.3	Glutathionperoxidase	52
4.3.1	Ausgangswerte der GSH-Px-Aktivität	52
4.3.2	Verlauf der GSH-Px-Aktivität	53
4.3.2.1	Gesamtkollektiv	53
4.3.2.2	Interventionsgruppen	55
4.3.3	Verlauf der GSH-Px-Aktivität unterteilt nach Altersgruppen	57
4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse	61
5	Schlussbetrachtung	64
6	Zusammenfassung	66
7	Summary	68
	Literaturverzeichnis	70
	Lebenslauf	77

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Reaktive Sauerstoffspezies (Reihenfolge: abnehmende Reaktivität) ...	3
Tabelle 2: nicht enzymatische Antioxidantien	8
Tabelle 3: Einteilung der Probanden nach Gruppen (T2).....	13
Tabelle 4: Einteilung der Probanden nach dem Alter (T2).....	13
Tabelle 5: Chemikalien Phosphatpuffer	18
Tabelle 6: SOD Reagenzien	19
Tabelle 7: SOD Pipettierschema (in µl).....	20
Tabelle 8: GSH-Px Reagenzien	23
Tabelle 9: GSH-Px Pipettierschema	24
Tabelle 10: CAT Reagenzien	26
Tabelle 11: CAT Pipettierschema	26
Tabelle 12: Hämoglobin Reagenzien	28
Tabelle 13: Gesamtkollektiv (n = 74): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05)	61
Tabelle 14: Trainingsgruppe (n = 28): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05)	61
Tabelle 15: Trainings- und Ernährungsgruppe (n = 22): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05).....	62
Tabelle 16: kognitive Gruppe (n = 24): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05)	62
Tabelle 17: Gesamtkollektiv (65-74 Jahren, n = 8): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05).....	62
Tabelle 18: Gesamtkollektiv (75-84 Jahren, n = 30): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05).....	63
Tabelle 19: Gesamtkollektiv (85+ Jahren, n = 36): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05).....	63

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Reduktion von molekularem Sauerstoff2

Abbildung 2: Radikale: Entstehung und Auswirkung.....3

Abbildung 3: Wirkung von anti- und prooxidativen Systemen5

Abbildung 4: enzymatische Antioxidantien.....9

Abbildung 5: Zeitlicher Ablauf der Studie 15

Abbildung 6: Zusammensetzung Fortifit von Nutricia (pro Portion 40 g)..... 17

Abbildung 7: SOD: Altersspezifische Verteilung (T0)..... 30

Abbildung 8: SOD: Verlauf der Aktivität des Gesamtkollektivs (T2 > T0, p < 0,05)
..... 33

Abbildung 9: SOD: Aktivitätsveränderung des Gesamtkollektivs in Prozent im
Vergleich zu T0 (T2 > T0, p < 0,05) 33

Abbildung 10: SOD: Verlauf der Aktivität der drei Gruppen (* signifikante
Veränderung zu T0, p < 0,05).....36

Abbildung 11: SOD: Aktivitätsveränderung der Interventionsgruppen in Prozent
im Vergleich zu T0 (* signifikante Veränderung zu T0, p < 0,05).....37

Abbildung 12: SOD: Verlauf der Aktivität der Altersgruppen 38

Abbildung 13: SOD: Aktivitätsveränderung der Altersgruppen in Prozent im
Vergleich zu T0 39

Abbildung 14: CAT: Altersspezifische Verteilung (T0) 42

Abbildung 15: CAT: Verlauf der Aktivität des Gesamtkollektivs (* T1, T2 > T0, T2
> T1, p < 0,05) 44

Abbildung 16: CAT: Aktivitätsveränderung des Gesamtkollektivs in Prozent im
Vergleich zu T0 (* T1, T2 > T0, T2 > T1, p < 0,05) 45

Abbildung 17: CAT: Verlauf der Aktivität der drei Gruppen (* signifikante
Veränderung zu T0, p < 0,05) 46

Abbildung 18: CAT: Aktivitätsveränderung der Interventionsgruppen in Prozent
im Vergleich zu T0 (* signifikante Veränderung zu T0, p < 0,05) 47

Abbildung 19: CAT: Verlauf der Aktivität der Altersgruppen (* signifikante
Veränderung zu T0, p < 0,05) 50

Abbildung 20: CAT: Aktivitätsveränderung der Altersgruppen in Prozent im Vergleich zu T0 (* signifikante Veränderung zu T0, $p < 0,05$).....	51
Abbildung 21: GSH-Px: Altersspezifische Verteilung (T0)	52
Abbildung 22: GSH-Px: Verlauf der Aktivität des Gesamtkollektivs	54
Abbildung 23: GSH-Px: Aktivitätsveränderung des Gesamtkollektivs in Prozent im Vergleich zu T0	55
Abbildung 24: GSH-Px: Verlauf der Aktivität der drei Gruppen.....	56
Abbildung 25: GSH-Px: Aktivitätsveränderung der Interventionsgruppen in Prozent im Vergleich zu T0	57
Abbildung 26: GSH-Px: Verlauf der Aktivität der Altersgruppen.....	58
Abbildung 27: GSH-Px: Aktivitätsveränderung der Altersgruppen in Prozent im Vergleich zu T0	59

Abkürzungsverzeichnis

CAT	Katalase
DXA	Dual Photon X-Ray
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
GR	Glutathionreduktase
GSH	reduziertem Glutathion
GSH-Px.....	Glutathion-Peroxidase
GSSG	oxidiertem Glutathion
KWP	Kuratorium Wiener Pensionisten
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
RM	One Reptition Maximums
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROOH	Hydroperoxyden
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Superoxiddismutase

1 Einleitung und Fragestellung

Laut demografischen Berechnungen ist eine der größten sozialen Herausforderungen dieses Jahrhunderts das „Immer älter werden“. Zusammengefasst lautet die zentrale Botschaft: Immer weniger junge Menschen bedienen das Sozialsystem und immer mehr Menschen werden immer älter, was das Sozialsystem vor enorme Herausforderungen stellt. Daher sind Gesundheitsprävention in jungen Jahren und spätere Strategien, also zum Beispiel Sport im Alter, unabdingbar [Jacobi et al., 2004; Walla et al., 2006].

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Teiluntersuchung im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“. Man versucht herauszufinden, wie sich eine Bewegungs- und Ernährungsintervention auf verschiedenste Stoffwechselfparameter von Wiener Pensionisten(innen) auswirkt.

Die vorliegende Arbeit widmet sich dem Thema der Antioxidantien-Enzyme von Wiener Pensionisten(innen), da diese Enzyme helfen, oxidativen Stress abzubauen.

Oxidativer Stress wird mit dem Auftreten von chronischen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Zu den negativen Auswirkungen einer Dysbalance zwischen Prooxidantien und Antioxidantien gehören: Tumore, Alterungsprozesse, Arteriosklerose, COPD (Chronisch obstruktive Lungenerkrankung), Katarakt (grauer Star) und Entzündungen (Rheuma, Allergien) [Hartig, 2004].

Da Schutzmechanismen durch Enzyme im Alter generell rückläufig sind [Fabian et al., 2012; Reichl, 2002], untersucht die vorliegende Arbeit die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme (Superoxiddismutase, Gluthation und Katalase) vor und nach einer Sport- und Ernährungsintervention.

2 Literaturübersicht

2.1 Freie Radikale

Radikale sind reaktionsfähige Moleküle (siehe Tabelle 1), und Reactive Oxygen Species (ROS) greifen viele Substrate des Organismus an. Es handelt sich bei Radikalen um molekularen Sauerstoff, welcher nach der Struktur ein Diradikal ist. Wenn diese Radikale zwei Wasserstoffionen aufnehmen, dann entsteht daraus Wasserstoffperoxid. Wasserstoffperoxid (H_2O_2) ist ein Zellgift und wird regelmäßig aus dem Superoxid-Anion gebildet. Das Superoxid-Anion wird normalerweise sehr schnell von der Superoxiddismutase (SOD) zu H_2O_2 katalysiert und damit sterilisiert. Die Enzyme, die H_2O_2 katalysieren können, sind Oxidasen und Peroxidasen. Diese Enzyme benutzen H_2O_2 als Oxidationsmittel, um andere Substrate zu oxidieren. Substrate, die durch Radikale angegriffen werden können, sind die Vitamine A, C, E sowie ungesättigte Fettsäuren in Membranlipiden. [Karlson et al., 2005; Silverthorn, 2009].

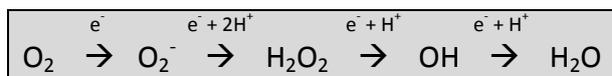


Abbildung 1: Reduktion von molekularem Sauerstoff
modifiziert nach: [Siems et al., 2005]

Radikale (siehe Tabelle 1) können folgendes bewirken: Oxidation von ungesättigten Fettsäuren, Depolymerisation von Kollagen, Denaturierung von Enzymen, Lyse von Erythrozyten, Zerstörung von Mukopolysacchariden der Synovialflüssigkeit und Zerstörung von Proteinstrukturen (Erhöhung der Allergenizität) und die Beteiligung bei der Entstehung von Tumoren (siehe Tabelle 2) [Reichl, 2002].

Formel	Bezeichnung
OH^\bullet	Hydroxyl-Radikal
$^1\text{O}_2$	Singulett-Sauerstoff
HO_2^\bullet	Hydroperoxyl-Radikal
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Superoxid-Radikal
RO^\bullet	Alkoxy-Radikal
ROO^\bullet	Peroxy-Radikal
H_2O_2	Wasserstoffperoxid

Tabelle 1: Reaktive Sauerstoffspezies (Reihenfolge: abnehmende Reaktivität) modifiziert nach: [Siems et al., 2005]

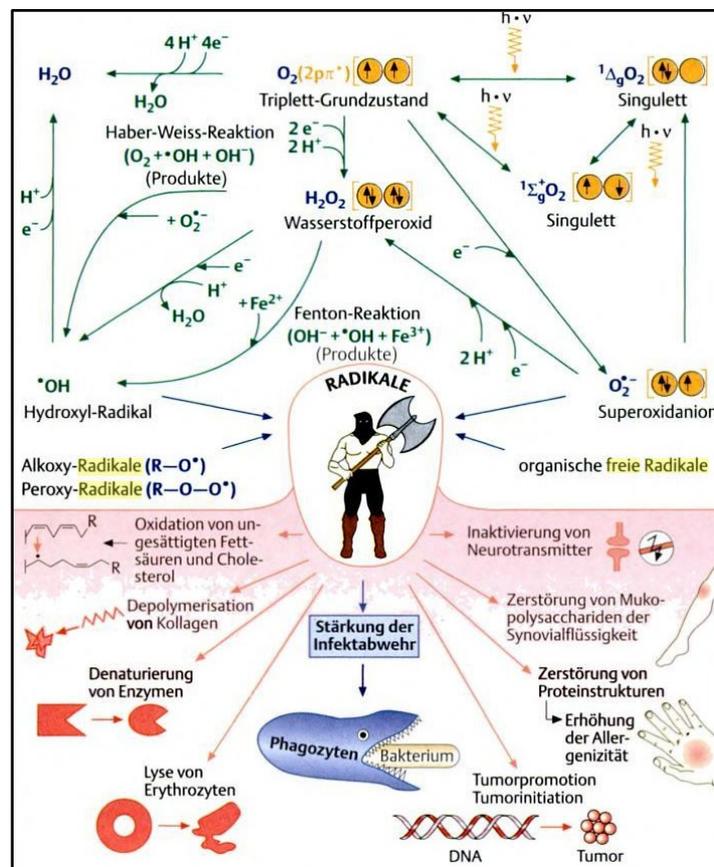


Abbildung 2: Radikale: Entstehung und Auswirkung [Reichl, 2002]

2.2 Oxidativer Stress

Während des gesamten Lebens ist unser Organismus Sauerstoff ausgesetzt. Ohne Sauerstoff wäre für aerobe Lebewesen kein Leben möglich, andererseits hat Sauerstoff einen negativen, oxidierenden Einfluss auf den Organismus. Im

Stoffwechsel entstehen auf endogene Weise ROS bzw. freie Radikale. Es entstehen bis zu drei Prozent ROS in den Mitochondrien durch den aeroben Stoffwechsel [Jacobi et al., 2004; Plasmatis, 2013]. ROS und Peroxide entstehen in den Erythrozyten beim Transport von Sauerstoff. Diese bewirken eine Oxidation der Proteine, sowie der Plasma- und Organellmembran der Erythrozyten [Brandenburger und Bajorat, 2006; Cutler und Rodriguez, 2003].

Neben der bereits erwähnten endogenen ROS Bildung gibt es noch die exogene ROS Bildung. Hierzu zählen:

- Nahrungsbestandteile, Umwelttoxine oder Medikamente
- UV-Strahlung und ionisierende Strahlung [Jacobi et al., 2004].

Oxidativer Stress ist für eine Reihe von Krankheiten mitverantwortlich: Tumore, Alterungsprozesse, Arteriosklerose, Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), Katarakt (grauer Star) und Entzündungen (Rheuma, Allergien) [Hartig, 2004].

Im Laufe der Evolution haben sich im Organismus einige Schutzsysteme gebildet. Diese Schutzsysteme arbeiten einerseits präventiv und andererseits reparierend (siehe Abbildung 3) [Jacobi et al., 2004].

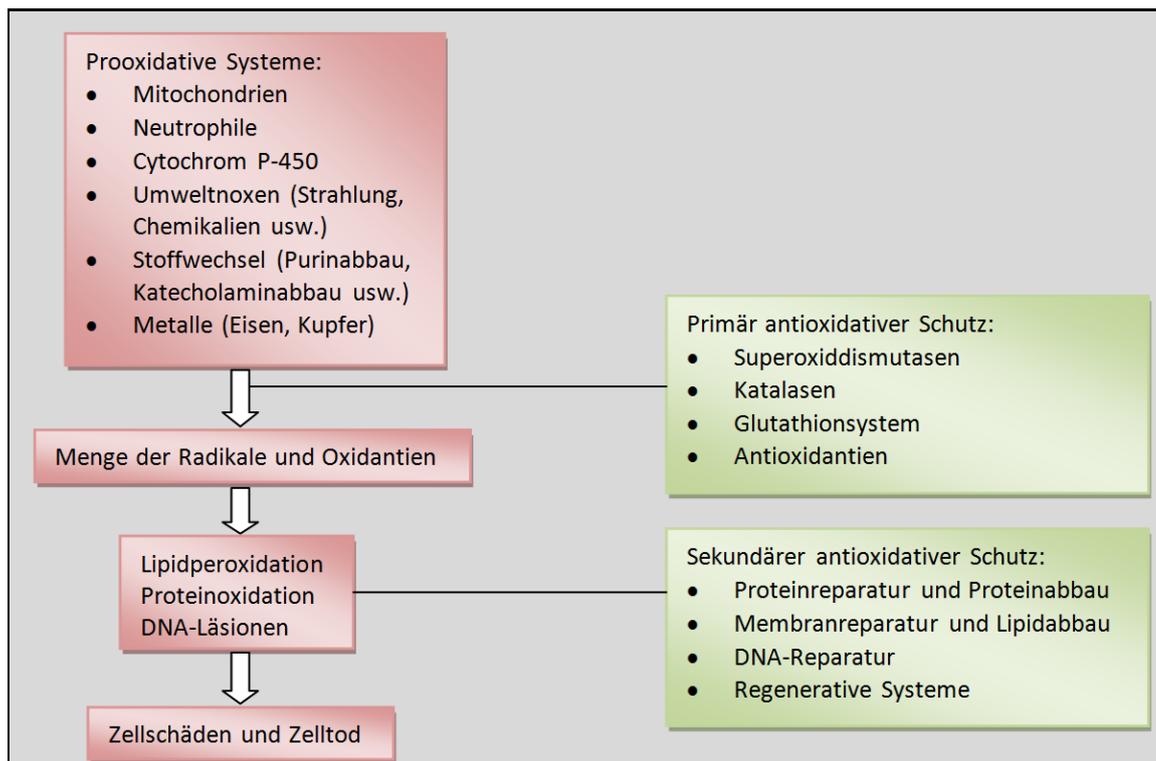


Abbildung 3: Wirkung von anti- und prooxidativen Systemen
modifiziert nach: [Jacobi et al., 2004]

2.2.1 Oxidativer Stress durch Sport

In einigen Studien wurde gezeigt, dass ROS durch Sport in den Skelettmuskeln und im Herzgewebe steigen [L. Ji, 1999].

Kumar et al. [Kumar et al., 1992]. zeigten, dass die ROS im Herz von Ratten nach einigen Tagen Training ansteigen. Bejma und Ji demonstrierten, dass die ROS durch ein umfangreiches Training in der Oberschenkelmuskulatur von Ratten signifikant ansteigen. Weiterführend stiegen auch die ROS im Herzgewebe an, allerdings bei älteren Ratten [Bejma und Ji, 1999].

Die oben aufgezählten Studien unterstützen die These, dass durch Sport die ROS in der Skelettmuskulatur sowie in der Herzmuskulatur ansteigen können. Der Anstieg stellt sich im Herzmuskel jedoch geringer dar bzw. zeigt er sich nur in höherem Alter. Allerdings sind ROS in den oben genannten Studien immer nach dem Training gemessen worden. ROS während dem Training sind nicht bekannt [L. Ji, 1999].

Die meisten Studien zeigen, dass eine akute sportliche Belastung die CuZnSOD eher aktiviert als die MnSOD. Die Aktivierung der SOD erfolgte durch die vermehrte Produktion des Superoxid-Anions durch die sportliche Belastung [L. Ji, 1993].

Einige Studien zeigten, dass es nach akuten sportlichen Belastungen zu keiner Veränderung des Enzyms GSH-Px kommt. Andere Studien demonstrierten das Gegenteil. Weiterführend wurde beobachtet, dass die Aktivität der GSH-Px im Herzgewebe ansteigt. Die Aktivität der GSH-Px in den Muskelfaser soll ebenfalls nach akuter Belastung ansteigen [L. Ji, 1999].

In den meisten Studien wurde kein Anstieg der Aktivität der CAT beobachtet. Es gibt aber auch Ausnahmen. In einem Versuch konnte in Ratten ein signifikanter Anstieg der Aktivität der CAT in den Muskeln nach einer starken Belastung, hervorgerufen durch einen Kampf, gezeigt werden [L. Ji et al., 1992].

Es ist bekannt, dass Sport gut für die Gesundheit und das Wohlbefinden ist. Außerdem schützt Sport vor Krankheiten. Jedoch kann Sport auch einen erhöhten oxidativen Stress für den Organismus bedeuten und die Balance zwischen Prooxidantien und Antioxidantien stören [L. Ji, 1999].

Durch Ausdauertraining wurde eine signifikante Reduktion der Aktivität der GSH-Px in Ratten im Unterschenkel identifiziert [Leeuwenburgh et al., 1997]. Regelmäßiges Schwimmtraining bewirkte eine Abnahme der Aktivität der GSH-Px [Leichtweis et al., 1997]. In einigen Studien jedoch wird Ausdauertraining mit der Steigerung der GSH-Px bei Hunden assoziiert [L. Ji, 1999].

Bei physisch gut trainierten Menschen oder Tieren wurde beobachtet, dass Gluthation im Plasma und in den Erythrozyten durch sportliches Training signifikant ansteigt [Robertson et al., 1991].

Als eine Art Langzeit-Strategie des Organismus besteht die Möglichkeit, dass Zellen die de novo Synthese für Enzymsysteme aktivieren, um den oxidativen Stress zu reduzieren [L. Ji, 1999]. Nach dem Training steigt die SOD-Aktivität signifikant im Skelettmuskel an. Regelmäßiges Schwimmen erhöht ebenfalls die Aktivität der SOD in der Membran und im Herzgewebe [L. Ji, 1999].

SOD und CAT reagieren recht schnell auf körperliches Training im Gegensatz zu GSH-Px. Das könnte der Grund sein, warum man erheblich mehr Training

benötigt um eine dementsprechende Steigerung der Aktivität der GSH-Px zu messen als bei der SOD und CAT [Remacle et al., 1992].

Neubauer et al. (2008) führten eine Studie zum Thema „Oxidativer Stress bei Extrembelastungen“ durch. Bei dieser Studie wurden 48 männliche Athleten untersucht, von denen 42 Athleten die Studie beendeten. Die Athleten nahmen an einem Ironman Wettbewerb teil. Bei dem Begriff Ironman handelt es sich um die gängige Bezeichnung für die längste ausgetragene Langstrecken-Distanz im Triathlon auf kommerzieller Basis (3,86 km Schwimmen, 180,2 km Radfahren und 42,195 km Laufen). Die Messungen wurden vor dem Wettbewerb, direkt nach dem Wettbewerb, einen Tag nach dem Wettbewerb, fünf Tage nach dem Wettbewerb und 19 Tage danach durchgeführt. Bei der SOD und der CAT kam es zu einer signifikanten Abnahme der Aktivität direkt nach dem Wettbewerb. Bei der GSH-Px konnte keine signifikante Veränderung festgestellt werden. Diese Beobachtung deckt sich auch mit der Beobachtung in den anderen bereits diskutierten Studien. Zu einer Abnahme der Aktivität der SOD und der CAT nach dem Rennen kam es, im Unterschied zu anderen Studien, weil hier die Ausgangssituation eine andere war. Alle Probanden waren schon vor dem Wettbewerb gut durchtrainiert und schon einen Tag nach dem Rennen hat sich die Aktivität von der SOD wieder normalisiert. Bei der Katalase dauerte es fünf Tage, bis die Werte wieder Basisniveau erreichten [Neubauer et al., 2008].

Die Anpassungsfähigkeit der enzymatischen Antioxidantien ist vom Fasertyp des Skelettmuskels abhängig. Deutlichere Trainingseffekte lassen sich somit in den oxidativen Muskelfasern beobachten. Diese weisen jedoch auch eine höhere Produktion von ROS auf. Ebenfalls konnte beobachtet werden, dass die enzymatische Aktivität von SOD, CAT und GSH-Px nur schwach mit der Menge an vorliegendem Enzymprotein korreliert. Diese Beobachtung deutet auf eine posttranslational lokalisierte Regulation der Schutzsysteme hin [Ji und Li, 2008; Powers und Lennon, 1999].

