



universität
wien

MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

„Einfluss des Ernährungsmusters und einer intensiven
körperlichen Belastung auf die DNA-Schädigung:
Untersuchung bei gesunden Männern“

verfasst von / submitted by

Florentine Schüz, BSc

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of

Master of Science (MSc)

Wien, 2024 / Vienna, 2024

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

UA 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Masterstudium Ernährungswissenschaften

Betreut von / Supervisor:

Univ.-Prof. Dr. Daniel König

Abstract

Background:

Oxidative damage to genetic material is linked to the development of diseases such as cancer, type II diabetes and neurodegenerative diseases. Both dietary patterns and physical activity are potential trigger factors for oxidative DNA damage. However, the exact influence of specific food groups or dietary patterns on DNA stability is not completely understood.

Objective:

The aim of the present master's thesis was to investigate the impact of dietary pattern in combination with a 5-km run on DNA damage in healthy Austrian men.

Methods:

To investigate this correlation, 30 physically active ($\dot{V}O_{2\max}$ 53,6 +/- 6,8 ml/min/kg) and healthy male participants (age 29 +/- 4,2 years, body mass index (BMI) 24 +/- 3,2 kg/m²) were enrolled in the study. The Comet assay was used to quantify DNA damage in the form of single and double-strand DNA breaks, oxidative DNA damage and the antioxidant status of the cells. The dietary pattern was assessed using a Food Frequency Questionnaire. The quality of the diet was calculated using the Healthy Eating Index (HEI).

Results and conclusion:

The precise impact of the dietary pattern on the DNA damage of the probands and the influence of the 5-km run could not be clearly clarified. The results indicate that there is a significantly increased DNA damage after the running intervention ($p < 0.05$). However, no clear correlation between DNA damage and dietary pattern could be established ($p > 0,05$). This is largely due to the suboptimal storage conditions of the whole blood samples, resulting in limited significance of the comet assay results.

Zusammenfassung

Hintergrund:

Die oxidative Schädigung des genetischen Materials steht im Zusammenhang mit der Entstehung von Krankheiten wie Krebs, Diabetes Typ II oder neurodegenerativen Erkrankungen. Sowohl das Ernährungsmuster als auch körperliche Aktivität zählen zu potenziellen Auslösern für oxidative Schädigungen der DNA. Dennoch ist der genaue Einfluss bestimmte Lebensmittelgruppen oder Ernährungsmuster auf die DNA-Stabilität noch nicht vollständig geklärt.

Zielsetzung:

Das Ziel der vorliegenden Masterarbeit war es, die Auswirkungen des Ernährungsmusters in Kombination mit einem 5-km-Lauf auf die DNA-Schädigung bei österreichischen, gesunden Männern zu erforschen.

Methodik:

Um diesen Zusammenhang zu untersuchen wurden 30 gesunde, freizeitlich trainierte ($\dot{V}O_2\text{max}$ 53,6 \pm 6,8 (ml/min/kg) männliche Personen (Alter 29 \pm 4,2 Jahre, Body-Mass-Index (BMI) 24 \pm 3,2 kg/m²) in die Studie inkludiert. Mithilfe des Comet Assays wurde die DNA-Schädigung in Form von Einzel- als auch Doppelstrangbrüche der DNA, oxidative DNA-Schäden und der antioxidative Status der Zellen vor und nach einem 5-km-Lauf gemessen. Das Ernährungsmuster wurde über einen Food Frequency Questionnaire erhoben. Die Qualität der Ernährung wurde über den Healthy Eating Index (HEI) berechnet.

Ergebnisse und Schlussfolgerung:

Die genaue Auswirkung des Ernährungsmusters auf die DNA-Schädigung der Probanden und der Einfluss des 5-km-Laufs konnten nicht eindeutig geklärt werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass nach der Laufintervention ein signifikant erhöhter DNA-Schaden vorliegt ($p < 0,05$). Jedoch konnte kein klarer Zusammenhang zwischen der DNA-Schädigung und dem Ernährungsmuster festgestellt werden. Dies resultiert größtenteils aus den suboptimalen Lagerbedingungen der Vollblutproben, wodurch die Ergebnisse des Comet-Assays lediglich eine begrenzte Aussagekraft aufweisen.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Anna, die mir mit ihrer fachlichen Expertise, Geduld und großer Motivation im Labor zur Seite stand. Ebenso möchte ich Eva und Kati für ihre Ausdauer beim stundelangen Auszählen der Zellen danken.

Ein herzliches Dankeschön geht an meine Familie und Freunde, die mich während meines gesamten Studiums und während dieser Arbeit unterstützt haben. Ein besonderer Dank geht an Annalena für ihre außerordentliche Unterstützung.

Abschließend möchte ich meine Anerkennung für die Unterstützung und Ressourcen ausdrücken, die mir von den Arbeitsgruppen von Univ.-Prof. Dr. Daniel König und Univ. Prof. Dr. Karl-Heinz Wagner zur Verfügung gestellt wurden.

Inhaltsverzeichnis

I.	Abkürzungsverzeichnis	VIII
II.	Abbildungsverzeichnis	IX
III.	Tabellenverzeichnis	X
1.	Einleitung	1
1.1.	<i>Entstehung von DNA-Schädigungen</i>	1
1.2.	<i>Reparaturmechanismen</i>	3
1.3.	<i>Einfluss der körperlichen Aktivität auf die DNA-Schädigungen</i>	3
1.4.	<i>Einfluss des Ernährungsmusters auf DNA-Schädigungen</i>	6
1.5.	<i>Österreichische Ernährungspyramide</i>	10
1.6.	<i>Fragestellungen und Zielsetzung</i>	11
2.	Material und Methoden	14
2.1.	Studiendesign	14
2.2.	<i>Messung der DNA-Schädigung: Comet Assay</i>	15
2.3.	<i>Erfassung des Ernährungsmusters</i>	17
2.4.	<i>Auswertung des Food Frequency Questionnaires</i>	18
2.5.	<i>Statistische Auswertung</i>	22
3.	Ergebnisse	24
3.1.	<i>Charakteristika der Probanden</i>	24
3.2.	<i>Zusammenhang zwischen dem Ernährungsmuster und der DNA-Schädigung</i> 25	
3.3.	<i>Zusammenhang zwischen den Blutfettwerten und dem Ernährungsmuster</i> ...	30
3.4.	<i>Zusammenhang zwischen einer einmaligen körperlichen Belastung und der DNA-Schädigung</i>	32
3.5.	<i>Zusammenhang zwischen interindividuellen Unterschieden (Alter, Sportlichkeit, BMI) und der DNA-Schädigung</i>	33
4.	Diskussion	35

4.1.	<i>Einfluss des Ernährungsmusters auf die DNA-Schädigung</i>	35
4.2.	<i>Einfluss der Blutfettwerte auf das Ernährungsmuster</i>	38
4.3.	<i>Einfluss einer intensiven körperlichen Belastung auf die DNA-Schädigung</i>	39
4.4.	<i>Einfluss von Alter, Sportlichkeit und BMI auf die DNA-Schädigung</i>	40
4.5.	<i>Limitationen</i>	42
5.	Fazit	44
6.	Literaturverzeichnis	45
7.	Anhang	54
7.1.	<i>Material und Chemikalien für die Durchführung eines Comet Assays</i>	54
7.2.	<i>Protokoll Comet Assay</i>	55
7.3.	<i>Food Frequency Questionnaire</i>	59
8.	Eidesstaatliche Erklärung	92

I. Abkürzungsverzeichnis

AGES	Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body-Mass-Index
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPBS	Dulbecco's Phosphate buffered saline
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure Dinatriumsalzlösung
Eppis	Eppendorf Reaktionsgefäße
<i>FFQ</i>	Food Frequency Questionnaire
<i>FPG</i>	Formamidpyrimidin-DNA-Glykosylase
H_2O_2	Wasserstoffperoxid
<i>HEI</i>	Healthy Eating Index
<i>KCl</i>	Kaliumchlorid
<i>LMA</i>	Low Melting Agarose
<i>NMA</i>	Normal Melting Agarose
<i>NO</i>	Stickstoffmonoxid
1O_2	Singulett-Sauerstoff
$O_2^{\cdot-}$	Superoxid-Anionen
OH^{\cdot}	Hydroxylradikale
<i>8-OxoG</i>	8-Oxoguanin
<i>RNS</i>	reaktive Stickstoffspezies
<i>ROS</i>	reaktive Sauerstoffspezies
<i>SOD</i>	Superoxiddismutase
<i>TMA</i>	Trimethylamin
<i>TMAO</i>	Trimethylaminoxid
<i>TRIS</i>	Trizma Base
$\dot{V}O_{2max}$	maximale Sauerstoffaufnahme

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Entstehung von 8-Oxoguanin durch ROS (Lanier & Williams, 2017).....	2
Abbildung 2 Erzeugung reaktiver Sauerstoffspezies in den Mitochondrien, modifiziert nach (Finkel, 2011)	4
Abbildung 3 Österreichische Ernährungspyramide (AGES, 2019)	10
Abbildung 4 Ablauf des Versuchs	14
Abbildung 5 Fließschema zur Durchführung eines Comet Assays (modifiziert nach Collins et al., 2014)	16
Abbildung 6 Vergleich der österreichischen Ernährungsempfehlungen laut Ernährungspyramide (grau) vs. Portionsangaben laut FFQ/Tag (schwarz)	26
Abbildung 7 Häufigkeitsverteilung des Healthy Eating Index (n=30)	27
Abbildung 8 Streudiagramme zu den Zusammenhängen vom Healthy Eating Index und (A) Lyse (Strangbrüche), (B) H ₂ O ₂ und (C) Net-FPG jeweils in % DNA im Schweif.....	29
Abbildung 9 Vergleich der DNA-Schädigung bei der Baseline-Messung (pre) und nach 5-km-Lauf (post).....	33
Abbildung 10 Multidimensionales Modell, das mehrere Faktoren zeigt, die bei der Bewertung der oxidativen Schädigung verursacht durch Sport zu berücksichtigen sind.	40

III. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Zusammenfassung der im FFQ erfragte Lebensmittelgruppen und die jeweiligen Empfehlungen, ergänzt mit den jeweiligen Portionsgrößen.....	18
Tabelle 2 Anpassung der Empfehlungen der österreichischer Ernährungspyramide an einen von PAL = 1,7	20
Tabelle 3 Vereinheitlichung der Verzehrfrquenzen auf die Einheit „pro Tag“	21
Tabelle 4 Charakteristika des Studienkollektivs.....	24
Tabelle 5 Biomarker der DNA-Schädigung: Baseline-Messung und nach dem 5-km-Lauf.....	25
Tabelle 6 FFQ-Ergebnisse vs. Empfehlungen	26
Tabelle 7 Pearson-Korrelationskoeffizienten von der DNA-Schädigung (% DNA im Schweif) und dem Healthy Eating Index	28
Tabelle 8 Lineares Modell zur H ₂ O ₂ -verursachten DNA-Migration und ausgewählten Lebensmittelgruppen	29
Tabelle 9 Lineares Modell zu ausgewählten Getränken (in Portionen pro Tag) und der DNA-Schädigung	30
Tabelle 10 Laborwerte der Blutfettwerte	31
Tabelle 11 Spearman-Korrelationen des Healthy Eating Index und der Biomarker der Blutfettwerte	32
Tabelle 12 Lineares Modell zu interindividuellen Unterschieden und DNA-Schädigung	33
Tabelle 13 Materialien für die Durchführung eines Comet Assays	54
Tabelle 14 Chemikalien für die Durchführung eines Comet Assays	55

1. Einleitung

Die Desoxyribonukleinsäure (DNA) ist ein lebenswichtiges Molekül. Sie befindet sich überwiegend im Zellkern eukaryotischer Zellen und ist für die Speicherung und Übertragung genetischer Informationen zuständig. Gleichzeitig ist die DNA ein sehr reaktives Molekül (Chatterjee & Walker, 2017). Über 10.000 DNA-Läsionen erlebt jede menschliche Zelle pro Tag, welche auf sehr unterschiedliche Weise verursacht werden (Carusillo & Mussolino, 2020). Im Zuge dieser Masterarbeit wird es um den Einfluss von Sport und Ernährung auf DNA-Schädigungen gehen, da beide Faktoren maßgeblich auf die DNA und somit auf die Gesundheit des Menschen wirken (Pisoschi & Pop, 2015).

1.1. Entstehung von DNA-Schädigungen

Typischerweise entstehen DNA-Schädigungen durch oxidative Prozesse, Alkylierung von Basen, Basenverlust durch Hydrolyse, Adduktbildung, DNA-Vernetzungen oder DNA-Strangbrüche. Genannte DNA-Schädigungen können einerseits endogen verursacht werden, wie etwa bei metabolischen Prozessen in der Zelle. Andererseits können Umweltreize, ionisierende oder UV-Strahlung sowie chemische Wirkstoffe schädigend wirken. Diese werden als exogene Faktoren zusammengefasst (Chatterjee & Walker, 2017).

Die häufigste Ursache für oxidative DNA-Schädigung sind reaktive Sauerstoffspezies (ROS), wie Hydroxylradikale (OH^\bullet), Superoxid-Anionen ($\text{O}_2^{\bullet-}$), Wasserstoffperoxide (H_2O_2) oder Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$). Zusätzlich zu ROS gibt es reaktive Stickstoffverbindungen (RNS) (Barnes et al., 2018). ROS werden unter anderem endogen bei oxidativen Stoffwechselprozessen gebildet, wie etwa bei der Zellatmung in den Mitochondrien. Außerdem entstehen ROS im Zuge entzündlicher Prozesse im Körper oder aber bei intensiver körperlicher Aktivität (Pisoschi & Pop, 2015). Chemisch sind ROS durch ein oder mehrere ungepaarte Elektronen im äußersten Orbital charakterisiert. Diese ungepaarten Elektronen machen Radikale besonders reaktiv (Bardaweel et al., 2018).

Endogen können antioxidative Enzyme, wie Superoxiddismutase (SOD) und Katalase, oder aber nicht-enzymatische Antioxidantien, beispielsweise Glutathion, die entstandenen ROS schnell wieder abbauen. Durch die Nahrung zugeführte Vitamine, Carotinoide oder auch Phenole gehören ebenfalls zur antioxidativen Abwehr. Sie werden jedoch zu den exogenen Antioxidantien gezählt (Cemeli et al., 2009). Nicht abgebaute

ROS greifen aufgrund ihrer hohen Reaktivität DNA, Proteine oder Membranlipide an, wobei das OH^\bullet das reaktivste von ihnen ist. In weiterer Folge kann es zu Störungen der DNA-Synthese und -Reparatur kommen (Barnes et al., 2018).

Eine gewisse Menge ROS ist für die Signalwege innerhalb des menschlichen Organismus notwendig. Dafür werden diese gezielt erzeugt und genutzt, um physiologische Prozesse im Körper zu regulieren (Bardaweel et al., 2018; Finkel, 2011). Werden jedoch zu viele ROS gebildet, kommen die körpereigenen Schutzmechanismen nicht hinterher sie wieder abzubauen. Im Körper entsteht erhöhter oxidativer Stress. Erstmals wurde 1991 „oxidativer Stress“ definiert als: „a disturbance in the prooxidant to antioxidant balance in favor of the oxidant species, leading to potential damage“ (Sies, 1991). Diese Störung der Homöostase, wenn Oxidationsreaktionen dominieren und so das Gleichgewicht zwischen Oxidationsmitteln und Antioxidantien nicht aufrechterhalten werden kann, resultiert in einer erhöhten oxidativen Schädigung (Powers & Jackson, 2008). Das entstandene Ungleichgewicht begünstigt in weiterer Folge die Entstehung von Erkrankungen wie Krebs, neurodegenerative sowie entzündlichen Krankheiten (Chatterjee & Walker, 2017).

Mit Blick auf ein konkretes Beispiel ist die Base Guanin ein Hauptziel von ROS. Sie wird am schnellsten von den Nukleinbasen der DNA oxidiert. Grund dafür ist ihr geringes Redoxpotential, was bedeutet, Guanin tendiert eher dazu, Elektronen aufzunehmen, anstatt diese abzugeben (Markkanen, 2017). Demnach kommt es durch ROS, beispielsweise dem OH^\bullet -Radikal, zur Oxidation von Guanin. Es entsteht das 8-Oxoguanin (8-OxoG), siehe **Abbildung 1**, welches nachweislich mutagen wirkt (van Loon et al., 2010). Es wird aufgrund des 8-OxoGs nun Adenin als komplementäre Base gepaart und das Guanin wird zu Thymin (Lutsenko et al., 2002). Die quantitative Erhebung dieses Oxidationsproduktes gilt als eine Standardmethode, die oxidative DNA-Schädigung von Zellen zu erheben (Valko et al., 2006).

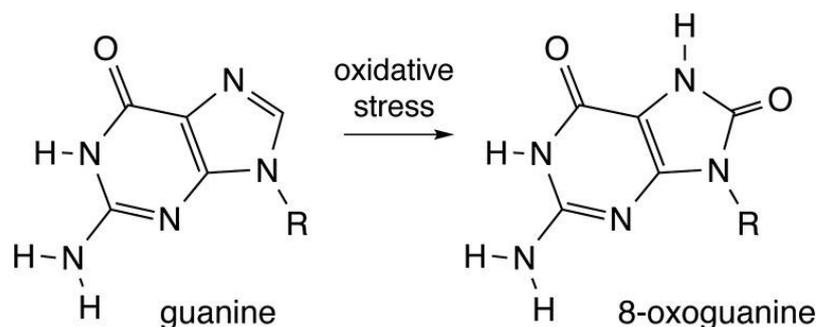


Abbildung 1 Entstehung von 8-Oxoguanin durch ROS (Lanier & Williams, 2017)

1.2. Reparaturmechanismen

Sind die DNA-Reparaturfähigkeiten eines Organismus gestört, ist ebenfalls eine anhaltend erhöhte DNA-Schädigung zu verzeichnen. Es kommt vermehrt durch die Veränderung der Basensequenz zur Mutagenese, d. h. zu genetischen Veränderungen im Erbgut. Die Instabilität des Genoms begünstigt die Krebsentwicklung und wirkt sich auf die Gesundheit des Organismus sowie dessen Alterung negativ aus (Barnes et al., 2018).

Um DNA-Schädigungen abzuwehren, besitzt der Organismus unterschiedliche Reparaturmechanismen. Dabei werden die folgenden fünf Hauptwege unterschieden: Basen-Exzisionsreparatur, Nukleotid-Exzisionsreparatur, Reparatur von Fehlanpassungen, homologe Rekombination und nicht-homologes Endverbinden. Wann welcher Reparaturmechanismus zum Tragen kommt, richtet sich nach dem Zellzyklus (Chatterjee & Walker, 2017). In weiterer Folge wird es um den Nachweis von oxidativer Schädigung und dem antioxidativem Status der Zellen gehen. An dieser Stelle sei erwähnt, dass die Reparaturmechanismen dagegen kein Bestandteil der vorliegenden Untersuchung waren.

1.3. Einfluss der körperlichen Aktivität auf die DNA-Schädigungen

Körperliche Aktivität wird mit vielen gesundheitsförderlichen Wirkungen für den menschlichen Körper assoziiert. Zu körperlicher Aktivität wird jede Form von Bewegung gezählt, bei der es zur Kontraktion der Skelettmuskulatur kommt, die eine Erhöhung des Energieverbrauchs mit sich bringt (Miko et al., 2020). Paradoxerweise kommt es durch die Skelettmuskelkontraktion auch zu einer gesteigerten Bildung von freien Radikalen, welche Zellen und Gewebe schädigen können. Dabei werden hauptsächlich Superoxid-Radikale ($O_2^{\cdot-}$) und Stickstoffmonoxid (NO) gebildet (Jackson et al., 2016). Den Einfluss von körperlicher Aktivität auf die DNA-Stabilität wird das folgende Kapitel thematisieren.

Die gesteigerte NO-Produktion in der Skelettmuskulatur wird durch die NO-Synthase verursacht (Stamler & Meissner, 2001). Wie das $O_2^{\cdot-}$ -Radikal in der Skelettmuskulatur gebildet wird, das stand länger zur Diskussion (Powers et al., 2022).

Bei sportlicher Betätigung wird die Stoffwechselrate erhöht. Die Aufnahme von Sauerstoff ist gesteigert. Der Sauerstoff wird für den Substratmetabolismus in den Mitochondrien genutzt, um Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) zu produzieren (Banerjee

et al., 2003). Durch den gesteigerten O₂-Verbrauch in den Mitochondrien im Muskelgewebe, wird die Entstehung von radikalen Sauerstoffspezies begünstigt. Bei Komplex I und III der Atmungskette, siehe **Abbildung 2**, werden auf molekularen Sauerstoff Elektronen übertragen:



Superoxid-Anionen können bei diesem Schritt gebildet und anschließend weiter zu H₂O₂ reduziert werden (Packer et al., 2008).

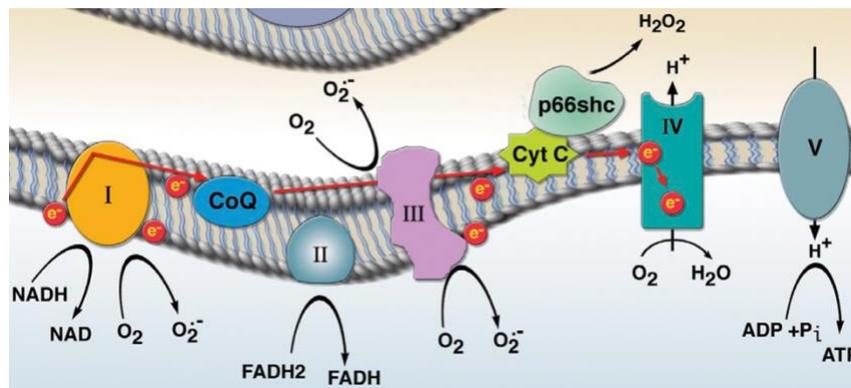


Abbildung 2 Erzeugung reaktiver Sauerstoffspezies in den Mitochondrien, modifiziert nach (Finkel, 2011)

Lange Zeit wurden die Mitochondrien als die Hauptquelle für die durch Sport gebildeten ROS gesehen (Powers et al., 2020). Jedoch zeigen neuere Studien auf, dass enzymatische Systeme wie der membrangebundene Enzymkomplex, die Nicotinsäureamidadenindinucleotidphosphat-Oxidase (NADPH-Oxidase), oder auch Xanthinoxidase (XO) (Jackson et al., 2016) und die Phospholipase A2 (PLA2) für die Bildung von ROS verantwortlich sind (Powers et al., 2022; Sakellariou et al., 2013).