Zusammengefasst sind die Enzyme SOD, CAT und GSH-Px der primäre Schutz gegen ROS. ROS steigen während des Trainings an und die Enzyme katalysieren ROS. Die Aktivität der Enzyme SOD, CAT und GSH-Px steigen somit ebenfalls während dem Training an. GSH-Px benötigt mehr Training als

SOD und CAT, damit die Aktivität steigt. Dies bestätigen Studien an Tier und Mensch.

2.3 Antioxidative Schutzsysteme

2.3.1 Nichtenzymatische Antioxidantien

Da bei dieser Arbeit ausschließlich enzymatische Antioxidantien untersucht werden, werden die nichtenzymatischen Antioxidantien nur kurz erwähnt.

Zu den wichtigsten nichtenzymatischen Antioxidantien zählen: Vitamin C, E, β -Carotin, Bilirubin, Harnsäure und Metall-Chelat-Komplexe (siehe Tabelle 2). Diese Antioxidantien werden in wasserlöslich und fettlöslich unterteilt. Sauerstoffradikale werden durch die eben erwähnten Antioxidantien abgefangen und unschädlich gemacht [Löffler et al., 2006].

wasserlösliche Antioxidantien		Fettlösliche Antioxidantien	
Antioxidantien	Plasmakonz. (μM)	Antioxidantien	Plasmakonz. (μM)
Vitamin C	30 – 150	Vitamin E	20 – 45
Glutathion	1 – 2	α -Carotin	0,05 – 0,1
Bilirubin	5 – 20	β -Carotin	0,3 – 0,6
Harnsäure	160 – 450	Lykopin	0,5 – 1,0
		Lutein	0,1 – 0,3
		Zexanthin	0,1 – 0,2
		Ubiquinol-10	0,4 – 1,0

Tabelle 2: nicht enzymatische Antioxidantien
modifiziert nach: [Watzl und Leitzmann, 2005]

2.3.2 Enzymatische Antioxidantien

Bevor ROS wichtige Biomoleküle zerstören können, gibt es eine Reihe von Mechanismen, um diese unschädlich zu machen: enzymatischen Antioxidantien: SOD, CAT und GSH-Px (siehe Abbildung 4) [Löffler et al., 2006].

Durch das Enzym SOD können Superoxidanionen in H_2O_2 dismutiert werden. Allerdings ist auch H_2O_2 als Zellgift sehr reaktiv. Durch die Enzyme GSH-Px oder CAT wird H_2O_2 in H_2O überführt [Häge, 2006; Klinke und Bauman, 2009].

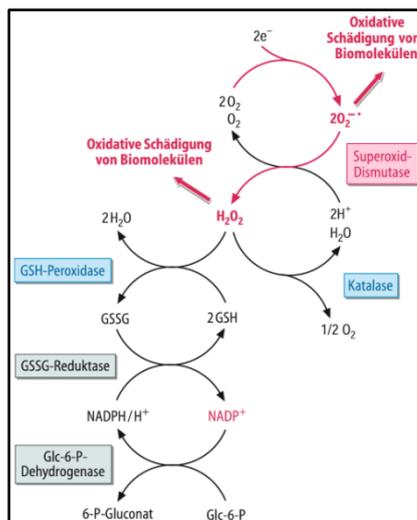


Abbildung 4: enzymatische Antioxidantien
[Löffler et al., 2006]

2.3.2.1 Superoxiddismutase (SOD)

Für Eukaryonten gibt es zwei typische SOD-Typen und zwar die mitochondriale manganabhängige (MnSOD) und die cytosolische kupferzinkabhängige SOD (CuZnSOD). Beide sind für die Entgiftung des reaktionsfähigen O₃^{•-}-Radikals zuständig. Dies erfolgt durch die physiologische Erhöhung des pH-Wertes. Bei diesem Vorgang entstehen H₂O₂ und O₂ [Häge, 2006; Siems, 2005]:



[Gropper et al., 2009]

Durch SOD wird die Konzentration von O₃^{•-} in der Zelle auf unter 10⁻¹¹ mol/l gehalten. Ohne diesen Mechanismus würde die Haber-Weiss-Reaktion einsetzen unter Bildung des toxischen OH[•]-Radikals [Siems, 2005].

Um den vollen Funktionsumfang von der SOD zu gewährleisten, ist vor allem die Zinkversorgung wichtig. Durch einen Mangel an Zink ist der Mechanismus stark eingeschränkt. Darum wird Zink auch zu den antioxidativen Spurenelementen gezählt [Van Den Berg, 2005].

2.3.2.2 Glutathion-Peroxidase (GSH-Px)

Die GSH-Px akzeptiert mehrere Substrate (H_2O_2 , Peroxide und Hydroperoxide) und gewinnt daher eine zentrale Bedeutung bei oxidativem Stress. Wie bei der CAT wird H_2O_2 zu H_2O katalysiert [Häge, 2006; Siems, 2005]:



[Gropper et al., 2009]

Es gibt die selenabhängige und die selenunabhängige Form. In der Leber und in den Erythrozyten besitzt die GSH-Px die höchsten Aktivitäten. Sie ist zu dreißig Prozent in den Mitochondrien und zu siebenzig Prozent im Cytosol vorhanden. In-vivo und in-vitro Studien haben ergeben, dass ein Mangel an dem Spurenelement Selen mit einer Reduktion der GSH-Px korreliert. Es wird angenommen, dass Selen die Kapazität der DNA-Reperaturmechanismen erhöht und damit die Zellmitose verzögert. [Siems, 2005].

2.3.2.3 Katalase (CAT)

Bei der CAT handelt es sich um ein Hämprotein, das im tierischen Organismus in Peroxisomen vorliegt. Die CAT reguliert neben der GSH-Px die intrazelluläre H_2O_2 -Konzentration, diese liegt zwischen 10^{-9} und 10^{-7} mol/l [Horn, 2009; Siems, 2005]:



[Gropper et al., 2009]

Die Oxidation des FeO^{3+} -Komplexes kann auch durch andere organische Komponenten erfolgen. Die Aufgabe der CAT liegt in der Entgiftung hoher H_2O_2 -Konzentrationen. Diese Gifte entstehen vor allem durch die Metabolisierung von Medikamenten [Siems, 2005].

2.3.2.4 Zusammenspiel von GSH-Px und CAT

Das durch die SOD entstandene H_2O_2 kann entweder durch die GSH-Px oder durch die CAT entgiftet werden. GSH-Px und CAT sind zwar grundsätzlich für die gleiche Aufgabe zuständig, sie unterscheiden sich jedoch durch den Wasserstofflieferanten. Bei der CAT stammt der Wasserstoff aus einem zweiten H_2O_2 Molekül. Die am weitesten verbreitete Peroxidase im Körper ist die CAT. Der Wasserstoff der GSH-Px stammt hingegen aus der Oxidation von reduziertem Gluthation zu Gluthation-Disulfid. GSH-Px und CAT sind sehr ähnlich aufgebaut, beide enthalten Häm als Coenzym. Selen ist aber nur in der GSH-Px enthalten [Davidson und Sittman, 1999; Horn, 2009].

3 Material und Methoden

3.1 Forschungsplattform „Active Ageing“

Bei „Active Ageing“ handelt es um eine Forschungsplattform der Universität Wien. Es wird untersucht wie sich eine Bewegungs- und Ernährungsintervention auf verschiedenste Parameter von Wiener Pensionisten(innen) auswirkt. Es handelt sich um eine Kooperation der Fakultät für Lebenswissenschaften mit dem Zentrum für Sportwissenschaften. Zu „Active Ageing“ werden und wurden zahlreiche Master-, Diplom und Doktorarbeiten durchgeführt.

3.1.1 Studienziel

Ziel der vorliegenden Masterarbeit ist es, die Auswirkungen von einer Trainings- und Ernährungsintervention auf den Verlauf der Aktivität der Antioxidations-Enzyme von Wiener Pensionisten(innen) zu drei verschiedenen Zeitpunkten zu untersuchen.

3.1.2 Studiendesign

Die vorliegende Studie wurde als randomisierte, Beobachter-Blinde Interventionsstudie durchgeführt. Es gab drei Parallelgruppen: Bewegungsintervention, Kognitionsgruppe und eine kombinierte Bewegungs- und Ernährungsintervention. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Stadt Wien genehmigt.

3.1.2.1 Probanden

Mittels Poster und Informationsblättern wurde in den Häusern des Kuratorium Wiener Pensionisten Wohnhäuser (KWP) für das „Active Ageing“ Projekt um Teilnehmer geworben. Interessierte Pensionisten(innen) wurden zu einer Informationsveranstaltung eingeladen. Eine weitere Veranstaltung sollte die Detailfragen klären. Nach Bewertung der potenziellen Probanden(innen) anhand der festgelegten Ein- und Ausschlusskriterien (ärztliche Untersuchung) unterzeichneten die Probanden(innen) eine Einwilligungserklärung. Die Zuteilung zu den drei Gruppen:

- Trainingsgruppe

- Trainings- und Ernährungsgruppe
- Kognitionsgruppe

erfolgte randomisiert.

In Tabelle 3 sind die Probanden nach Gruppen und in Tabelle 4 sind die Studienteilnehmer nach dem Alter aufgeschlüsselt. Es wurde keine Unterteilung nach Geschlecht vorgenommen, weil die Studienteilnehmer entsprechend der Geschlechtsverteilung in dieser Altersklasse diesbezüglich sehr ungleich verteilt waren (9 Männer, 65 Frauen). Die Probandenzahl bei der vorliegenden Studie beträgt 74 bei T2. Das Alter sowie die Versuchsgruppen waren bei der Untersuchung der Blutproben verblindet. Die Verblindung wurde nach dem Abschluss der Blutuntersuchung aufgehoben.

Versuchsgruppe	Anzahl der Probanden	männlich	weiblich	Alter in Jahren (MW ± SD)
kognitive Gruppe	24	2	22	84,4 ± 5,4
Trainingsgruppe	28	4	24	83,0 ± 5,2
Trainings- und Ernährungsgruppe	22	3	19	81,5 ± 7,7
Gesamt	74	9	65	82,9 ± 6,1

Tabelle 3: Einteilung der Probanden nach Gruppen (T2)

Alterskategorie	Anzahl der Probanden	männlich	weiblich	Alter in Jahren (MW ± SD)
65 bis 74 Jahre	8	1	7	71,0 ± 3,5
75 bis 84 Jahre	30	3	27	80,2 ± 2,6
85+ Jahre	36	5	31	87,8 ± 2,7
Gesamt	74	9	65	82,9 ± 6,1

Tabelle 4: Einteilung der Probanden nach dem Alter (T2)

3.1.2.2 Einschlusskriterien

- Männer und Frauen im Alter 65+
- Mini Mental State -Test (>23 Punkte)
- Fähigkeit eine 10m Strecke ohne Hilfsmittel zu gehen

- mindestens 4 Punkte bei der Short Physical Performance Battery (SPPB)

3.1.2.3 Ausschlusskriterien

- chronische Erkrankungen, die eine medizinische Trainingstherapie kontraindizieren
- schwerwiegende kardiovaskuläre Erkrankungen
- diabetische Retinopathie
- regelmäßiges Krafttraining (> 1x/Woche) in den letzten 6 Monaten vor Einschluss
- manifeste Osteoporose
- Antikoagulantia
- regelmäßige Einnahme Cortison-haltiger Medikamente
- fehlendes schriftliches Einverständnis zur Testung der körperlichen Leistungsfähigkeit.

3.1.2.4 Studienablauf

Die Studiendauer wurde für 1 ½ Jahre geplant. Im ersten halben Jahr fand das Krafttraining unter Anleitung von Sportstudenten(innen) zweimal in der Woche, je eine Stunde, statt. Im zweiten Halbjahr wurde nur noch eine Stunde in der Woche unter Anleitung trainiert und die zweite Stunde wurde selbstständig trainiert. Im dritten Halbjahr sollte das Training komplett autonom ablaufen. Das Trainingsausmaß war nach wie vor 2 Stunden in der Woche. Die Gruppe mit der zusätzlichen Ernährungsintervention bekam in den ersten sechs Monaten täglich zum Frühstück und nach jeder Trainingseinheit ein mit Protein und Vitamin angereichertes Getränk verabreicht.

Zu allen Untersuchungsterminen wurde folgendes ermittelt:

- anthropometrische Daten (Körpergröße und -gewicht)
- Muskelmasse (DXA – Dual Photon X-Ray)
- Körperliche Leistungsfähigkeit
- Krafttest
- Mundschleimhautabstriche
- Blut

- Urin
- 24-Stunden Ernährungsprotokoll
- Food-Frequency-Questionnaire
- Fragebogen für psychisches Wohlbefinden
- Fragebogen für gesundheitsbezogene Lebensqualität (SF-36)
- Fragebogen für den Ernährungsstatus (MNA)
- Fragebogen zum funktionellen Status (Barthel-Index)

Die vorliegende Masterarbeit behandelt die Erhebung zu Studienbeginn (T0) sowie das erste (T1) und zweite Follow-Up (T2). Diese Untersuchungen fanden drei Monate (T1) und sechs Monate (T2) nach der Erstuntersuchung (T0) statt (siehe Abbildung 5).

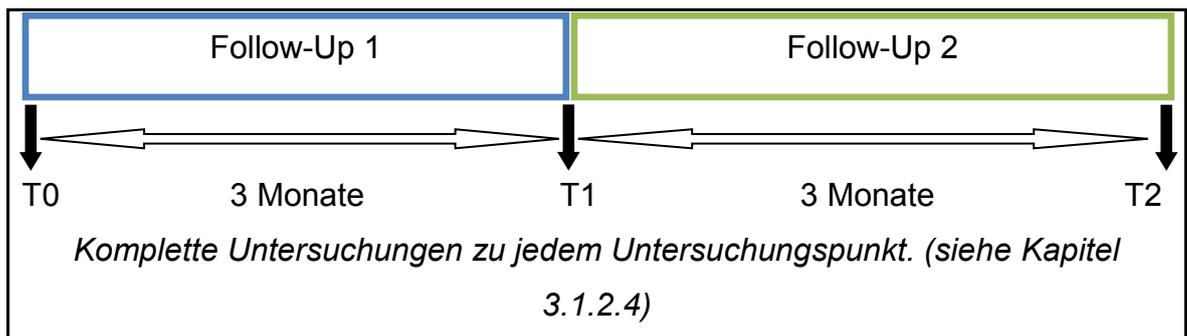


Abbildung 5: Zeitlicher Ablauf der Studie

3.1.2.5 Studienort – KWP

Alle Studienteilnehmer(innen) stammen aus dem KWP. Das KWP ist die größte Organisation seiner Art in Wien. Es werden ca. 9.000 Pensionisten(innen) in 31 Häusern betreut. Das durch die Stadt Wien geförderte KWP ist ein gemeinnützig geführter Fond. Die Pensionisten(innen) haben eigene Räumlichkeiten zum Wohnen zur Verfügung. Die Mahlzeiten (Frühstück, Mittagessen und Abendessen) werden durch das Haus zur Verfügung gestellt. Die Häuser des KWP sind mit ausreichend Räumlichkeiten zur Durchführung der Studie ausgestattet. Durch das Vorhandensein von genügend Räumlichkeiten konnte

das Krafttraining vor Ort stattfinden. Das hatte positive Auswirkungen auf die Compliance der Studie.

3.1.3 Bewegungsintervention

In der Bewegungsinterventionsgruppe wurde ein Krafttraining durchgeführt, das von Sportwissenschaftlern(innen) gestaltet wurde. Dieses Training fand zweimal in der Woche statt und dauerte jeweils eine Stunde. Im zweiten halben Jahr wurde nur noch eine Stunde unter Anleitung eines(r) Trainier(in)s trainiert, die zweite Einheit wurde selbstständig durchgeführt. Nach dem ersten Jahr, erfolgte dann das Training komplett autonom. Nach wie vor wurden zwei Einheiten zu je einer Stunde in der Woche trainiert.

Der Ablauf einer Trainingseinheit unterteilt sich in drei Abschnitte:

- Anfang (ca. zehn Minuten): Aufwärmen mit Koordinationstraining und Balancetraining
- Hauptteil (ca. 40 Minuten): sechs bis zehn Übungen für sechs unterschiedliche Muskelgruppen zu jeweils zwei Sätzen. Diese wurden acht bis zehn Mal bei 60-80 % des One Reptition Maximums (RM) wiederholt.
- Ende (ca. zehn Minuten): Entspannung und Abwärmen.

Für die Durchführung wurden nur ein Sessel und ein Theraband benötigt. Bei den Übungen handelte es sich um Stabilisationsübungen mit dem eigenen Körpergewicht und mit dem Theraband. Die Übungen wurden progressiv durchgeführt. Das heißt, es erfolgte eine Steigerung der Übung, indem man nach einer gewissen Zeit ein stärkeres Theraband benutzte.

3.1.4 Nahrungsintervention

Eine Gruppe bekam zusätzlich zur Bewegungsintervention eine Nahrungsintervention. Diese Probanden(innen) bekamen täglich ein spezielles Präparat zur Förderung der Muskelproteinsynthese verabreicht. Bei diesem Präparat handelte es sich um ein diätetisches Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke (ergänzende bilanzierte Diät) mit einer hohen Konzentration an Leucin und weiteren essentiellen Aminosäuren. Dieses

Lebensmittel wird zur Behandlung von Sarkopenie, dem altersbedingten Verlust von Muskelmasse, Muskelkraft und –funktion, eingesetzt. Das Präparat wurde von der Küche des Pensionistenheims zubereitet und verabreicht. Die Probanden(innen) bekamen dieses Präparat täglich zum Frühstück und zusätzlich nach jedem Training verabreicht.

Inhaltsstoff		Inhaltsstoff	
Physikalischer Brennwert	40,0 kcal	Kupfer	72,0 µg
Eiweiß	(55 %) 5,5 g	Jod	5,2 µg
Kohlenhydrate	(25 %) 2,5 g	Chrom	2,0 µg
Zucker	1,1 g	Mangan	0,1 mg
Fett	(18 %) 0,8 g	Molybdän	3,8 µg
gesättigte FS	0,2 g	Selen	4,0 µg
einfach unges. FS	0,4 g	Vitamine	
Mehrfach unges. FS	0,2 g	Vitamin A (RE)	40,0 µg
Ballaststoffe	(2 %) 0,3 g	Vitamin D3	5,2 µg
lösliche Ballaststoffe	0,3 g	Vitamin E (alpha-TE)	2,0 mg
Mineralstoffe		Vitamin K	3,0 µg
Natrium	40 mg	Vitamin C	8,4 mg
Kalium	74,4 mg	Thiamin	0,1 mg
Chlorid	18,4 mg	Riboflavin	0,1 mg
Calcium	133,2 mg	Niacin (NE)	0,7 mg
Phosphor	66,8 mg	Vitamin B6	0,2 mg
Magnesium	10 mg	Folsäure	53,2 µg
Spurenelemente		Panhotensäure	0,2 mg
Eisen	0,6 mg	Vitamin B12	0,8 µg
Zink	0,6 mg	Biotin	1,6 µg

Abbildung 6: Zusammensetzung Fortifit von Nutricia (pro Portion 40 g)
[Nutricia, 2013]

3.1.5 Kognitive Gruppe

Die kognitive Gruppe bekam zeitgleich zum Sporttraining ein Gedächtnistraining, bei dem hauptsächlich Rätsel gelöst wurden. Die kognitive Gruppe machte auch sämtliche Untersuchungen mit. So wurde die Motivation für die Probanden(innen) geschaffen, bei diesem Projekt mitzumachen. Des Weiteren wurde durch das Führen der kognitiven Gruppe verhindert, dass ein Sozialisationseffekt die Ergebnisse beeinflusst und verfälscht. Die Koordinationsübungen wurden von freiwilligen Ernährungswissenschaftler(innen) geleitet.

3.2 Blutaufarbeitung

Den Probanden von „Active Ageing“ wurde im nüchternen Zustand Venenblut entnommen. Dieses Blut wurde in mit Litium-Heparin- und EDTA- beschichteten Zentrifugenröhrchen abgenommen.

Für die enzymatischen Bestimmungen wurden die Proben dreimalig mit isotonischem Phosphatpuffer (siehe Kapitel 3.2.1) gewaschen. Den Proben wurde Phosphatpuffer zugesetzt und anschließend wurden sie zehn Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde insgesamt dreimal durchgeführt. Dadurch entstand eine Erythrozytensuspension im Verhältnis 1:1. Diese Suspension wurde in Cups pipettiert und mit Stickstoff begast. Zum Schluss wurden die Proben zur weiteren Verwendung für die Analysen bei -80 °C tiefgefroren.

Die Aufbereitung der Blutproben wurde durch einen technischen Mitarbeiter des Departments und Praktikanten durchgeführt. Die Referenzproben wurden von Herren Mare und mir hergestellt. Das Blut für die Referenzproben war eine Mischung aus Blut von Angestellten und Studierenden am Institut.

3.2.1 Herstellung des isotonischen Phosphatpuffers

Folgende Chemikalien werden für die Herstellung des Phosphatpuffers gebraucht:

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Dinatriumhydrogenphosphat	Fluka	71640
Natrium-EDTA	Riedel de Haën	27285
Natriumchlorid	Riedel de Haën	31434
Aqua dest.		

Tabelle 5: Chemikalien Phosphatpuffer

Herstellung des isotonischen Phosphatpuffers:

In ca. 950 ml Aqua dest. werden 1,42g Dinatriumhydrogenphosphat und 7,27g NaCl und 0,19g Natrium-EDTA gelöst. Anschließend wird der pH Wert mit 1N HCl eingestellt und auf ein Liter mit Aqua dest. aufgefüllt.

3.3 Bestimmung von enzymatischen Antioxidantien

3.3.1 Bestimmung der Superoxiddismutase in Erythrozyten

Diese Methode beruht auf der Fähigkeit des Enzyms SOD, die Autooxidation von Pyrogallol (1,2,3-benzenetriol) zu hemmen. Das Reagenz EDTA wird benötigt, um die Autooxidation zu beschleunigen. Der Tris-Puffer wird für die Einstellung der Proben auf pH acht benötigt, da die Reaktion nur in diesem pH-Bereich abläuft [Marklund und Marklund, 1974]. Die Reaktionsgleichung lautet:



[Gropper et al., 2009]

Die Aktivität der SOD bestimmt man, indem man fünf Proben und einen Leerwert mit steigenden Mengen an SOD herstellt. Bei 50-prozentiger Hemmung der Pyrogallolautooxidation ermittelt man die Probenkonzentration (= internationale Einheit (I.U.)).