Die entstandenen Superoxid-Radikale werden mittels SOD zu H₂O₂ umgewandelt:



Das gebildete H₂O₂ kann einfach durch die Zellmembran transportiert werden und zirkulieren (Birben et al., 2012). Es greift jedoch nicht direkt die DNA an, sondern generiert OH[•] (Cobley et al., 2015). Das entstandene OH[•] reguliert viele weitere Signalwege im Organismus (Powers et al., 2010).

Die Reaktion von H_2O_2 zu OH^\bullet verläuft über die Haber-Weiss-Reaktion, durch Eisen katalysiert (Birben et al., 2012):



Außerdem kann $\text{O}_2^{\bullet-}$ auch mit NO^\bullet reagieren und Peroxinitrit (ONOO^-) bilden, was zu den RNS gezählt wird. Peroxinitrit bildet sich dreimal schneller als die Umwandlung zu H_2O_2 geschieht und es schädigt in weiterer Folge auch die DNA aufgrund seiner starken Reaktivität (Powers & Jackson, 2008).

Schätzungsweise 70% der gebildeten OH^\bullet greifen in weiterer Folge Nukleinbasen an (Nikitaki et al., 2015). Dabei oxidieren die gebildeten Hydroxylradikale, wie eingangs erläutert, Guanin zu Oxo-8G. Die vermehrte Entstehung von radikalen Sauerstoff- und Stickstoffspezies resultiert in DNA-Schädigungen und begünstigt die genetische Instabilität (Finaud et al., 2006).

Thirupathi und de Souza ergänzen, warum sich bei sehr intensiver sportlicher Betätigung mehr oxidative Schädigung bildet und fassen den Mechanismus wie folgt zusammen. Durch die starke körperliche Aktivität wird vermehrt ATP generiert, um den Energiebedarf aufrechtzuerhalten. Dies führt zu einem verringerten AMP-Spiegel und zudem zur reduzierten AMPK-Aktivität. Aufgrund dieser ungünstigen AMP/ATP-Ratio wird die Expression von antioxidativen Enzymen, wie SOD und Glutathionperoxidase, verringert. Was die weitere Reaktion von $\text{O}_2^{\bullet-}$ -Radikal zu Wasser und H_2O_2 verhindert. Gleichzeitig wird über eine andere Signalkaskade NADPH-Oxidase heraufreguliert, was zu einer erhöhten Produktion von Superoxid-Anionen beiträgt (Thirupathi & de Souza, 2017). Demnach resultiert aus beiden dargestellten Signalkaskaden erhöhter oxidativer Stress im Körper.

In der Regel wird geschädigte DNA über die bereits erwähnten Mechanismen, siehe Kapitel 1.2., wieder repariert. Diese Reparaturen sind meist bereits nach drei bis fünf Tagen abgeschlossen, abhängig von Intensität und Länge der Sporeinheit (Sellami et al., 2021).

Es herrscht Konsens darüber, dass besonders hochintensive Ausdauertrainings DNA-Schäden verursachen, was zu einem Anstieg des oxidativen Stresses im Körper führt. Bei chronisch anhaltendem oxidativen Stress werden in der Regel die vermehrte

Mutagenese, schnellere Alterung und die Kanzerogenese begünstigt (Tryfidou et al., 2020). Da der entstandenen DNA-Schaden meist in darauffolgenden Tagen wieder kompensiert wird, wird der Krebsentstehung hier keine große Bedeutung zugesprochen, da keine langfristigen gesundheitlichen Folgen zu erwarten sind (Sellami et al., 2021).

Dagegen verursachen Sporteinheiten, die keinen hohen Stress im Körper hervorrufen, wie etwa gewohnheitsmäßiges Training oder niedrig- bis mittelintensives Training, weniger DNA-Schäden (Huang et al., 2014; Mastaloudis et al., 2004). Die geringe Menge an reaktiven Sauerstoffspezies ist hier essenziell für eine Gewöhnung der Muskulatur an die Belastung und dem somit entstehenden Trainingseffekt (Powers et al., 2010). Zudem wird durch die Bewegung die Aktivität von antioxidativen Enzymen, wie SOD, hochreguliert, um direkt die entstandenen ROS abzufangen (Banerjee et al., 2003; Powers et al., 2022). In der Metaanalyse von Tryfidou et al. wird in diesem Zusammenhang die Hormesis-Theorie postuliert, nach der sich geringe Dosen, von einer eigentlich schädlichen Substanz, positiv auf den Organismus auswirken (Tryfidou et al., 2020).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass durch die Muskelkontraktion über mehrere Wege reaktive Spezies produziert werden, welche zu DNA-Schädigungen und bis zu DNA-Doppelstrangbrüchen führen kann. Gleichzeitig werden bei regelmäßigem Training antioxidative Enzyme hochreguliert, um das oxidative Gleichgewicht im Körper zu erhalten oder möglichst schnell wiederherzustellen (Powers et al., 2022). Daraus resultiert, dass mit zunehmendem Trainingsstatus der trainingsverursachte oxidative Stress abnimmt (Powers et al., 2020).

1.4. Einfluss des Ernährungsmusters auf DNA-Schädigungen

Die Untersuchung von einzelnen Lebensmitteln, speziellen Nährstoffen oder auch Supplementen und ihrer Wirkung auf die DNA-Stabilität ist von großem wissenschaftlichem Interesse (Azqueta et al., 2020). Die Erforschung unterschiedlicher Ernährungsmuster gewinnt zunehmend an Relevanz. Daraus resultiert auch die Empfehlung gesundheitsförderlicher Ernährungsmuster. Dies steht im Gegensatz zur Empfehlung einzelner Lebensmittel, wobei auch bei einer adäquaten Zufuhr eben dieses Lebensmittels kein unausgewogenes Ernährungsmuster kompensiert werden kann (Cena & Calder, 2020).

Gesundheitsförderliche Ernährungsmuster, wie etwa die mediterrane, die nordische oder auch die traditionelle asiatische Diät, bestehen aus einer überwiegend pflanzlichen Kost. Deren Basis bilden frisches Obst und Gemüse, Vollkornprodukten, Hülsenfrüchten, Samen und Nüssen sowie Omega-3-Fettsäuren aus Fisch. Dagegen sind tierische Produkte, darunter besonders verarbeitete Wurstwaren, rotes Fleisch und zuckerreiche Lebensmittel weniger stark vertreten (Cena & Calder, 2020).

Insbesondere die mediterrane Ernährungsweise wird mit einem geringeren Erkrankungsrisiko an Krebs und an vielen weiteren Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Grund dafür ist neben der anti-inflammatorischen Wirkung auch die antioxidative Wirkung, die von ihr ausgeht (Mentella et al., 2019). Eine Pilotstudie mit Personen, die bereits an Prostatakrebs erkrankt waren, konnte eine signifikant senkende Wirkung ($p < 0,01$) der mediterranen Diät, auf die DNA-Schädigung der Probanden nachweisen (Erdrich et al., 2015). Generell konnte eine protektive Wirkung der mediterranen Diät auf die DNA nachgewiesen werden. Jedoch bedarf es noch weitere Studien, um eindeutige Aussagen treffen zu können (Del Bo et al., 2019).

In Bezug auf asiatische Ernährungsmuster wurde in einer Studie eine einwöchige koranischen Diät, welche sich nach den Ernährungsempfehlungen für Koreaner richtete, mit der einwöchigen Verabreichung einer US-amerikanischen Diät verglichen. Die US-amerikanische Diät basierte auf den Daten der National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 2001-2002). Bei der Diät nach koreanischen Ernährungsempfehlungen wurde eine signifikant geringeren DNA-Schädigung ($p < 0,01$) nachgewiesen. Die koreanische Kost bestand dabei hauptsächlich aus Getreide, Gemüse, Obst, Eiern, Fisch und Milchprodukten. Die US-amerikanische Diät war dagegen durch einen großen Anteil an verarbeiteten Lebensmitteln gekennzeichnet (Lee et al., 2017).

Ähnliche Ergebnisse brachte die Studie von Møller et al. hervor. Sie untersuchten ein nordisches Ernährungsmuster von Personen aus dem Großraum Kopenhagen. Dabei konnten sie einen inversen Zusammenhang ($p < 0,05$) zwischen den oxidativen Schäden der DNA und dem Verzehr von Fisch und Salat beobachten (Møller et al., 2019).

Durch die Ernährung verursachter oxidativer Stress wird nach Tan et al. (2018) hauptsächlich durch drei Faktoren begünstigt: ein hoher Konsum von raffinierten Kohlenhydraten, Fleisch und Fleischprodukten sowie fettreichen Speisen.

Im Falle des Verzehrs von großen Mengen an zuckerhaltigen Produkten oder raffinierten Kohlenhydraten steigt der Insulin- und Glucosespiegel im Blut stark an. Durch die Bindung von Insulin an Insulinrezeptoren wird der PI3K/Akt-Signalweg aktiviert, wodurch es in weiterer Folge zur Aktivierung der NADPH-Oxidase und Translokation von Akt (eine Serin/Threonin-Kinase) in die Mitochondrien kommt. Beides führt zur vermehrten Produktion von ROS und schließlich zur erhöhten DNA-Instabilität (Othman et al., 2013). Gleichzeitig wird durch den gestiegenen Glucosespiegel im Blut eine Vielzahl von Signalwegen induziert, welche die Produktion von ROS mit sich bringen. Es kommt zur Proteinkinase-C-anhängigen Aktivierung der NADPH-Oxidase, welche die Produktion von O_2^- katalysiert. Durch die stattfindende Glykolyse im Zytosol, wird vermehrt NADPH gebildet, welches in der Atmungskette weiter genutzt werden kann. Zudem wird auch das gebildete Pyruvat zu Laktat reduziert und ebenfalls in die Mitochondrien transportiert, was, wie bereits erläutert, ebenfalls zur erhöhten Produktion von O_2^- beiträgt (T. Setayesh et al., 2018).

Durch die Veränderung der Darmbakterien im Dickdarm aufgrund einer sehr fett- oder kohlenhydratreichen Ernährung, kommt es zudem zu erhöhtem oxidativem Stress im Körper. Wobei im Artikel von Bojková et al. postuliert wird, dass gerade bei einer fettreichen Ernährungsweise die Fettzusammensetzung und das allgemeine Ernährungsmuster von großer Bedeutung sind. Aussagen in Bezug auf DNA-Stabilität und das Krebsrisiko sind ohne die Betrachtung weiterer Faktoren nicht einfach zu treffen. Es bedarf weiterer Forschung in diesem Bereich (Bojková et al., 2020).

Da ein Lebensmittel immer aus einer Vielzahl an chemischen Verbindungen besteht, existieren die verschiedensten Mechanismen, durch welche nur ein einzelnes Lebensmittel die Entstehung von DNA-Schädigungen verursachen kann. Zum einen können einzelne kanzerogene Stoffe aus Lebensmitteln auf die DNA einwirken und Schädigung hervorrufen (Ladeira et al., 2017). In Bezug auf tierische Produkte sind in verarbeitetem Fleisch mutagene Komponenten wie N-Nitrosoverbindungen, heterozyklische Amine und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, die für die Entstehung von oxidativem Stress im Körper verantwortlich sind (Tan et al., 2018). Zum anderen können bestimmte Enzyme in die Aktivierung oder Deaktivierung von krebserregenden Substanzen involviert sein. Weiters kann eine unzureichende Nährstoffaufnahme, eine Veränderung der DNA-Synthese, -Reparatur oder -Methylierung mit sich bringen. Durch diese Veränderungen können die Mutationsrate und die Genexpression beeinflussen werden. Die Ernährung stellt somit einen Faktor dar, der

das Risiko der Krebsentstehung auf vielerlei Weisen beeinflussen kann (Ladeira et al., 2017).

Weiters kann der Konsum von großen Mengen an Fisch, rotem Fleisch, Eiern und Milch, ein Auslöser für die vermehrte Bildung von Superoxid-Radikalen sein. Die erwähnten Cholin- oder L-Carnitin-reichen Lebensmittel werden im Darm enzymatisch zu Trimethylamin (TMA) umgewandelt, aufgenommen und zur Leber transportiert. In der Leber wird TMA zu Trimethylaminoxid (TMAO) umgewandelt (Chan et al., 2019). Daraus resultiert eine erhöhte Zirkulation von TMAO, was zu einer gesteigerten Produktion von Superoxid-Radikalen führt. Dieser Mechanismus muss jedoch noch weiter erforscht werden, da bisher hauptsächlich Studien im Tierversuch durchgeführt wurden (Li et al., 2017).

Wie stark der Konsum gesundheitsförderlicher Lebensmittel auf die DNA-Stabilität wirkt, untersuchten Mišík et al. in ihrem Review Artikel. 76 % der Studien konnten durch das jeweilig untersuchte Lebensmittel eine Senkung der oxidativ-geschädigten Nukleinbasen nachweisen. Dazu wurde bei 71 % der Studien die H₂O₂-induzierten DNA-Schädigungen durch die untersuchten Lebensmittel reduziert (Mišík et al., 2023).

Ein hoher Obst- und Gemüseverzehr steht aufgrund des hohen Gehaltes an Vitaminen, Mineralien, Ballaststoffen und sekundäre Pflanzenstoffen im Zusammenhang mit dem Erhalt einer guten Gesundheit bzw. weniger oxidativem Stress im Körper (Wallace et al., 2020). Es gibt eine gute Beweislage zu Antioxidantien, die in Obst und Gemüse vorkommen, und einer höheren Resistenz der DNA gegenüber oxidativen Angriffen (Dusinska & Collins, 2008). Eine Studie, die sowohl genetische als auch ernährungsbedingte Unterschiede hinsichtlich der DNA-Schädigung bei Proband:innen untersuchte, wies eine negative Korrelation ($p < 0,05$) zwischen dem Obstkonsum und der DNA-Schädigung nach. Durch den erhöhter Obstkonsum konnte oxidativer Stress im Körper abgepuffert werden (Slyskova et al., 2014). Gerade Beeren wird eine große antioxidative Aktivität zugeschrieben. Eine niederländische Studie wies eine 20-prozentige Senkung ($p > 0,01$) von H₂O₂-induzierter DNA-Schädigungen durch die vierwöchige Gabe eines Heidelbeer-Apfelsaftes nach (Wilms et al., 2007). Auch zur Einnahme von antioxidativen Nahrungsergänzungsmitteln und deren Radikalfänger-Wirkung wurden bereits viele Studie durchgeführt (Mišík et al., 2023; Williamson et al., 2018). Da für die vorliegende Untersuchung jedoch nur das Ernährungsmuster und

einzelne Lebensmittelgruppen eine Rolle spielen, wird auf die Supplementation von Nährstoffen und von antioxidativen Stoffe nicht weiter eingegangen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sowohl durch metabolische Prozesse als auch durch die chemische Zusammensetzung der Nahrung oxidativer Stress im Körper entsteht, welcher DNA-Schädigungen auslöst und bis zum DNA-Doppelstrangbruch führen kann. Da erhöhter oxidativer Stress mit der Entstehung einer Vielzahl von Erkrankungen einhergeht, ist der Einfluss der Ernährung auf die DNA-Stabilität von großer wissenschaftlicher Bedeutung (Tan et al., 2018).

1.5. Österreichische Ernährungspyramide

Die lebensmittelbasierten Ernährungsempfehlungen Österreichs werden in der siebenstufigen Ernährungspyramide zusammengefasst, siehe **Abbildung 3**. Auf Basis der in Deutschland, Österreich und der Schweiz geltenden DACH-Referenzwerte erarbeitet (D-A-CH-Gesellschaften für Ernährung, 2016), wird ein Leitfaden für ein vollwertiges und abwechslungsreiches Ernährungsmuster aufgezeigt. Geleitet von Univ.-Prof. Dr. Michael Kunze wurde in Zusammenarbeit mit der Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES) die Ernährungspyramide entwickelt und 2010 erstmals präsentiert (AGES, 2019).



Abbildung 3 Österreichische Ernährungspyramide (AGES, 2019)

Die Basis der Pyramide bilden dabei die alkoholfreien Getränke, wozu Wasser, ungesüßte Tees, verdünnte Säfte und auch Kaffee und andere koffeinhaltige Getränke gezählt werden. Eine Mindest-Flüssigkeitszufuhr von 1,5 Litern sollte pro Tag erreicht werden (AGES, 2019). Die zweite Stufe beinhaltet Obst und Gemüse, sowie Hülsenfrüchte. Hier gilt die „5 am Tag“-Regel, wobei die Portionen faustgroß sein sollten. Von den fünf Portionen sollte drei Portionen Gemüse und zwei Portionen Obst sein (AGES, 2019). Es folgen auf der dritten Ebene die Kohlenhydratquellen wie Reis, Kartoffeln, Brot oder Pasta. Für Personen mit einem PAL von 1,4 werden vier Portionen pro Tag empfohlen. Bei sportlich aktiven Personen wird die Empfehlung auf fünf Portionen erhöht. Außerdem sind dabei Vollkornprodukte bevorzugt zu wählen (AGES, 2019). Auf Stufe vier stehen die Milchprodukte, welche ebenfalls täglich im Ausmaß von drei Portionen gegessen werden sollten. Dabei ist darauf zu achten, dass zwei Portionen aus Milch, Joghurt, Topfen oder Hüttenkäse bestehen sollten und nur eine Portion Käse empfohlen wird (AGES, 2019). Nur wöchentlich sollten Fleisch, Fisch und Eier gegessen werden. Es werden ein bis zwei Portionen à 150 g Fisch und drei Eier in der Woche empfohlen. Der Fleischkonsum sollten maximal 300 bis 450 g pro Woche nicht überschreiten. Geflügel und fettarme Wurstwaren sind dem roten Fleisch, also wie Rind, Schwein und Lamm, vorzuziehen (AGES, 2019). Die Spitze der Pyramide bilden zunächst einmal die Fette. Sie dürfen auch täglich im Ausmaß von ein bis zwei Esslöffeln in Form von pflanzlichen Ölen wie Olivenöl, Rapsöl aber auch Walnuss-, Soja-, Lein-, Sesam-, Maiskeim-, Sonnenblumen-, Kürbiskern- und Traubenkernöl sowie Nüssen oder Samen in die Ernährung einbezogen werden. Fette aus größtenteils tierischen Quellen wie Butter, Schmalz oder Margarine sowie fettreiche Milchprodukte wie Schlagobers, Sauerrahm und Crème Fraîche sollten nur sparsam verwendet werden. Außerdem steht auf der letzten Stufe Fett, Süßes und Salziges, was nur selten gegessen werden sollte. Dazu zählen Süßigkeiten, Mehlspeisen, Fastfood-Produkte, Snacks, Knabbereien und Limonaden. Basierend auf den Empfehlungen der WHO ist eine Aufnahme von mehr als 50 g freiem Zucker pro Tag (ca. 10 Teelöffel) nicht zu überschreiten. Außerdem sollten nicht mehr als 5 bis 6 g Salz pro Tag konsumiert werden (AGES, 2019).

1.6. Fragestellungen und Zielsetzung

Erhöhter oxidativer Stress im Körper wird mit einer Vielzahl an chronischen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Die daraus resultierenden DNA-Schädigungen führen etwa zu einer frühzeitigen Zellalterung, begünstigen Mutagenese und schließlich auch eine Kanzerogenese (Zuo et al., 2022). Sowohl regelmäßige moderate körperliche Aktivität

(Tryfidou et al., 2020) als auch eine ausgewogene Ernährung (Mišík et al., 2023) können präventiv gegenwirken. Demnach tragen beide Faktoren, Ernährung und körperliche Aktivität, zur Aufrechterhaltung einer antioxidativen Abwehr bei, die schließlich DNA-Schädigungen verhindert.

Im Zuge dieser Masterarbeit wird die Hypothese aufgestellt, dass sowohl das Ernährungsmuster als auch eine intensive körperliche Belastung, ein 5-km-Lauf, einen Einfluss auf die DNA-Schädigung bei Männern haben. Entsprechend der Hypothese soll gezeigt werden, dass je nach Ernährungsmuster die antioxidative Abwehr im Organismus in unterschiedlicher Intensität dazu befähigt ist, die entstandenen ROS nach der körperlichen Anstrengung abzuwehren. Um dies zu untersuchen wurden folgende Forschungsfragen formuliert:

- I. Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Healthy Eating Index einer Person und ihrer DNA-Schädigung?

Zum einen wird getestet, ob es einen Zusammenhang zwischen der Ernährung gemäß der österreichischen Ernährungspyramide und der DNA-Schädigung einer Person gibt. Für die Erhebung der Qualität der Ernährungsweisen der Probanden wird der Healthy Eating Index (HEI) herangezogen (Täger et al., 2016).

- II. Gibt es einen Zusammenhang zwischen den Blutfettwerten (Gesamtcholesterin, Triglyzeride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin) einer Person und ihrem Healthy Eating Index?

Um das Ernährungsmuster der Person besser nachvollziehen zu können, werden die Blutfettwerte im Zusammenhang mit dem HEI gesehen. Dies soll auch zur Validierung des FFQs der Probanden dienen.

- III. Führt eine intensive körperliche Belastung (5-km-Lauf) zu einer Veränderung der DNA-Schädigung einer Person?

Es gilt zu prüfen, ob die einmalige intensive körperliche Betätigung in Form eines 5-km-Lauf mit maximaler Intensität einen unmittelbaren Einfluss auf die DNA-Schädigung der Probanden hat.

- IV. Gibt es Zusammenhänge zwischen dem Alter, BMI und der Sportlichkeit und deren Auswirkungen auf die DNA-Schädigung einer Person?

Weiters müssen neben dem Ernährungsmuster und der intensiven körperlichen Betätigung, auch die interindividuellen Unterschiede berücksichtigt werden. Der BMI, Fitnessgrad ($\dot{V}O_{2max}$) und das Alter können auch Einfluss auf die DNA-Schädigung einer Person haben (Tryfidou et al., 2020) und sollten demnach mituntersucht werden.

In vorliegender Masterarbeit wird erstmalig der Zusammenhang des Ernährungsmusters österreichischer Männer in Kombination mit einer einmaligen körperlichen Aktivität auf die DNA-Schädigung erforscht.

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Die vorliegende Masterarbeit basiert auf einer Studie der Arbeitsgruppe „Ernährung, Bewegung und Gesundheit“ des Instituts für Sportwissenschaften und Ernährungswissenschaften der Universität Wien, die 2022 und 2023 durchgeführt wurde. Nachdem die Humanstudie durch die Ethikkommission der Universität Wien genehmigt wurde, erfolgte die Rekrutierung der Probanden durch Plakate und Online-Ausschreibungen im Dezember 2022. Für eine Teilnahme an der Studie mussten folgende Einschlusskriterien erfüllt werden: männlich, im Alter von 18 bis 40 Jahren sowie sportlich aktiv im Ausmaß von zwei bis drei Mal pro Woche. Somit konnten 30 Probanden inkludiert werden, welche sich nach der ärztlichen Aufklärung und schriftlicher Einverständniserklärung zur freiwilligen Teilnahme an der Studie erklärten. Außerdem wurde die Studie in Übereinstimmung mit der Erklärung von Helsinki durchgeführt. Der Ablauf des Versuchs ist in **Abbildung 4** zusammengefasst.

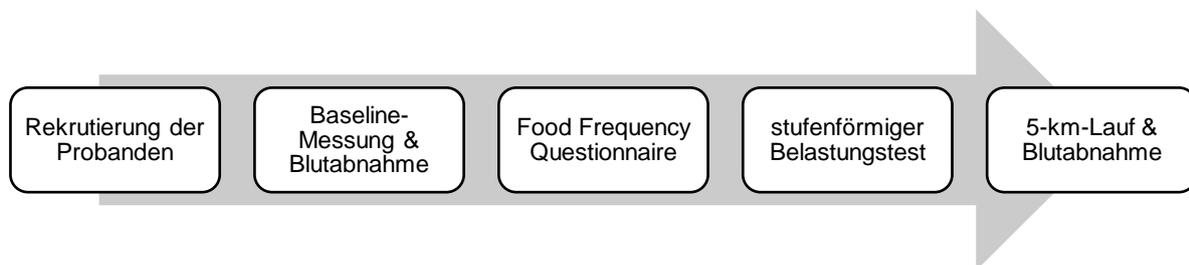


Abbildung 4 Ablauf des Versuchs

Zu Beginn der Studie, Mitte Januar 2023, fand eine nüchterne Baseline-Messung statt. Dabei wurden venöse Vollblutproben im Ausmaß von 15 ml aus dem rechten oder linken Arm der Probanden entnommen. Das Vollblut ist in 15 ml EDTA-Tubes (VACUETTE®) gesammelt worden, um die Gerinnungskaskade zu blockieren. Anschließend wurden zwei Mal 50 µl pro Vollblutprobe pro Teilnehmer aliquotiert. In weiterer Folge wurden die Proben bei -20°C bis zur Analyse gelagert.

Im Zuge der Baseline-Messung fand zudem eine anthropometrische Vermessung der Probanden statt. Diese inkludierte das Körpergewicht (in kg) und die Körpergröße (in cm), um den Body-Mass-Index (BMI) zu ermitteln. In Kooperation mit dem Labor Neubau - SYNLAB 1070 Wien wurden zudem ein großes Blutbild der Probanden angefertigt. Einzelne relevante Parameter davon werden in der vorliegenden Masterarbeit berücksichtigt, jedoch nicht das gesamte Blutbild. Eingegangen wird somit auf die Blutfettwerte, die mit dem Ernährungsmuster der Probanden abgeglichen werden, um ggf. eine Korrelation zu erkennen.

Alle Teilnehmer waren aufgefordert einen Food Frequency Questionnaire (FFQ) auszufüllen, um ihr Ernährungsmuster abzufragen. Der FFQ wurde online zur Verfügung gestellt. Die genauen Fragestellungen des FFQs sind auch im Anhang nachzulesen.

Weiters absolvierten die Teilnehmer einen stufenförmigen Belastungstest auf dem Laufband, um ihre maximale Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_{2max}$) zu ermitteln. Gestartet wurde bei einer Geschwindigkeit von 6 km/h und einer 0-prozentigen Steigung. Alle drei Minuten wurde die Geschwindigkeit um 1,5 km/h erhöht. Der Belastungstest dauerte so lange an, bis der Proband ihn wegen Erschöpfung abbrach.

Wenige Tage später nahmen alle Teilnehmer an einem 5-km-Lauf teil. Nach dem Lauf wurden erneut venöse Vollblutproben abgenommen, welche ebenfalls bei $-20^{\circ}C$ bis zur Durchführung des Comet Assays gelagert wurden.

Im weiteren Verlauf der Studie des Instituts für Sportwissenschaften und Ernährungswissenschaften der Universität Wien wurden die Probanden randomisiert, in drei Interventionsgruppen eingeteilt und einer zehn-wöchigen Ernährungs- und Trainingsintervention zugewiesen. In der Folge wird nun nicht mehr auf die Hauptstudie des Instituts für Sportwissenschaften und Ernährungswissenschaften der Universität Wien eingegangen, da diese für die vorliegende Masterarbeit nicht von Relevanz ist.

2.2. Messung der DNA-Schädigung: Comet Assay

Um die DNA-Doppelstrang- und Einzelstrangbrüche zu quantifizieren, wird die Einzelzell-Gelelektrophorese (Comet Assay) in unterschiedlichen Varianten durchgeführt. Dabei können Enzym-modifizierte Versionen des Assays sensitivere Ergebnisse liefern (Collins et al., 2014). Im Anhang sind alle verwendenden Materialien und Chemikalien für die Durchführung eines Comet Assays alphabetisch geordnet aufgelistet. Zudem ist das ausführliche Protokoll zur Durchführung des Comet Assays angeführt.

Einer der ersten Versuche des Comet Assays wurde von Östling und Johanson im Jahr 1984 beschrieben (Östling & Johanson, 1984). Wenig später kam es zu einigen Modifikationen des Comet Assays, wie etwa der Durchführung der Elektrophorese bei alkalischem statt neutralem pH-Wert (Singh et al., 1988). Mittlerweile wird der Comet Assay als Standardmethode zur quantitativen Messung von Strangbrüchen der DNA

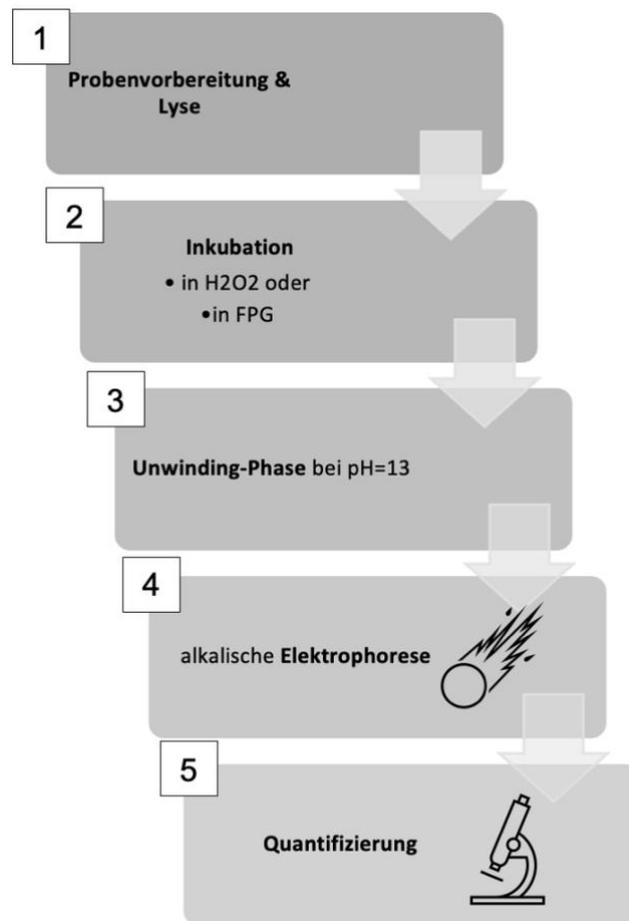


Abbildung 5 Fließschema zur Durchführung eines Comet Assays (modifiziert nach Collins et al., 2014)

eukaryotischer Zellen in vivo und in vitro gesehen (Collins, 2014). Die standardmäßige Durchführung wird in **Abbildung 5** dargestellt. Bei der Probenvorbereitung **(1)** werden das Vollblut oder die isolierten Zellen mit Agarose gemischt und auf einen Objektträger aufgetragen. Anschließend folgt die Lyse, wobei Zellmembran, Zytoplasma und Nukleoplasma entfernt sowie Histone löslich gemacht werden. Die DNA bleibt jedoch im kondensierten Zustand als Nukleotiden zurück. Durch eine zusätzliche Inkubation **(2)** in H_2O_2 wird der antioxidative Status messbar. Über eine Inkubation mit dem Läsions-spezifischen Enzym Formamidpyrimidin- DNA-Glykosylase (FPG) wird die Erfassung des oxidativen Schadens ermöglicht. Nach den unterschiedlichen Behandlungen folgt die Unwinding-Phase **(3)** bei $pH=13$ in der Elektrophoreselösung, um alkalische instabile Stellen und Einzelstrangbrüche zu erkennen. Schließlich wird die Elektrophorese **(4)** durchgeführt, wobei die geschädigte DNA von der Anode angezogen wird. Alle Proben werden neutralisiert und getrocknet. Die Quantifizierung findet mithilfe eines Fluoreszenzmikroskops statt **(5)**. Der relative Anteil von DNA im Schweif gibt die Menge an Strangbrüchen an (Collins, 2014).

Bei der Messung des antioxidativen Status werden die Blutzellen mit H_2O_2 behandelt. Dadurch kommt es zur gezielten Erzeugung von DNA-Strangbrüchen. Zur Messung der vorhandenen antioxidativen Abwehr der Zelle wird die Probe vor der Lyse-Behandlung in H_2O_2 inkubiert und anschließend mit der ausschließlichen Lyse-Behandlung verglichen. Liegt eine geringe antioxidative Abwehr vor, so entstehen wesentlich mehr DNA-Strangbrüche durch die Behandlung mit H_2O_2 , was sich in einem längeren Schweif bei der Auswertung niederschlägt (Collins, 2014).

Das Enzym-modifizierte Comet Assay gilt heute als Standardmethode, um 8-OxoG nachzuweisen, und es liefert spezifische und sensitive Ergebnisse. Oxidative DNA-Schädigungen können so quantifiziert werden. Dies geschieht durch den Nachweis von Basenveränderungen, welche durch oxidativen Stress verursacht werden. Für oxidierte Purine, Guanin und Adenosin werden hierbei andere Enzyme verwendet als für die Pyrimidine, Thymin und Cytosin. Für oxidierte Purine wird das bereits erwähnte FPG eingesetzt. Bei oxidierten Pyrimidinen wird dagegen die Endonuklease-III verwendet. Das jeweilige Enzym wird nach der Lyse zur Inkubation der Proben genutzt (Møller & Roursgaard, 2021). Dadurch werden oxidierte Basen, wie etwa das 8-OxoG, entfernt. Es entsteht eine „apurine/apyrimidine Stelle“, die in der Literatur als AP-site bezeichnet wird. Über AP-Lase werden an den AP-sites Einzelstrangbrüche erzeugt. Somit wird das Vorhandensein der oxidierten Basen messbar gemacht, da nun bei der Auswertung der Schweif des Kometen länger als in der nicht-FPG-behandelten Kontrollprobe ist (Collins, 2014).

2.3. Erfassung des Ernährungsmusters

Die Erfassung von Ernährungsdaten wird genutzt, um Rückschlüsse von der Ernährung einer Person auf ihre Gesundheit ziehen zu können (Elmadfa & Meyer, 2014). Bei einem Food Frequency Questionnaire (FFQ) wird nach der gewohnheitsmäßigen Ernährungsweise gefragt. Dabei werden möglichst viele oder die für die Erhebung relevanten Lebensmittelgruppen durchgegangen. Im Zuge eines FFQs wird die Verzehrfrequenz und oft auch die Verzehrmenge der einzelnen Lebensmittel erhoben. Um ein besseres Bild der Ernährung einer Person zu erhalten, sollte ein FFQ entweder mit einem weiteren Erhebungstool validiert werden, wie beispielsweise einem 24-Stunden-Recall, oder in Kombination mit erhobenen Biomarkern betrachtet werden (Potischman, 2003). Die umfangreiche Erfassung der Ernährungsgewohnheiten von

großen Kollektiven, über einen langen Zeitraum (z.B. ein Monat oder sechs Monaten), wird durch die Verwendung eines FFQs möglich. Die Erinnerungsfähigkeit der Probanden ist jedoch essentiell, um realitätsnahe Ergebnisse zu erhalten. Die Fähigkeit Portionen richtig einschätzen zu können, trägt zudem zur Qualität der Daten bei. Somit ist diese Methode für Kollektive mit älteren Personen und Kindern nicht geeignet. Unterstützend können etwa Bilder helfen, um Mengen besser einschätzen zu können (Shim et al., 2014). Die vorliegende Studie hat mit einem vom Robert Koch Institut entwickelten und validierten Fragebogen gearbeitet, welcher 53 Lebensmittelgruppen abfragt (Gößwald et al., 2012).

2.4. Auswertung des Food Frequency Questionnaires

Im Anschluss an die Ernährungserhebung wurden die erfragten Lebensmittelgruppen gemäß der österreichischen Ernährungspyramide (AGES, 2019) in Gruppen geordnet, siehe **Tabelle 1**. Die Verzehrhäufigkeit wurde durch die Vorgabe vorgefertigter Antwortmöglichkeiten erhoben, welche sich auf „pro Monat“, „pro Woche“ oder „pro Tag“ bezogen. Die Daten wurden auf „Portionen pro Tag“ vereinheitlicht. Abschließend wurde der Healthy Eating Index (HEI) pro Person berechnet, um die Qualität des Ernährungsmusters mithilfe eines errechneten Zahlenwertes bewerten zu können (Täger et al., 2016).

Tabelle 1 Zusammenfassung der im FFQ erfragte Lebensmittelgruppen und die jeweiligen Empfehlungen

Lebensmittelgruppe	Lebensmittel aus FFQ	Empfehlungen^a	Größe einer Portion
<i>Alkoholfreie Getränke</i>	Wasser, Light-Getränke, Früchte- und Kräutertee, schwarzer und grüner Tee, Kaffee, Fruchtsaft, Gemüsesaft	1,5 L Flüssigkeit/Tag = 7,5 Portionen/Tag	200 ml
<i>Obst, Gemüse & Hülsenfrüchte</i>	Rohes Gemüse, gegartes Gemüse, Hülsenfrüchte,	5 Portionen/Tag	Faustgroße Menge

	Frisches Obst, gegartes Obst		
<i>Getreide & Kartoffeln</i>	Cornflakes, Müsli, Brote aller Art, Nudeln, Reis, Bulgur, Couscous, Kartoffeln, gebratene Kartoffeln	4 Portionen pro Tag	1 Handvoll Müsli, 1 Handfläche Brot, 2 Fäuste Teigwaren, 3-4 mittelgroße Kartoffeln
<i>Milch & Milchprodukte</i>	Milch, Joghurt, Quark, Dickmilch, Frischkäse, Käse	3 Portionen am Tag	200 ml, 200 g Joghurt/Quark, 2 EL Frischkäse, 2 Käsescheiben
<i>Fisch, Eier, Fleisch & Fleischprodukte</i>	Fleisch, Geflügel, Wurst, Schinken, Bratwurst, warmer und kalter Fisch, Eier	1-2 Portionen/Woche Fisch, maximal 3 Portionen/Woche Fleisch, 3 Eier/Woche	3 Scheiben Wurst, 150 g Fleisch/Fisch
<i>Fette & Öle</i>	Butter, Margarine, Nüsse	1-2 EL/Tag	2 TL Butter
<i>Fettes, Süßes, Salziges</i>	zuckerhaltige Getränke, Kuchen, Torten oder süße Backwaren, Kekse, Schokolade oder Schokoriegel, Süßigkeiten, Eis, Kartoffelchips, Salzgebäck, Hamburger oder Döner Kebab, Honig oder Marmelade, Nuss-Nougatcreme, Pizza, Pommes Frites	Maximal 1 Portion/Tag	200 ml, 3 Kekse, 1/4 Tafel Schokolade, 6-10 Bonbons, Füllung einer 150-ml- Dessertschale Kartoffelchips, 1 gehäufter TL Marmelade/Nuss- Nougat-Creme,

^a = Empfehlungen laut österreichischer Ernährungspyramide (AGES, 2019)

Da es sich bei den Studienteilnehmern um sportliche Männer handelt, die einen PAL von 1,7 haben, wurden die Portionsgrößen so angepasst, dass der erhöhte Energiebedarf der Teilnehmer berücksichtigt wurde. Die „empfohlene Verzehrshäufigkeit pro Tag“ wurde durch die „empfohlene Energiezufuhr“ geteilt und ins Verhältnis zu der „individuellen Verzehrshäufigkeit pro Tag“ und dem „individuellen Energiebedarf“ gesetzt. In der vorliegenden Auswertung wurde als Ausgangspunkt der Referenzenergiebedarf für Männer im Alter von 25 bis 51 Jahren verwendet, der einer Zufuhr von 2300 kcal/Tag entspricht. Für eine PAL von 1,7 wäre es für diese Gruppe eine Energiezufuhr von 2850 kcal/Tag (D-A-CH-Gesellschaften für Ernährung, 2016). Das entspricht rund 24% größeren Portionen pro Tag für das Studienkollektiv. Die Umrechnung erfolgte nach dem Vorbild der Formel:

$$\frac{\text{Empfohlene Verzehrshäufigkeit pro Tag}}{\text{Referenzenergiebedarf (PAL = 1,4)}} = \frac{\text{Individuelle Verzehrshäufigkeit pro Tag}}{\text{Individueller Energiebedarf (PAL = 1,7)}}$$

Diese Anpassung wurde auch bei der Berechnung des Healthy Eating Index der EPIC-Studie für ältere Personen durchgeführt (Rüsten, 2009). Alle vorgenommenen Umrechnungen wurden in **Tabelle 2** zusammengefasst.

Für die Datenaufbereitung des FFQs wurde die Vereinheitlichung der angegebenen Verzehrshäufigkeiten vorgenommen. Hierbei wurden die Verzehrshäufigkeiten auf die Einheit „pro Tag“ umgewandelt, siehe **Tabelle 3**.

Tabelle 2 Anpassung der Empfehlungen der österreichischer Ernährungspyramide an einen von PAL = 1,7

Lebensmittelgruppe	Empfohlene Portionen/Tag a	Referenzenergie mit PAL = 1,4^b	Energiebedarfs für PAL = 1,7^c	Portionen/Tag für Studienkollektiv v
Alkoholfreie Getränke	7,5	2300	2850	9,3
Obst, Gemüse	5	2300	2850	6,2
Getreide, Kartoffeln	4	2300	2850	5,0

<i>Milch, Milchprodukte</i>	3	2300	2850	3,7
<i>Fisch, Eier, Fleisch</i>	3	2300	2850	3,7
<i>Fette, Öle</i>	1	2300	2850	1,2
<i>Fettes, Süßes, Salziges</i>	1	2300	2850	1,2

^a = laut österreichischer Ernährungspyramide (AGES, 2019)

^b = Referenzwerte für Männer zwischen 25 bis 51 Jahren (D-A-CH-Gesellschaften für Ernährung, 2016)

^c = Mittelwert aus Energiebedarf für Personen mit PAL = 1,6 und PAL = 1,8

Tabelle 3 Vereinheitlichung der Verzehrfräquenzen auf die Einheit „pro Tag“

Verzehrfräquenz laut FFQ	Umrechnung auf „pro Tag“
<i>1 Mal pro Monat</i>	0,03
<i>2-3 Mal pro Monat</i>	0,08
<i>1-2 Mal pro Woche</i>	0,21
<i>3-4 Mal pro Woche</i>	0,50
<i>5-6 Mal pro Woche</i>	0,78
<i>1 Mal pro Tag</i>	1,00
<i>2 Mal pro Tag</i>	2,00
<i>3 Mal pro Tag</i>	3,00
<i>4-5 Mal pro Tag</i>	4,50
<i>> 5 Mal pro Tag</i>	5,00

Im Anschluss wurden die umgerechneten Verzehrfräquenzen mit den Verzehrmenge multipliziert, um den tatsächlichen Wert der „Portionen pro Tag“ zu erhalten. Dieser Wert wurde zur Berechnung des Healthy Eating Index herangezogen. Dabei wurden jeweils für die Lebensmittelgruppen „Alkoholfreie Getränke“ und „Obst, Gemüse“ wie folgt gerechnet:

$$\frac{\text{Portionen pro Tag laut FFQ}}{\text{Empfohlene Portionen pro Tag}} \times 10 = \text{Punktzahl der jeweiligen Kategorie}$$

Wurde ein Wert über den Empfehlungen erreicht, so konnten nur maximal zehn Zusatzpunkte pro Kategorie berücksichtigt werden (Rüsten, 2009).

Bei den Lebensmittelgruppen „Getreide, Kartoffeln“, „Milch, Milchprodukte“, „Fisch, Eier, Fleisch“ und „Fette, Öle, kommt es schnell zu einer Überschreitung der täglichen Energiebilanz, wenn diese im Übermaß konsumiert werden (Rüsten, 2009). Um dies zu berücksichtigen, wurde bis zu dem empfohlenen Wert die obenstehende Formel herangezogen. Wurden jedoch die „Portionen pro Tag“ überschritten, so wurde nach folgender Formel gerechnet:

$$\frac{\text{Empfohlene Portionen pro Tag}}{\text{Portionen pro Tag laut FFQ}} \times 10 = \text{Punktzahl der jeweiligen Kategorie}$$

So sinkt die Punktzahl mit dem stärkeren Überschreiten des empfohlenen Wertes wieder ab. In der Kategorie „Fettes, Süßes, Salziges“ wurde von Beginn an die zweite Formel herangezogen (Rüsten, 2009). Schließlich wurden alle Punkte der Lebensmittelgruppen addiert. Umso höher dabei der Healthy Eating Index ausfiel, desto näher war die Ernährungsweise an den Empfehlungen der österreichischen Ernährungspyramide.