3.3.1.1 Materialien und Geräte

Diese Reagenzien sind für die Bestimmung notwendig:

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Pyrogallol	Riedel de Haën	16040
Ethanol p.a.	Merck	38122583748
Chloroform	Merck	38408045805
Salzsäure 37%	Riedel de Haën	30721
Na-EDTA	Riedel de Haën	27285
Tris-HCl	Merck	5196306936
Aqua dest.		

Tabelle 6: SOD Reagenzien

Lösungen:

Die Pyrogallollösung muss an jedem Analysentag frisch hergestellt werden. Mit ausreichend Kühlung (Temperaturen unter dem Gefrierpunkt) kann man Sie jedoch auch länger verwenden. Maximal kann man die Lösung zwei Wochen verwenden.

Pyrogallol-Lösung: 126,11 mg Pyrogallol + 82 µl 37 % ige Salzsäure mit

destillierten Wasser auf 100ml auffüllen.

Tris-Puffer [1M]: 15,76 g Tris-HCl + 186 mg Natrium-EDTA in destilliertem Wasser lösen. Den pH-Wert mithilfe von 1N NaOH auf acht einstellen und mit destilliertem Wasser auf 100ml auffüllen

Geräte:

UV/VIS Photometer ATI Unicam UV 4

Software: ATI Unicam Vision 2.11

Wasserbad (25 °C)

Zentrifuge

pH-Meter

Vortexer

3.3.1.2 Durchführung

Es empfiehlt sich, immer maximal zwei Proben in einem Durchgang zu analysieren.

300 µl Erythrozytensuspension der Probe werden mit 450 µl destilliertem Wasser gemischt und danach gevortext. Dies wird gemacht, um eine Hämolyse herbeizuführen. Danach werden 500 µl dieser Verdünnung in ein Pyrexröhrchen pipettiert. Dazu werden 1 ml Ethanol p.a. und 0,6 ml Chloroform p.a. pipettiert. Diese Mischung wird eine Minute lang mit einem Vortexer gemischt und danach zwei Minuten lang stehen gelassen. Anschließend wird die Mischung zwei Minuten bei 3.500 U/min zentrifugiert.

Man erhält einen klaren Überstand. Dieser wird dann als Probe anhand dieses Schemas pipettiert:

Reagenz	Leerwert	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5
Tris-Puffer	100	100	100	100	100	100
Aqua dest.	880	840	820	780	730	680
Probe	0	40	60	100	150	200

Tabelle 7: SOD Pipettierschema (in µl)

Anschließend werden die Testansätze mit einem Vortexer gemischt und in ein Wasserbad (25 °C) gestellt, in dem sie dann zehn Minuten bei 320 nm inkubiert

werden. Danach wird jeder einzelne Testansatz in eine Mikroküvette gefüllt und im Photometer drei Minuten gemessen.

Es empfiehlt sich, im Anschluss an die SOD Bestimmungen im Anschluss eine Hämoglobin-Messung durchzuführen (Kapitel: 3.3.4).

3.3.1.3 Fehlerquellen bei der Durchführung

Besonders diese Methode ist sehr fehleranfällig bei Hitze. Es empfiehlt sich daher bei nicht zu heißen Temperaturen zu arbeiten bzw. nur in Räumen mit Klimaanlage zu analysieren. Außerdem ist darauf zu achten, dass man immer dieselben Pipetten verwendet, da diese, wenn auch nur geringfügig, variieren können. Laut Beschreibung braucht man den Tris-Puffer nicht an jedem Bestimmungstag extra herstellen. Die Erfahrung der Praxis hat aber gezeigt, dass die Extinktionen abnehmen, daher wurde der Tris-Puffer an jedem Bestimmungstag neu hergestellt.

3.3.1.4 Auswertung

Die SOD-Aktivität wird durch die Erstellung einer linearen Regressionsgeraden der fünf Proben und dem Leerwert ermittelt. Man eruiert die Probenmenge (ml) die bei einer 50%igen Hemmung der Autooxidation enthalten ist.

$$y = k * x + d \rightarrow$$

$$x = \frac{(y - d)}{k}$$

y = (ΔE /min)/2 des Probenleerwerts

k = Steigung der Konzentrationsgeraden einer Probe

x = Probenmenge bei 50%iger Hemmung der Pyrogallolautoxidation

d = Schnittpunkt der Konzentrationsgeraden einer Probe mit der y-Achse

Die Probenmenge x wird nun in folgende Formel eingesetzt:

$$A = \frac{GV}{(PV * x)}$$

A = Enzymaktivität

GV = Gesamtvolumen = 5,6 ml

PV = Probenvolumen = 0,5 ml

x = Probenmenge bei 50%iger Hemmung der Pyrogallolautoxidation

Für die Berechnung der Units ist der Hämoglobingehalt wichtig.

$$U / \text{g Hb} = \frac{(A * 100)}{\text{Hb [g/dl]}}$$

A = Aktivität der SOD

Hb = Hämoglobin, bei einem eingesetzten Probenvolumen im Verhältnis von 100 µl Erythrozytensuspension und 5 ml Hämoglobinreagenz ist Hb [g/l] = Extinktion * 7,354

U = Units ... Enzymmenge, bei der 50% der Pyrogallolautoxidation gehemmt werden

3.3.1.5 Qualitätssicherung

Der Intra-VK der Methode betrug: 2,60 %. Der Intra-VK wurde durch das Messen von zehnmal derselben Probe eruiert. Um die Analysegenauigkeit zu überprüfen, wurde an jedem Analysetag eine Referenzprobe analysiert. Es wurden 20 Referenzproben analysiert. Der Inter-VK betrug: 4,27 %.

3.3.2 Bestimmung der Glutathionperoxidase in Erythrozyten

Durch das Enzym Glutathionperoxidase (GSH-Px) wird die Reaktion von reduziertem GSH zu oxidiertem GSSG (Glutathion) in Anwesenheit von Hydroperoxyden (ROOH) katalysiert. In einem zweiten, NADPH-abhängigen Reaktionsschritt, wird die Glutathionreduktase (GR) in Anwesenheit von der GSH-Px wieder reduziert.



[Gropper et al., 2009]



Bei dieser Methode dient t-Butylhydroperoxid als Hydroperoxid. Gemessen wird bei dieser Methode die Abnahme der NADPH-Konzentration, die proportional zur Aktivität der Glutathionperoxidase ist [Beutler, 1963].

3.3.2.1 Materialien und Geräte

Folgende Chemikalien sind für die Bestimmung der GSH-Px erforderlich:

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Pyrogallol	Riedel de Haën	16040
Ethanol p.a.	Merck	38122583748
Chloroform	Merck	38408045805
Salzsäure 37%	Riedel de Haën	30721
Na-EDTA	Riedel de Haën	27285
Tris-HCl	Merck	5196306936
Aqua dest.		

Tabelle 8: GSH-Px Reagenzien

Lösungen:

Mit Ausnahme des Tris-Puffers müssen die Gebrauchslösungen an jedem Bestimmungstag neu hergestellt werden.

GSH-Lösung [0,1 M]: 61,46 mg Glutathion in 2 ml destilliertem Wasser lösen.

GR-Lösung [10U/ml]: 50 µl GR-Lösung in 2950 µl destilliertem Wasser lösen.

NADPH-Lösung 3,48 mg NADPH in 2ml destilliertem Wasser lösen.

[2mM]:

t-BHP-Lösung 20 µl t-BHP in 20ml destilliertem Wasser lösen.

[7mM]:

Tris-Puffer [1M]: 15,76 g Tris-HCl + 186 mg Natrium-EDTA in destilliertem Wasser lösen. Den pH-Wert mithilfe von 1N NaOH auf acht einstellen und mit destilliertem Wasser auf 100ml auffüllen

Geräte:

UV/VIS Photometer ATI Unicam UV 4

Software: ATI Unicam Vision 2.11

Wasserbad

pH-Meter

Vortexer

3.3.2.2 Durchführung

Zuerst muss ein Hämolytat hergestellt werden, indem man 100 µl der Erythrozytensuspension mit 900 µl Aqua dest. mischt.

Die Testansätze werden nach folgendem Schema pipettiert:

Reagenzien	Leerwert [μl]	Probe [μl]
Auqa dest.	670	660
Tris-Puffer	100	100
GSH	20	20
GR	100	100
NADPH	100	100
Probenhämolyolat	-	10

Tabelle 9: GSH-Px Pipettierschema

Nach dem Mischen werden die Testansätze zehn Minuten bei 37 °C inkubiert. Nachdem man 10 μl t-BHP pipettiert, erfolgt sofort die photometrische Messung bei 340 nm. Die Zeitspanne beträgt 90 Sekunden. Die Messung erfolgt gegen den Leerwert (Messergebnis: $\Delta E/\text{min}$).

3.3.2.3 Fehlerquellen bei der Durchführung

Auch für diese Bestimmung sollte man, wie bei der SOD, nur bei gemäßigten Temperaturen analysieren. Und ebenso wie bei der Bestimmung von der SOD ist darauf zu achten, dass man immer dieselben Pipetten verwendet, da diese, wenn auch nur geringfügig, variieren können. Laut Beschreibung muss der Tris-Puffer nicht an jedem Bestimmungstag extra hergestellt werden. Die Erfahrung der Praxis hat aber gezeigt, dass die Extinktionen abnehmen, daher wurde der Tris-Puffer an jedem Bestimmungstag neu hergestellt.

3.3.2.4 Auswertung

Um die spezifische Enzymaktivität zu eruieren, wird die Extinktionsabnahme pro Gramm Hämoglobin gemessen (Messung und Berechnung für Hämoglobin siehe Kapitel 3.3.4). Für die Berechnung ist das Lambert-Beer'sche Gesetz notwendig.

$$E = \varepsilon * c * d$$

E = Extinktion

ε = molarer Extinktionskoeffizient [$1/(\text{mol} \cdot \text{cm})$]

c = Konzentration oder Aktivität

d = Schichtdicke der Küvette [cm] = 1 cm

Unter Berücksichtigung des Volumens wendet man folgende Formel danach an:

$$A = \Delta E * V_c / (6,22 * V_h)$$

A = Aktivität der GSH-Px

ΔE = Extinktionsabnahme pro Minute

V_c = Gesamtvolumen der Küvette in ml (0,99 ml)

V_h = Volumen des Hämolyats (0,01 ml)

6,22 = molarer Extinktionskoeffizient [1/(mol.cm)] von NADPH bei 340nm

Die soeben berechnete Aktivität bezieht man nun auf den Hb-Gehalt:

$$\text{I. U./g Hb} = 100 * A / \text{Hb [g/dl]}$$

Hb = Hämoglobin, bei einem eingesetzten Probenvolumen von 100 μl und 5 ml

Hämoglobinreagenz ist $c \text{ [g/dl]} = E * 7,354$.

Achtung: Das Hämolyat für diese Bestimmung ist anders verdünnt wie das Hämolyat von der SOD Bestimmung. Daher muss der Hämoglobin Wert neu bestimmt werden (siehe Kapitel: 3.3.4).

3.3.2.5 Qualitätssicherung

Der Intra-VK der Methode betrug: 3,63 %. Der Intra-VK wurde durch das Messen von zehnmal derselben Probe eruiert. Um die Analysegenauigkeit zu überprüfen, wurde an jedem Analysetag eine Referenzprobe analysiert. Es wurden acht Referenzproben analysiert. Der Inter-VK betrug: 3,73 %.

3.3.3 Bestimmung der Katalase in Erythrozyten

Wie in der Formel unten veranschaulicht wird, katalysiert das Enzym CAT, Wasserstoffperoxid zu Sauerstoff und Wasser.



[Gropper et al., 2009]

Bei dieser Methode nach Aebi (1974) misst man die Abnahme von Wasserstoffperoxid, die mit der Reaktionsgeschwindigkeit proportional ist [Aebi, 1974].

3.3.3.1 Materialien und Geräte

Für diese Messung werden folgende Reagenzien benötigt:

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Wasserstoffperoxyd, 30%	Riedel de Haën	31642
Dinatriumhydrogenphosphat	Fluka	71640
Kaliumdihydrogenphosphat	Riedel de Haën	30407
Aqua dest.		

Tabelle 10: CAT Reagenzien

Lösungen:

Die Wasserstoffperoxydlösung muss an jedem Bestimmungstag hergestellt werden.

Phosphatpuffer [50 mM]: 2,7 g Kaliumdihydrogenphosphat +
4,3 g Natriumdihydrogenphosphat
in ca. 800 ml destilliertem Wasser lösen, mit NaOH
pH 7 einstellen und auf 1000 ml auffüllen.

H₂O₂ - Lösung [30mM]: 0,34 ml Wasserstoffperoxyd (30%) mit
Phosphatpuffer auf 100 ml auffüllen.

Geräte:

UV/VIS Photometer ATI Unicam UV 4

Software: ATI Unicam Vision 2.11

pH-Meter

Vortexer

3.3.3.2 Durchführung

Zuerst muss eine Hämolyse induziert werden, indem man 100 µl Erythrozytensuspension mit 500 µl Aqua dest. mischt. Kurz vor der Analyse werden 10 µl des Hämolysats mit 5 ml Aqua dest. nach folgendem Schema pipettiert:

Reagenzien	Leerwert [ml]	Probe [ml]
Phosphatpuffer	1	-
Hämolysat	2	2
H ₂ O ₂ -Lösung	-	1

Tabelle 11: CAT Pipettierschema

Sofort nach dem Mischen wird die photometrische Messung bei 240 nm für 30 Sekunden durchgeführt. Für jede einzelne Messung muss ein eigener Leerwert erstellt werden.

3.3.3.3 Fehlerquellen bei der Durchführung

Auch für diese Bestimmung sollte man, wie bei der SOD und der GSH-Px, nur bei gemäßigten Temperaturen analysieren. Und ebenso wie bei der Bestimmung von der SOD und der GSH-Px ist darauf zu achten, dass man immer dieselben Pipetten verwendet, da diese, wenn auch nur geringfügig, variieren können.

3.3.3.4 Auswertung

Für die Berechnung wird die Geschwindigkeitskonstante herangezogen, die auf die Enzymkonzentration Rückschlüsse zulässt.

$$k = 2,3 / t * \log (E1 / E2)$$

k = Geschwindigkeitskonstante der Gesamtreaktion [s^{-1}]

t = Messzeit [s]

E1 = Extinktion des Probenleerwerts (Zeitpunkt 0)

E2 = Extinktion nach 30 Sekunden

Die soeben berechnete Geschwindigkeitskonstante der Gesamtreaktion dividiert man nun durch den Hb-Gehalt (siehe Abbildung):

$$\text{I. U./g Hb} = 100 * k / \text{Hb [g/dl]}$$

Hb = Hämoglobin, bei einem eingesetzten Probenvolumen von 100 μl und 5 ml Hämoglobinreagenz ist $c \text{ [g/dl]} = E * 7,354$.

Achtung: Das Hämolysat für diese Bestimmung ist anders verdünnt wie das Hämolysat von der SOD Bestimmung. Daher muss der Hämoglobin Wert neu bestimmt werden (siehe Kapitel: 3.3.4).

3.3.3.5 Qualitätssicherung

Der Intra-VK der Methode betrug: 4,22 %. Der Intra-VK wurde durch das Messen von zehnmal derselben Probe eruiert. Um die Analysegenauigkeit zu überprüfen, wurde an jedem Analysetag eine Referenzprobe analysiert. Es wurden 22 Referenzproben analysiert. Der Inter-VK betrug: 3,88 %.

3.3.4 Bestimmung der Hämoglobin-Konzentration

Für alle drei in dieser Arbeit angeführten Enzymbestimmungen benötigt man die Hämoglobinkonzentration. Die Extinktion wird bei 546 nm gemessen [Kampen und Zijlstra, 1961]. Da das Hämolysat für jede Enzymbestimmung anders verdünnt ist, muss der Hämoglobin-Wert jedes Mal eigens bestimmt werden.

3.3.4.1 Materialien und Geräte

Für die Herstellung der Hämoglobinreagenz benötigt man folgende Reagenzien:

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Kaliumhexacyanoferrat	Merck	4973
Kaliumcyanid	Aldrich	20781-0
Aqua dest.		

Tabelle 12: Hämoglobin Reagenzien

Lösungen:

Hämoglobinreagenz: 198 mg Kaliumhexacyanoferrat + 49 mg Kaliumcyanid (GIFTIG!!) in destilliertem Wasser lösen und auf 1000 ml auffüllen.

Geräte:

UV/VIS Photometer ATI Unicam UV 4

Vortexer

3.3.4.2 Durchführung

Für einen Doppelansatz pipettiert man 100 µl des Erythrozytenhämolysats in fünf ml Hämoglobinreagenz. Für einen Einfachansatz pipettiert man jeweils die Hälfte, also 50 µl des Erythrozytenhämolysats in 2,5 ml Hämoglobinreagenz. Wenn man die Hämoglobinbestimmung gleichzeitig mit der SOD-Bestimmung durchführt, genügt ein Einfachansatz, da in diesem Fall die Referenzprobe gemessen wird. Wichtig ist auch hier das Mixen mit einem Vortexer. Anschließend wird die Lösung mindestens 30 Minuten stehen gelassen. Die Messung erfolgt mit einem Photometer bei 546 nm.

3.3.4.3 Auswertung

Um die Konzentration des Hämoglobingehalts zu berechnen benötigt man die Konstante 7,354, diese steht für ein Verhältnis von 100 µl Erythrozytensuspension und fünf ml Hämoglobinreagenz, d.h.: bei 50 µl Erythrozytensuspension und 2,5 ml Hämoglobinreagenz würde diese Konstante gleich bleiben. Diese Zahl leitet sich aus der Literatur ab. Dort ist die Konstante mit 36,77 angegeben, allerdings für 20 µl Erythrozytensuspension und fünf ml Hämoglobinreagenz, also genau das Fünffache.

$$c \text{ [g/dl]} = e * 7,354$$

c [g/dl] = Hämoglobin Konzentration

E = Extinktion (LW mit Wasser messen)

7,354 = diese Konstante ist zu verwenden, bei einem Verhältnis von 100 µl Erythrozytensuspension und 5 ml Hämoglobinreagenz

3.3.4.4 Qualitätssicherung

Der Intra-VK der Methode betrug: 2,17 %. Der Intra-VK wurde durch das Messen von zehnmal derselben Probe eruiert. Um die Analysegenauigkeit zu überprüfen, wurde an jedem Analysetag eine Referenzprobe analysiert. Es wurden 20 Referenzproben bei der Bestimmung von der SOD analysiert. Der Inter-VK betrug: 3,48 %.

3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit SPSS für Windows in der Version 19.0 durchgeführt. Die Daten wurden Ausreißer-bereinigt und mittels Kolgomorov-Smirnov-Test auf Normverteilung überprüft. Das Ergebnis dieses Tests versicherte, dass alle Daten normalverteilt waren. Anschließend wurde ein Mittelwertvergleich mittels T-Test für gepaarte Stichproben berechnet. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0,05$ festgelegt. Der Mittelwertvergleich der Enzym-Aktivität wurde mittels ANOVA zwischen den Altersgruppen zum Zeitpunkt von T0 durchgeführt.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Superoxiddismutase

4.1.1 Ausgangswerte der SOD-Aktivität

Im Ausreißer-bereinigten Gesamtkollektiv (n=68) schwankten die Ausgangswerte für die Aktivität der erythrozytären SOD von 1.595 bis 2.530 I.U./g Hb. Der Mittelwert betrug 2.078 ± 224 I.U./g Hb. Der Mittelwert fiel somit in den von Bogdanska et al. (2003) aufgestellten Referenzbereich von von 884 bis 2.119 I.U./g Hb für 18-59-jährige gesunde Männer [Bogdanska et al., 2003]. Da die vorliegende Studie aber hauptsächlich Frauen und vor allem Personen mit einem Durchschnittsalter von 83 Jahren behandelt, ist der Referenzbereich von Bogdanska et al. (2003) nur begrenzt anwendbar. Jedenfalls kann man in der vorliegenden Arbeit beobachten, dass die Aktivität der SOD mit dem Alter sinkt. Die Aktivitätsveränderungen waren jedoch nicht signifikant.

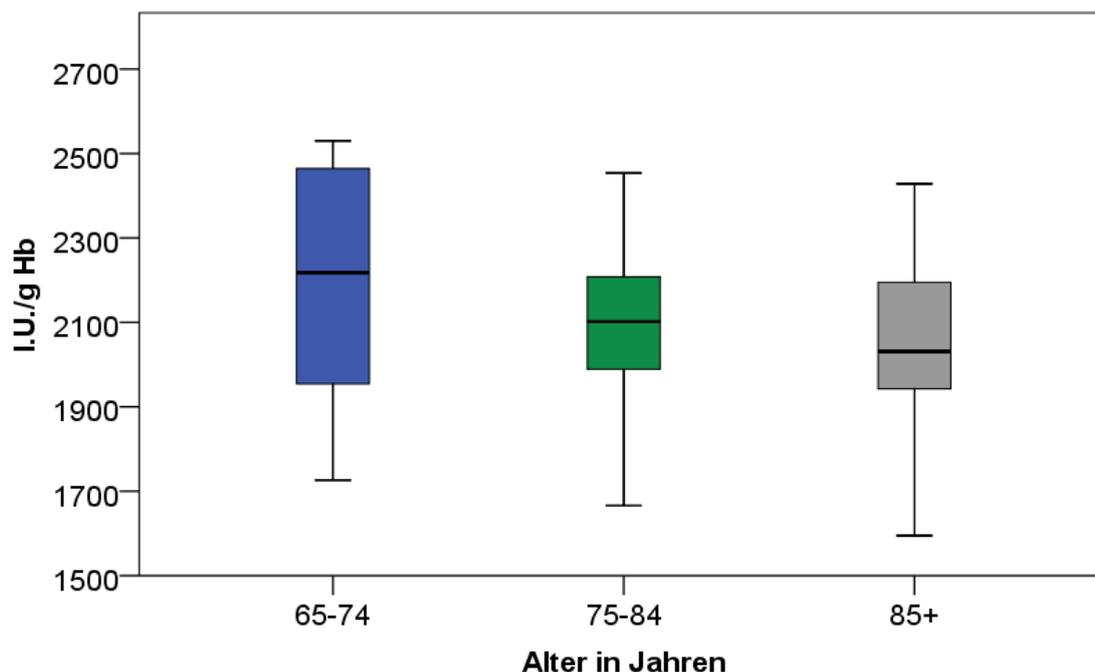


Abbildung 7: SOD: Altersspezifische Verteilung (T0)

Die Studie von Pepe et al. (2009) untersucht die Unterschiede der Aktivität des Antioxidantien-Status zwischen Mann und Frau nach einer sportlichen Belastung.