An dieser Stelle sei zudem anzumerken, dass die Auswertung einzelner Getränke durch die Testung des Zusammenhangs von den „Portionen pro Tag“ und der DNA-Schädigung geschieht, es wird hierfür kein eigener Index separat errechnet.

2.5. Statistische Auswertung

Die Datenaufbereitung und statistische Auswertung des FFQs und des Comet Assays wurden mit der Software RStudio 2023.03.0 (Posit Software; PBC ©) durchgeführt. Einige Visualisierungen wurden mit Graphpad Prism Version 9.2.0 erstellt. Zur Auswertung des Comet Assays werden die Intensitätswerten des Schweifes in Prozent verwendet (%DNA im Schweif).

Zu Beginn der Auswertung wurden jeweils der Kolmogorov-Smirnov-Test und Shapiro-Wilk-Test durchgeführt, um die Daten auf eine Normalverteilung zu prüfen. Waren die Daten normalverteilt, wurden einerseits Pearson-Korrelationskoeffizienten errechnet, um die Stärke und Richtung der linearen Beziehungen zu bewerten. Waren die Daten nicht normalverteilt, wurde der Zusammenhang der Variablen nach Spearman berechnet. Um die Unterschiede der DNA-Schädigung der Probanden zwischen den zwei Messzeitpunkten (Nüchternwert und nach dem 5-km-Lauf) zu untersuchen, wurde ein verbundener t-Test gerechnet, wenn die Daten normalverteilt waren. Zudem wurde ein

lineares Regressionsmodell berechnet, wobei die unabhängigen Variablen das Alter, der BMI, die Sportlichkeit ($\dot{V}O_{2max}$) und der HEI darstellen. Die abhängige Variable ist die DNA-Schädigung der Probanden. Das Signifikanzniveau wurde bei einem p-Wert von $<0,05$ festgelegt.

3. Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Charakteristika des Studienkollektivs vorgestellt und die Ergebnisse der Beantwortung der einzelnen Forschungsfragen dargelegt. Dafür wurden auf Basis der Forschungsfragen Hypothesen aufgestellt, die nach der statistischen Prüfung jeweils falsifiziert oder verifiziert werden konnten.

3.1. Charakteristika der Probanden

Die erfassten Charakteristika des Studienkollektivs sind in **Tabelle 4** zusammengefasst, wobei Minimum, Maximum, Mittelwert als auch die Standardabweichung angegeben sind. Folgende Merkmale des Kollektivs wurden als Mittelwert +/- Standardabweichung ermittelt: ein Durchschnittsalter von 29 +/- 4,2 Jahren, eine Körpergröße von 181,9 +/- 6,3 cm, ein Körpergewicht von 79,4 +/- 11 kg. Der BMI ergab demnach 24 +/- 3,2 kg/m², die sportlich aktiven Tage pro Woche wurden mit 3,5 +/- 1,1 Tage angegeben und die $\dot{V}O_{2max}$ lag im Mittel bei 53,6 +/- 6,8 (ml/min/kg).

Tabelle 4 Charakteristika des Studienkollektivs

Charakteristika	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
<i>Alter (Jahre)</i>	23,0	39,0	29,0	4,2
<i>Größe (cm)</i>	172,2	193,7	181,9	6,3
<i>Gewicht (kg)</i>	59,8	107,6	79,4	11,0
<i>BMI (kg/m²)</i>	19,3	35,0	24,0	3,2
<i>Sportlich aktive Tage pro Woche</i>	2,0	6,0	3,5	1,1
<i>$\dot{V}O_{2max}$ (ml/min/kg)</i>	36,0	65,0	53,6	6,8

Mittels Comet Assays wurde die DNA-Schädigung erhoben. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 5** zusammengefasst. Die Baseline-Messung fand nüchtern und einige Tage vor dem 5-km-Lauf statt. In Bezug auf die DNA-Schädigung wird einerseits von Strangbrüchen (% DNA im Schweif) gesprochen, womit die ausschließliche Behandlung

der Proben mit Lyse vor der alkalischen Elektrophorese gemeint ist. Weiters wird in Bezug auf die Messung des antioxidativen Status die H₂O₂-Behandlung nur als H₂O₂ (% DNA im Schweiß) betitelt und die Erhebung des oxidativen Schadens mit Net-FPG (% DNA im Schweiß) angegeben.

Tabelle 5 Biomarker der DNA-Schädigung: Baseline-Messung und nach dem 5-km-Lauf

Biomarker (in % DNA im Schweiß)	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Strangbrüche Baseline-Messung	13,01	55,52	29,97	10,08
Strangbrüche nach 5-km-Lauf	18,56	61,47	34,62	9,70
H ₂ O ₂ Baseline-Messung	15,23	64,87	38,65	11,25
H ₂ O ₂ nach 5-km-Lauf	28,58	69,28	40,73	9,67
Net-FPG Baseline-Messung	0,25	35,21	13,99	8,13
Net-FPG nach 5-km-Lauf	2,22	23,91	10,69	6,12

3.2. Zusammenhang zwischen dem Ernährungsmuster und der DNA-Schädigung

Das Ernährungsmuster wurde mithilfe eines FFQs erfasst. In **Abbildung 6** sind die Portionen pro Tag der ausgewählten Lebensmittelgruppe, verglichen mit den Empfehlungen der österreichischen Ernährungspyramide, dargestellt.

Die durchschnittliche tägliche Aufnahme alkoholfreier Getränke liegt laut FFQ weit über den Empfehlungen von 9,3 Portionen pro Tag. Mit einem Wert von 14,3 Portionen/Tag, liegt die tägliche Flüssigkeitsaufnahme bei 2,9 Litern pro Tag. Zudem wird mehr Süßes, Salziges und Fettiges als empfohlen gegessen. Der tägliche Verzehr von fetten, süßen und salzigen Snacks liegt bei 2,2 Portionen pro Tag (statt weniger als 1,2 Portionen/Tag).

Bei allen weiteren Lebensmittelgruppen werden die Empfehlungen nicht erreicht. Besonders in den Gruppen „Obst und Gemüse“, „Milch und Milchprodukte“ und „Fleisch,

Fisch und Eier“ kommt es zu Abweichungen mit: 2,9 Portionen Obst und Gemüse pro Tag (statt 6,2 Portionen/Tag), 2,0 Portionen Milch und Milchprodukte pro Tag (statt 3,7 Portionen/Tag), 1,7 Portionen Fleisch, Fisch und Eier pro Tag (statt 3,7 Portionen/Tag) und 0,7 Portionen Fette pro Tag (statt 1,2 Portionen/Tag). Die Empfehlungen zum Getreide und Kartoffelverzehr werden weitestgehend eingehalten mit 4,1 Portionen pro Tag. In **Tabelle 6** sind die Empfehlungen versus die erreichten Werte gegenübergestellt.

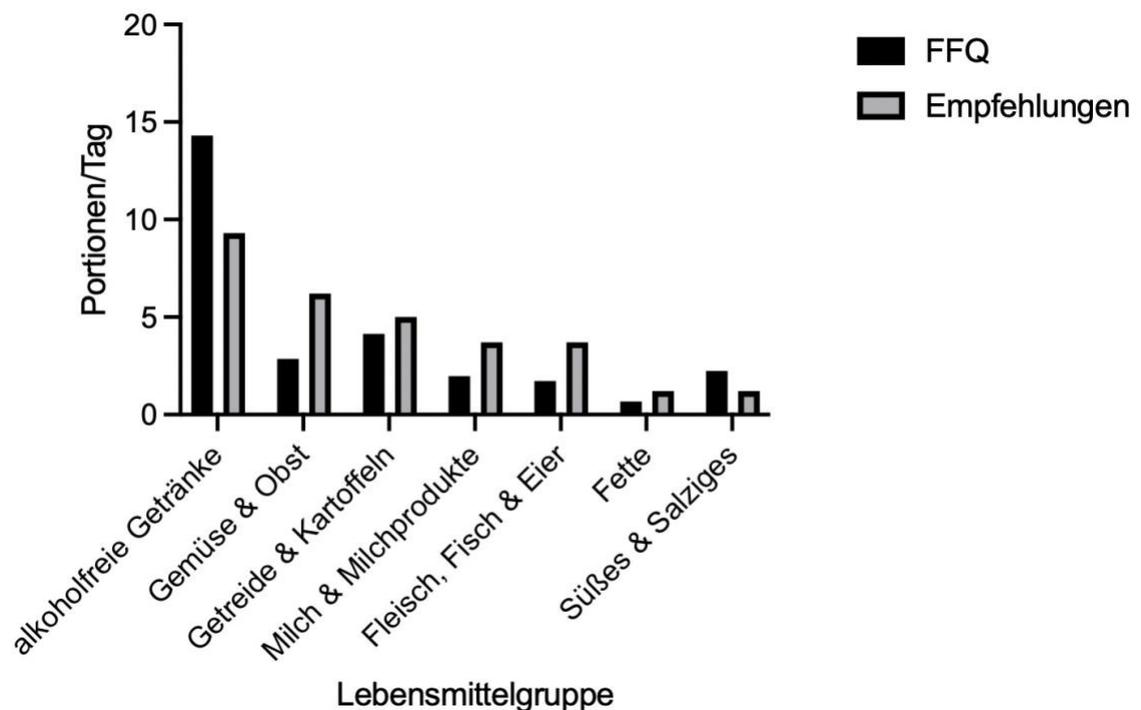


Abbildung 6 Vergleich der österreichischen Ernährungsempfehlungen laut Ernährungspyramide (grau) vs. Portionsangaben laut FFQ/Tag (schwarz)

Tabelle 6 FFQ-Ergebnisse vs. Empfehlungen

Lebensmittelgruppe	Portionen/Tag laut FFQ	Portionen/Tag laut Empfehlung	Abweichung in Prozent (%)
Alkoholfreie Getränke	14,3	9,3	+54
Obst, Gemüse	2,9	6,2	-53
Getreide & Kartoffeln	4,1	5,0	-18
Milch & Milchprodukte	2,0	3,7	-46
Fleisch, Fisch, Eier	1,7	3,7	-54
Fette	0,7	1,2	-42

<i>Fettes, Salziges</i>	<i>Süßes,</i>	2,2	1,2	+83
-----------------------------	---------------	-----	-----	-----

Die Berechnung des Healthy Eating Index ergab Werte zwischen 29,0 und 60,7 Punkten. Die maximale Punktzahl liegt bei 70 Punkten (oder bei 80 Punkten mit den Zusatzpunkten). Beim Erreichen von mehr als 80 % (>56 Punkte) wird von einer „guten“ bzw. gesundheitsförderlichen Ernährung ausgegangen (Rüsten, 2009), was vier Personen erreichten. Der Mittelwert innerhalb des Kollektivs lag bei 45,1 Punkten, was 64 % der Punkte entspricht. Bei einem Wert über 50% (>35 Punkten) wird von einer „verbesserungswürdigen“ Ernährungsweise gesprochen (Rüsten, 2009). In diesem Bereich liegen die meisten Probanden. Ein Wert von weniger als 35 Punkten wurde nur von drei Probanden erreicht. Wie aus **Abbildung 7** zu entnehmen ist, ist der Healthy Eating Index innerhalb des Studienkollektivs annähernd normalverteilt ($p>0,05$).

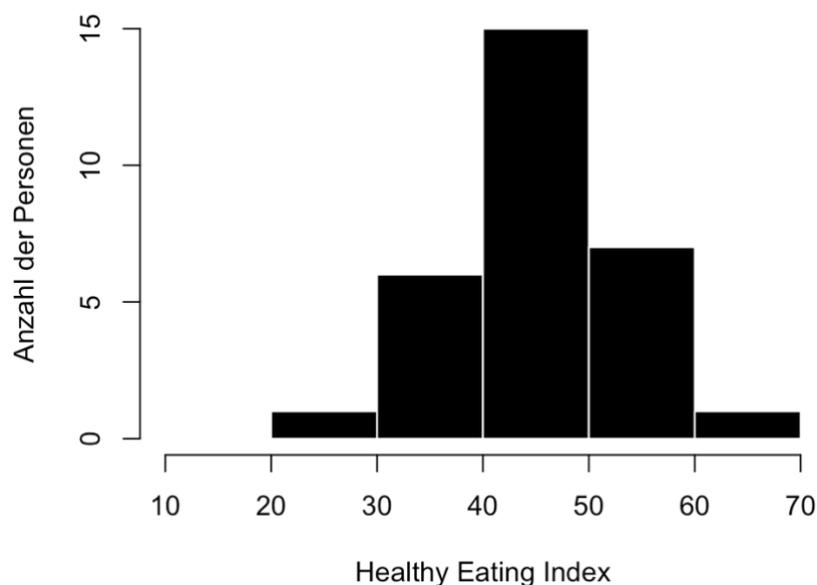


Abbildung 7 Häufigkeitsverteilung des Healthy Eating Index ($n=30$)

Auf Basis der ersten Forschungsfrage (Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Healthy Eating Index einer Person und ihrer DNA-Schädigung?) wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

H0: Es gibt keinen Zusammenhang zwischen dem HEI und der DNA-Schädigung einer Person.

H1: Es gibt einen Zusammenhang zwischen dem HEI und der DNA-Schädigung einer Person.

Beim Test auf Normalverteilung ist sowohl die Variable HEI als auch die Strangbrüche (% DNA im Schweiß) normalverteilt ($p > 0,05$). Folgende Werte, siehe **Tabelle 7**, wurden bei der Durchführung des Pearson-Korrelationstest ermittelt. Der Pearson-Korrelationskoeffizient zeigt die Stärke und Richtung des Zusammenhangs zwischen den beiden Variablen an. Ein $r = 0,17$ weist auf einen schwachen positiven Zusammenhang hin. Jedoch ist dieser Zusammenhang nicht signifikant mit einem p -Wert = $0,37$. Die Nullhypothese wird beibehalten.

Tabelle 7 Pearson-Korrelationskoeffizienten von der DNA-Schädigung (% DNA im Schweiß) und dem Healthy Eating Index

Ernährungseinfluss	Strangbrüche (% DNA im Schweiß)	H₂O₂ (% DNA im Schweiß)	FPG (% DNA im Schweiß)
<i>Healthy Eating Index</i>	0,17	0,16	-0,17

Signifikanzniveau: ‘***’ < 0,01, ‘*’ < 0,05

Auch bei der Messung der H₂O₂-verursachten DNA-Migration (H₂O₂ in % DNA im Schweiß) wird mit $r = 0,16$ ein schwach positiver, aber nicht signifikanter, Zusammenhang nachgewiesen ($p > 0,05$). Zwischen den oxidativen DNA-Schädigungen (Net-FPG in % DNA im Schweiß) und dem HEI besteht ein schwach negativer Zusammenhang ($r = -0,17$), der auch nicht signifikant ist ($p > 0,05$). Die Streudiagramme zu den untersuchten Zusammenhängen sind in **Abbildung 8** dargestellt.

Da der HEI keinen signifikanten Zusammenhang mit der DNA-Schädigung aufzeigte, wurden einzelne Verzehrhäufigkeiten (Portionen pro Tag) mit der DNA-Schädigung in Zusammenhang gebracht.

Werden die einzelnen Lebensmittelgruppen mit ihrer Verzehrhäufigkeit pro Tag in einem linearen Modell untersucht, wobei die Strangbrüche (% DNA im Schweiß) die abhängige Variable darstellen und die Lebensmittelgruppen die unabhängigen Variablen, so ergeben sich auch keinerlei signifikante linearen Zusammenhänge ($p > 0,05$). Gleiches ergibt sich mit den Net-FPG-Werten als abhängige Variable ($p > 0,05$).

Wird jedoch das gleiche lineare Modell mit den H₂O₂-Werten als abhängige Variable gerechnet, ist die Lebensmittelgruppe „Fleisch, Fisch, Eier“ mit einem p -Wert von $0,01$ signifikant. Die Konstante gibt die H₂O₂-verursachten DNA-Migration an, welchen man erwarten würde, wenn null Portionen aller unabhängiger Lebensmittel-Variablen pro Tag konsumiert werden würden, siehe **Tabelle 8**. Steigt der Verzehr von Fleisch, Fisch und

Eiern um eine Portion pro Tag an, so wird der H₂O₂-Wert um 6,82 erhöht (p<0,05). Das gesamte lineare Modell hingegen ist mit p = 0,23 nicht signifikant.

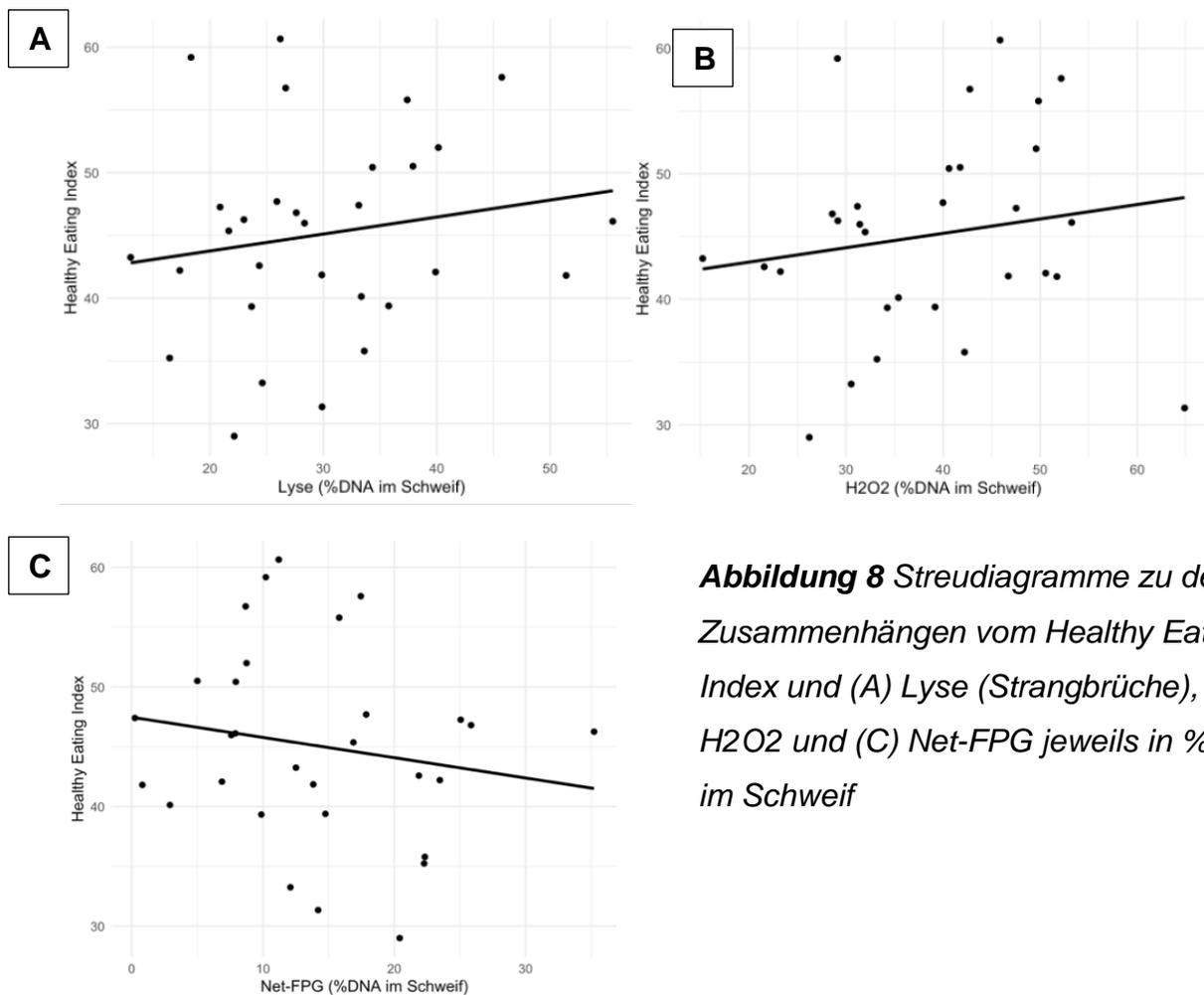


Abbildung 8 Streudiagramme zu den Zusammenhängen vom Healthy Eating Index und (A) Lyse (Strangbrüche), (B) H₂O₂ und (C) Net-FPG jeweils in % DNA im Speichel

Tabelle 8 Lineares Modell zur H₂O₂-verursachten DNA-Migration und ausgewählten Lebensmittelgruppen

Lebensmittelgruppe	Schätzwerte	Standardfehler	p-Wert
Konstante	29,47	8,64	>0,01**
Alkoholfreie Getränke	-0,22	0,33	0,51
Obst, Gemüse	0,55	1,67	0,75
Getreide & Kartoffeln	1,03	1,17	0,39
Milch & Milchprodukte	-1,95	1,51	0,21
Fleisch, Fisch, Eier	6,82	2,55	0,01*
Fette	-3,87	3,50	0,28
Fettes, Süßes, Salziges	0,56	1,57	0,73

Signifikanzniveau: *** < 0,01, ** < 0,05

Zur Untersuchung des Zusammenhangs von ausgewählten Getränken, wie Wasser, zuckergesüßten Getränken, Kaffee und alkoholhaltigen Getränken (in Portionen/Tag) und der DNA-Schädigung wurde ein lineares Modell erstellt. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 9** dargestellt. Steigt der Verzehr von alkoholhaltigen Getränken um eine Portion pro Tag, so steigen die DNA-Strangbrüche schätzungsweise um 13,97 % DNA im Schweiß und bei zusätzlicher H₂O₂-Behandlung um 12,93 % DNA im Schweiß an. Es besteht ein signifikanter linearer Zusammenhang zwischen dem Verzehr alkoholhaltiger Getränke, den daraus resultierenden DNA-Schädigungen (p<0,01) und der H₂O₂-verursachten DNA-Migration (p<0,05).

Tabelle 9 Lineares Modell zu ausgewählten Getränken (in Portionen pro Tag) und der DNA-Schädigung

Getränke	Portionen/Tag^a	Strangbrüche (Schätzwert (SE))	H2O2 (Schätzwert (SE))	Net-FPG (Schätzwert (SE))
<i>Konstante</i>		20,99 (4,85)	34,69 (5,64)	16,16 (4,50)
<i>Wasser</i>	10,1	0,16 (0,29)	-0,13 (0,34)	-0,11 (0,27)
<i>Zucker- gesüßte Getränke</i>	0,2	2,04 (8,88)	-13,81 (10,33)	-4,11 (8,23)
<i>Kaffee</i>	1,8	-0,51 (0,70)	0,10 (0,81)	0,49 (0,65)
<i>Alkoholhaltige Getränke</i>	0,57	13,97 (4,41) **	12,93 (5,59) *	-2,32 (4,46)

SE= Standardfehler, Signifikanzniveau: "***" < 0,01, "*" < 0,05;

^a = Auf Basis der Ergebnisse des Food Frequency Questionnaires

3.3. Zusammenhang zwischen den Blutfettwerten und dem Ernährungsmuster

Um den Zusammenhang zwischen dem Ernährungsmuster und den Blutfettwerten der Probanden zu untersuchen, wurden das Gesamtcholesterin, HDL-, LDL-Cholesterin und die Triglyceride erhoben. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 10** dargestellt.

Die Referenzwerte bei den Blutfettwerten liegen für gesunden Personen bei: Gesamtcholesterin <190 mg/dl, HDL-Cholesterin >50 mg/dl, LDL-Cholesterin <115 mg/dl und Triglyceride <150 mg/dl (Deutsche Gesellschaft für Kardiologie, 2016). Somit befinden sich die Mittelwerte der Blutfettwerte der Probanden jeweils innerhalb der Referenzbereiche für gesunde Personen. Der Mittelwert für Gesamtcholesterin lag bei 187 mg/dl, HDL-Cholesterin bei 63 mg/dl, LDL-Cholesterin bei 103 mg/dl und der Mittelwert von den Triglyzeriden betrug 99 mg/dl.

Tabelle 10 Laborwerte der Blutfettwerte

Biomarker der Blutfettwerte	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standartabweichung
<i>Gesamtcholesterin (mg/dl)</i>	121	302	187	42,32
<i>HDL-Cholesterin (mg/dl)</i>	40	85	63	12,20
<i>LDL-Cholesterin (mg/dl)</i>	60	185	103	34,20
<i>Triglyzeride (mg/dl)</i>	52	373	99	62,49

Aufgrund der zweiten Forschungsfrage (Gibt es einen Zusammenhang zwischen den Blutfettwerten (Gesamtcholesterin, Triglyzeride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin) einer Person und ihrem Healthy Eating Index?) wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

H0: Es gibt keinen Zusammenhang zwischen den Blutfettwerten (Gesamtcholesterin, Triglyzeride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin) einer Person und ihrem Healthy Eating Index.

H1: Es gibt einen Zusammenhang zwischen den Blutfettwerten (Gesamtcholesterin, Triglyzeride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin) einer Person und ihrem Healthy Eating Index.

Beim Test auf Normalverteilung waren Gesamtcholesterin und HDL-Cholesterin normalverteilt ($p > 0,05$). LDL-Cholesterin und Triglyzeride wiesen keine Normalverteilung auf ($p < 0,05$). Daraufhin wurden Spearman-Korrelationskoeffizienten zwischen den

Blutfettwerten und dem Healthy Eating Index errechnet, siehe **Tabelle 11**. Zwischen LDL-Cholesterin und den Triglyzeriden und dem HEI der Probanden besteht ein schwach negativer Zusammenhang, welcher jedoch nicht signifikant ist. Beim Gesamtcholesterin ist der p-Wert kleiner als 0,05, demnach besteht ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen dem Gesamtcholesterin und dem HEI. Mit steigendem Gesamtcholesterin würde demnach der HEI einer Person abnehmen. Beim HDL-Cholesterin und dem Healthy Eating Index wurde ein schwach positiver Zusammenhang nachgewiesen, der jedoch nicht signifikant ist ($p > 0,05$). Die Nullhypothese kann beibehalten werden, die Blutfettwerte werden in der vorliegenden Studie nicht durch den Healthy Eating Index einer Person erklärt.

Tabelle 11 Spearman-Korrelationen des Healthy Eating Index und der Biomarker der Blutfettwerte

Biomarker	Spearman r	p-Wert
<i>Gesamtcholesterin</i>	-0,39	0,03*
<i>HDL-Cholesterin</i>	0,01	0,95
<i>LDL-Cholesterin</i>	-0,29	0,13
<i>Triglyzeride</i>	-0,22	0,25

Signifikanzniveau: *** < 0.01, * < 0.05

3.4. Zusammenhang zwischen einer einmaligen körperlichen Belastung und der DNA-Schädigung

Um den Einfluss des 5-km-Laufs auf die DNA-Schädigung zu testen wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

H0: Eine intensive körperliche Belastung (5-km-Lauf) führt zu keiner Veränderung der DNA-Schädigung einer Person.

H1: Eine intensive körperliche Belastung (5-km-Lauf) führt zu einer Veränderung der DNA-Schädigung einer Person.

Nach Testung auf Normalverteilung ($p > 0,05$) wurden abhängige t-Tests durchgeführt. Ausschließlich der Wert der Strangbrüche (alleinige Lyse-Behandlung) ist zwischen den beiden Messzeitpunkten signifikant ($p < 0,05$), siehe **Abbildung 9**. Bei der Erfassung des antioxidativen Status (H_2O_2 –Behandlung) und der oxidativen Schädigung (FPG-Behandlung) sind keine signifikanten Unterschiede zwischen der Baseline-Messung und

den Werten nach der Laufintervention festzustellen ($p > 0,05$). Um die Nullhypothese zu verwerfen sind weitere Untersuchungen nötig.

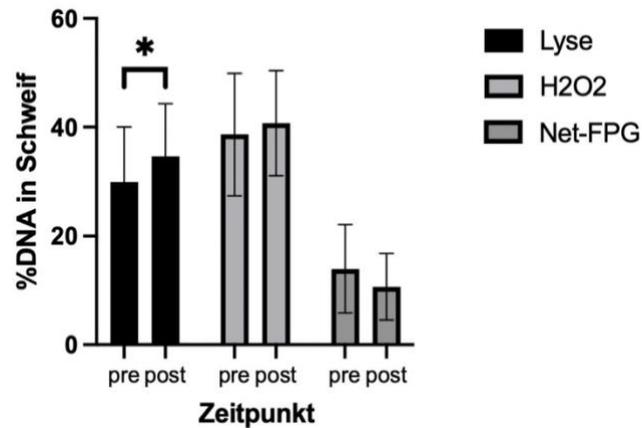


Abbildung 9 Vergleich der DNA-Schädigung bei der Baseline-Messung (pre) und nach 5-km-Lauf (post)

3.5. Zusammenhang zwischen interindividuellen Unterschieden (Alter, Sportlichkeit, BMI) und der DNA-Schädigung

Neben dem Einfluss des Ernährungsmusters sind auch andere interindividuelle Unterschiede zu berücksichtigen, da sie einen Einfluss auf die DNA-Schädigung haben können (Tryfidou et al., 2020). Die aufgestellten Hypothesen lauten:

H0: Es existiert kein Zusammenhang zwischen Alter, BMI und Sportlichkeit einer Person und ihrer DNA-Schädigung.

H1: Es existiert ein Zusammenhang zwischen Alter, BMI und Sportlichkeit einer Person und ihrer DNA-Schädigung.

Um diesen Zusammenhang zu untersuchen wird ein lineares Modell aufgestellt, welches das Alter, $\dot{V}O_2\max$ (Sportlichkeit) und den BMI als unabhängige Variablen berücksichtigt, siehe **Tabelle 12**.

Tabelle 12 Lineares Modell zu interindividuellen Unterschieden und DNA-Schädigung

Variable	Strangbrüche (Schätzwert (SE))	H2O2 (Schätzwert (SE))	Net-FPG (Schätzwert (SE))
<i>Konstante</i>	-7,02 (38,69)	49,77 (43,96)	38,57 (30,16)
<i>Alter</i>	0,21 (0,45)	-0,43 (0,51)	0,42 (0,35)

<i>VO₂max</i>	0,48 (0,36)	0,15 (0,41)	-0,44 (0,28)
<i>BMI</i>	0,21 (0,77)	-0,27 (0,88)	-0,55 (0,60)
<i>p-Wert</i>	0,50	0,70	0,24

SE= Standardfehler, Signifikanzniveau: ‘***’ < 0,01, ‘*’ <0,05

In Bezug auf die Lyse-Behandlung ist ein positiver Trend festzustellen, demnach steigen die Strangbrüche, wenn Alter, Sportlichkeit und BMI einer Person steigen ($p > 0,05$). Gleiches lässt sich für die H₂O₂ –Behandlung und FPG-Behandlung nicht ableiten. Zudem sind die Standardfehler sehr groß, somit ist es nicht möglich, die Schätzer mit großer Sicherheit vorherzusagen. Gleichzeitig sind alle schwachen Zusammenhänge auch nicht signifikant ($p > 0,05$). Die Nullhypothese wird somit beibehalten.

4. Diskussion

Die Schädigung von genetischem Material wirkt sich maßgeblich auf Entstehung von Krankheiten aus. Hierzu gehören unter anderem Krebs, Diabetes Typ II, Arteriosklerose und neurogenerative Erkrankungen (Chatterjee & Walker, 2017; Sies & Jones, 2020; Zuo et al., 2022). DNA-Schädigungen werden unter anderem durch oxidativen Stress im Körper verursacht, welcher durch endogene sowie exogene Faktoren entsteht (Peluso et al., 2020). Dabei können sowohl die Ernährung als auch körperliche Anstrengung Auslöser für diese oxidativen Veränderungen der DNA sein (Mišík et al., 2023; Tryfidou et al., 2020). Mithilfe des Comet Assays können Einzel- als auch Doppelstrangbrüche der DNA, oxidative DNA-Schäden und der antioxidative Status der Zellen gemessen werden. Das Ausmaß der oxidativen Schäden kann über die Messung der apurinen/apyrimidinen Stellen innerhalb des DNA-Strangs quantifiziert werden (Collins, 2014).

Das Ziel der vorliegenden Masterarbeit war es, die Auswirkungen des Ernährungsmusters in Kombination mit einem 5-km-Lauf auf die DNA-Schädigung bei gesunden Männern zu erforschen. Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Untersuchung kein signifikanter Einfluss des Ernährungsmusters und der körperlichen Belastung auf die DNA-Schädigung nachgewiesen werden ($p > 0,05$). In weiterer Folge werden die einzelnen Forschungsfragen mit den entsprechenden Ergebnissen diskutiert und abschließend die Limitationen der Studie aufgezeigt.

4.1. Einfluss des Ernährungsmusters auf die DNA-Schädigung

Im Rahmen dieser Arbeit konnte kein Zusammenhang zwischen dem Healthy Eating Index der Probanden und ihrer DNA-Schädigung ermittelt werden. Der HEI zeigt mit einem hohen Wert ein gesundheitsförderliches Ernährungsmuster an und mit einem niedrigen Wert das Vorliegen einer Mangelernährung (Rüsten, 2009). Dabei wurde bei den vorliegenden Probanden im Durchschnitt einen HEI von 45 von 70 Punkten erreicht, dies entspricht einem „verbesserungswürdigen“ Ernährungsmuster (Rüsten, 2009). In Bezug auf die DNA-Strangbrüche und die H_2O_2 -verursachte DNA-Migration war ein positiver Trend zu beobachten. Demnach würden die Strangbrüche und der H_2O_2 -induzierte Schaden der DNA mit einem höheren HEI, also einer gesundheitsförderlicheren Ernährungsweise, steigen ($p > 0,05$). Dieser Zusammenhang konnte in vergleichbaren Studien nicht nachgewiesen werden.

In Bezug auf das mediterrane Ernährungsmuster und den daraus resultierenden DNA-Schädigungen, zeichnet sich in aktuellen Studien eine gegenteilige Tendenz ab.

Demnach scheint die mediterrane Diät, die mit einem sehr hohen HEI einhergeht, einen erheblichen Beitrag zum Schutz der DNA vor oxidativen Schädigungen zu leisten. Grund für diesen Zusammenhang könnte zum einen die Fettqualität in der Ernährungsweise sein. Mit der reduzierten Zufuhr an gesättigten Fettsäuren und dem gleichzeitig erhöhten Konsum von mehrfach ungesättigten sowie einfach ungesättigten Fettsäuren wird ein geringeres Ausmaß an DNA-Schädigung assoziiert. Hauptquellen für dieses Fettsäureprofil sind in der mediterranen Ernährung hauptsächlich Fisch und Olivenöl (Del Bo et al., 2019). Gleiche Ergebnisse erbrachte eine Studie aus Brasilien, welche den Zusammenhang von DNA-Schädigungen und Omega-3-Fettsäuren untersuchte und diesen protektiven Effekt des Fettsäuremusters bestätigen konnte (Barros et al., 2021).

Im Gegensatz dazu wurde eine positive Korrelation zwischen dem Verzehr von rotem Fleisch und Milchprodukten, den daraus resultierenden hohen Omega-6-Fettsäuren-Konzentrationen im Blut und der DNA-Schädigung nachgewiesen. In derselben Studie wurde außerdem festgestellt, dass ein erhöhter DNA-Schaden mit einem hohen Omega-6-zu-Omega-3-Verhältnis in Verbindung steht. Dieses ungünstige Verhältnis von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren in der Ernährung ist charakteristisch für die sogenannte „Western Diet“, die in vielen Aspekten das Gegenteil zur mediterranen Ernährung darstellt. (Bishop et al., 2015).

Ein weiterer Faktor der mediterranen Ernährung ist das hohe Ausmaß des Verzehrs von Obst und Gemüse, welches mit einer Menge an Vitaminen und anderen antioxidativen Substanzen einhergeht und somit zum Schutz der DNA vor oxidativen Schäden beiträgt (Del Bo et al., 2019; Harms-Ringdahl et al., 2012; Mišik et al., 2023). Auch die kombinierte Steigerung der Gemüsezufuhr (300g/Tag) und der Verzehr von pflanzlichem, mehrfach ungesättigtem Öl (25 ml/Tag) konnte im Vergleich zu einer Kontrollgruppe eine signifikante Minderung ($p < 0,001$) der DNA-Schädigung sowie H₂O₂-sensitiver und FPG-sensitiver Stellen der DNA nachweisen (Müllner et al., 2013). In der vorliegenden Masterarbeit wurde ebenfalls der Zusammenhang zwischen dem Obst- und Gemüseverzehr und der DNA-Schädigung analysiert. Dabei konnte allerdings eine gegenteilige Tendenz festgestellt werden, jedoch war auch dieser Zusammenhang nicht signifikant ($p = 0,75$).

Im Hinblick auf die Vergleichbarkeit der Studien entspricht das mediterrane Ernährungsmuster nicht genau der österreichischen Ernährungspyramide. Beide Ernährungsmuster weisen jedoch aufgrund eines großen pflanzenbasierten Anteils viele Gemeinsamkeiten auf, weswegen der Vergleich durchaus sinnvoll erscheint. Auch bei einer nordischen sowie asiatischer Ernährungsstudie wurden gegenteilige Ergebnisse im

Vergleich zur vorliegenden Masterarbeit beobachtet, wobei hier auch der große pflanzliche Anteil der Ernährung als Argument für die protektive Ernährung angeführt wird (Lee et al., 2017; Møller et al., 2019).

In der Analyse einzelner Lebensmittelgruppen gemäß der Ernährungspyramide und der DNA-Schädigung wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen der H₂O₂-verursachten DNA-Migration und der Lebensmittelgruppe „Fleisch, Fisch, Eier“ nachgewiesen ($p < 0,05$). Steigt der Konsum genannter Lebensmittel, so steigt auch der H₂O₂-induzierte Schaden der DNA. Diese Korrelation wurde bereits mehrfach nachgewiesen und in weiterer Folge mit der Entstehung von Dickdarmkrebs assoziiert (Jalandra et al., 2021). Aus dem häufigen Konsum der genannten Lebensmittelgruppen resultiert die erhöhte Zirkulation von TMAO, was zu einer gesteigerten Produktion von Superoxid-Radikalen führt und vermehrte DNA-Schädigungen verursacht. Dieser Zusammenhang wurde jedoch bisher nur im Tiermodell getestet. Weitere Studien sind erforderlich, um den diesem Sachverhalt zugrundeliegenden Mechanismus zu bestätigen (Chan et al., 2019). Zudem ist die Studienlage diesbezüglich inkonsistent. Es wurde in der bereits angeführten Humanstudie von Møller et al. ein gegenteiliger Trend in Bezug auf den Fischverzehr belegt. In diesem Fall konnte eine signifikante inverse Beziehung ($p < 0,001$) zwischen dem Fischkonsum von Frauen und dem Auftreten von FPG-sensibler Stellen der DNA nachgewiesen werden (Møller et al., 2019).

Hinsichtlich der Getränkeauswahl wurde in dieser Masterarbeit ausschließlich zwischen dem Konsum von alkoholischen Getränken und der Entstehung von DNA-Strangbrüchen ein signifikant positiver Zusammenhang beobachtet ($p < 0,01$). Gleiche positive Korrelationen zwischen Alkohol und DNA-Schädigungen wurde bereits in Studien bestätigt (Rodriguez & Coveñas, 2021; Slyskova et al., 2011; Weng et al., 2010). Aufgrund der vermehrten DNA-Schädigung wird verstärkt das Auftreten von Krebs, insbesondere von Darmkrebs, beobachtet (Rumgay et al., 2021).

Weiters wurde bereits ein protektiver Effekt eines moderaten Kaffeekonsums auf die DNA-Stabilität nachgewiesen (Bakuradze et al., 2016; Schipp et al., 2019). Beispielsweise konnte in einer randomisiert kontrollierten Studie beim direkten Vergleich einer Kaffee-Gruppe (500 ml Kaffee/Tag) und einer Wasser-Gruppe ein schützender Effekt von Kaffee auf die DNA-Integrität bei Männern und Frauen nachgewiesen werden

(Schipp et al., 2019). In der vorliegenden Untersuchung konnte dieser protektive Effekt von Kaffee auf die DNA-Stabilität jedoch nicht bestätigt werden ($p > 0,05$).

Eventuelle Ursachen für die wenig eindeutigen Ergebnisse in Bezug auf die DNA-Schädigung und das Ernährungsmuster werden im Detail in den Limitationen, siehe Kapitel 4.5, aufgezeigt. Insgesamt lässt sich auf Basis der Studienlage eine Vielzahl an Einflussfaktoren ableiten, die verdeutlichen, wie das Ernährungsmuster einer Person auf die DNA-Stabilität wirken kann.

4.2. Einfluss der Blutfettwerte auf das Ernährungsmuster

Der Zusammenhang zwischen den Blutfettwerten der Probanden und ihrem Ernährungsmuster, charakterisiert durch den HEI, wurde untersucht, um die Validität des FFQ zu überprüfen. In der durchgeführten Untersuchung zeigt sich lediglich ein signifikant negativer Zusammenhang zwischen dem Gesamtcholesterin und dem Ernährungsmuster einer Person, genauer gesagt in Bezug auf die Höhe ihres HEI ($p = 0,03$). Dies deutet darauf hin, dass der HEI einer Person steigt, wenn sie geringere Gesamtcholesterinkonzentration im Blutbild aufweist. Obwohl die anderen Blutfettwerte, nämlich LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin und die Triglyceride, nicht signifikant waren ($p > 0,05$), deuteten sie dennoch in die zu erwartende Richtung, die durch aktuelle Literatur gestützt wird (Kirkpatrick et al., 2023; Mach et al., 2019; Schoeneck & Iggman, 2021). Mit zunehmendem HEI steigt das HDL-Cholesterin, während gleichzeitig das LDL-Cholesterin und die Triglyceride einer Person abnehmen. Eine gesundheitsförderliche Ernährung geht demnach mit einem Blutlipidprofil im Normbereich einher. Besonders der häufige Verzehr an gesättigten Fettsäuren, welche besonders in Fleisch und Fleischprodukten und süßen sowie salzigen Snacks enthalten sind, in Kombination mit einem geringen Konsum von Obst, Gemüse und anderen ballaststoffreichen Lebensmitteln wie Vollkorngetreideprodukten besteht ein Zusammenhang zu erhöhten LDL-Cholesterin- sowie Triglycerid-Werten im Blut (Antoni, 2023; Mach et al., 2019).

Die nicht gänzlich signifikanten Ergebnisse können auf die Komplexität der Blutfettwerte zurückzuführen sein, welche sich nicht ausschließlich durch die Ernährungsgewohnheiten einer Person beeinflussen lassen. Weitere Einflussfaktoren sind körperliche Aktivität, Rauchstatus, Genetik, Stresslevel, Schlafgewohnheiten und die in der Studie weitgehend konstant gehaltenen Faktoren, wie etwa das Geschlecht und Alter (Kirkpatrick et al., 2023).

4.3. Einfluss einer intensiven körperlichen Belastung auf die DNA-Schädigung

Nach intensiver Forschung ist mittlerweile bekannt, dass moderate Aktivität eine geringe bis mittlere Produktion von ROS hervorruft, die zahlreiche regulatorische Funktionen in der Zelle übernehmen. Zu nennen gilt es hier beispielweise die Genexpression und die Steuerung von Signalwegen physiologischer Prozesse. In der vorliegenden Untersuchung, ebenso wie auch in vielen anderen Studien, geht es jedoch um die körperlichen Reaktionen danach. Wenn entstandene ROS nicht mehr über das antioxidative System des Körpers ausgeglichen werden können, sondern die Intensität und Dauer der sportlichen Aktivität so hoch ist, dass die ROS ungehindert oxidativen Schaden an Zellorganellen und auch an der DNA verursachen (Thirupathi & Pinho, 2018).