Für die sportliche Belastung wurde ein 800 Meter, ein 1.500 Meter und ein 3.000 Meter Lauf durchgeführt. Das Ergebnis zeigte, dass es keine signifikanten Unterschiede bei der Aktivität der SOD zwischen Männern und Frauen nach einer sportlichen Belastung gibt [Pepe et al., 2009].

Im Gegensatz zur vorigen Studie konnten Balog et al. (2006) einen Unterschied bei der Aktivität der SOD zwischen trainierten und untrainierten Männern und Frauen feststellen. In dieser Studie wurden die saisonalen Schwankungen des Antioxidantien-Status zwischen Männern und Frauen untersucht. Die kognitive Gruppe war eine Gruppe von untrainierten Probanden und die Interventionsgruppe bestand aus trainierten Probanden. Der größte Unterschied konnte zwischen untrainierten Männern und Frauen im Winter beobachtet werden. Hier hatten die Frauen einen geringeren oxidativen Schaden. Bei den trainierten Probanden konnte derselbe Effekt beobachtet werden, mit dem Unterschied, dass die Differenz zwischen Mann und Frau im Sommer beobachtet wurde. Den größten Einfluss auf den Schutz vor oxidativem Stress hatten die trainierten Männer also im Herbst und Winter und die Frauen im Sommer. In dieser Studie wurde außerdem der positive Einfluss von Sport auf einen geringeren oxidativen Schaden festgestellt [Balog et al., 2006].

Fabian et al. (2012) haben die Aktivität der SOD von älteren Leuten untersucht. Bei dieser Studie wurden die Studienteilnehmer in drei Alterskategorien unterteilt (70-74 Jahre, 75-79 Jahre und ≥ 80 Jahre). Der Mittelwert der Aktivität der SOD des Gesamtkollektivs betrug in dieser Studie 2.181 ± 281 I.U./g Hb. Der Mittelwert war also um fünf Prozent höher als in der vorliegenden Untersuchung, also sehr ähnlich. Ebenfalls ist in dieser Studie ein Trend des Rückgangs der Aktivität der SOD im Alter zu beobachten und diese Beobachtung deckt sich ebenfalls mit der vorliegenden Studie (siehe Abbildung 7) [Fabian et al., 2012].

In einer Studie von Gautam et al. (2012) wurde die Aktivität des Antioxidantien-Status von gesunden Probanden verglichen. Es wurde versucht, eine Korrelation zwischen oxidativem Stress und dem Alterungsprozess herzustellen. Bei dieser Untersuchung wurden die Probanden in fünf Alterskategorien unterteilt. Das Ergebnis war auch hier eine Abnahme der Aktivität der SOD mit fortlaufendem Alter [Gautam et al., 2012].

De und Darad (1991) haben in Ihrer Tierstudie ebenfalls einen Zusammenhang zwischen dem Alter und der Abnahme der Aktivität der SOD feststellen können [De und Darad, 1991].

Pansarasa et al. (1991) wollten mit Ihrer Studie den Nachweis erbringen, dass die ROS für das Altern des menschlichen Skelettmuskels verantwortlich sind. Bei den Probanden handelte es sich um Krankenhauspatienten. Das Alter der Probanden lag im Bereich von 17 und 91 Jahren. Es erfolgte eine Unterteilung in acht Altersgruppen. In der Altersgruppe der 66-75-Jährigen nahm die Aktivität von Total SOD signifikant ab, obwohl in der Gruppe der 76-85-jährigen die Aktivität von MnSOD signifikant anstieg [Pansarasa et al., 1999].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die SOD-Messungen saisonalen Schwankungen unterliegen. Es gibt verschiedene Aussagen zur Relevanz des Geschlechts bei dieser Antioxidantien-Messung. Die Messungen der vorliegenden Studie decken sich mit den anderen Studien insofern, dass die Aktivität der SOD mit dem Alter abnimmt. Der Wert der Aktivität der SOD ist bis auf fünf Prozent Unterschied vergleichbar mit dem Wert von Fabian et al. Der Mittelwert der Aktivität der SOD des Gesamtkollektivs fällt in den Referenzbereich von Bogdanska et al (2003).

4.1.2 Verlauf der SOD-Aktivität

4.1.2.1 Gesamtkollektiv

Nach dreimonatiger Sportintervention kam es bei T1 im Vergleich zu T0 im Gesamtkollektiv zu einer sehr geringen Steigerung der Aktivität der SOD. Eine signifikante Steigerung bei T2 im Vergleich zu T0 war nach sechsmonatiger Sportintervention zu beobachten. Die Steigerung betrug 4,41 % (siehe Abbildung 9). Im gesamten Verlauf der Intervention war also eine Steigerung der Aktivität der SOD im Gesamtkollektiv zu beobachten (siehe Abbildung 8).

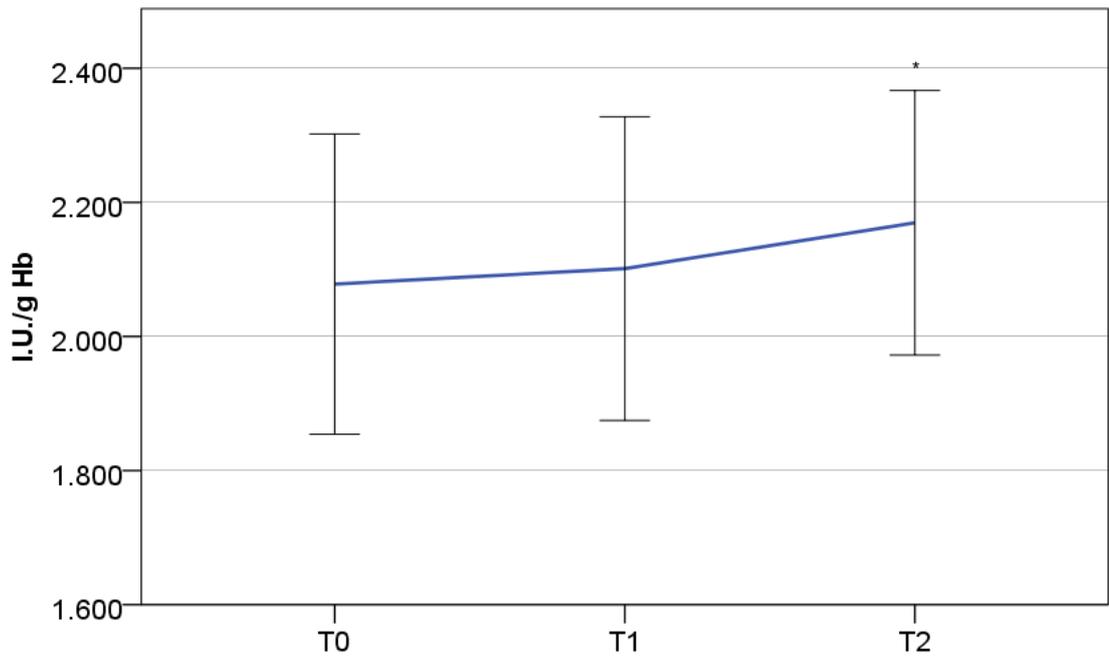


Abbildung 8: SOD: Verlauf der Aktivität des Gesamtkollektivs (T2 > T0, p < 0,05)

Yamamoto et al. (2003) haben in einer Tierstudie mit Ratten den Einfluss von Bewegung auf den Antioxidantien-Status untersucht. Die Resultate zeigten eine Korrelation zwischen sportlicher Aktivität und der Steigerung der Aktivität der Antioxidantien-Enzyme [Yamamoto et al., 2003].

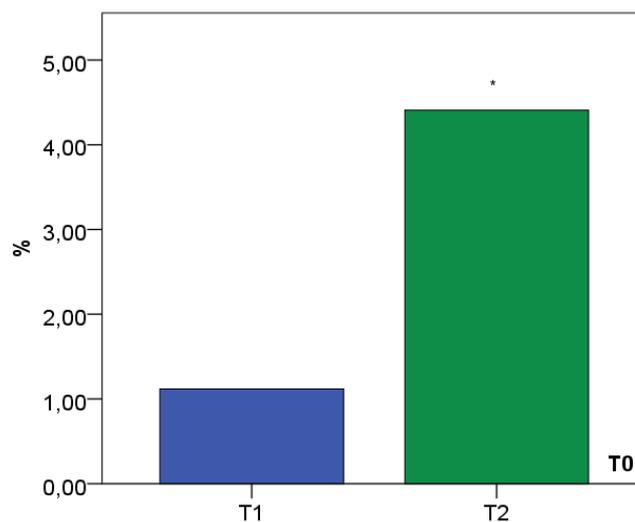


Abbildung 9: SOD: Aktivitätsveränderung des Gesamtkollektivs in Prozent im Vergleich zu T0 (T2 > T0, p < 0,05)

Elosua et al. (2003) untersuchten in einer Studie die Auswirkungen von sportlicher Aktivität auf die Aktivität der antioxidativen Enzyme. Es wurden 17 unспортliche gesunde junge Frauen und Männer rekrutiert. Die Probanden machten bei einem 16 wöchigen Aerobic Programm mit. Das Resultat zeigte, dass regelmäßige sportliche Betätigung die Aktivität der SOD nicht signifikant erhöht [Elosua et al., 2003]. Genau dieses Erkenntnis konnte auch in der vorliegenden Studie gewonnen werden.

Der Zweck der Studie von Shin et al. (2008) war es, die Veränderung des Oxidantien-Status und des Antioxidantien-Status durch körperliche Aktivität bei übergewichtigen Frauen im mittleren Alter zu bestimmen. Es nahmen 16 Frauen an dieser Studie teil. Die Unterteilung der Gruppen erfolgte in Interventionsgruppe und Kontrollgruppe. Die Interventionsgruppe nahm sechs Monate an einem Training teil. Die Interventionszeit ist also ident mit der vorliegenden Studie. SOD-Aktivitäten waren nach dem akuten Belastungstest höher als auf halber Intensität in der Nachtrainingszeit und ebenfalls höher als in der Vortrainingszeit. Die Conclusio war, dass die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme durch das langfristige Ausdauertraining erhöht war und damit kamen sie zur gleichen Schlussfolgerung wie die vorliegende Studie [Shin et al., 2008].

Ravi Kiran et al. (2004) untersuchten in ihrer Tierstudie die Auswirkungen eines Schwimmprogramms in verschiedenen Intensitätsstufen und Zeitspannen auf die antioxidative Kapazität im Myokard. Die Ratten waren 22 Monate alt. Die Mn-SOD wurde durch das Schwimmtraining signifikant erhöht. Diese Daten legen nahe, dass Schwimmtraining bei niedriger Intensität von 20 Minuten pro Tag vorteilhaft ist und eine wichtige schützende Anpassung vor oxidativem Stress hat [Ravi Kiran et al., 2004].

Das Ziel der Studie von Rinaldi et al. (2006) war es, die Auswirkungen eines langfristigen sportlichen Trainings auf Antioxidantien und Hitzeschockproteine zu eruieren. Es handelte sich um eine Studie mit Ratten. Die Gruppen wurden in Junge (sechs Monate alt), trainierte Alte und untrainierte Alte (jeweils zwei Jahre alt) unterteilt. Das Ergebnis zeigte, wie schon in den vorigen Studien, dass die Aktivität der SOD bei den alten Trainierten erhöht war [Rinaldi et al., 2006].

Abschließend ist zu sagen, dass die Ergebnisse der vorliegenden Studie, wie auch die der anderen Studie, zu einem ähnlichen Resultat kommen, nämlich, dass die Aktivität der SOD durch Sport erhöht wird. Es waren keine kontroversen Studien zu finden. Dies untermauert umso mehr die Signifikanz dieser Aktivitätssteigerung.

4.1.2.2 Interventionsgruppen

Nach dreimonatiger Sportintervention kam es bei T1 im Vergleich zu T0 in der Trainingsgruppe zu einer sehr geringen Steigerung der Aktivität der SOD. Eine signifikante Steigerung bei T2 im Vergleich zu T0 war nach sechsmonatiger Sportintervention in dieser Gruppe zu beobachten. Die Steigerung betrug 7,11 % (siehe Abbildung 11). Im gesamten Verlauf der Intervention war also eine Steigerung der Aktivität der SOD in der Trainingsgruppe zu beobachten (siehe Abbildung 10). Bei der Trainings- und Ernährungsgruppe verhielt es sich anders, hier war erst eine leichte Abnahme der Aktivität zu beobachten (von T0 zu T1) und danach eine nicht signifikante Steigerung um 2,74 % von T0 auf T2. Jedenfalls waren bei der Trainings- und Ernährungsgruppe keine signifikanten Veränderungen zu beobachten.

Bei der kognitiven Gruppe ist eine sehr geringe, nicht signifikante Steigerung der Aktivität der SOD von ca. 2,5 % von T0 auf T1 und von T0 auf T2 zu beobachten. Insgesamt kam es bei der Kognitionsgruppe bei keinem der drei Enzyme zu signifikanten Veränderungen (siehe dazu Kapitel 4.4, Tabelle 16).

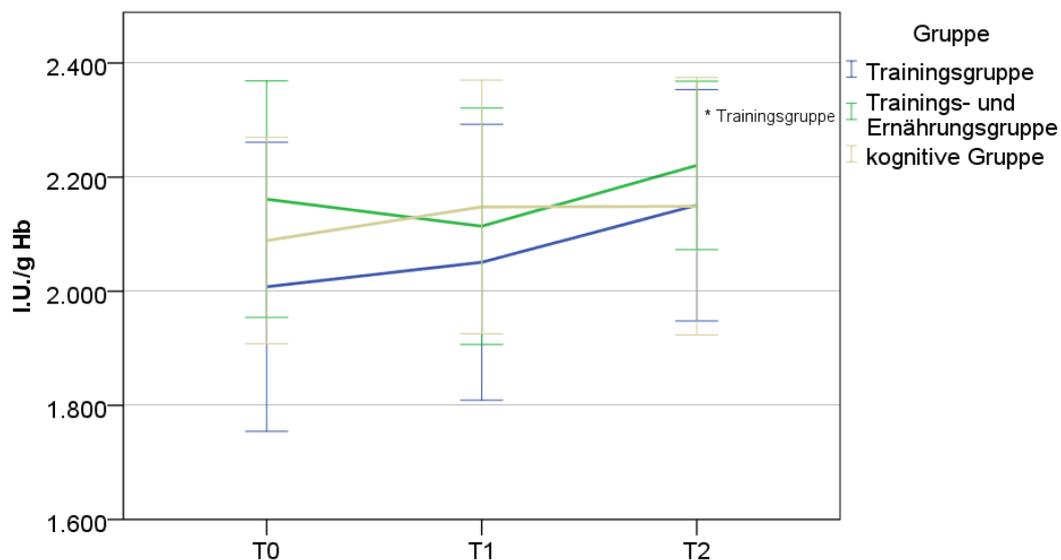


Abbildung 10: SOD: Verlauf der Aktivität der drei Gruppen (* signifikante Veränderung zu T0, $p < 0,05$)

Oxidative Schäden an Proteinen führen zu biologischen Funktionsstörungen wie eine gestörte Aktivität der Enzyme, Transportproteine und Rezeptoren. Salvi et al. (2001) untersuchten die strukturellen Schäden an Proteinen, die durch freie Radikale induziert wurden. Sie kamen zu dem Schluss, dass die Aktivität von Antioxidantien in Abwesenheit einer Proteinbindung mit der Konzentration an freien Radikalen korreliert. In der vorliegenden Studie konnte man das so interpretieren, dass die Ernährungsintervention (Proteine) einen Einfluss auf die Aktivität der Antioxidantien hat [Salvi et al., 2001].

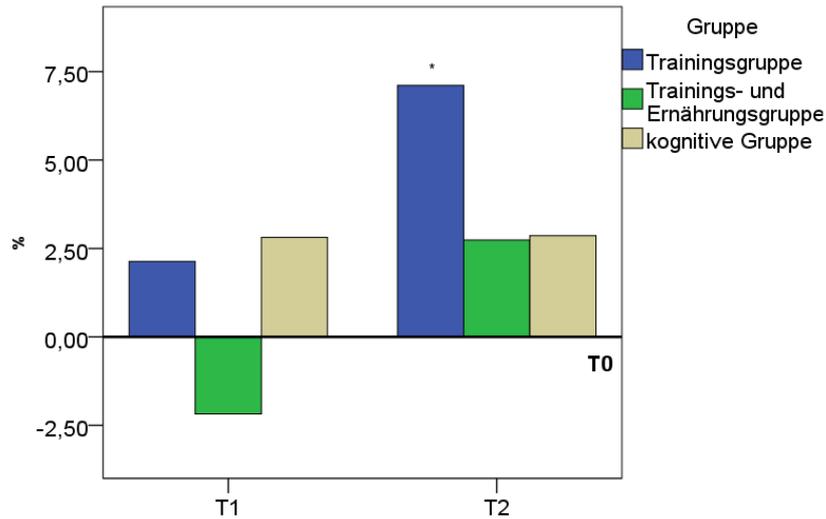


Abbildung 11: SOD: Aktivitätsveränderung der Interventionsgruppen in Prozent im Vergleich zu T0 (* signifikante Veränderung zu T0, $p < 0,05$)

Wie schon im Kapitel 4.1.1 erwähnt, konnten Balog et al. (2006) in ihrer Studie einen saisonalen Unterschied bei der Aktivität der SOD zwischen trainierten und untrainierten Männern und Frauen feststellen. Jedenfalls unterliegt die Aktivität der Enzyme von Antioxidantien saisonalen Schwankungen [Balog et al., 2006]. Zusammenfassend ist zu sagen, dass es mehrere Gründe für die gleichbleibende Schwächung der Aktivität der SOD in der Trainings- und Ernährungsgruppe gibt. Zuerst kann dies an der Messstreuung liegen. Der Variationskoeffizient lag bei der SOD 4,27 %. Zweitens können saisonale Schwankungen eine Rolle spielen und drittens spielen Proteine bei der Aktivität der Antioxidantien-Enzyme laut Salvi et al. (2001) eine Rolle. Der Verlauf der Aktivität der Antioxidantien-Enzyme der Trainingsgruppe entspricht der Grundhypothese, nämlich dass die Aktivität steigt.

4.1.3 Verlauf der SOD-Aktivität unterteilt nach Altersgruppen

Bei der Gruppe der 85+-Jährigen Pensionisten kam es als einzige Gruppe zu einer leichten Abnahme der Aktivität der SOD von T0 zu T1. Die größte Steigerung war bei den 65-74-jährigen Probanden zu beobachten und zwar von T0 auf T1 und von T0 auf T2. Es war in keiner Alterskategorie eine signifikante Veränderung zu beobachten. Die geringste Steigerung der Aktivität der SOD war bei den 85+-Jährigen zu beobachten (siehe Abbildung 13). Ein Grund für die

geringe Steigerung der Aktivität der SOD der 65-74-Jährigen könnte sein, dass Personen dieser Altersklasse meistens noch nicht lange im Pensionistenheim sind und viele Alltagstätigkeiten vor kurzem noch selbstständig durchgeführt haben. Insofern wären diese Probanden schon bei T0 trainierter. Ein Indiz dafür wäre unter anderem der höhere Ausgangswert bei T0.

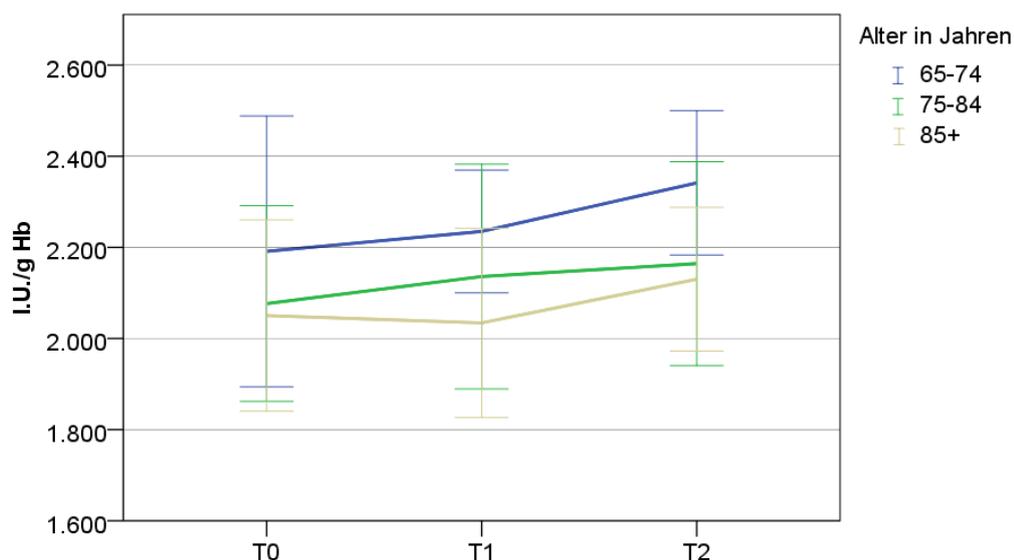


Abbildung 12: SOD: Verlauf der Aktivität der Altersgruppen

Wie schon in Kapitel 4.1.1 erwähnt, verringert sich die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme im Alter. Das konnten auch Fabian et al. (2012) beobachten. Diese Beobachtung kann auch in der vorliegenden Studie gemacht werden (siehe Abbildung 12). Der Median der 65-74-Jährigen liegt am höchsten, gefolgt von den 75-84-jährigen und den über 85+-Jährigen [Fabian et al., 2012]. Ein Grund für die leichte Abnahme der Aktivität der SOD bei den 85+-Jährigen von T0 zu T1 könnten Messungenauigkeiten und saisonale Schwankungen sein [Balog et al., 2006].