Unmittelbar nach dem 5-km-Lauf sind die DNA-Strangbrüche im Vergleich zum Baseline-Wert signifikant erhöht ($p < 0,05$). Dieser Zusammenhang zwischen der Entstehung von ROS aufgrund von körperlichen Aktivitäten konnte bereits vor 45 Jahren nachgewiesen werden und wurde seither mehrfach in Studien bestätigt (Davies et al., 1982; Powers et al., 2022). Dem gegenüber waren bei der Erfassung des antioxidativen Status der Zellen (H_2O_2 –Behandlung) und der oxidativen Schädigung (FPG-Behandlung) jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen der Baseline-Messung und den Werten nach der Laufintervention festzustellen ($p > 0,05$). Mögliche Gründe hierfür werden in den Limitationen, siehe Kapitel 4.5, näher erläutert.

Cho et al. (2020) untersuchten auch die DNA-Schädigungen nach einer Laufintervention (bei 85 % der $\dot{V}O_{2max}$ bis zur Erschöpfung) mithilfe eines Comet Assays. Dabei konnten sie ebenfalls einen signifikanten Unterschied in den Intensitätswerten des DNA-Schweifes in Prozent vor und nach der Laufintervention feststellen ($p < 0,05$). Demnach war die DNA-Schädigung direkt nach dem Lauf signifikant höher als davor. Bei der erneuten Messung 30 Minuten nach dem Lauf war die DNA-Schädigung wieder signifikant reduziert ($p < 0,05$). Parallel konnte eine signifikant gestiegene SOD-Aktivität direkt nach der Laufintervention erfasst werden, welche zur schnellen Regeneration der reaktiven Sauerstoffspezies benötigt wird (Cho et al., 2020). Auch weitere Studien haben den Zusammenhang zwischen kurzer intensiver sportlicher Aktivität und direkter DNA-Schädigung als Folge des erhöhten oxidativen Stresses im Körper nachgewiesen (Brown et al., 2013; Ortiz-Franco et al., 2017). Weiters ergab eine koreanische Studie eine positive Korrelation zwischen der Laufdistanz und der DNA-Schädigung, beim Vergleich eines 10-km-Laufs, eines Halbmarathons und eines Marathons, wobei die DNA-Schädigung mit der Laufdistanz ansteigt (Ryu et al., 2016).

Schließlich konnte die vorliegende Masterarbeit den Zusammenhang zwischen einer intensiven Sporteinheit und den unmittelbar daraus resultierenden DNA-Schäden weiter bestätigen, auch wenn in vorliegender Studie nicht alle erhobenen Parameter signifikant waren.

4.4. Einfluss von Alter, Sportlichkeit und BMI auf die DNA-Schädigung

Angelehnt an das Multidimensionale Modell von Tryfidou et al. (2020), siehe **Abbildung 10**, müssen neben der eindimensionalen Betrachtung des oxidativen Schadens auch anderer Einflussfaktoren berücksichtigt werden. Die hier untersuchten Faktoren, Alter, Sportlichkeit und BMI, sind unter „Grad der Individualisierung“ (Degree of Individualization) zusammengefasst, zu welchem auch die Sportlichkeit und die Ernährung gezählt werden. Gleichzeitig sind viele weiteren Faktoren, die auf die DNA-Schädigung in Verbindung mit sportlicher Aktivität wirken können, in diesem Modell dargestellt. Dabei soll der äußere Kreis der Abbildung die höchste DNA-Schädigung repräsentieren und der Innenkreis die geringste Schädigung (Tryfidou et al., 2020).

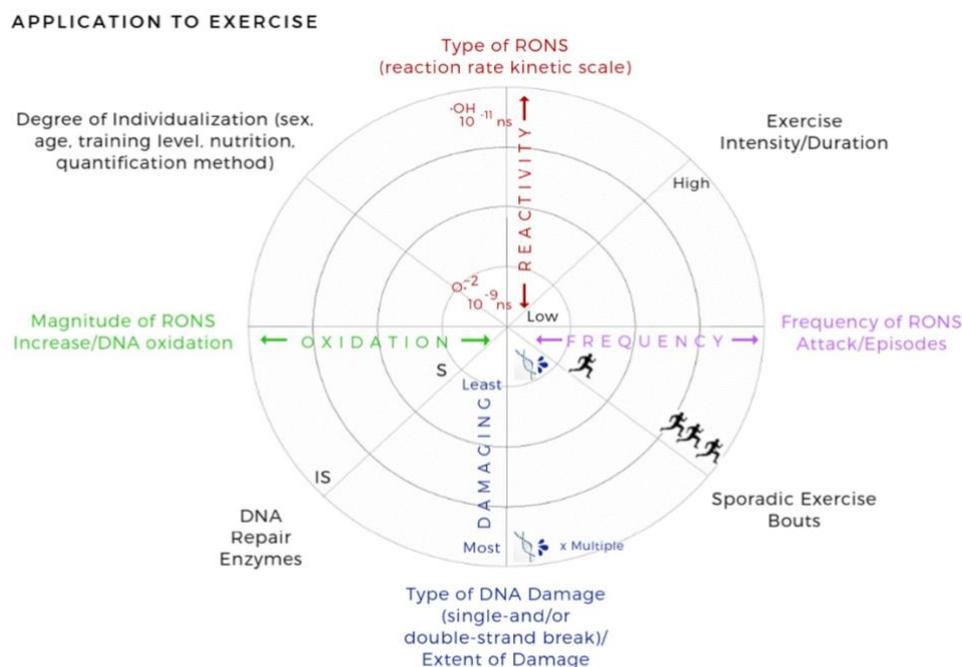


Abbildung 10 Multidimensionales Modell, das mehrere Faktoren zeigt, die bei der Bewertung der oxidativen Schädigung verursacht durch Sport zu berücksichtigen sind. IS = unzureichend, RONS = reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies, S = ausreichend (Tryfidou et al., 2020)

Bei steigendem Körpergewicht und insbesondere bei Übergewicht steigen oxidativer Stress und Entzündungsvorgänge im Körper an. Dies wirkt sich wiederum negativ auf die genetische Stabilität aus und begünstigt beispielsweise die Krebsentstehung (Włodarczyk & Nowicka, 2019). Somit muss in Bezug auf die Untersuchung der DNA-Stabilität das Körpergewicht im Studienkollektiv weitgehend konstant gehalten werden. In diesem Zusammenhang werden jedoch häufig hauptsächlich Tierversuche angeführt, da bisher wenige Humanstudien den Einfluss des BMI auf die DNA-Stabilität untersucht haben (Setayesh et al., 2018).

Auch das Alter spielt in Bezug auf die DNA-Stabilität eine wichtige Rolle (Mota et al., 2010). So wird das vermehrte Auftreten von DNA-Schäden und Inflammation als charakteristisches Zeichen des Alterungsprozesses gesehen (Zhao et al., 2023). Wobei Untersuchungen auch aufzeigen, dass nicht das Alter per se die Unterschiede verursacht, sondern dass diese vielmehr auf unterschiedliche Lebensstile und externe Faktoren zurückzuführen sind (Møller, 2019). Auch in Bezug auf den Faktor Geschlecht ist die Studienlage nicht eindeutig und die beobachteten Unterschiede sind hierbei sehr wahrscheinlich ausschließlich auf den unterschiedlichen Lebensstil zurückzuführen (Azqueta et al., 2020).

Wird in Studien das Fitnesslevel der Proband:innen berücksichtigt, so zeigt sich, dass dies ebenso einen Einfluss auf das Ausmaß der auftretenden DNA-Schädigungen hat. Sowohl bei der Baseline-Messung sind mehr DNA-Strangbrüche der Personen mit geringerer Sportlichkeit festzustellen. Darüber hinaus sind die durch eine sportliche Intervention hervorgerufenen DNA-Schäden bei weniger fitten Personen höher (Cho et al., 2020; Mota et al., 2010).

In der vorliegenden Masterarbeit konnte kein Zusammenhang zwischen dem Alter, BMI und der Sportlichkeit einer Person und ihrer DNA-Schädigung festgestellt werden ($p > 0,05$). Da es sich bei diesem Studienkollektiv um eine möglichst homogene Gruppe handeln sollte, war dieses Ergebnis zu erwarten.

4.5. Limitationen

Als erste Limitation der vorliegende Masterarbeit ist der Zeitpunkt der Blutabnahme zu nennen. Hierbei wäre es wünschenswert gewesen, die Baseline-Messung direkt vor dem 5-km-Lauf einzuplanen, um einen genauen Vorher-Nachher-Effekt erheben zu können. Zudem erfolgten die Blutabnahmen nach dem Lauf nicht bei jeder Person unmittelbar nach der Beendigung des Laufs. Da die Blutabnahme ausschließlich von einer Person durchgeführt wurde, kam es zu unterschiedlichen Wartezeiten nach dem Lauf.

Weiters fehlte die Erfassung der sportlichen Aktivitäten des Vortages sowie die der konsumierten Speisen des Versuchstages. Beide Faktoren wirken auf die resultierenden DNA-Schädigungen und können die Messung verfälschen. Da auch 24 Stunden nach einer sportlichen Aktivität das Maximum von DNA-Schädigung erreicht werden kann, besteht die Möglichkeit, dass das Training am Vortag das Ergebnis des Versuchstages ggf. stark beeinflusst haben könnte (Azqueta et al., 2020). Zudem wären Follow-up-Blutabnahmen und deren Analyse, beispielsweise 1 Stunde, 24 Stunden und 3 Tage nach dem 5-km-Lauf interessant gewesen, um die Geschwindigkeit der Reparatur der DNA-Schädigungen mitverfolgen zu können.

Das Vollblut wurde in 15 ml EDTA-Tubes (VACUETTE®) gesammelt, um die Gerinnungskaskade zu blockieren. Anschließend wurden zwei Mal 50 µl Vollblutprobe pro Teilnehmer aliquotiert. In weiterer Folge wurden die Proben bei -20°C bis zur Analyse gelagert. Von den Blutproben einiger Probanden konnte jedoch keine standardmäßige Analyse durchgeführt werden, da die Proben nach dem Auftauen klumpig waren. Dies könnte auf das nicht ausreichende Schwenken der Vollblutproben vor dem Aliquotieren zurückzuführen sein. Ein weiterer Grund könnte die Lagerung bei -20°C statt -80°C sein. Untersuchungen diesbezüglich zeigen, dass die Lagerung von Vollblutproben oder isolierten Zellen bei -80°C oder in flüssigem Stickstoff möglich ist. Die Lagerbedingungen, der Einfrier- und Auftauprozess der Proben, können jedoch einen kritischen Faktor darstellen (Azqueta et al., 2020). Aufgrund der extrem starken DNA-Schädigung mancher Proben, welche wahrscheinlich auf die Lagerung zurückzuführen ist, wurde in der Folge auch die Auswertung erschwert. Das computergestützte Zählen der Zellen gestaltete sich sehr schwierig, da die Zelleneingrenzung oft ungenau war und viele Slides zu unscharf oder verschwommen waren, um sie präzise auswerten zu können.

Die Limitationen des FFQ umfassen hauptsächlich die Gewichtung der Fragen. Während nur eine einzige Fragestellung bezüglich der Fettaufnahme gestellt wurde, wurde eine

Vielzahl von Fragen zu unterschiedlichen Snacks und Süßigkeiten gestellt. Diese Überrepräsentation von bestimmten Lebensmittelkategorien könnte zu einer Verzerrung der Gesamtergebnisse führen und die Genauigkeit der gemessenen Fettaufnahme beeinträchtigen. Zudem wäre eine Differenzierung der unterschiedlichen Fettquellen in Bezug auf die Fragestellung sinnvoll gewesen. Da die vorliegende Masterarbeit nur einen kleinen Teil einer größeren Studie darstellt, konnten gewisse Aspekte, wie beispielsweise das Timing der Baseline-Messung oder die Fragenauswahl des FFQ, nicht genau auf diesen Versuch abgestimmt werden.

5. Fazit

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl das Ernährungsmuster als auch die einmalige körperliche Anstrengung in Form eines 5-km-Laufs einen Einfluss auf die DNA-Stabilität zu haben scheinen. Die vorliegende Untersuchung konnte diese Hypothese jedoch nicht vollständig unterstützen, da für alle vier Forschungsfragen keine konsistent signifikanten Ergebnisse erzielt werden konnten. Die genaue Wirkung verschiedener Ernährungsmuster auf die DNA-Schädigung der Probanden und der Einfluss des 5-km-Laufs konnten nicht eindeutig geklärt werden. Dies resultiert größtenteils aus den suboptimalen Lagerbedingungen der Vollblutproben, wodurch die Ergebnisse des Comet-Assays lediglich eine begrenzte Aussagekraft aufweisen.

6. Literaturverzeichnis

- AGES. (2019). Die österreichische Ernährungspyramide. [Online im Internet] 02.10.2019 [zitiert 12.09.2023]. URL: <https://www.ages.at/mensch/ernaehrung-lebensmittel/ernaehrungsempfehlungen/die-oesterreichische-ernaehrungspyramide?mdrv=www.ages.at&cHash=66c56ba3c1ed2fcd62dea808f017ca2c>.
- Antoni, R. (2023). Dietary saturated fat and cholesterol: cracking the myths around eggs and cardiovascular disease. *J Nutr Sci*, 12, e97. <https://doi.org/10.1017/jns.2023.82>
- Azqueta, A., Ladeira, C., Giovannelli, L., Boutet-Robinet, E., Bonassi, S., Neri, M., Gajski, G., Duthie, S., Del Bo, C., & Riso, P. (2020). Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 783, 108288.
- Bakuradze, T., Lang, R., Hofmann, T., Schipp, D., Galan, J., Eisenbrand, G., & Richling, E. (2016). Coffee consumption rapidly reduces background DNA strand breaks in healthy humans: Results of a short-term repeated uptake intervention study. *Molecular nutrition & food research*, 60(3), 682-686.
- Banerjee, A. K., Mandal, A., Chanda, D., & Chakraborti, S. (2003). Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 253(1), 307-312. <https://doi.org/10.1023/A:1026032404105>
- Bardaweel, S. K., Gul, M., Alzweiri, M., Ishaqat, A., ALSalamat, H. A., & Bashatwah, R. M. (2018). Reactive oxygen species: The dual role in physiological and pathological conditions of the human body. *The Eurasian journal of medicine*, 50(3), 193.
- Barnes, J. L., Zubair, M., John, K., Poirier, M. C., & Martin, F. L. (2018). Carcinogens and DNA damage. *Biochem Soc Trans*, 46(5), 1213-1224. <https://doi.org/10.1042/bst20180519>
- Barros, T. T., Venancio, V. P., Hernandez, L. C., Antunes, L. M. G., Hillesheim, E., Salomão, R. G., Mathias, M. G., Coelho-Landell, C. A., Toffano, R. B. D., Almada, M., Camelo-Junior, J. S., Moco, S., Cominetti, O., Ued, F. D. V., Kaput, J., & Monteiro, J. P. (2021, Jul 21). DNA Damage, n-3 Long-Chain PUFA Levels and Proteomic Profile in Brazilian Children and Adolescents. *Nutrients*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/nu13082483>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*, 5(1), 9-19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Bishop, K. S., Erdrich, S., Karunasinghe, N., Han, D. Y., Zhu, S., Jesuthasan, A., & Ferguson, L. R. (2015, Jan 8). An investigation into the association between DNA damage and dietary fatty acid in men with prostate cancer. *Nutrients*, 7(1), 405-422. <https://doi.org/10.3390/nu7010405>

- Bojková, B., Winklewski, P. J., & Wszedybyl-Winklewska, M. (2020). Dietary Fat and Cancer-Which Is Good, Which Is Bad, and the Body of Evidence. *Int J Mol Sci*, 21(11). <https://doi.org/10.3390/ijms21114114>
- Brown, J. C., Burke, G., Davison, G. W., Fogarty, M. C., & Hughes, C. M. (2013). Acute and chronic watercress supplementation attenuates exercise-induced peripheral mononuclear cell DNA damage and lipid peroxidation. *British Journal of Nutrition*, 109(2), 293-301. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000992>
- Carusillo, A., & Mussolino, C. (2020). DNA Damage: From Threat to Treatment. *Cells*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/cells9071665>
- Cemeli, E., Baumgartner, A., & Anderson, D. (2009). Antioxidants and the Comet assay. *Mutation research. Reviews in mutation research*, 681, 67. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.05.002>
- Cena, H., & Calder, P. C. (2020). Defining a healthy diet: evidence for the role of contemporary dietary patterns in health and disease. *Nutrients*, 12(2), 334.
- Chan, C. W. H., Law, B. M. H., Waye, M. M. Y., Chan, J. Y. W., So, W. K. W., & Chow, K. M. (2019). Trimethylamine-N-oxide as One Hypothetical Link for the Relationship between Intestinal Microbiota and Cancer - Where We Are and Where Shall We Go? *J Cancer*, 10(23), 5874-5882. <https://doi.org/10.7150/jca.31737>
- Chatterjee, N., & Walker, G. C. (2017). Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*, 58(5), 235-263. <https://doi.org/10.1002/em.22087>
- Cho, S. Y., So, W. Y., & Roh, H. T. (2020, Jun 12). Effect of C242T Polymorphism in the Gene Encoding the NAD(P)H Oxidase p22(phox) Subunit and Aerobic Fitness Levels on Redox State Biomarkers and DNA Damage Responses to Exhaustive Exercise: A Randomized Trial. *Int J Environ Res Public Health*, 17(12). <https://doi.org/10.3390/ijerph17124215>
- Cobley, J. N., Margaritelis, N. V., Morton, J. P., Close, G. L., Nikolaidis, M. G., & Malone, J. K. (2015). The basic chemistry of exercise-induced DNA oxidation: oxidative damage, redox signaling, and their interplay. *Frontiers in physiology*, 6, 182.
- Collins, A. R. (2014). Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1840(2), 794-800. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.04.022>
- Collins, M. W., Kontos, A. P., Reynolds, E., Murawski, C. D., & Fu, F. H. (2014). A comprehensive, targeted approach to the clinical care of athletes following sport-related concussion. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 22(2), 235-246. <https://doi.org/10.1007/s00167-013-2791-6>
- D-A-CH-Gesellschaften für Ernährung. (2016). Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährung: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. (2. Auflage, 2. aktualisierte Ausgabe).

- Davies, K. J. A., Packer, L., & Brooks, G. A. (1982, 1982/04/15/). Exercise bioenergetics following sprint training. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 215(1), 260-265. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-9861\(82\)90303-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-9861(82)90303-4)
- Del Bo, C., Marino, M., Martini, D., Tucci, M., Ciappellano, S., Riso, P., & Porrini, M. (2019, Feb 13). Overview of Human Intervention Studies Evaluating the Impact of the Mediterranean Diet on Markers of DNA Damage. *Nutrients*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/nu11020391>
- Deutsche Gesellschaft für Kardiologie. (2016). ESC/EAS Pocket Guidelines: Diagnostik und Therapie der Dyslipidämie.
- Dusinska, M., & Collins, A. R. (2008). The comet assay in human biomonitoring: gene-environment interactions. *Mutagenesis*, 23(3), 191-205. <https://doi.org/10.1093/mutage/gen007>
- Elmadfa, I., & Meyer, A. L. (2014). Developing suitable methods of nutritional status assessment: a continuous challenge. *Adv Nutr*, 5(5), 590s-598s. <https://doi.org/10.3945/an.113.005330>
- Erdrich, S., Bishop, K. S., Karunasinghe, N., Han, D. Y., & Ferguson, L. R. (2015). A pilot study to investigate if New Zealand men with prostate cancer benefit from a Mediterranean-style diet. *PeerJ*, 3, e1080. <https://doi.org/10.7717/peerj.1080>
- Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports Med*, 36(4), 327-358. <https://doi.org/10.2165/00007256-200636040-00004>
- Finkel, T. (2011). Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol*, 194, 15. <https://doi.org/10.1083/jcb.201102095>
- Gößwald, A., Lange, M., Kamtsiuris, P., & Kurth, B. M. (2012). DEGS: Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 55(6), 775-780. <https://doi.org/10.1007/s00103-012-1498-z>
- Harms-Ringdahl, M., Jenssen, D., & Haghdoust, S. (2012, 2012/05/02). Tomato juice intake suppressed serum concentration of 8-oxodG after extensive physical activity. *Nutrition Journal*, 11(1), 29. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-29>
- Huang, X. Y., Eungpinichpong, W., Silsirivanit, A., Nakmareong, S., & Wu, X. H. (2014). Tai chi improves oxidative stress response and DNA damage/repair in young sedentary females. *J Phys Ther Sci*, 26(6), 825-829. <https://doi.org/10.1589/jpts.26.825>
- Jackson, M. J., Vasilaki, A., & McArdle, A. (2016). Cellular mechanisms underlying oxidative stress in human exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 13-17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.023>
- Jalandra, R., Dalal, N., Yadav, A. K., Verma, D., Sharma, M., Singh, R., Khosla, A., Kumar, A., & Solanki, P. R. (2021, 2021/10/01). Emerging role of trimethylamine-