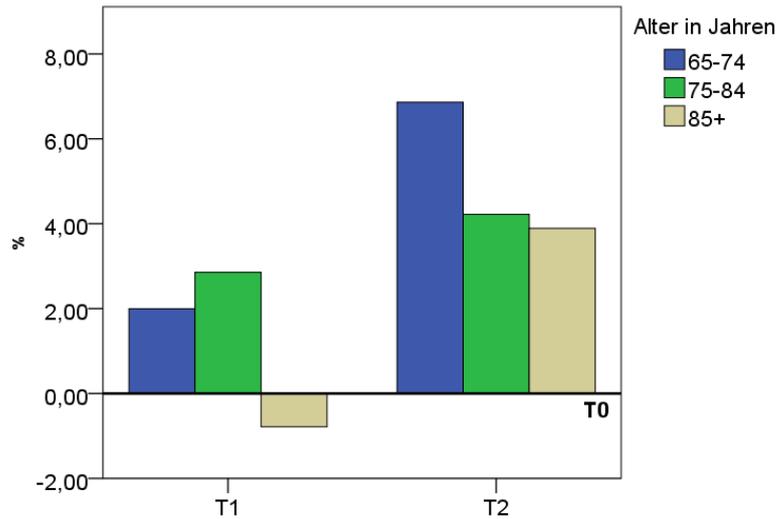


Abbildung 13: SOD: Aktivitätsveränderung der Altersgruppen in Prozent im Vergleich zu T0

Sfar et al. (2009) untersuchten in ihrer Studie die altersbedingte Veränderung von Zink, Kupfer und antioxidativen Enzymen. Die Probanden bestanden aus 100 gesunden älteren Tunesiern. Das Alter betrug zwischen 55 und 85 Jahren. Das Alter korreliert laut dieser und der hier vorliegenden Studie negativ mit SOD [Sfar et al., 2009].

In einer Studie von Kim et al. (1996) wurde die Auswirkung von regelmäßiger Bewegung und Nahrungsrestriktion auf den antioxidativen Status untersucht. Hierbei handelte es sich um einen Tierversuch mit Ratten. Die Intervention durch Nahrungsrestriktion und regelmäßiges Training dauerte 18,5 Monate. Das Ergebnis war dasselbe wie das der vorliegenden Studie. Durch die Intervention wurde die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme erhöht [Kim et al., 1996].

In einer Studie von Marosi et al. (2012) wurden die Vorteile von regelmäßiger Bewegung auf den Antioxidantien-Status erforscht. Bei dieser Studie handelte es sich um eine Studie mit 12 Monate alten Ratten. Die Bewegungsintervention wurde durch ein Laufband für die Nagetiere erreicht, welche sich täglich bei mäßiger Intensität bewegten. Die Bewegungsintervention dauerte 15 Wochen. Wie auch in der vorliegenden Studie konnte man eine Steigerung der Aktivität der SOD beobachten [Marosi et al., 2012].

Chang et al. (2007) untersuchte in seiner Studie die Interaktion von Vitamin E und Ausdauertraining auf oxidative Stress-Marker und Aktivitäten der

antioxidativen Enzyme in rotem Quadrizeps und weißem gastrocnemius von Ratten. 32 männliche Ratten wurden in folgende Gruppen unterteilt: Trainierte mit normalem Vitamin E Status, Trainierte mit Vitamin E-Mangel, Untrainierte mit normalem Vitamin E-Status und Untrainierte mit Vitamin E-Mangel. Die trainierten Ratten mussten sechs Stunden täglich, sechs Tage in der Woche, schwimmen. Die Schwimmintervention dauerte acht Wochen. Vor allem in den Gruppen mit Vitamin E-Mangel konnte eine Erhöhung der Aktivität der SOD festgestellt werden. Dies lässt darauf schließen, dass auch der Stress an exogen zugeführten Antioxidantien Auswirkungen auf die Messung der Aktivität der SOD hat [Chang et al., 2007].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Studien kaum Widersprüche aufweisen. Durch körperliche Bewegung steigt SOD. Nur Sohal et al. (1990) haben in ihrer Studie ein differenziertes Resultat, allerdings untersuchten sie die Aktivität der Enzyme in unterschiedlichen Organen und hier kam es durch das Alter einmal zu einer Steigerung und ein anderes Mal zu einer Senkung. Interessant ist auch die Studie von Chang et al. (2007), die Auswirkungen von Vitamin E-Mangel auf die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme gefunden hat. Demnach steigt die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme mehr, wenn ein Mangel an Vitamin-E vorliegt.

4.2 Katalase

4.2.1 Ausgangswerte der CAT-Aktivität

Die Ausreißer-bereinigten Ausgangswerte des Gesamtkollektivs (n=70) für die Aktivität der erythrozytären CAT schwankten von 61 bis 205 I.U./g Hb. Der Mittelwert betrug 127 ± 32 I.U./g Hb. Der Mittelwert fiel somit in den von Bogdanska et al. aufgestellten Referenzbereich von 118 bis 292 I.U./g Hb für 18-59-jährige gesunde Männer [BOGDANSKA et al., 2003]. Da die vorliegende Studie aber hauptsächlich Frauen und vor allem Personen mit einem Durchschnittsalter von 83 Jahren behandelt, ist der Referenzbereich von Bogdanska et al. (2003) nur begrenzt anwendbar.

Wie schon bei den Ausgangswerten von der SOD erwähnt, haben Fabian et al. (2012) ebenfalls die Aktivität von CAT von älteren Leuten gemessen. Der

Mittelwert der Aktivität der CAT des Gesamtkollektivs betrug in dieser Studie 87 ± 16 I.U./g Hb. Der Mittelwert der Aktivität der CAT war um 46 % niedriger als in der vorliegenden Untersuchung, also sehr deutlich. Es gilt nun herauszufinden, warum sich die CAT-Mittelwerte so deutlich von der vorliegenden Studie unterscheiden. Jedenfalls würde der Mittelwert von Fabian et al. (2012) auch bei weitem nicht in den Referenzbereich von Bogdanska et al. (2003) fallen.

Da die Werte der Messungen der Aktivität der Antioxidantien-Enzyme nur mit ein und derselben Methode vergleichbar sind, wurde bei der vorliegenden Arbeit ein Vergleich mit den Arbeiten von Kauril (2012) und Zajitschek (2007) angestellt, auch wenn durch die sehr unterschiedlichen Themen ein Vergleich schwer ist [Kauril, 2012; Zajitschek, 2007].

Zajitschek (2007) hat in ihrer Arbeit die Auswirkung einer Pflanzenölintervention auf Typ-II-Diabetiker untersucht. Dazu muss gesagt werden, dass die Aktivität der CAT krankheitsbedingt bei diesen Probanden erhöht ist. Der Ausgangsmittelwert der CAT betrug: $201 \pm 30,0$ I.U./g Hb. Dieser Wert liegt 58 % höher als der Ausgangsmittelwert der vorliegenden Studie, dies ist jedoch angesichts der Krankheit nicht verwunderlich [Zajitschek, 2007].

Kauril (2012) untersuchte in ihrer Arbeit den Einfluss von erhöhtem Bilirubin auf den humanen enzymatischen Antioxidantien-Status. Das Durchschnittsalter in dieser Studie betrug ca. 32 Jahre. Der Ausgangsmittelwert der CAT betrug: $161,8 \pm 33,4$ I.U./g Hb. Dieser Wert liegt 27,4 % höher als der Ausgangsmittelwert der vorliegenden Studie, und ist angesichts des jüngeren Alters schon sehr ähnlich [Kauril, 2012].

In der vorliegenden Arbeit ist ein Trend des Rückgangs der Aktivität von CAT im Alter zu beobachten und diese Beobachtung deckt sich mit Beobachtungen in anderen Studien (siehe Abbildung 14). Zwar liegt der Median der Ausgangswerte der CAT der 74-84-Jährigen ganz leicht unter dem Median der 85+-Jährigen, jedoch nicht signifikant. Jedenfalls ist ein deutlicher Rückgang der Aktivität der CAT der 75-84-Jährigen im Vergleich zu den 65-74-Jährigen zu beobachten. Die Aktivitätsveränderungen waren jedoch nicht signifikant.

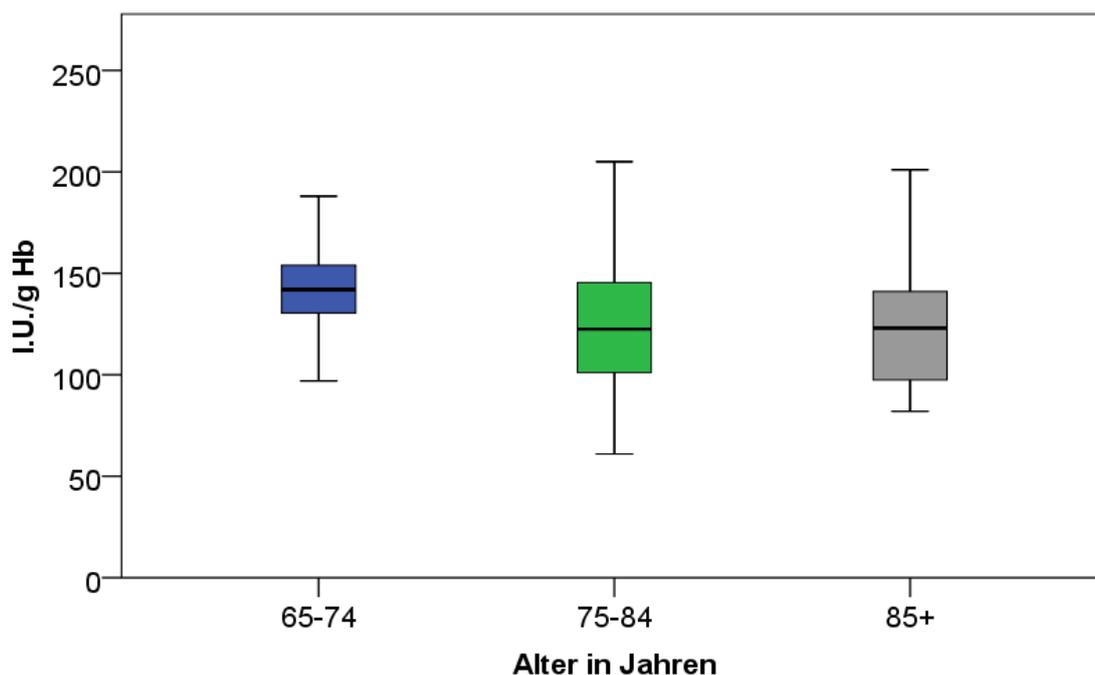


Abbildung 14: CAT: Altersspezifische Verteilung (T0)

Öztürk und Gümüşlü (2004) untersuchten in ihrer Studie ebenfalls die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme im Zusammenhang mit dem Alter. Bei dieser Studie handelt es sich um eine Studie mit Ratten. Die Ratten waren einen Monat, sechs Monate und zwölf Monate alt. Hier konnte eine kontroverse Beobachtung zu der hier vorliegenden Studie gemacht werden. In dieser Studie stieg die Aktivität der CAT mit dem Alter. Es gab also eine positive Korrelation zwischen Alter und Aktivität der CAT. Der Unterschied zwischen der vorliegenden und dieser Studie ist aber, dass junge Ratten untersucht wurden [Öztürk und Gümüşlü, 2004].

In einer Studie von Carrillo et al. (1992) wurde ebenfalls der Einfluss des Alters auf die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme untersucht. Bei dieser Studie handelte es sich um eine Tierstudie mit jungen und alten Fischer-344 Ratten. Hier konnte wie bei Öztürk und Gümüşlü (2004) eine Steigerung der Aktivität der CAT beobachtet werden. Die jungen Ratten waren sieben Monate alt, die älteren waren 30 Monate alt. Eventuell gibt es zwischen Ratten und Menschen unterschiedliche Antworten des Antioxidantien-Systems hinsichtlich des Alters [Carrillo et al., 1992].

Bolzan et al. (1997) untersuchten in ihrer Humanstudie die Auswirkungen von Rauchen, dem Alter und dem Geschlecht auf den Antioxidantien-Status. In dieser Studie konnten sie keine Veränderung der Aktivität der CAT durch das Alter feststellen [Bolzán et al., 1997].

Auch De und Darad (1991) konnten eine Steigerung der Aktivität der CAT in einem Tierversuch bei Ratten durch Bewegungsintervention feststellen [De und Darad, 1991].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass in Tierversuchen die CAT mit dem Alter positiv korreliert war. In der vorliegenden Studie und in der Studie von Fabian et al. (2012) war das Alter jedenfalls negativ mit der Aktivität der CAT korreliert. Allerdings wurden in den Studien oftmals junge Probanden verglichen. Außerdem muss man anmerken, dass in der vorliegenden Studie der Median der Gruppe der 85+-Jährigen Probanden gleich dem der Gruppe der 75-84-Jährigen war.

4.2.2 Verlauf der CAT-Aktivität

4.2.2.1 Gesamtkollektiv

Nach dreimonatiger Intervention kam es bei T1 im Vergleich zu T0 im Gesamtkollektiv zu einer signifikanten Steigerung der Aktivität der CAT. Ebenfalls eine signifikante Steigerung war bei T2 im Vergleich zu T0 nach sechsmonatiger Intervention zu beobachten. Die Steigerung betrug von T0 zu T1: 10,79 % und von T0 zu T2: 18,08 % (siehe Abbildung 16). Im gesamten Verlauf der Intervention war also eine signifikante Steigerung der Aktivität der CAT im Gesamtkollektiv zu beobachten (siehe Abbildung 15).

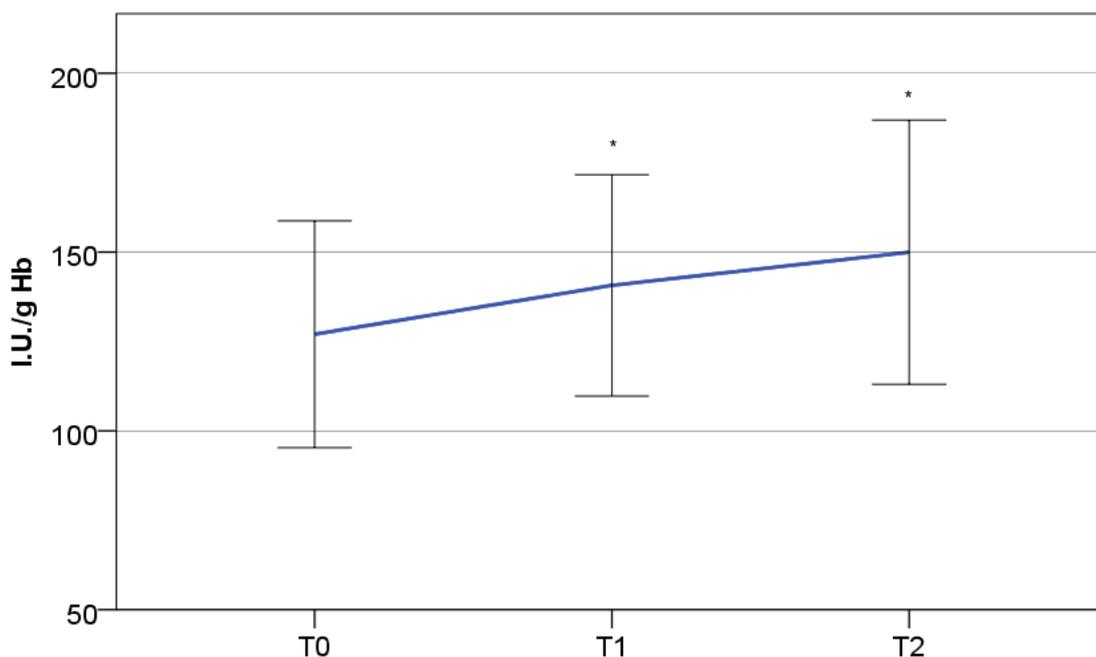


Abbildung 15: CAT: Verlauf der Aktivität des Gesamtkollektivs (* T1, T2 > T0, T2 > T1, p < 0,05)

Parise et al. (2005) untersuchten in ihrer Studie die Auswirkungen von sportlicher Betätigung auf den Antioxidantien-Status. Die zwölf Probanden waren im Mittel 71 ± 7 Jahre alt. Die Interventionsgruppe führte ein zwölfwöchiges Training durch. Es handelte sich um ein progressives Krafttraining mit nur einem Bein. Danach wurde beim anderen Bein ein akutes Training durchgeführt. Muskelbiopsien wurden bei beiden trainierten Schenkeln jeweils 48 Stunden nach der letzten Trainingseinheit durchgeführt. Während das Ausdauertraining zu einem signifikanten Anstieg der Aktivität der CAT führte, führte ein akutes Training zu keiner Veränderung der Aktivität der CAT. Diese Erkenntnis geht mit dem Ergebnis der vorliegenden Studie konform [Parise et al., 2005].

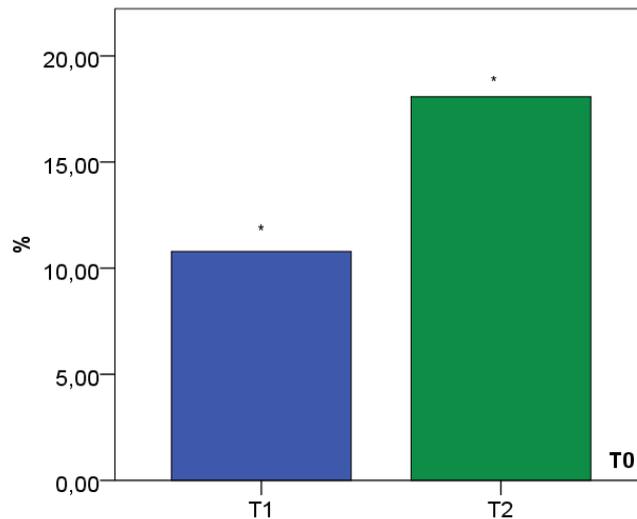


Abbildung 16: CAT: Aktivitätsveränderung des Gesamtkollektivs in Prozent im Vergleich zu T0 (* T1, T2 > T0, T2 > T1, p < 0,05)

In einer Studie von Teixeira et al. (2008) wurden die vorteilhaften Effekte von sportlicher Betätigung auf das Antioxidantien-System untersucht. Das Ziel der Studie war es, die Auswirkungen von Schwimmen auf ROS und der Antioxidantien-Kapazität zu untersuchen. Es handelte sich um eine Tierstudie mit Ratten. Die Schwimmintervention resultierte in einer Erhöhung der Aktivität der CAT. Auch hier kam es zu demselben Ergebnis wie bei der vorliegenden Studie [Teixeira et al., 2008].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Aktivität der CAT durch regelmäßiges Training erhöht wird, während akute Belastungen keine Auswirkungen auf die CAT haben.

4.2.2.2 Interventionsgruppen

Bei beiden Interventionsgruppen kam es zu einer stetigen Steigerung im Vergleich zu T0. Beide Verläufe waren sehr ähnlich (siehe Abbildung 17). Der Anstieg von T0 auf T1, also der Anstieg nach dreimonatiger Intervention, beträgt bei beiden Interventionsgruppen etwas über 15 % (Abbildung 18). Der Anstieg von T1 auf T2 ist dann nur noch in etwa fünf Prozent und ist nicht signifikant bzw. beträgt der Anstieg von T0 auf T2 etwas über 20 % bei beiden Interventionsgruppen. Ein signifikanter Anstieg ist jedoch nur bei der Trainingsgruppe zu beobachten und zwar von T0 auf T1 und nach

sechsmonatiger Trainingsintervention von T0 auf T2. Bei der Trainings- und Ernährungsgruppe war ein nicht ganz so starker Anstieg der Aktivität der CAT im Vergleich zu der Trainingsgruppe zu beobachten. Der Anstieg dieser Gruppe war nicht signifikant.

Bei der kognitiven Gruppe ist von T0 auf T1 so gut wie keine Veränderung der Aktivität der CAT feststellbar. Von T0 auf T2 steigt die Aktivität der CAT um nicht signifikante 13,10 %. Insgesamt kam es bei der kognitiven Gruppe bei keinem der drei Enzyme zu signifikanten Veränderungen (siehe dazu Kapitel 4.4, Tabelle 16).

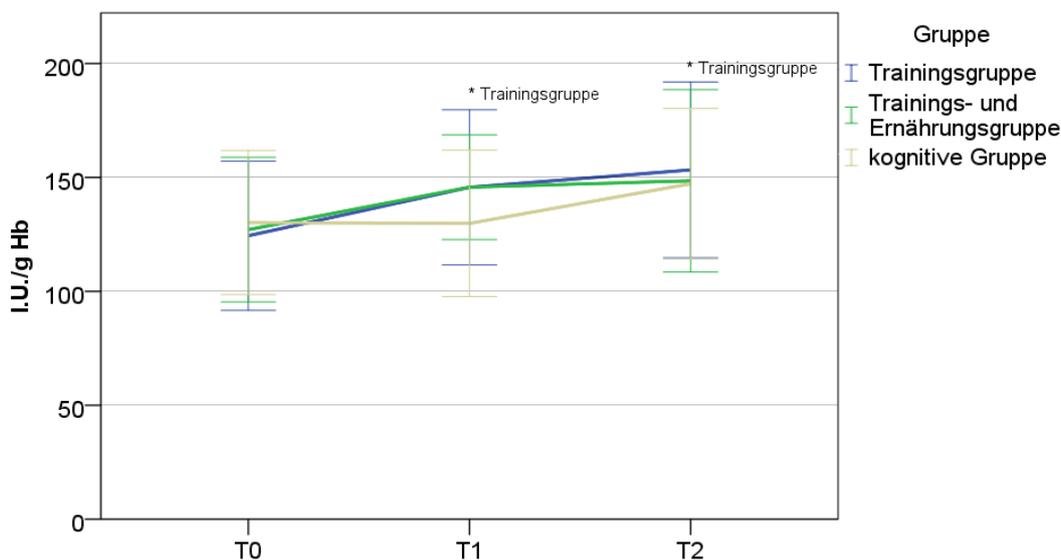


Abbildung 17: CAT: Verlauf der Aktivität der drei Gruppen (* signifikante Veränderung zu T0, $p < 0,05$)

Devi et al. (2003) führten eine Studie an Ratten durch. Das Ziel der Studie war es, die Korrelation zwischen körperlicher Betätigung und antioxidativen Enzymen im Herz zu überprüfen. Außerdem sollten die Auswirkungen von Vitamin E auf die Aktivität der antioxidativen Enzyme überprüft werden. In dieser Studie wurden sowohl junge als auch ältere Ratten untersucht. Die Tiere bekamen eine orale Vitamin E Supplementierung (50 IE/kg α -tocopherol) bevor sie 30 Minuten pro Tag und fünf Tage in der Woche schwammen. Das Ergebnis der Studie war, dass es bei den Ratten allen Altersklassen zu einer Erhöhung der CAT kam.