- N-oxide (TMAO) in colorectal cancer. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(20), 7651-7660. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11582-7>
- Kirkpatrick, C. F., Sikand, G., Petersen, K. S., Anderson, C. A. M., Aspry, K. E., Bolick, J. P., Kris-Etherton, P. M., & Maki, K. C. (2023, 2023/07/01). Nutrition interventions for adults with dyslipidemia: A Clinical Perspective from the National Lipid Association. *Journal of Clinical Lipidology*, 17(4), 428-451. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jacl.2023.05.099>
- Ladeira, C., Carolino, E., Gomes, M. C., & Brito, M. (2017). Role of Macronutrients and Micronutrients in DNA Damage: Results From a Food Frequency Questionnaire. *Nutr Metab Insights*, 10, 1178638816684666. <https://doi.org/10.1177/1178638816684666>
- Lanier, K. A., & Williams, L. D. (2017, Mar). The Origin of Life: Models and Data. *J Mol Evol*, 84(2-3), 85-92. <https://doi.org/10.1007/s00239-017-9783-y>
- Lee, M. Y., Kim, H. A., & Kang, M. H. (2017). Comparison of lymphocyte DNA damage levels and total antioxidant capacity in Korean and American diet. *Nutr Res Pract*, 11(1), 33-42. <https://doi.org/10.4162/nrp.2017.11.1.33>
- Li, T., Chen, Y., Gua, C., & Li, X. (2017). Elevated circulating trimethylamine N-oxide levels contribute to endothelial dysfunction in aged rats through vascular inflammation and oxidative stress. *Frontiers in physiology*, 8, 350.
- Lutsenko, E. A., Cárcamo, J. M., & Golde, D. W. (2002). Vitamin C prevents DNA mutation induced by oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 277(19), 16895-16899.
- Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., Chapman, M. J., De Backer, G. G., Delgado, V., Ference, B. A., Graham, I. M., Halliday, A., Landmesser, U., Mihaylova, B., Pedersen, T. R., Riccardi, G., Richter, D. J., Sabatine, M. S., Taskinen, M.-R., Tokgozoglul, L., Wiklund, O., & Group, E. S. D. (2019). 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal*, 41(1), 111-188. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
- Markkanen, E. (2017). Not breathing is not an option: How to deal with oxidative DNA damage. *DNA Repair*, 59, 82-105. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2017.09.007>
- Mastaloudis, A., Yu, T. W., O'Donnell, R. P., Frei, B., Dashwood, R. H., & Traber, M. G. (2004). Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay. *Free Radic Biol Med*, 36(8), 966-975. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.012>
- Mentella, M. C., Scaldaferri, F., Ricci, C., Gasbarrini, A., & Miggiano, G. A. D. (2019). Cancer and Mediterranean Diet: A Review. *Nutrients*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/nu11092059>

- Miko, H. C., Zillmann, N., Ring-Dimitriou, S., Dorner, T. E., Titze, S., & Bauer, R. (2020, Sep). [Effects of Physical Activity on Health]. *Gesundheitswesen*, 82(S 03), S184-s195. <https://doi.org/10.1055/a-1217-0549> (Auswirkungen von Bewegung auf die Gesundheit.)
- Mišík, M., Staudinger, M., Kundi, M., Worel, N., Nersesyan, A., Ferk, F., Dusinska, M., Azqueta, A., Møller, P., & Knasmueller, S. (2023). Use of the Single Cell Gel Electrophoresis Assay for the Detection of DNA-protective Dietary Factors: Results of Human Intervention Studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 108458.
- Møller, P. (2019). Effect of age and sex on the level of DNA strand breaks and oxidatively damaged DNA in human blood cells. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 838, 21. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.11.010>
- Møller, P., Jensen, A., Løhr, M., Eriksen, L., Grønbaek, M., & Loft, S. (2019, Jul). Fish and salad consumption are inversely associated with levels of oxidatively damaged DNA in a Danish adult cohort. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 843, 66-72. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.11.003>
- Møller, P., & Roursgaard, M. (2021). Biomarkers of DNA Oxidation Products: Links to Exposure and Disease in Public Health Studies. *Chem. Res. Toxicol*, 34, 2250. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.1c00213>
- Mota, M. P., Peixoto, F. M., Soares, J. F., Figueiredo, P. A., Leitão, J. C., Gaivão, I., & Duarte, J. A. (2010). Influence of aerobic fitness on age-related lymphocyte DNA damage in humans: relationship with mitochondria respiratory chain and hydrogen peroxide production. *Age*, 32, 337-346.
- Müllner, E., Brath, H., Pleifer, S., Schiermayr, C., Baierl, A., Wallner, M., Fastian, T., Millner, Y., Paller, K., Henriksen, T., Poulsen, H. E., Forster, E., & Wagner, K.-H. (2013). Vegetables and PUFA-rich plant oil reduce DNA strand breaks in individuals with type 2 diabetes. *Mol. Nutr. Food Res*, 57, 338. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200343>
- Nikitaki, Z., Hellweg, C. E., Georgakilas, A. G., & Ravanat, J.-L. (2015). Stress-induced DNA damage biomarkers: applications and limitations. *Frontiers in chemistry*, 3, 35.
- Ortiz-Franco, M., Planells, E., Quintero, B., Acuña-Castroviejo, D., Rusanova, I., Escames, G., & Molina-López, J. (2017, Dec). Effect of Melatonin Supplementation on Antioxidant Status and DNA Damage in High Intensity Trained Athletes. *Int J Sports Med*, 38(14), 1117-1125. <https://doi.org/10.1055/s-0043-119881>
- Östling, O., & Johanson, K. J. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123(1), 291-298. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-291X\(84\)90411-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-291X(84)90411-X)
- Othman, E. M., Kreissl, M. C., Kaiser, F. R., Arias-Loza, P.-A., & Stopper, H. (2013). Insulin-Mediated Oxidative Stress and DNA Damage in LLC-PK1 Pig Kidney Cell

- Line, Female Rat Primary Kidney Cells, and Male ZDF Rat Kidneys In Vivo. *Endocrinology*, 154(4), 1434-1443. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1768>
- Packer, L., Cadenas, E., & Davies, K. J. A. (2008). Free radicals and exercise: An introduction. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 123-125. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.031>
- Peluso, M., Russo, V., Mello, T., & Galli, A. (2020, Sep 21). Oxidative Stress and DNA Damage in Chronic Disease and Environmental Studies. *Int J Mol Sci*, 21(18). <https://doi.org/10.3390/ijms21186936>
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*, 97, 74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- Potischman, N. (2003). Biologic and Methodologic Issues for Nutritional Biomarkers. *J Nutr*, 133, 880S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.3.875S>
- Powers, S. K., Deminice, R., Ozdemir, M., Yoshihara, T., Bomkamp, M. P., & Hyatt, H. (2020, Sep). Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? *J Sport Health Sci*, 9(5), 415-425. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2020.04.001>
- Powers, S. K., Duarte, J., Kavazis, A. N., & Talbert, E. E. (2010). Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. *Exp Physiol*, 95(1), 1-9. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.050526>
- Powers, S. K., Goldstein, E., Schragger, M., & Ji, L. L. (2022, Dec 25). Exercise Training and Skeletal Muscle Antioxidant Enzymes: An Update. *Antioxidants (Basel)*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/antiox12010039>
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*, 88(4), 1243-1276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Rodriguez, F. D., & Coveñas, R. (2021). Biochemical Mechanisms Associating Alcohol Use Disorders with Cancers. *Cancers*, 13(14), 3548. <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/14/3548>
- Rumgay, H., Murphy, N., Ferrari, P., & Soerjomataram, I. (2021, Sep 11). Alcohol and Cancer: Epidemiology and Biological Mechanisms. *Nutrients*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/nu13093173>
- Rüsten, A. v. I., A.K.; Boeing, H; Flothkötter, M. (2009). Bewertung der Lebensmittelaufnahme mittels eines ‚Healthy Wating Index‘ (HEI-EPIC). *Ernährungs Umschau*, 56(8), 450-456.
- Ryu, J. H., Paik, I. Y., Woo, J. H., Shin, K. O., Cho, S. Y., & Roh, H. T. (2016). Impact of different running distances on muscle and lymphocyte DNA damage in amateur marathon runners. *J Phys Ther Sci*, 28(2), 450-455. <https://doi.org/10.1589/jpts.28.450>
- Sakellariou, G. K., Vasilaki, A., Palomero, J., Kayani, A., Zibrik, L., McArdle, A., & Jackson, M. J. (2013, Feb 20). Studies of mitochondrial and nonmitochondrial

- sources implicate nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase(s) in the increased skeletal muscle superoxide generation that occurs during contractile activity. *Antioxid Redox Signal*, 18(6), 603-621. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4623>
- Schipp, D., Tulinska, J., Sustrova, M., Liskova, A., Spustova, V., Lehotska Mikusova, M., Krivosikova, Z., Rausova, K., Collins, A., Vebraite, V., Volkovova, K., Rollerova, E., Barancokova, M., & Shaposhnikov, S. (2019, 2019/12/01). Consumption of a dark roast coffee blend reduces DNA damage in humans: results from a 4-week randomised controlled study. *European Journal of Nutrition*, 58(8), 3199-3206. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1863-2>
- Schoeneck, M., & Iggman, D. (2021, May 6). The effects of foods on LDL cholesterol levels: A systematic review of the accumulated evidence from systematic reviews and meta-analyses of randomized controlled trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 31(5), 1325-1338. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2020.12.032>
- Sellami, M., Bragazzi, N., Prince, M. S., Denham, J., & Elrayess, M. (2021). Regular, Intense Exercise Training as a Healthy Aging Lifestyle Strategy: Preventing DNA Damage, Telomere Shortening and Adverse DNA Methylation Changes Over a Lifetime. *Front Genet*, 12, 652497. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.652497>
- Setayesh, Nersesyan, A., Mišák, M., Ferk, F., Langie, S., Andrade, V. M., Haslberger, A., & Knasmüller, S. (2018, Jul-Sep). Impact of obesity and overweight on DNA stability: Few facts and many hypotheses. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 777, 64-91. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.07.001>
- Setayesh, T., Nersesyan, A., Mišák, M., Ferk, F., Langie, S., Andrade, V. M., Haslberger, A., & Knasmüller, S. (2018, 2018/07/01). Impact of obesity and overweight on DNA stability: Few facts and many hypotheses. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 777, 64-91. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.07.001>
- Shim, J. S., Oh, K., & Kim, H. C. (2014). Dietary assessment methods in epidemiologic studies. *Epidemiol Health*, 36, e2014009. <https://doi.org/10.4178/epih/e2014009>
- Sies, H. (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*, 91(3c), 31s-38s. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(91\)90281-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(91)90281-2)
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020, 2020/07/01). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(7), 363-383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., & Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1), 184-191. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)
- Slyskova, J., Lorenzo, Y., Karlsen, A., Carlsen, M. H., Novosadova, V., Blomhoff, R., Vodicka, P., & Collins, A. R. (2014). Both genetic and dietary factors underlie individual differences in DNA damage levels and DNA repair capacity. *DNA Repair*, 16, 66-73. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.01.016>

- Slyskova, J., Naccarati, A., Polakova, V., Pardini, B., Vodickova, L., Stetina, R., Schmuczerova, J., Smerhovsky, Z., Lipska, L., & Vodicka, P. (2011). DNA damage and nucleotide excision repair capacity in healthy individuals. *Environmental and molecular mutagenesis*, 52(7), 511-517.
- Stamler, J. S., & Meissner, G. (2001). Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiological reviews*, 81(1), 209-237.
- Täger, M., Peltner, J., & Thiele, S. (2016). Evaluation of diet quality by means of the Healthy Eating Index and its modified variants. *Ernährungs Umschau*, 63, 110-118.
- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., & Liew, W. P. (2018). Nutrients and Oxidative Stress: Friend or Foe? *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 9719584. <https://doi.org/10.1155/2018/9719584>
- Thirupathi, A., & de Souza, C. T. (2017, Nov). Multi-regulatory network of ROS: the interconnection of ROS, PGC-1 alpha, and AMPK-SIRT1 during exercise. *J Physiol Biochem*, 73(4), 487-494. <https://doi.org/10.1007/s13105-017-0576-y>
- Thirupathi, A., & Pinho, R. A. (2018, Aug). Effects of reactive oxygen species and interplay of antioxidants during physical exercise in skeletal muscles. *J Physiol Biochem*, 74(3), 359-367. <https://doi.org/10.1007/s13105-018-0633-1>
- Tryfidou, D. V., McClean, C., Nikolaidis, M. G., & Davison, G. W. (2020, Jan). DNA Damage Following Acute Aerobic Exercise: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports Med*, 50(1), 103-127. <https://doi.org/10.1007/s40279-019-01181-y>
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
- van Loon, B., Markkanen, E., & Hübscher, U. (2010, Jun 4). Oxygen as a friend and enemy: How to combat the mutational potential of 8-oxo-guanine. *DNA Repair (Amst)*, 9(6), 604-616. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2010.03.004>
- Wallace, T. C., Bailey, R. L., Blumberg, J. B., Burton-Freeman, B., Chen, C. y. O., Crowe-White, K. M., Drewnowski, A., Hooshmand, S., Johnson, E., Lewis, R., Murray, R., Shapses, S. A., & Wang, D. D. (2020). Fruits, vegetables, and health: A comprehensive narrative, umbrella review of the science and recommendations for enhanced public policy to improve intake. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(13), 2174-2211. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1632258>
- Weng, H., Weng, Z., Lu, Y., Nakayama, K., & Morimoto, K. (2010, 2010/08/30/). Effects of alcohol-drinking behaviour and ADH1B and ALDH2 polymorphisms on basal DNA damage in human mononuclear cells as determined by the comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 701(2), 132-136. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.05.013>
- Williamson, J., Hughes, C. M., & Davison, G. W. (2018). Exogenous plant-based nutraceutical supplementation and peripheral cell mononuclear DNA damage

following high intensity exercise. *Antioxidants (Basel)*, 7.
<https://doi.org/10.3390/antiox7050070>

Wilms, L. C., Boots, A. W., de Boer, V. C. J., Maas, L. M., Pachen, D. M. F. A., Gottschalk, R. W. H., Ketelslegers, H. B., Godschalk, R. W. L., Haenen, G. R. M. M., van Schooten, F. J., & Kleinjans, J. C. S. (2007). Impact of multiple genetic polymorphisms on effects of a 4-week blueberry juice intervention on ex vivo induced lymphocytic DNA damage in human volunteers. *Carcinogenesis*, 28, 1806. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgm145>

Włodarczyk, M., & Nowicka, G. (2019, Mar 6). Obesity, DNA Damage, and Development of Obesity-Related Diseases. *Int J Mol Sci*, 20(5).
<https://doi.org/10.3390/ijms20051146>

Zhao, Y., Simon, M., Seluanov, A., & Gorbunova, V. (2023, Feb). DNA damage and repair in age-related inflammation. *Nat Rev Immunol*, 23(2), 75-89.
<https://doi.org/10.1038/s41577-022-00751-y>

Zuo, J., Zhang, Z., Luo, M., Zhou, L., Nice, E. C., Zhang, W., Wang, C., & Huang, C. (2022). Redox signaling at the crossroads of human health and disease. *MedComm*, 3(2), e127.

7. Anhang

7.1. Material und Chemikalien für die Durchführung eines Comet Assays

Tabelle 13 Materialien für die Durchführung eines Comet Assays

Materialien	Hersteller
Aluminiumfolie	ROTILABO®
Becherglas, 250 ml, 1 l, 2 l	Carl Roth
Elektrophorese	PEQLAB – Biotechnologie 029342 GmbH
Elektrophorese Power Supply	PEQLAB – Biotechnologie 029342 GmbH
Eppendorf Reaktionsgefäße (Eppis), 1,5 µl	Eppendorf SE
Erlenmeyerkolben, 250 ml	Carl Roth
Flasche, 10 ml	Carl Roth
Fluoreszenzmikroskop	NIKON
Gewindeflasche, 250 ml	Carl Roth
Inkubator	Memmert
Glasküvetten	Opticyt
Magnetrührer	Heidolph
Messkolben, 1 l, 2 l	Carl Roth
Messzylinder, 50 ml, 500 ml	Paracelsus
Mikrowelle	ELTA
Objektgläser	VWR
Objektträger, Cut Edge Frosted Slides	Marienfeld
Pasteurpipette, 3,5 ml	Fisher Scientific Inc.
PC-Comet Programm	COMET IV
pH-Meter	Metrohm Inula
Pipette 10-100 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl	Thermo Fisher Scientific Inc., Gilson
UV-Lampe Lummen 200	Prior
Vortex	Heidolph
Waage	Satorius, Mettler Toledo
Wasserbad	GFL – Gesellschaft für Labortechnik
Zentrifugenröhrchen, 15 ml	Carl Roth

Zentrifugenröhrchen, 15 ml getönt	Carl Roth
-----------------------------------	-----------

Tabelle 14 Chemikalien für die Durchführung eines Comet Assays

Chemikalien	Hersteller
Dulbecco's Phosphate buffered saline (DPBS)	Sigma-Aldrich
Ethylendiamin-tetraessigsäure Dinatriumsalzlösung (EDTA, C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈)	Riedel-de Haën™
Ethanol Absolut 99,9%	Sigma-Aldrich
Formamidpyrimidin-DNA-Glykosylase (FPG)	New England Biolabs
Gel Red, Fluoreszenzfarbstoff	Botum
HEPES, 2-Ethansulfonsäure	Sigma-Aldrich
Kaliumchlorid (KCl)	Sigma-Aldrich
Kaliumhydroxid (KOH)	Sigma-Aldrich
Low Melting Agarose (LMA), 0,8%	Invitrogen
Natriumchlorid (NaCl)	Sigma-Aldrich
Natriumhydroxid (NaOH)	Sigma-Aldrich
Normal Melting Agarose (NMA),	Invitrogen
Rinderserumalbumin (BSA)	Sigma-Aldrich
Wasserstoffperoxid (H ₂ O ₂)	Sigma-Aldrich
Triton X – 100, 1ml/100ml	Sigma-Aldrich
Trizma base (TRIS), C ₄ H ₁₁ NO ₃	Sigma-Aldrich

7.2. Protokoll Comet Assay

Vorbereitungen eines Comet Assays

Vor dem Start der Versuchstage sind die Objektträger zu beschichten und einige Lösungen für alle folgenden Comet Assays herzustellen.

Für die Beschichtung der Objektträger 1000 mg Normal Melting Agarose (NMA) in 100 ml Aqua dest. lösen. Unter Einsatz der Mikrowelle die Erhitzung immer wieder unterbrechen, um einen Siedeverzug zu vermeiden. Außerdem sollte es zu keinem Verdampfen von Flüssigkeit kommen. Bis zur Verwendung wird die Agarose im Kühlschrank gelagert.

Vor der Beschichtung der Objektträger ist die NMA erneut in der Mikrowelle zu verflüssigen und in ein Wasserbad bei einer Temperatur von 55°C zu stellen. Darin

verweilt es den gesamte Beschichtungsvorgang, sodass die NMA immer warm und flüssig bleibt. Die Arbeitsfläche mit Papierhandtüchern auslegen. Jedes Cut Edge Frosted Slide einzeln in die NMA eintauchen, langsam wieder herausziehen und die Rückseite des Objektträgers mit einem Papiertuch säubern. Anschließend über Nacht trocknen und am Folgetag die beschichtete Seite markieren. Bis zur Durchführung des Comet Assays werden beschichtete Objektträger im Kühlschrank gelagert.

Für die Herstellung der Low Melting Agarose (LMA) 800 mg LMA (0,8%) in 100 ml PBS lösen. Unter Benutzung der Mikrowelle nicht öfter als drei Mal aufkochen, wobei der Siedeverzug vermieden werden sollte. Abschließend die NMA in 10 ml Flaschen aliquotieren und bis zur Verwendung im Kühlschrank lagern.

Um den pH-Wert der Lyselösung einzustellen, wird eine 10 M NaOH-Lösung benötigt. Zur Herstellung in 1 l Aqua dest. 400g NaOH lösen. Für die Einstellung des pH-Wertes von Puffer F wird eine 1 M KOH-Lösung hergestellt. Dafür in 1 l Aqua dest. 56,11 g KOH lösen.

Außerdem ist die Puffer F-Stocklösung im Ausmaß von 2 l herzustellen. Hierfür 15 ml Falcon Tubes bereitstellen. In 2 l Aqua dest. 190,6 g HEPES, 149,12 KCl und 2,92 g EDTA lösen. Den Magnetrührer abschalten, BSA langsam in kleinen Mengen auf die Oberfläche streuen und abwarten bis sich die Schicht gelöst hat, insgesamt 4 g BSA hinzufügen. Anschließend unter Benutzung des pH-Meters den benötigte pH-Wert des Puffers einstellen. Dafür vorsichtig das bereits hergestellte 10 M KOH in Puffer F tropfen, bis der Ziel-pH-Wert von 8 erreicht wird. Abschließend die Puffer F-Stocklösung aliquotieren. Die Aliquote von jeweils 15 ml bei -20°C bis zum Versuchstag lagern.

Durchführung eines Comet Assay

Am Beginn eines jeden Versuchstages sind die Arbeitslösungen anzufertigen. Es folgt die Vorbereitung der Objektträger sowie die Probenaufbringung. Im Anschluss werden die unterschiedlichen Behandlungen der Proben durchgeführt. Darauf folgt die Durchführung einer Elektrophorese und die Objektträger werden getrocknet. Abschließend findet die Auszählung mittels Fluoreszenzmikroskop statt.

Herstellung der Arbeitslösungen

Zu Beginn das Wasserbad auf eine Temperatur von 37 °C aufheizen und die gefrorene Puffer F-Stocklösung darin auftauen lassen.

Für die Lyselösung in ca. 500 ml Aqua dest. 146,1 g NaCl, 29,2 g EDTA, 1,211 g Tris und 8 g NaOH lösen. Anschließend den pH-Wert mittels 10 Mol NaOH einstellen, sodass er bei genau 10 ist. In einen 1 l Messkolben überführen und bis auf 1 l mit Aqua dest.

auffüllen, anschließend gekühlt lagern. Kurz vor der Verwendung 3 ml Triton X-100 hinzufügen und auf Eis stellen.

Für die Verdünnung der H₂O₂-Stocklösung 10 ml Aqua dest. abmessen und in ein Falcon Tube überführen. 103 µl Aqua dest. entnehmen und 103 µl der H₂O₂-Stocklösung begeben. Bis zur Verwendung im Kühlschrank lagern. Diese 0,1 M H₂O₂-Stocklösung ist im Kühlschrank eine Woche haltbar.

Täglich herzustellen ist die 1:769 Verdünnung der H₂O₂-Stocklösung, um auf eine Konzentration von 100 µM zu kommen. Ein Schraubglas mit Aluminiumfolie umwickeln und mit 100 ml Aqua dest. befüllen. 130 µl Aqua dest. entnehmen, H₂O₂-Stocklösung vortexen und 130 µl H₂O₂-Stocklösung einpipettieren. Anschließend auf Eis lagern.