Diese Erkenntnis konnte auch in der vorliegenden Studie beobachtet werden [Devi et al., 2003].

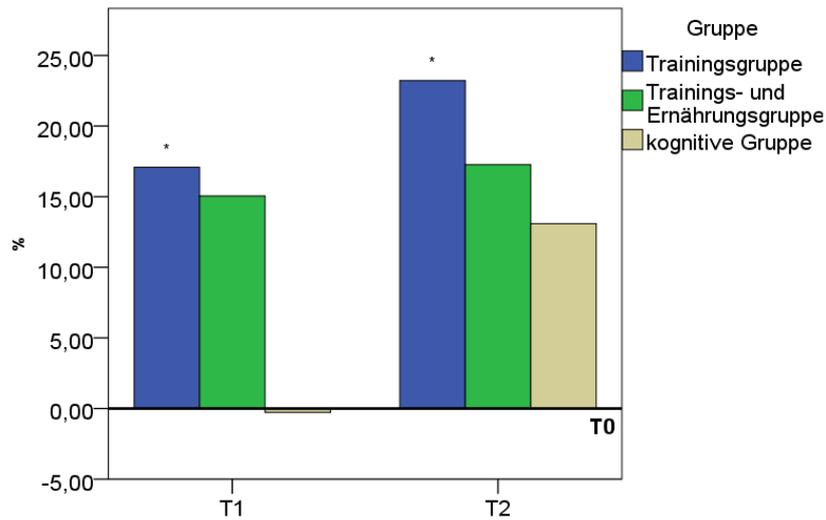


Abbildung 18: CAT: Aktivitätsveränderung der Interventionsgruppen in Prozent im Vergleich zu T0 (* signifikante Veränderung zu T0, $p < 0,05$)

Brites et al. (2000) untersuchten in ihrer Studie ebenfalls den Einfluss von körperlicher Betätigung auf die Antioxidantien-Enzyme. Hierbei handelte es sich um eine Tierstudie mit sechs Wochen alten Mäusen. Die Mäuse der Interventionsgruppe haben fünf Tage in der Woche 30 Minuten in einem Hamsterrad körperliche Betätigung ausgeübt. Insgesamt dauerte die sportliche Intervention sechs Wochen. Das Resultat geht mit der vorliegenden Studie konform. Sport wirkt sich vorteilhaft auf die Aktivität der Enzymsysteme aus [Brites et al., 2000].

In einer Studie von Marsh et al. (2011) wurde die Auswirkung von Sojaprotein auf kardiovaskuläre Erkrankungen und die Auswirkung auf die Antioxidantien-Enzyme untersucht. Der Hintergrund dieser Studie war die Tatsache, dass das Ergebnis vieler Tier- und Human-Studien die positive Wirkung von Sojaprotein auf die Antioxidantien-Enzyme bestätigen. Es handelte sich um eine Tierstudie mit 40 Ratten. Die Ratten wurden in folgende Gruppen unterteilt: Casein, Casein + Dextran Natriumsulfat, Soja Protein und Soja Protein + Dextran Natriumsulfat. Bei der Sojaprotein-Gruppe konnte eine gesteigerte Aktivität der CAT nachgewiesen werden [Marsh et al., 2011]. Das Ergebnis ist demnach kontrovers

zur vorliegenden Studie. Erstens wurden bei der vorliegenden Studie zwar Protein bei der Trainings- und Ernährungsgruppe verabreicht, aber es handelte sich nicht um Sojaprotein. Zweitens ist die vorliegende Studie eine Humanstudie und drittens ist die Aktivität gestiegen, die Steigerung ist aber geringer ausgefallen als bei der Trainingsgruppe ohne zusätzliche Verabreichung von Protein.

Yang et al. (2012) untersuchten in ihrer Studie die Effekte von Reisprotein auf den Gluthation Metabolismus und oxidativen Stress. Hierbei wurde auch die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme gemessen. Bei dieser Studie handelte es sich um eine Tierstudie mit Wistar Ratten. Die Interventionsgruppe erhielt das Reisprotein drei Wochen lang. Die Studie zeigte, dass Reisprotein oxidativen Stress erhöhen kann. Außerdem wird so der Abwehrmechanismus angeregt und die Aktivität der CAT durch die Nahrungsintervention gesteigert. Dies wäre wie schon bei Marsh et al. (2011) widersprüchlich zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Widersprüchlich deshalb, weil in der vorliegenden Studie zwar ein starker Anstieg der Aktivität der CAT zu beobachten ist, dieser jedoch geringer im Vergleich zur Trainingsgruppe ist und vor allem nicht signifikant ausfällt. Aber natürlich mit dem Unterschied, dass hier eine reine Nahrungsintervention untersucht wurde, es sich um eine Tierstudie handelt und vor allem, dass es sich um Reisprotein handelt [Yang et al., 2012]. In der vorliegenden Studie werden nicht nur Protein sondern auch Vitamine und Spurenelemente supplementiert.

Zusammengefasst ist zu sagen, dass die Beobachtung der Steigerung der CAT der Trainingsgruppe auch in anderen Studien zu finden war. Eine Studie mit Trainings- und Ernährungsintervention war nicht zu finden. Bei der reinen Ernährungsintervention mit zusätzlichem Protein waren allerdings leicht widersprüchliche Resultate zu der vorliegenden Studie zu finden. Es gibt zwar auch eine hohe Steigerung der Aktivität der CAT in der Trainings- und Ernährungsgruppe - aber die Frage ist, warum die Steigerung nicht höher ausfällt als in der Trainingsgruppe ohne Nahrungsintervention. Allerdings handelte es sich in den Vergleichsstudien um Tierversuche nur mit Reis- und Sojaprotein. In

der vorliegenden Arbeit handelt es sich um ein spezielles Proteinpräparat von FortiFit, angereichert auch mit Mikronährstoffen (siehe Kapitel 3.1.4).

4.2.3 Verlauf der CAT-Aktivität unterteilt nach Altersgruppen

Die geringste Steigerung der Aktivität der CAT ist bei der Gruppe der 65-74-Jährigen zu verzeichnen. Diese Beobachtung konnte auch schon bei dem Verlauf der SOD-Aktivität beobachtet werden. Die größte Steigerung der Aktivität der CAT ist bei der Gruppe der 75-84-Jährigen zu beobachten. Auch dies deckt sich mit der Beobachtung der SOD. Signifikante Steigerungen nach der dreimonatigen Intervention waren nur in der Gruppe der 75-84-Jährigen zu beobachten (+ 15,5 %). Nach der sechsmonatigen Intervention kam es bei den Gruppen der 75-84-Jährigen (+ 20,3 %) und der 85+-Jährigen (+ 16,8 %) zu einer signifikanten Steigerung.

Xu et al. (2007) untersuchten in ihrer Studie die Antioxidantien-Enzyme von Schweinen gruppiert in Alterskategorien. Die Antioxidantien-Enzyme wurden von verschiedenen Geweben mit unterschiedlichem Alter (1, 42, 84, 126 und 168 Tage) entnommen. Im Gewebe der Leber stieg die Aktivität der CAT von Tag 1 bis Tag 126 kontinuierlich. Ab Tag 126 sank die Aktivität der CAT in mehreren Gewebeproben. Dieses Ergebnis ist mit der vorliegenden Arbeit konform, da in der vorliegenden Studie nur Probanden ab einem Alter von 65 Jahren untersucht wurden und die Aktivität der CAT im Alter gesunken ist [Xu et al., 2007]. Hier gilt dasselbe wie für SOD. Ein Grund für die geringe Steigerung der Aktivität der CAT der 65-74-Jährigen könnte sein, dass Personen dieser Altersklasse meistens noch nicht lange im Pensionistenheim sind und viele Alltagstätigkeiten vor kurzem noch selbstständig durchgeführt haben. Insofern wären diese Probanden schon bei T0 trainierter. Ein Indiz dafür wäre unter anderem der höhere Ausgangswert bei T0.

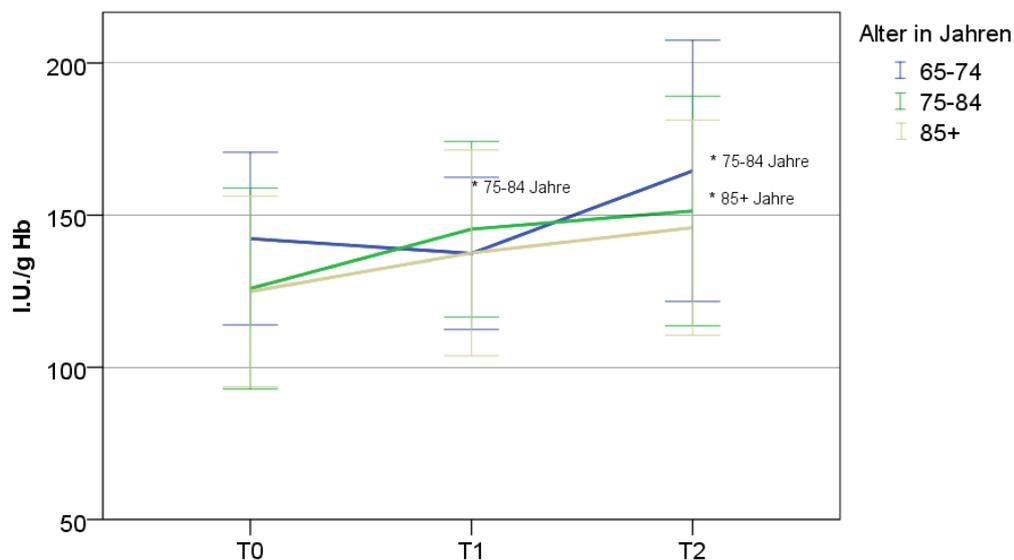


Abbildung 19: CAT: Verlauf der Aktivität der Altersgruppen (* signifikante Veränderung zu T0, $p < 0,05$)

In einer Studie von Hatao et al. (2006) wurden die Antioxidantien-Enzyme in der Lunge von jungen und alten Ratten untersucht. Als Intervention wurde ein akutes Training durchgeführt. Der Grund für die Studie war die Annahme, dass die Lunge das Zielorgan von Zellschäden sein könnte, da sie hohen Konzentrationen an Sauerstoff ausgesetzt ist. Die alten Ratten waren 26 Monate und die jungen vier Monate alt. Das Ergebnis dieser Studie war, dass die Aktivität der CAT nach der Intervention bei den jungen Ratten gestiegen ist. Bei den alten Ratten hat sich die Aktivität der CAT nicht signifikant verändert. Dieses Ergebnis unterscheidet sich von der vorliegenden Studie, jedoch wurden bei Hatao et al. (2006) ein akutes Training durchgeführt [Hatao et al., 2006].

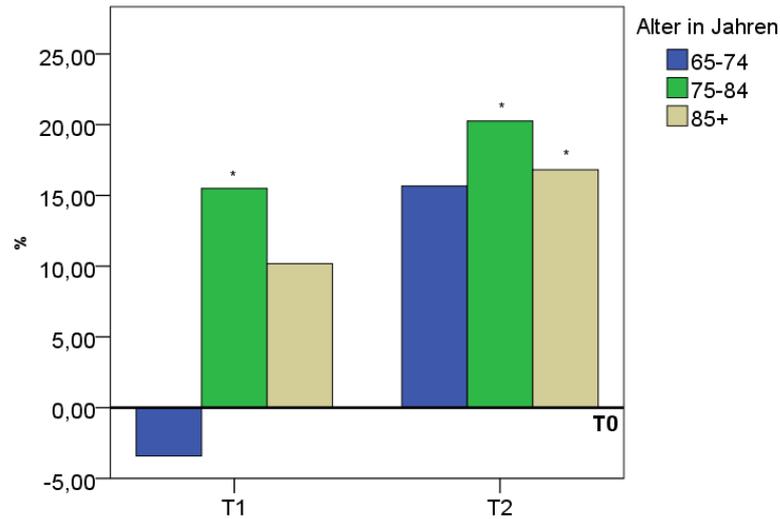


Abbildung 20: CAT: Aktivitätsveränderung der Altersgruppen in Prozent im Vergleich zu T0 (* signifikante Veränderung zu T0, $p < 0,05$)

Kakarla et al. (2005) untersuchten in ihrer Studie den Effekt von körperlichem Training auf den Antioxidantien-Status und oxidativen Stress. Es handelte sich bei dieser Studie um eine Studie mit weiblichen Albino Ratten. Bei dieser Studie wurden die Ratten in zwei Gruppen eingeteilt, drei und zwölf Monate. Das körperliche Laufrad-Training dauerte zwölf Wochen. Das Ergebnis bestätigt die vorliegende Studie. Die Aktivität der CAT wurde durch das zwölfwöchige Training signifikant erhöht [Kakarla et al., 2005].

In einer Studie von Gunduz et al. (2004) wurde die Auswirkung von Ausdauertraining auf die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme untersucht. Bei dieser Studie handelte es sich ebenfalls um eine Studie mit alten Ratten. Es wurde die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme in verschiedenen Geweben gemessen. Bei dem Training handelte es sich um ein Schwimmtraining mit der Dauer von einem Jahr. Die Aktivität der CAT in der Lunge und im Herz war in der Interventionsgruppe signifikant erhöht [Gunduz et al., 2004].

Zusammengefasst ist zu sagen, dass in allen Studien die Aktivität der CAT durch langfristige sportliche Betätigung erhöht wurde. Diese Erkenntnis trifft nicht nur auf Jüngere sondern auch auf Ältere zu. Akutes Training ändert die Aktivität der CAT jedoch nicht signifikant.

4.3 Glutathionperoxidase

4.3.1 Ausgangswerte der GSH-Px-Aktivität

Die Ausreißer-bereinigten Ausgangswerte des Gesamtkollektivs (n=59) für die Aktivität der erythrozytären GSH-Px schwankten von 19 bis 49 I.U./g Hb. Der Mittelwert betrug $34,14 \pm 6,9$ I.U./g Hb. Der Mittelwert fiel somit in den von Bogdanska et al. aufgestellten Referenzbereich von 28 bis 75 I.U./g Hb für 18-59-jährige gesunde Männer [BOGDANSKA et al., 2003]. In der vorliegenden Studie ist kein klares altersabhängiges Gefälle der Aktivität der GSH-PX auf das Alter ersichtlich. Die Gruppe der 65-74-Jährigen zeigt zwar den höchsten Median von der GSH-Px, jedoch liegt der Median von den 85+-Jährigen über dem Median der Gruppe der 75-84-Jährigen. Die Aktivitätsveränderungen waren nicht signifikant.

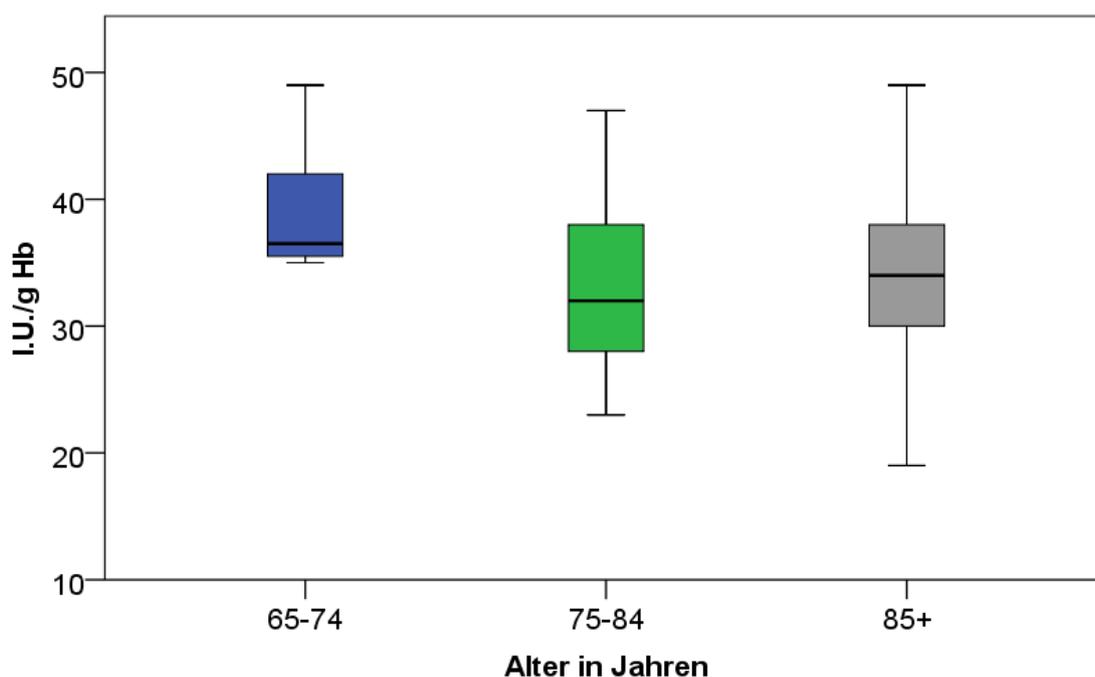


Abbildung 21: GSH-Px: Altersspezifische Verteilung (T0)

Chanchaev und Aizman (2012) untersuchten in Ihrer Studie die Auswirkungen des Alters von russischen und kasachischen Ureinwohnern des südlichen Altai, auf die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme. In dieser Untersuchung wurde eine negative Korrelation des Alters auf die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme

beobachtet. Dieses Ergebnis ist auch in der vorliegenden Studie zu beobachten [Chanchaev und Aizman, 2012].

Wie schon in den vorigen Kapiteln erwähnt, wurde in einer Studie von Fabian et al. (2012) die Antioxidans-Enzymaktivitäten in Bezug auf das vaskuläre Redox-Gleichgewicht und die Risikofaktoren bei älteren Menschen erforscht. Bei dieser Studie handelte es sich um eine Humanstudie mit 102 Probanden, die in drei Altersklassen unterteilt wurden. In dieser Studie war auch eine Reduktion der Aktivität der GSH-Px zu beobachten. Dieses Ergebnis war auch in der vorliegenden Studie zu beobachten [Fabian et al., 2012].

Zusammengefasst ist zu sagen, dass in der vorliegenden Studie die Aktivität der GSH-Px im Alter nicht signifikant sinkt, jedoch der Median der 85+-Jährigen über dem Median der 75 bis 84-Jährigen liegt.

4.3.2 Verlauf der GSH-Px-Aktivität

4.3.2.1 Gesamtkollektiv

Bei keinem Messpunkt kam es bei dem Verlauf der GSH-Px-Aktivität zu einer signifikanten Steigerung oder Abnahme. Nach dreimonatiger Sportintervention kam es bei T1 im Vergleich zu T0 im Gesamtkollektiv zu einer sehr geringen Steigerung der Aktivität der GSH-Px um drei Prozent. Nach sechsmonatiger Sportintervention kam es bei T2 im Vergleich zu T0 im Gesamtkollektiv sogar zu einer sehr leichten Abnahme der Aktivität der GSH-Px um -1,2 % (siehe Abbildung 23). Die Sport- und die kombinierte Sport- und Ernährungsintervention hat somit keine Auswirkung auf die Aktivität der GSH-Px hat (Abbildung 22).

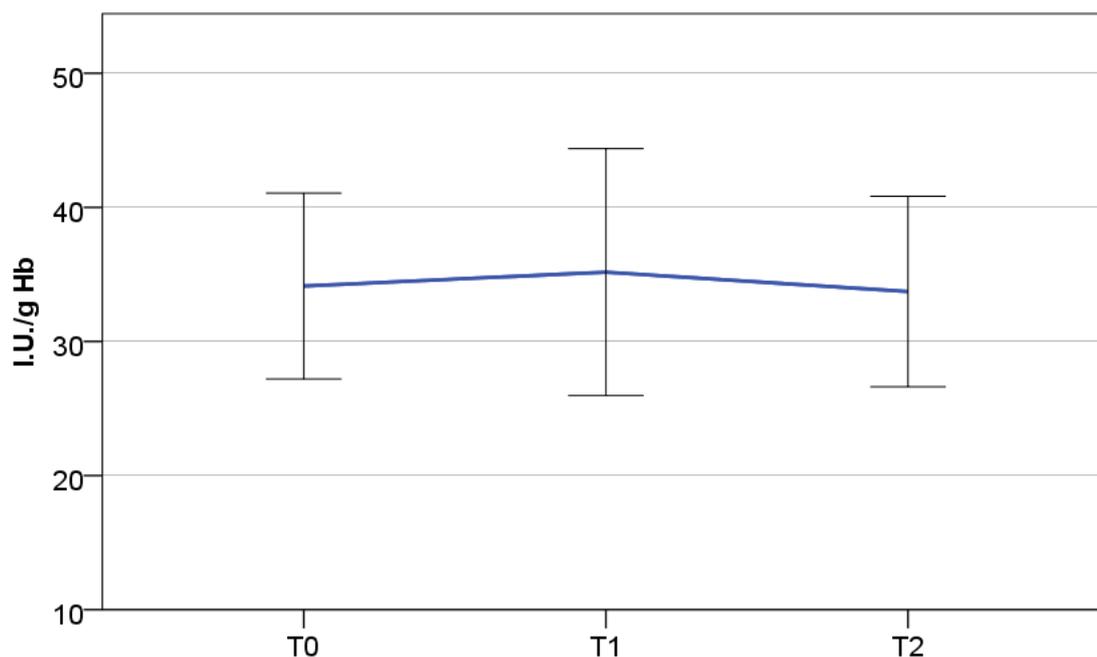


Abbildung 22: GSH-Px: Verlauf der Aktivität des Gesamtkollektivs

Das Ziel der Studie von L'Abbe M et al. (1992) war es, die Aktivität der GSH-Px in einer großen Stichprobe von gesunden Kanadiern zu messen. Man versuchte herauszufinden, wie sich die Parameter Alter, Rauchen, Trinkgewohnheiten und Bewegung auf die Aktivität der GSH-Px auswirken. Bei dem Parameter Bewegung konnte keine signifikante Auswirkung auf die Aktivität der GSH-Px festgestellt werden [L'abbe M et al., 1992]. Genau dieses Erkenntnis konnte auch aus der vorliegenden Studie gewonnen werden.

Ono et al. (1990) untersuchten auch die Auswirkungen von Bewegung auf die Antioxidantien-Enzyme von Pferden. Die Bewegungsintervention erfolgte durch akute Bewegung. Die Blutproben wurden vor der Bewegungsintervention und kurz danach genommen. In dieser Studie kam es zu einer signifikanten Abnahme der Aktivität der GSH-Px [Ono et al., 1990]. Dieses Ergebnis konnte in der vorliegenden Studie nicht beobachtet werden. Allerdings erfolgte in der vorliegenden Studie keine akute Bewegungsintervention.

In einer Studie von Kakarla et al. (2008) wollte man herausfinden wie sich Bewegung auf Gluthation und die Aktivität der Enzyme im Alter auswirkt. Bei dieser Studie handelte es sich um eine Tierstudie mit Ratten. Die Ratten waren drei und 18 Monate alt. In dieser Studie konnte eine signifikante Erhöhung der

Aktivität der GSH-Px beobachtet werden. Die Erhöhung war nach dem Training in den 18 Monate alten Ratten höher als in den drei Monate alten Ratten [Kakarla et al., 2008].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass das Ergebnis nicht so klar ausfällt wie bei der Beobachtung von der SOD und der CAT. In den verschiedenen Studien ist eine Schwächung, keine Veränderung oder eine Steigerung der Aktivität der GSH-Px zu beobachten, d.h. das Bild ist sehr heterogen. In der vorliegenden Studie ist jedenfalls keine signifikante Veränderung zu beobachten.

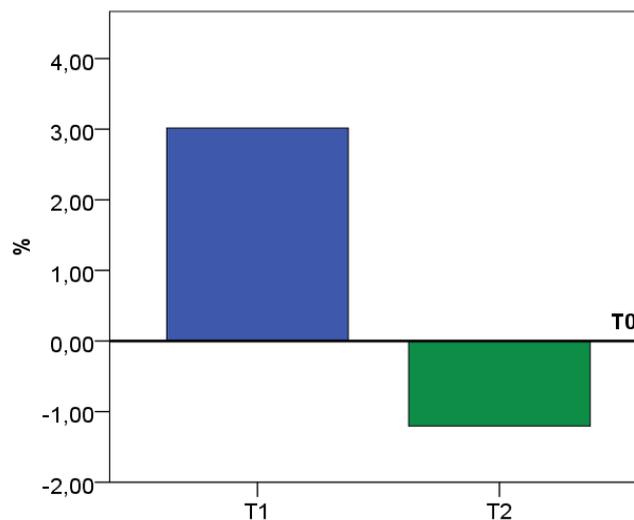


Abbildung 23: GSH-Px: Aktivitätsveränderung des Gesamtkollektivs in Prozent im Vergleich zu T0

4.3.2.2 Interventionsgruppen

Kontrovers zu den Beobachtungen bei der CAT und bei der SOD steigt hier die Aktivität der GSH-Px viel stärker in der Trainings- und Ernährungsgruppe als in der reinen Trainingsgruppe, nämlich genau um 8,63 % nach dreimonatiger Intervention. Nach sechsmonatiger Intervention beträgt die Steigerung der Aktivität von T0 zu T2 nur mehr 2,16 % (siehe Abbildung 25). Berücksichtigt man saisonale Schwankungen und Messungenauigkeiten, so wird die Aktivität der GSH-Px bei der Trainingsgruppe fast nicht beeinflusst (siehe Abbildung 24). Die höchste Steigerung der Trainingsgruppe beträgt lediglich 2,17 % nach dreimonatiger Intervention.

Bei der kognitiven Gruppe ist von T0 auf T1 so gut wie keine Veränderung der Aktivität der GSH-Px feststellbar. Von T0 auf T2 sinkt die Aktivität der GSH-Px um -7,03 %. Dieser Wert ist nicht signifikant. Insgesamt kam es in der kognitiven Gruppe bei keinem der drei Enzyme zu signifikanten Veränderungen (siehe dazu Kapitel 4.4, Tabelle 16).

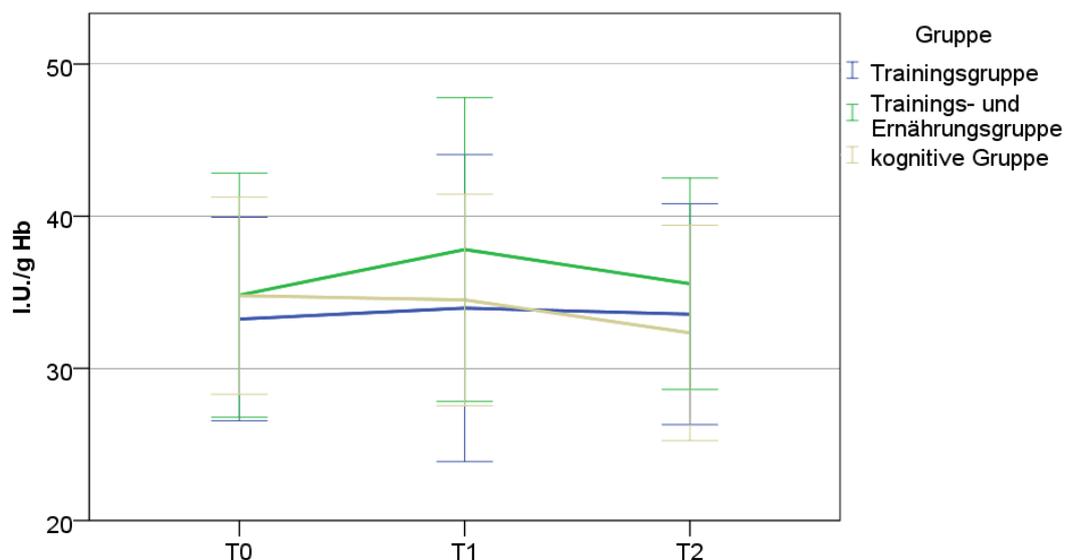


Abbildung 24: GSH-Px: Verlauf der Aktivität der drei Gruppen

Sun et al. (2012) gingen in ihrer Studie den umgekehrten Weg zu der vorliegenden Studie. Sie untersuchten die Auswirkung von Energie-, Protein- und einer kombinierten Energie- und Proteinrestriktion auf die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme. Die Probanden bestanden aus 60 Kindern. Die Intervention dauerte sechs Wochen, gefolgt von einer neunwöchigen „Nährstoff Erholung“. Während CAT und SOD eine signifikante Veränderung der Aktivität zeigten, blieb GSH-Px ohne signifikante Veränderungen. Ein Vergleich mit der vorliegenden Studie ist nur bedingt möglich, da es bei dieser Studie um Nährstoffrestriktion geht und in der vorliegenden Studie geht es um erhöhte Zufuhr von Proteinen. Trotzdem zeigt vor allem der Vergleich zwischen den verschiedenen Antioxidantien-Enzymen ein ähnliches Ergebnis wie in der vorliegenden Studie nämlich keine signifikanten Auswirkungen auf die GSH-Px [Sun et al., 2012].

In einer Studie von Husain (2003) wurde die Wechselwirkung von Bewegungstraining und chronischer Nitroglyzerin Behandlung auf den Blutdruck, Veränderungen von kardialem Stickstoffmonoxid und der Aktivität von Antioxidantien-Enzymen in Ratten untersucht. Das Ergebnis zeigte unter anderem eine signifikant erhöhte Aktivität der GSH-Px. Auch diese Studie ist nur bedingt vergleichbar, weil bei der Studie eine zusätzliche Nitroglyzerin Behandlung durchgeführt wurde [Husain, 2003].

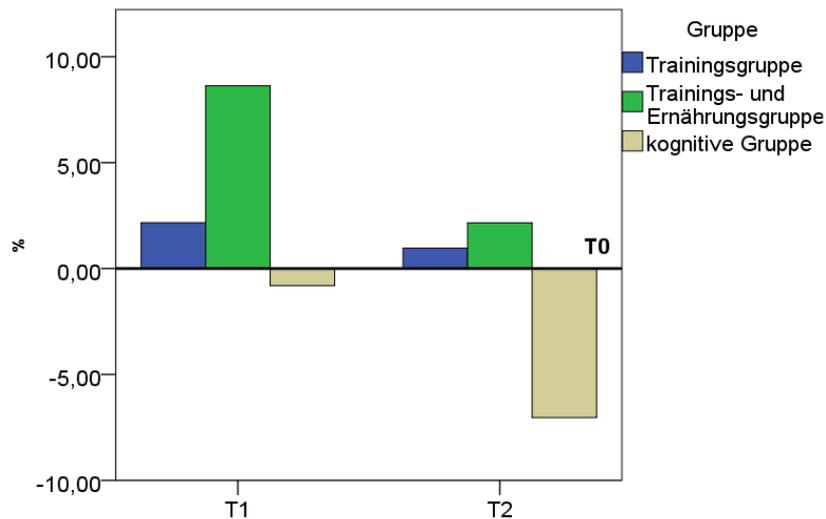


Abbildung 25: GSH-Px: Aktivitätsveränderung der Interventionsgruppen in Prozent im Vergleich zu T0

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es bisher keine Studie gibt, welche Auswirkungen einer Sportintervention und eine Erhöhung der Proteinzufuhr bei Älteren auf die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme erforscht. Insofern ist eine Diskussion der Werte sehr schwer. Jedenfalls kommt es in der vorliegenden Studie zu keinen signifikanten Veränderungen der Aktivität der GSH-Px. Wie schon in Kapitel 2.2.1 beschrieben, wird GSH-Px am wenigsten durch Sport beeinflusst und verändert nur bei stark steigender Intensität, daher ist die Studienlage sehr inkonsistent.

4.3.3 Verlauf der GSH-Px-Aktivität unterteilt nach Altersgruppen

Wie bei allen Betrachtungen der GSH-Px-Aktivität kommt es auch unterteilt nach Altersgruppen zu keinen signifikanten Auswirkungen der Teilnehmer(innen)

(siehe Abbildung 26). Während bei der CAT und bei der SOD immer die Gruppe der 65-74-Jährigen die geringste Veränderung der Aktivität zeigte, so ist hier bei der Gruppe der 65-74-Jährigen die größte Veränderung der Aktivität nach sechsmonatiger Intervention zu beobachten (siehe Abbildung 27). Auch kontrovers zu den Aktivitätsveränderungen von der SOD und der CAT fällt die Veränderung der Aktivität der GSH-PX bei den 75-84-Jährigen aus, hier zeigen sich jedenfalls die geringsten Veränderungen. Eventuell übernimmt hier vorzugsweise die CAT den Transfer von H_2O_2 . Auch hier muss man natürlich die saisonalen Schwankungen in Betracht ziehen [Balog et al., 2006]. Alle Veränderungen sind nicht signifikant.

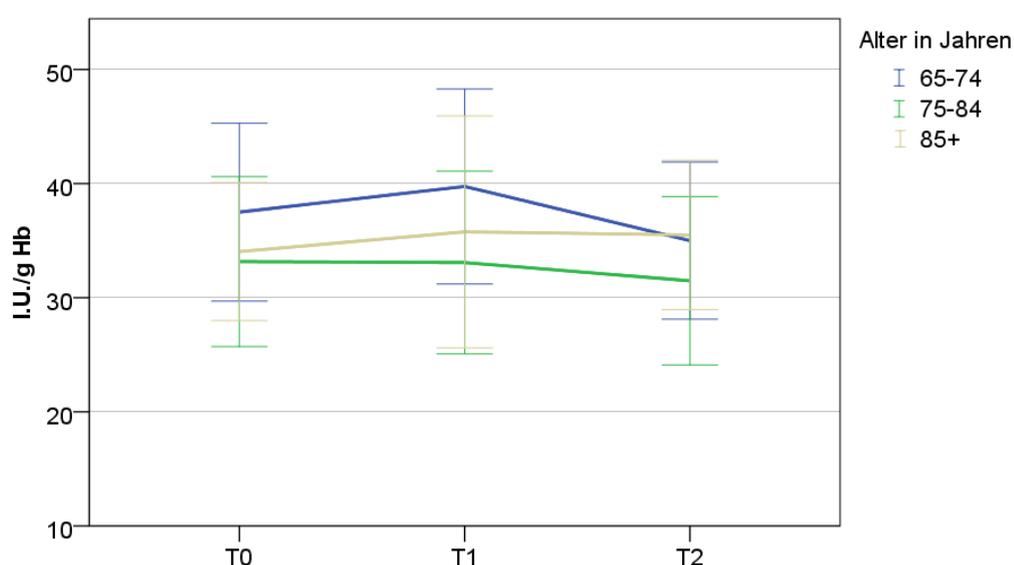


Abbildung 26: GSH-Px: Verlauf der Aktivität der Altersgruppen

Wie schon im Kapitel der CAT erwähnt, untersuchten Xu et al. (2007) in ihrer Studie die Antioxidantien-Enzyme von Schweinen gruppiert in Alterskategorien, (1, 42, 84, 126 und 168 Tage). Bei dem Gewebe der Leber stieg die Aktivität der GSH-Px von Tag 1 bis Tag 126 kontinuierlich, ab Tag 126 sank die Aktivität der GSH-Px in mehreren Gewebeproben [Xu et al., 2007]. Dieses Ergebnis ist mit der vorliegenden Arbeit konform, da in der vorliegenden Studie nur Probanden ab dem Alter 65 untersucht wurden und die Aktivität der GSH-Px im Alter gesunken ist.

Kobe et al. (2002) untersuchten in Ihrer Studie den Einfluss von Aerobic auf die Lipidperoxidation und die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme. Die Probanden waren 40 Frauen, davon waren 18 schwanger und die restlichen 22 Frauen bildeten die Kontrollgruppe. Die Probanden der Interventionsgruppe übten regelmäßig Aerobic während der Schwangerschaft aus. Diese Studie sollte zeigen, ob es auch in der Schwangerschaft möglich ist, die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme zu verbessern. Die Resultate zeigten deutliche Erhöhungen bei der Aktivität der SOD und der CAT, jedoch nicht bei der GSH-Px [Kobe et al., 2002]. Dieses Ergebnis ist dem Ergebnis der vorliegenden Studie ähnlich. Zwar handelt es sich bei der vorliegenden Studie nicht um schwangere Probanden, jedoch ist auch hier keine signifikante Veränderung von der GSH-Px zu sehen.

In einer Studie von Ono et al. versuchte man die Auswirkung von körperlicher Betätigung auf die drei Antioxidantien-Enzyme bei Pferden herauszufinden. Es wurden Blutproben von elf Pferden genommen. In dieser Studie hatte die Bewegungsintervention eine signifikante Reduktion der Aktivität der GSH-Px zur Folge [Ono et al., 1990].

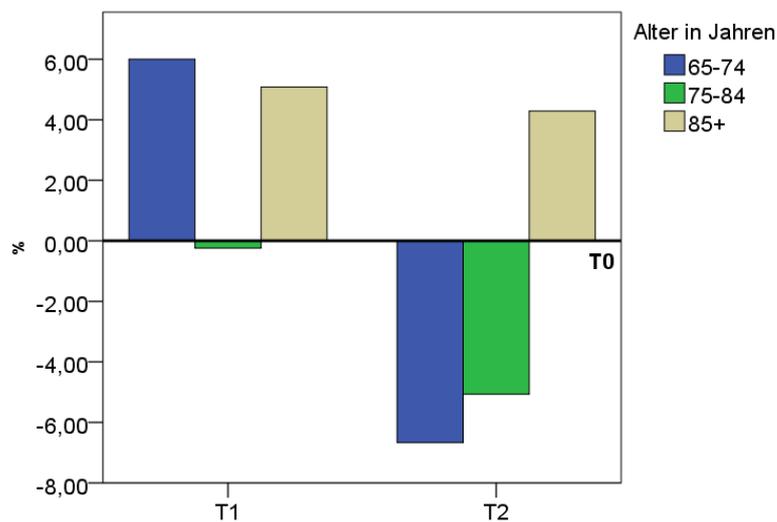


Abbildung 27: GSH-Px: Aktivitätsveränderung der Altersgruppen in Prozent im Vergleich zu T0

In einer Studie von Azizbeigi et al. (2012) wurde die Auswirkung von progressivem Widerstands-Training auf oxidativen Stress und die Aktivität der

Antioxidantien-Enzyme untersucht. Bei der Studie handelte es sich um eine Humanstudie. 20 Männer wurden nach dem Zufallsprinzip in zwei Gruppen eingeteilt (progressives Krafttraining und Kontrolle). Die Ergebnisse zeigten eine signifikante Aktivitätssteigerung der SOD jedoch keine nennenswerten Veränderungen der Aktivität der GSH-Px [Azizbeigi et al., 2012].

Zusammengefasst ist zu sagen, dass die Resultate der vorliegenden Studie zumindest bei drei von vier Studien ähnlich beobachtet werden konnten. Allerdings ist diese Studie die erste, die die Enzymaktivität nach einer Lebensstilintervention von Seniorenheimbewohnern untersuchte.

4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

In den Tabellen sind die Ergebnisse der Aktivität der Enzyme mit Mittelwert und Standardabweichung aufgelistet. Die Signifikanz zu T0 ($p < 0,05$) wird mit einem * gekennzeichnet. In Tabelle 13 werden die Werte des Gesamtkollektivs dargestellt. Von Tabelle 14 bis Tabelle 16 werden die Werte der Interventionsgruppen und von Tabelle 17 bis Tabelle 19 die Werte unterteilt nach Alter aufgelistet.

	T0	T1	T2
SOD [I.U./g Hb]	2078 ± 224	2101 ± 227	2169 ± 197 *
Katalase [I.U./g Hb]	127 ± 31,7	142 ± 32,3 *	152 ± 36,0 *
GSH-Px [I.U./g Hb]	34,1 ± 6,93	35,2 ± 9,21	33,7 ± 7,12

Tabelle 13: Gesamtkollektiv (n = 74): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, $p < 0,05$)

	T0	T1	T2
SOD [I.U./g Hb]	2008 ± 253	2051 ± 242	2150 ± 203 *
Katalase [I.U./g Hb]	124 ± 32,7	146 ± 34,0 *	153 ± 38,6 *
GSH-Px [I.U./g Hb]	33,2 ± 6,69	34,0 ± 10,09	33,6 ± 7,3

Tabelle 14: Trainingsgruppe (n = 28): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, $p < 0,05$)

	T0	T1	T2
SOD [I.U./g Hb]	2161 ± 207	2114 ± 207	2220 ± 148
Katalase [I.U./g Hb]	127 ± 32,5	147 ± 23,2	153 ± 36,0 *
GSH-Px [I.U./g Hb]	34,8 ± 8,02	37,8 ± 9,98	35,6 ± 6,95

Tabelle 15: Trainings- und Ernährungsgruppe (n = 22): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05)

	T0	T1	T2
SOD [I.U./g Hb]	2089 ± 181	2148 ± 222	2149 ± 226
Katalase [I.U./g Hb]	129 ± 31,5	136 ± 40,7	150 ± 32,7
GSH-Px [I.U./g Hb]	37,2 ± 9,16	34,48 ± 6,38	31,5 ± 9,07

Tabelle 16: kognitive Gruppe (n = 24): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05)

	T0	T1	T2
SOD [I.U./g Hb]	2191 ± 297	2235 ± 135	2342 ± 158
Katalase [I.U./g Hb]	153 ± 42,0	135 ± 24,6	163 ± 40,1
GSH-Px [I.U./g Hb]	37,5 ± 7,80	39,8 ± 8,55	35,0 ± 6,88

Tabelle 17: Gesamtkollektiv (65-74 Jahren, n = 8): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05)

	T0	T1	T2
SOD [I.U./g Hb]	2077 ± 215	2136 ± 247	2164 ± 224
Katalase [I.U./g Hb]	128 ± 33,1	150 ± 34,6 *	152 ± 37,4 *
GSH-Px [I.U./g Hb]	34,6 ± 9,54	35,5 ± 10,46	34,9 ± 10,29

Tabelle 18: Gesamtkollektiv (75-84 Jahren, n = 30): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05)

	T0	T1	T2
SOD [I.U./g Hb]	2050 ± 210	2034 ± 208	2130 ± 158
Katalase [I.U./g Hb]	124 ± 32,6	141 ± 38,0	147 ± 36,8 *
GSH-Px [I.U./g Hb]	36,4 ± 9,94	38,3 ± 11,17	34,7 ± 10,32

Tabelle 19: Gesamtkollektiv (85+ Jahren, n = 36): Aktivitäten der analysierten Parameter (* signifikante Veränderungen zu T0, p<0,05)

5 Schlussbetrachtung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, herauszufinden, inwieweit eine Bewegungs-, und eine kombinierte Bewegungs- und Ernährungsintervention Auswirkungen auf die Aktivität der drei Antioxidantien-Enzyme (SOD, CAT und GSH-Px) bei Pensionisten(innen) hat. In zahlreichen Studien wurde bereits die positive Auswirkung von Sport auf die Aktivität der Antioxidantien-Enzyme beobachtet. Jedoch gibt es kaum Studien die eine zusätzliche Proteinzufuhr untersuchen und es fehlen ebenso Studien zu diesem Thema mit älteren Probanden(innen).

Bei den Ausgangswerten der drei Antioxidantien-Enzyme gibt es einen eindeutigen Trend, nämlich eine reduzierte Aktivität der Enzyme mit dem Alter.

Unterteilt nach Interventionsgruppen zeigt sich in der Trainingsgruppe eine signifikante Steigerung der SOD Aktivität ebenso wie von der CAT. Es ist keine signifikante Veränderung der Aktivität der GSH-Px zu beobachten.

Obwohl es bei der kombinierten Ernährungs- und Trainingsintervention zu teilweise sehr hohen Steigerungen der Aktivität der Enzyme gekommen ist, waren die Veränderungen im Gegensatz zur Trainingsgruppe nicht signifikant. Außerdem war hier eine höhere nicht signifikante Aktivitätssteigerung der GSH-Px zu beobachten. In der Literatur gibt es kaum Studien, die ähnliche Versuche angestellt haben. Studien ohne Bewegungsintervention konnten eine Steigerung der Aktivität der Antioxidantien-Enzyme mit Reis- und Sojaprotein beobachten. Es ist natürlich nur sehr schwer vergleichbar, aber in der vorliegenden Studie wurde beobachtet, dass die Aktivität der CAT und SOD bei der Trainings- und Ernährungsintervention geringer ansteigt als bei der Trainingsintervention. In der kognitiven Gruppe waren wie erwartet keine signifikanten Veränderungen zu beobachten.

Unterteilt nach Altersgruppen waren die höchsten Aktivitätssteigerungen bei der SOD und CAT in der Gruppe der 75-84-Jährigen zu beobachten. Die geringsten Aktivitätssteigerungen zeigten sich bei der SOD und CAT in der Gruppe der 65-74-Jährigen. Bei der GSH-Px verhielt es sich genau umgekehrt, hier zeigte sich die größte Aktivitätssteigerung bei den 65-74-Jährigen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass nur die Trainingsintervention zu signifikanten Aktivitätssteigerungen der Antioxidantien-Enzyme geführt hat. Jedoch konnte bei allen drei Antioxidantien-Enzymen in beiden Interventionsgruppen und in allen Alterskategorien ein Trend zur Aktivitätssteigerung nachgewiesen werden.

Da oxidativer Stress für eine Reihe von Krankheiten mitverantwortlich gemacht wird, könnte durch eine Sportintervention eine günstige und natürliche Möglichkeit geschaffen werden, diesen Krankheiten auch im hohen Alter vorzubeugen bzw. das Abwehrsystem per se zu stärken durch die Steigerung der Aktivität des endogenen Antioxidantien-Systems.

6 Zusammenfassung

Ziel: Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, herauszufinden, inwieweit eine Bewegungs- und eine kombinierte Bewegungs- und Ernährungsintervention Auswirkungen auf die Aktivität der drei Antioxidantien-Enzyme (SOD, CAT, GSH-Px) bei Pensionisten(innen) in Pensionistenwohnhäusern haben.

Methoden: Für die gesamte „Active Ageing“ Studie wurden über 100 Pensionisten(innen) unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien rekrutiert. Sie wurden in Kognitionsgruppe, Trainingsgruppe und kombinierte Trainings- und Ernährungsgruppe eingeteilt. Da einige Pensionisten(innen) das Projekt „Active Ageing“ verließen, wurden in der vorliegenden Arbeit 74 Probanden an allen Untersuchungszeitpunkten untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurden drei Untersuchungszeitpunkte verglichen. Die Zeitpunkte waren T0 (Start), T1 (nach drei Monaten) und T2 (nach sechs Monaten). Innerhalb dieser sechs Monate erhielten die Probanden(innen) wöchentlich zwei Interventionen. Zu jedem Zeitpunkt wurden umfangreiche Untersuchungen durchgeführt. Für die vorliegende Arbeit war nur die Blutabnahme relevant. Für die Analyse mit dem Photometer wurde die Erythrozytensuspension herangezogen.

Resultate: Das durchschnittliche Alter der Probanden(innen) (n=74; 87,4 % Frauen) lag bei $82,9 \pm 6,1$ Jahren. Die Aktivität der drei Antioxidantien-Enzyme nahm mit fortschreitendem Alter ab. Im Gesamtkollektiv kam es bei der SOD zu folgenden Aktivitätssteigerungen: T1: + 1,1 %, T2: + 4,4 %*, bei der CAT: T1: + 10,8 %*, T2: + 18,1 %* und bei der GSH-Px: T1: + 3,0 %, T2: - 1,2 %. Bis auf GSH-Px bei T2 war zu allen Zeitpunkten und bei allen Antioxidantien-Enzymen eine stetige Steigerung zu beobachten. Bei der CAT und bei der SOD waren diese Aktivitätssteigerungen auch signifikant ($p < 0,05$ *). Unterteilt nach Alterskategorien konnte man die stärkste Steigerung der Aktivität bei der SOD und der CAT bei den 75-84-Jährigen beobachten, bei der GSH-Px konnte man die stärkste Steigerung der Aktivität bei der Gruppe der 85+-Jährigen beobachten. Gegliedert nach Interventionsgruppen konnte man bei der SOD und der CAT die stärkste Steigerung bei der Trainingsgruppe beobachten. Bei der

GSH-Px war es genau umgekehrt, die stärkste Steigerung der Aktivität konnte man hier bei der kombinierten Trainings- und Ernährungsgruppe beobachten. Bei der Kognitionsgruppe konnten keine signifikanten Veränderungen bei den Enzymen festgestellt werden.

Schlussfolgerung: Zusammenfassend ist anzumerken, dass nur die Trainingsintervention zu signifikanten Aktivitätssteigerungen der Antioxidantien-Enzyme geführt hat. Jedoch konnte man bei allen drei Antioxidantien-Enzymen in beiden Interventionsgruppen und in allen Alterskategorien einen Trend der Aktivitätssteigerung nachweisen. Die Studie zeigt, dass das endogene antioxidative Abwehrsystem auch im hohen Alter auf eine sportliche Aktivität anspricht.

7 Summary

Objective: The aim of this thesis was to investigate, how exercise and the combination of exercise and nutrition and cognitive training might influence the activity of the three antioxidants enzymes (SOD, catalase, GSH-Px) in elderly subjects.

Methods: For the whole "Active Ageing" study more than 100 elderly subjects were recruited, taking into account the inclusion and exclusion criteria. The elderly were divided in a cognitive group, a training group and a combined training and nutrition group. As some elderly left the "Active Ageing" study in the present study, 74 subjects were analyzed for all time points T0 (start), T1 (after three months) and T2 (after six months). At any time point comprehensive physical tests were done and biochemical analysis performed. Within these six months the subjects were intervened twice a week. For analyzing the enzymes photometrically with the photometer, the erythrocyte suspension was used.

Results: The average age of the groups (n = 74; 87.4 % women) was 82.9 ± 6.1 years. The antioxidant activity of the three enzymes decreased with advancing age. In the overall study population SOD activity increased: T1: + 1.1 %, T2: + 4.4 % *, CAT: T1: + 10.8 % *, T2: + 18.1 % * and GSH-Px: T1: + 3.0 %, T2: - 1.2 %. Except for GSH-Px at T2, all time points showed a steady increase in all antioxidant enzyme activities. Some of the CAT and the SOD activity increases were significant (p < 0.05 *). Divided by age categories the strongest increase in SOD and CAT activity could be found in the group of 75-84 years. The strongest increase in GSH-Px activity could be found in the 85+ year old subjects. The largest increase in the training group could be seen for SOD and CAT, the GSH-Px remained stable. The strongest increase in activity could be found in the combined training and nutrition group. No significant changes could be found in the cognitive group.

Conclusions: Only the training intervention has led to significant increases in antioxidant enzymes activity. However, one could detect in all three antioxidant

enzymes in both intervention groups and in all age categories, a trend towards an increase in their activities, partially significant. The study was able to show that the endogenous antioxidant enzyme system can be influenced by physical activity also in elderly subjects.

Literaturverzeichnis

1. Aebi H. Katalase. Methoden der enzymatischen Analyse 1974; 1.
2. Azizbeigi K, Azarbayjani MA, Peeri M, Agha-Alinejad H, Stannard S. The Effect of Progressive Resistance Training on Oxidative Stress and Erythrocyte Antioxidant Enzymes Activity in Untrained Males. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2012.
3. Balog T, Sobočanec S, Šverko V, Krolo I, Ročić B, Marotti M, Marotti T. The influence of season on oxidant–antioxidant status in trained and sedentary subjects. *Life Sciences* 2006; 78(13): 1441-1447.
4. Bejma J, Ji L. Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 1999; 87: 465-470.
5. Beutler E. Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1963; 61: 882 – 890.
6. Bogdanska J, Korneti P, Todorova B. Erythrocyte superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in healthy male subjects in Republic of Macedonia. *Bratislavske lekarske listy* 2003; 104: 108-114.
7. Bolzán AD, Bianchi MS, Bianchi NO. Superoxide Dismutase, Catalase and Glutathione Peroxidase Activities in Human Blood: Influence of Sex, Age and Cigarette Smoking. *Clinical Biochemistry* 1997; 30(6): 449-454.
8. Brandenburger T, Bajorat T. *Fallbuch Biochemie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2006.
9. Brites F, Travacio M, Gambino G, Jaita G, Verona J, Llesuy S, Wikinski R. Regular exercise improves lipid and antioxidant profile. *Atherosclerosis* 2000; 151(1): 261.
10. Carrillo M-C, Kanai S, Sato Y, Kitani K. Age-related changes in antioxidant enzyme activities are region and organ, as well as sex, selective in the rat. *Mechanisms of Ageing and Development* 1992; 65(2–3): 187-198.
11. Chanchaev EA, Aizman RI. Age-related changes in blood plasma antioxidant activity in population of the southern Altai. *Zh Evol Biokhim Fiziol* 2012; 48(2): 135-137.
12. Chang C-K, Huang H-Y, Tseng H-F, Hsuuw Y-D, Tso TK. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2007; 18(1): 39-45.

13. Cutler RG, Rodriguez H. Critical Reviews of Oxidative Stress and Aging: Advances in Basic Science, Diagnostics and Intervention. World Scientific Pub., 2003.
14. Davidson VL, Sittman DB. Biochemistry. Lippincott, William & Wilkins, 1999.
15. De AK, Darad R. Age-associated changes in antioxidants and antioxidative enzymes in rats. Mechanisms of Ageing and Development 1991; 59(1-2): 123-128.
16. Devi SA, Prathima S, Subramanyam MVV. Dietary vitamin E and physical exercise: II. Antioxidant status and lipofuscin-like substances in aging rat heart. Experimental Gerontology 2003; 38(3): 291-297.
17. Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada JL, Covas MI, Ordoñez-Llanos J, Marrugat J. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. Atherosclerosis 2003; 167(2): 327-334.
18. Fabian E, Bogner M, Elmadfa I. Age-related modification of antioxidant enzyme activities in relation to cardiovascular risk factors. European Journal of Clinical Investigation 2012; 42: 42-48.
19. Gautam N, Chakraborty SP, Kundu PK, Roy S. Age associated changes in antioxidant and antioxidative enzymes in human neutrophil of different aged people. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2012; 2(1, Supplement): S423-S428.
20. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. Advanced Nutrition and Human Metabolism. Cengage Learning, Wadsworth, 2009.
21. Gunduz F, Senturk UK, Kuru O, Aktekin B, Aktekin MR. The effect of one year's swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. Physiol Res 2004; 53(2): 171-176.
22. Häge W. Biologische Krebsabwehr. Radionik-Verlag, 2006.
23. Hartig W. Ernährungs- und Infusionstherapie: Standards für Klinik, Intensivstation und Ambulanz. Thieme Georg Verlag, 2004.
24. Hatao H, Oh-Ishi S, Itoh M, Leeuwenburgh C, Ohno H, Ookawara T, Kishi K, Yagyu H, Nakamura H, Matsuoka T. Effects of acute exercise on lung antioxidant enzymes in young and old rats. Mechanisms of Ageing and Development 2006; 127(4): 384-390.
25. Horn F. Biochemie des Menschen. G. Thieme, Stuttgart, 2009.

26. Husain K. Interaction of physical training and chronic nitroglycerin treatment on blood pressure, nitric oxide, and oxidants/antioxidants in the rat heart. *Pharmacological Research* 2003; 48(3): 253-261.
27. Jacobi G, Biesalski HK, Gola U, Huber J, Sommer F. *Anti-Aging für Männer*. Thieme, Stuttgart, 2004.
28. Ji, Li L. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radical Biology and Medicine* 2008; 44(2): 142-152.
29. Ji L. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 1993; 25: 225-231.
30. Ji L. Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise. *Society for Experimental Biology and Medicine* 1999: 283-292.
31. Ji L, Fu R, Mitchell E. Gluthatione antioxidant enzyme skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 1992; 73: 1854-1859.
32. Kakarla P, Kesireddy S, Christiaan L. Exercise training with ageing protects against ethanol induced myocardial glutathione homeostasis. *Free Radic Res* 2008; 42(5): 428-434.
33. Kakarla P, Vadluri G, Reddy Kesireddy S. Response of hepatic antioxidant system to exercise training in aging female rat. *J Exp Zool A Comp Exp Biol* 2005; 303(3): 203-208.
34. Kampen EV, Zijlstra W. Colorimetric determination of haemoglobin. *Clinical Chemistry* 1961; Acta 6: 53.
35. Karlson P, Doenecke D, Koolman J, Fuchs G, Gerok W. *Karlsons Biochemie und Pathobiochemie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2005.
36. Kauril A. Der Einfluss erhöhten Bilirubins auf den humanen enzymatischen Antioxidantienstatus. Mag, Institut für Ernährungswissenschaften, Wien, 2012.
37. Kim JD, Yu BP, Mccarter RJM, Lee SY, Herlihy JT. Exercise and diet modulate cardiac lipid peroxidation and antioxidant defenses. *Free Radical Biology and Medicine* 1996; 20(1): 83-88.
38. Klinke R, Bauman R. *Physiologie*. Thieme, Stuttgart, 2009.
39. Kobe H, Nakai A, Koshino T, Araki T. Effect of regular maternal exercise on lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activities before and after delivery. *J Nippon Med Sch* 2002; 69(6): 542-548.

40. Kumar C, Reddy V, Prasad M, Thyagaraju K, Reddanna P. Dietary supplementation of Vitamin E protects heart tissue from exercise-included oxidative stress. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1992; 111: 109-115.
41. L'abbe M R, Collins MW, Trick KD, Laffey PJ. Glutathione peroxidase activity in a healthy Canadian population. Effects of age, smoking and drinking habits, exercise and oral contraceptive use. *Trace Elem Med* 1992; 9(1): 45-53.
42. Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji L. Adaptions of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue- and muscle fibre-specific. *American Journal of Physiology* 1997; 272: 363-369.
43. Leichtweis S, Leeuwenburgh C, Fiebig R, Parmelee D, Yu X, Ji L. Rigorous swim training deteriorates mitochondrial function in rat heart. *Acta Physiol Scand* 1997; 160: 139-148.
44. Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC. *Biochemie Und Pathobiochemie*. Springer, Heidelberg, 2006.
45. Marklund S, Marklund G. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. *European Journal of Biochemistry* 1974; 47: 469-474.
46. Marosi K, Bori Z, Hart N, Sárga L, Koltai E, Radák Z, Nyakas C. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience* 2012; 226(0): 21-28.
47. Marsh TG, Straub RK, Villalobos F, Hong MY. Soy protein supports cardiovascular health by downregulating hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and sterol regulatory element-binding protein-2 and increasing antioxidant enzyme activity in rats with dextran sodium sulfate-induced mild systemic inflammation. *Nutrition Research* 2011; 31(12): 922-928.
48. Neubauer O, König D, Kern N, Nics L, Wagner KH. No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 2008; 40(12): 2119-2128.
49. Nutricia. Nutricia Fortifit Inhaltsstoffe, Internet: <http://www.nutricia.at/produkte/ernaehrung-im-alter-und-bei-krankheit/sortiment/fortifit/produktsortiment/132> (Stand: 09.08.2013)
50. Ono K, Inui K, Hasegawa T, Matsuki N, Watanabe H, Takagi S, Hasegawa A, Tomoda I. The changes of antioxidative enzyme activities in equine erythrocytes following exercise. *Nihon Juigaku Zasshi* 1990; 52(4): 759-765.

51. Öztürk O, Gümüşlü S. Changes in glucose-6-phosphate dehydrogenase, copper, zinc-superoxide dismutase and catalase activities, glutathione and its metabolizing enzymes, and lipid peroxidation in rat erythrocytes with age. *Experimental Gerontology* 2004; 39(2): 211-216.
52. Pansarasa O, Bertorelli L, Vecchiet J, Felzani G, Marzatico F. Age-dependent changes of antioxidant activities and markers of free radical damage in human skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine* 1999; 27(5-6): 617-622.
53. Parise G, Phillips SM, Kaczor JJ, Tarnopolsky MA. Antioxidant enzyme activity is up-regulated after unilateral resistance exercise training in older adults. *Free Radical Biology and Medicine* 2005; 39(2): 289-295.
54. Pepe H, Balci ŞS, Revan S, Akalin PP, Kurtoğlu F. Comparison of oxidative stress and antioxidant capacity before and after running exercises in both sexes. *Gender Medicine* 2009; 6(4): 587-595.
55. Plasmatis. Reactive oxygen species (ROS) Nachweis und Quantifizierung in Zellen, Internet: <http://www.plasmatis.de/ros.html> (Stand: 11.08.2013)
56. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society* 1999; 58: 1025-1033.
57. Ravi Kiran T, Subramanyam MVV, Asha Devi S. Swim exercise training and adaptations in the antioxidant defense system of myocardium of old rats: relationship to swim intensity and duration. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 2004; 137(2): 187-196.
58. Reichl F-X. Taschenatlas der Toxikologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2002.
59. Remacle J, Lambert D, Raes M, Pigeolet E, Michiels C, Toussaint O. Importance of various antioxidant enzymes for cell stability. *Biochem Journal* 1992; 286.
60. Rinaldi B, Corbi G, Boccuti S, Filippelli W, Rengo G, Leosco D, Rossi F, Filippelli A, Ferrara N. Exercise training affects age-induced changes in SOD and heat shock protein expression in rat heart. *Experimental Gerontology* 2006; 41(8): 764-770.
61. Robertson J, Maughan R, Duthie G, Morrice P. Increased blood antioxidant systems of runners in response to training. *Clinical Science* 1991; 80: 611-618.

62. Salvi A, Carrupt P-A, Tillement J-P, Testa B. Structural damage to proteins caused by free radicals: assessment, protection by antioxidants, and influence of protein binding. *Biochemical Pharmacology* 2001; 61(10): 1237-1242.
63. Sfar S, Jawed A, Braham H, Amor S, Laporte F, Kerkeni A. Zinc, copper and antioxidant enzyme activities in healthy elderly Tunisian subjects. *Experimental Gerontology* 2009; 44(12): 812-817.
64. Shin Y-A, Lee J-H, Song W, Jun T-W. Exercise training improves the antioxidant enzyme activity with no changes of telomere length. *Mechanisms of Ageing and Development* 2008; 129(5): 254-260.
65. Siems W. *Oxidativer Stress und Pharmaka*. Govi-Verlag, Eschborn, 2005.
66. Siems W, Krämer K, Grune T. *Oxidativer Stress und Pharmaka*. *Pharmazeutische Zeitung* 2005; 15: 18-22.
67. Silverthorn DU. *Physiologie*. Pearson Studium, 2009.
68. Sun ZH, He ZX, Zhang QL, Tan ZL, Han XF, Tang SX, Zhou CS, Wang M, Zhang EP. Effects of protein and/or energy restriction for six weeks on antioxidation capacity of plasma and gastrointestinal epithelial tissues of weaned kids. *Livestock Science* 2012; 149(3): 232-241.
69. Teixeira AM, Trevizol F, Colpo G, Garcia SC, Charão M, Pereira RP, Fachineto R, Rocha JBT, Bürger ME. Influence of chronic exercise on reserpine-induced oxidative stress in rats: Behavioral and antioxidant evaluations. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2008; 88(4): 465-472.
70. Van Den Berg F. *Angewandte Physiologie. 5. Komplementäre Therapien verstehen und integrieren*. Thieme, Stuttgart, 2005.
71. Walla W, Eggen B, Lipinski H. *Der demographische Wandel: Herausforderung für Politik und Wirtschaft*. Verlag W. Kohlhammer, 2006.
72. Watzl B, Leitzmann C. *Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln*. Hippokrates, Stuttgart, 2005.
73. Xu CL, Wang YZ, Guo J, Liu JX, Feng J. Comparison of age-related differences in expression of antioxidant enzyme mRNA and activity in various tissues of pigs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 2007; 147(3): 445-451.
74. Yamamoto T, Ohkuwa T, Itoh H, Sato Y, Naoi M. Relation between voluntary physical activity and oxidant/antioxidant status in rats.

Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 2003; 135(2): 163-168.

75. Yang L, Chen J-H, Xu T, Zhou A-S, Yang H-K. Rice protein improves oxidative stress by regulating glutathione metabolism and attenuating oxidative damage to lipids and proteins in rats. *Life Sciences* 2012; 91(11–12): 389-394.
76. Zajitschek A. Veränderung von Parametern des oxidativen Stresses bei Typ-II Diabetikern nach Pflanzenölintervention. Mag., Institut für Ernährungswissenschaften, Wien, 2007.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name	Geburtsdatum	Heimatstadt
Markus Pichler, Bakk.rer.nat.	12.09.1977	Wien

Berufserfahrung:

Zeit	Firma	Position
2013 (ab August)	Umweltbundesamt	Softwaretest Automatisierung
2013 (4 Monate)	Bundesrechenzentrum	Softwaretest Automatisierung
2012 (2 Monate)	Universität Wien	Praktikum Active Ageing
2010-2011 (16 Monate)	Allianz (SQS)	Software-Tester
2009 (1 Monat)	Hella	Ferienjob
2008 (1 Monat)	Hella	Ferienjob
2006 (6 Monate)	Allianz	Software-Tester
2005-2006 (3 Monate)	Telekom Austria	Verkäufer
2004 (5 Monate)	DMC SAP Consulting	Programmierer (Projekt)
2000-2003 (3 Jahre)	Spardat (s IT Solutions)	Programmierer
1997-2000 (3 Jahre)	BEKO	Programmierer und SW-Tester
1996-1997 (1 Jahr)	Polizei	Zivildienst: Schülerlotse

Schul- und Berufsbildung:

Zeit	Bildung
2011-2013 (2 Jahre)	Studium für Ernährungswissenschaften (Master Public Health)
2006-2011 (4 1/2 Jahre)	Studium für Ernährungswissenschaften (Bakk.) abgeschlossen, teilweise berufsbegleitend
2006 (6 Monate)	Studienberechtigungsprüfung für Ernährungswissenschaften, berufsbegleitend

2004-2005 (1 Jahr)	Studienberechtigungsprüfung Sportwissenschaften	für
1993-1996 (3 Jahre)	SDV Salmgasse (Schule Datenverarbeitungskaufleute)	für
1998-1993 (5 Jahre)	AHS Albertgasse	

IKT-Kenntnisse und Kompetenzen:

HP QuickTest, IBM Rational Functional Tester, IBM Rational Quality Manager, SPSS 19.0, TOSCA, EndNote X5, Microsoft Office 2010 (Word, Excel, Powerpoint, VBA), Adobe Photoshop CS4, Adobe Illustrator CS4, Adobe Acrobat 9 Pro, Microsoft Visual Basic 6.0, Java Script, HTML, PHP, ASP

Sonstige Fähigkeiten und Kompetenzen:

Sport, Reisen, Filme, Multimedia

Führerschein(e):

A, B