Die Puffer F-Stocklösung aus dem Wasserbad nehmen und 1:10 mit Aqua dest. verdünnen. Den pH-Wert von 8, durch Eintropfen von 1 M KOH, einstellen und auf Eis lagern.

Für die Elektrophorese-Lösung in 1 l Aqua dest. 24,0 g NaOH und 0,58 g EDTA lösen, um eine alkalische Lösung mit einem pH-Wert von 13 zu erreichen und auf 2 l mit Aqua dest. auffüllen.

Vorbereitung der Objektträger und Aufbringung der Proben

Die Objektträger werden beschriftet und in die Metallkammern gelegt. Proben werden im Doppelansatz bestimmt und für jeden Objektträger wird zusätzlich ein Back-up angefertigt. Weiters läuft eine Kontrolle mit, die ebenfalls allen vier Behandlungen unterzogen wird. Bei der Kontrolle handelt es sich um eine Vollblutprobe einer Person, die nicht Teil der Studie war.

Die Vollblutproben auftauen und aliquotieren, anschließend auf Eis lagern. Pro Messzeitpunkt werden zwei Eppis mit jeweils 10 µl Vollblut angefertigt. Die LMA in der Mikrowelle auflösen und anschließend in das 37°C warme Wasserbad stellen. 200 µl LMA in das Eppi mit dem Vollblut pipettieren und in der Pipettenspitze Agarose und Blut mischen. Anschließend jeweils 5 µl auf den vorgesehenen Punkt auf dem Objektträger pipettieren und kurz aushärten lassen. Dies ist ein zeitsensitiver Schritt, da die LMA sehr schnell aushärtet und somit nicht mehr ausreichend flüssig zum Pipettieren ist.

Die vier Behandlung der Objektträger

Zwei Küvetten mit der Lyse-Lösung befüllen. Eine mit „FPG und Puffer F“ und die andere Küvette mit „Lyse“ beschriften und die entsprechenden Objektträger in die Lyse-Lösung tauchen und inkubieren lassen. Küvetten dafür in den Kühlschrank stellen.

Die Küvette, die mit Lyse beschriftet ist, muss bis zur Elektrophorese im Kühlschrank bleiben. Die „FPG und Puffer F“-Küvette wird im späteren Verlauf des Versuchs mit FPG oder Puffer F behandelt. In die dritte Küvette die verdünnte H₂O₂-Lösung hineinfüllen und

die übrigen Objektträger für 21 Minuten, ebenfalls im Kühlschrank, inkubieren lassen. Danach zwei Minuten mit DPBS waschen. Objektträger in die Lyseküvetten platzieren und in den Kühlschrank zurückstellen.

Nach einer weiteren Stunde Inkubationszeit werden die „FPG und Puffer F“-Objektträger behandelt. Dafür werden sie jeweils für 5 Minuten in Puffer F gewaschen und währenddessen auf Eis gelagert. 5 µl FPG mit 1250 µl Puffer F verdünnen und auf Eis lagern.

Nach dem Waschen mit Puffer F erneut Objektträger auf Metallkammern platzieren und mit einer Silikonabdeckung mit Löchern bedecken, sodass nur noch die Probenpunkte freiliegen. Eine weitere Plastikaufgabe darauflegen, an der Seite mit den Metallklammern fixieren und auf Eis platzieren. Vor der Verwendung von FPG das Eppi kurz vortexen. Schließlich die jeweiligen Objektträger entweder mit 30 µl Puffer F oder 30 µl FPG behandeln. Dafür mit einer Pipette die jeweilige Substanz direkt über den Probenpunkt auslassen. Mit einem weiteren Silikondeckel den Probenpunkt abdecken und für 30 Minuten in einer Moist Box bei 37°C inkubieren.

Alkalibehandlung und Elektrophorese

Moist box aus dem Inkubator nehmen, Objektträgern aus den Metallkammern entfernen. Die übrigen Küvetten aus dem Kühlschrank nehmen und die Lyselösung weggleeren. Alle Objektträger mit einem Papiertuch von hinten putzen und in das Elektrophoresegerät legen. Dabei kommt je eine Behandlung in eine Reihe und die Freiräume werden mit Platzhalterobjektträgern aufgefüllt. Die Elektrophoreselösung in das Elektrophoresegerät füllen und 20 Minuten im Dunklen inkubieren. Nach dieser sog. Unwinding-Phase 30 Minuten die Elektrophorese laufen lassen bei einer Spannung von 25 V, Stromstärke 1000 mA Leistung 150 W.

Neutralisation und Trocknung

Alle Objektträger aus dem Elektrophoresegerät nehmen und fünf Minuten in DPBS waschen. Anschließend fünf Minuten in Aqua dest. inkubieren, weitere 15 Minuten in 70% Ethanol und abschließend 15 Minuten in 100% Ethanol dehydrieren lassen. Abschließend über Nacht trocknen lassen. Nach 24 Stunden bis zur Auswertung im Kühlschrank lagern.

Auszählung und Quantifizierung der Proben

Für die Anfärbung 10 mL Aqua dest. mit 3 µl GelRed in einem dunklen Falcon Tube mischen und vortexen. Bis zum Gebrauch im Kühlschrank lagern. Das auszuzählende Slide aus dem Kühlschrank nehmen und das verdünnte GelRed auf die Agarosespots pipettieren. Möglichst luftblasenfrei mit einem Deckglas bedecken und bei Dunkelheit arbeiten, da GelRed lichtempfindlich ist. In das Fluoreszenzmikroskop einspannen und

die Software „Comet IV-Video Imaging System“ zur Auswertung verwenden. Das Mikroskop ist mit dem verwendeten Computer verbunden und zeigt auf dem Bildschirm die Zellen eines Gelspots. Durch das Auswählen der Zellen berechnet das Programm die DNA-Schädigung. Der Anteil der DNA im Kopf- und Schweifeteil der Zelle wird in Prozent ausgegeben. Pro Bedingung werden zwei Spots mit jeweils 50 Zellen, demzufolge insgesamt 100 Zellen, ausgewählt. Der Mittelwert wird für die Auswertung herangezogen. Zellen an den Rändern der Gelspots sollten nicht ausgewählt werden, da sie weniger repräsentativ sind.

7.3. Food Frequency Questionnaire

MILCH

1. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Milch (einschließlich Milch für Kaffee, Müsli) getrunken?
 - Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
 - Öfter als 5x pro Tag
2. Wenn du Milch trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?
 - ½ Glas oder weniger
 - 1 Glas (200 ml)
 - 2 Gläser
 - 3 Gläser
 - 4 Gläser oder mehr
3. Welche Art von Milch trinkst du meistens?
 - Vollmilch (mindestens 3,5% Fett)
 - Fettarme Milch (1,5% Fett)
 - Magermilch (max. 0,3% Fett)

- Sojamilch
- Laktosefreie Milch
- Andere

GETRÄNKE

4. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen zuckerhaltige Erfrischungsgetränke (z.B. Cola, Limonade, Eistee, Malzbier, Energiegetränke) getrunken? Nicht gemeint sind Light-Getränke.
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
 - Öfter als 5x pro Tag
5. Wenn du zuckerhaltige Erfrischungsgetränke trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?
- ½ Glas oder weniger
 - 1 Glas (200 ml)
 - 2 Gläser
 - 3 Gläser
 - 4 Gläser oder mehr
6. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen kalorienreduzierte Erfrischungsgetränke (z.B. Light-Getränke) getrunken?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag

- 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
 - Öfter als 5x pro Tag
7. Wenn du kalorienreduzierte Erfrischungsgetränke (z.B. Light-Getränke) trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?
- ½ Glas oder weniger
 - 1 Glas (200 ml)
 - 2 Gläser
 - 3 Gläser
 - 4 Gläser oder mehr
8. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Fruchtsaft (z.B. Orangen-, Apfel-, Kirschsafte) getrunken? Gemeint ist auch verdünnter Fruchtsaft.
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
 - Öfter als 5x pro Tag
9. Wenn du Fruchtsaft trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?
- ½ Gläser oder mehr
 - 1 Glas (200 ml)
 - 2 Gläser
 - 3 Gläser
 - 4 Gläser oder mehr
10. Wie trinkst du deinen Fruchtsaft meistens?
- Unverdünnt
 - Etwa ¼ Saft und ¾ Wasser
 - Etwa ½ Saft und ½ Wasser
 - Etwa ¾ Saft und ¼ Wasser

11. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Gemüsesaft (z.B. Tomaten-, Karottensaft) getrunken? Gemeint ist auch verdünnter Gemüsesaft.

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

12. Wenn du Gemüsesaft trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- ½ Gläser oder mehr
- 1 Glas (200 ml)
- 2 Gläser
- 3 Gläser
- 4 Gläser oder mehr

13. Wie trinkst du deinen Gemüsesaft meistens?

- Unverdünnt
- Etwa $\frac{1}{4}$ Saft und $\frac{3}{4}$ Wasser
- Etwa $\frac{1}{2}$ Saft und $\frac{1}{2}$ Wasser
- Etwa $\frac{3}{4}$ Saft und $\frac{1}{4}$ Wasser

14. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Wasser (Leistungswasser, Mineralwasser, aromatisiertes Wasser) getrunken?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag

- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

15. Wenn du Wasser trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- ½ Gläser oder mehr
- 1 Glas (200 ml)
- 2 Gläser
- 3 Gläser
- 4 Gläser oder mehr

16. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Früchte- oder Kräutertee getrunken?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

17. Wenn du Früchte- oder Kräutertee trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- ½ Gläser oder mehr
- 1 Glas (200 ml)
- 2 Gläser
- 3 Gläser
- 4 Gläser oder mehr

18. Nimmst du üblicherweise Zucker in deinen Früchte- oder Kräutertee? Nicht gemeint sind Süßstoffe.

- Nein
- Ja, etwa 1 Teelöffel pro Tasse
- Ja, 2 Teelöffel pro Tasse
- Ja, 3 Teelöffel (oder mehr) pro Tasse

19. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen schwarzen oder grünen Tee getrunken?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

20. Wenn du schwarzen oder grünen Tee trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- ½ Gläser oder mehr
- 1 Glas (200 ml)
- 2 Gläser
- 3 Gläser
- 4 Gläser oder mehr

21. Nimmst du üblicherweise Zucker in deinen schwarzen oder grünen Tee? Nicht gemeint sind Süßstoffe.

- Nein
- Ja, etwa 1 Teelöffel pro Tasse
- Ja, 2 Teelöffel pro Tasse
- Ja, 3 Teelöffel (oder mehr) pro Tasse

22. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Kaffee (auch Cappuccino, Latte Macchiato, Espresso) getrunken?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag

- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

23. Wenn du Kaffee trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- ½ Gläser oder mehr
- 1 Glas (200 ml)
- 2 Gläser
- 3 Gläser
- 4 Gläser oder mehr

24. Nimmst du üblicherweise Zucker in deinen Kaffee? Nicht gemeint sind Süßstoffe.

- Nein
- Ja, etwa 1 Teelöffel pro Tasse
- Ja, 2 Teelöffel pro Tasse
- Ja, 3 Teelöffel (oder mehr) pro Tasse

25. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Bier (alkoholhaltig) getrunken?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

26. Wenn du Bier trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- ½ Flasche oder weniger
- 1 Flasche (330 ml)
- 2 Flaschen
- 3 Flaschen
- 4 Flaschen (oder mehr)

27. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen alkoholfreies Bier getrunken?

- Nie
- 1x pro Monat

- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

28. Wenn du alkoholfreies Bier trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- ½ Flasche oder weniger
- 1 Flasche (330 ml)
- 2 Flaschen
- 3 Flaschen
- 4 Flaschen (oder mehr)

29. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Wein, Sekt oder Obstwein getrunken?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

30. Wenn du Wein, Sekt oder Obstwein trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- 1 Glas (125 ml)
- 2 Gläser
- 3 Gläser
- 4 Gläser
- 5 Gläser (oder mehr)

31. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Cocktails oder andere alkoholische Mischgetränke getrunken?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

32. Wenn du Cocktails oder andere alkoholische Mischgetränke trinkst, wieviel trinkst du davon meistens?

- ½ Getränke
- 1 Getränk
- 2 Getränke
- 3 Getränke
- 4 Getränke oder mehr

33. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen hochprozentige alkoholische Getränke getrunken?

- ½ Glas oder weniger
- 1 Glas (2 cl)
- 2 Gläser
- 3 Gläser
- 4 Gläser oder mehr

CORNFLAKES UND MÜSLI

34. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Cornflakes (auch z.B. Choco Pops, Nougat Bits, Fruit Rings) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat

- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

35. Wenn du Cornflakes isst, wieviel isst du davon meistens? Mengenangaben bitte ohne Milch.

- ¼ Schale
- ½ Schale
- 1 Schale (eine Dessertschale von 150 ml)
- 2 Schalen
- 3 Schalen oder mehr

36. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Müsli gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

37. Wenn du Müsli isst, wieviel isst du davon meistens? Mengenangaben bitte ohne Milch.

- ¼ Schale
- ½ Schale
- 1 Schale (eine Dessertschale von 150 ml)
- 2 Schalen
- 3 Schalen oder mehr

GEBÄCK

38. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Vollkornbrot oder Vollkornbrötchen gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

39. Wenn du Vollkornbrot oder Vollkornbrötchen isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Scheibe oder 1/3 Brötchen (oder weniger)
- 1 Scheibe oder 1 Brötchen
- 2 Scheiben oder 2 Brötchen
- 3 Scheiben oder 3 Brötchen
- 4 Scheiben oder mehr

40. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Graubrot oder Mischbrot gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

- Öfter als 5x pro Tag

41. Wenn du Graubrot oder Mischbrot isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Scheibe oder 1/3 Brötchen (oder weniger)
- 1 Scheibe oder 1 Brötchen
- 2 Scheiben oder 2 Brötchen
- 3 Scheiben oder 3 Brötchen
- 4 Scheiben oder mehr

42. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Weißbrot oder Brötchen gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

43. Wenn du Weißbrot oder Brötchen isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Scheibe oder 1/3 Brötchen (oder weniger)
- 1 Scheibe oder 1 Brötchen
- 2 Scheiben oder 2 Brötchen
- 3 Scheiben oder 3 Brötchen
- 4 Scheiben oder mehr

44. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Butter oder Margarine (auf Brot etc.) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche

- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

45. Wenn du Butter oder Margarine isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Teelöffel (oder weniger)
- 1 Teelöffel (gestrichen)
- 2 Teelöffel (gestrichen)
- 3 Teelöffel (gestrichen)
- 4 Teelöffel (gestrichen)

MILCHPRODUKTE

46. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Frischkäse (z.B. Philadelphia, Hüttenkäse) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

47. Wenn du Frischkäse isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Esslöffel (oder weniger)
- 1 Esslöffel (gestrichen)
- 2 Esslöffel (gestrichen)
- 3 Esslöffel (gestrichen)
- 4 Esslöffel (gestrichen)

48. Isst du fettarmen Frischkäse?

- Selten oder nie
- Etwa zur Hälfte
- Überwiegen
- Weiß ich nicht

49. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Käse (Weich-, Schnitt oder Hartkäse) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag
- Öfter als 5x pro Tag

50. Wenn du Käse isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Scheibe oder Portion oder weniger
- 1 Scheibe oder Portion
- 2 Scheiben oder Portionen
- 3 Scheiben oder Portionen
- 4 Scheiben oder Portionen

51. Isst du fettarmen Käse?

- Selten oder nie
- Etwa zur Hälfte
- Überwiegen
- Weiß ich nicht

52. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Quark, Joghurt oder Dickmilch gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche

- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

53. Wenn du Quark, Joghurt oder Dickmilch isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Becher oder weniger
- 1 Becher (200 g)
- 2 Becher
- 3 Becher
- 4 Becher

54. Isst du fettarmen Quark, Joghurt oder fettarme Dickmilch?

- Selten oder nie
- Etwa zur Hälfte
- Überwiegen
- Weiß ich nicht

AUFSTRICHE

55. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Honig oder Marmelade gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

56. Wenn du Honig oder Marmelade isst, wieviel isst du davon meistens?

- 1 Teelöffel (oder weniger)
- 2 Teelöffel (gestrichen)
- 3 Teelöffel (gestrichen)
- 4 Teelöffel (gestrichen)
- 5 Teelöffel oder mehr

57. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Nuss-Nougatcreme gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

58. Wenn du Nuss-Nougatcreme isst, wieviel isst du davon meistens?

- 1 Teelöffel (oder weniger)
- 2 Teelöffel (gestrichen)
- 3 Teelöffel (gestrichen)
- 4 Teelöffel (gestrichen)
- 5 Teelöffel oder mehr

EIER

59. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Eier (z.B. Spiegelei, Rührei, gekochtes Ei) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

60. Wenn du Eier isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Ei oder weniger
- 1 Ei
- 2 Eier

- 3 Eier
- 4 Eier oder mehr

FLEISCH

61. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Geflügel (z.B. Hähnchen, Chicken Nuggets) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

62. Wenn du Geflügel isst, wieviel isst du davon meistens?

- ¼ Portion oder weniger
- ½ Portion
- 1 Portion
- 2 Portionen
- 3 Portionen oder mehr

63. Wie oft war das Geflügel paniert?

- (Fast) nie
- Etwa ¼ des Verzehrs
- Etwa ½ des Verzehrs
- Etwa ¾ des Verzehrs
- (Fast) immer

64. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Hamburger oder Döner Kebab gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche

- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

65. Wenn du Hamburger oder Döner Kebab isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Stück oder weniger
- 1 Stück
- 2 Stück
- 3 Stück
- 4 Stück oder mehr

66. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Bratwurst oder Currywurst gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

67. Wenn du Bratwurst oder Currywurst isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Stück oder weniger
- 1 Stück
- 2 Stück
- 3 Stück
- 4 Stück oder mehr

68. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Fleisch (z.B. Schweinefleisch, Rindfleisch, Wildfleisch) gegessen? Nicht gemeint sind Wurst oder Geflügel.

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche

- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

69. Wenn du Fleisch isst, wieviel isst du davon?

- $\frac{1}{4}$ Portion oder weniger
- $\frac{1}{2}$ Portion
- 1 Portion
- 2 Portionen
- 3 Portionen oder mehr

70. Wie oft war das Fleisch paniert?

- (Fast) nie
- Etwa $\frac{1}{4}$ des Verzehrs
- Etwa $\frac{1}{2}$ des Verzehrs
- Etwa $\frac{3}{4}$ des Verzehrs
- (Fast) immer

71. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Wurst (z.B. Salami, Leberwurst) gegessen?

Nicht gemeint ist Schinken.

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

72. Wenn du Wurst isst, wieviel isst du davon meistens?

- $\frac{1}{2}$ Scheiben
- 1 Scheibe
- 2 Scheiben
- 3 Scheiben

- 4 Scheiben oder mehr

73. Isst du fettarme Wurst?

- Selten oder nie
- Etwa zur Hälfte
- Überwiegen
- Weiß ich nicht

74. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Schinken gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

75. Wenn du Schinken isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Scheiben
- 1 Scheibe
- 2 Scheiben
- 3 Scheiben
- 4 Scheiben oder mehr

FISCH

76. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen kalten Fisch (z.B. Räucherlach, Matjes, Thunfisch) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag

- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

77. Wenn du kalten Fisch isst, wieviel isst du davon meistens? Eine Portion ist in etwa die Menge eines Brotbelags.

- ¼ Portion oder weniger
- ½ Portion
- 1 Portion
- 2 Portionen
- 3 Portionen oder mehr

78. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Fisch als warme Mahlzeit (z.B. Seelachs, Forelle) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

79. Wenn du Fisch isst, wieviel isst du davon meistens? Eine Portion ist 1 Fischfilet oder 4 Fischstäbchen.

- ¼ Portion oder weniger
- ½ Portion
- 1 Portion
- 2 Portionen
- 3 Portionen oder mehr

80. Wie oft war der Fisch paniert?

- (Fast) nie
- Etwa ¼ des Verzehrs
- Etwa ½ des Verzehrs
- Etwa ¾ des Verzehrs
- (Fast) immer

OBST

81. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen frisches Obst (z.B. Apfel, Banane) gegessen?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
82. Wenn du frisches Obst isst, wieviel isst du davon meistens? 1 Stück ist z.B. 1 Apfel. Mit Schale ist eine kleine Dessertschale von 150 ml mit z.B. Erdbeeren gemeint.
- ½ Stück oder ½ Schale (oder weniger)
 - 1 Stück oder 1 Schale
 - 2 Stück oder 2 Schalen
 - 3 Stück oder 2 Schalen
 - 4 Stück oder 4 Schalen (oder mehr)
83. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen gegartes Obst (z.B. Kompott, Konservenobst) gegessen?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
84. Wenn du gegartes Obst isst, wieviel isst du davon meistens? Mit Schale ist eine kleine Dessertschale von 150 ml gemeint.

- ¼ Schale oder weniger
- ½ Schale
- 1 Schale
- 2 Schalen
- 3 Schalen oder mehr

GEMÜSE

85. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen rohes Gemüse (z.B. Kopfsalat, Rohkost) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

86. Wenn du rohes Gemüse isst, wieviel isst du davon meistens?

- ¼ Portion oder weniger
- ½ Portion
- 1 Portion
- 2 Portionen
- 3 Portionen oder mehr

87. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen gegartes Gemüse gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag

- 4-5x pro Tag

88. Wenn du gegartes Gemüse isst, wieviel isst du davon meistens?

- ¼ Portion oder weniger
- ½ Portion
- 1 Portion
- 2 Portionen
- 3 Portionen oder mehr

89. Wenn du gegartes Gemüse isst, dann ist das üblicherweise:

- Frisch (roh) eingekauft
- Tiefgekühlt
- Konservengemüse
- Weiß ich nicht

90. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Hülsenfrüchte (z.B. Bohnen, Erbsen, Linsen) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

91. Wenn du Hülsenfrüchte isst, wieviel isst du davon meistens?

- ¼ Portion oder weniger
- ½ Portion
- 1 Portion
- 2 Portionen
- 3 Portionen oder mehr

NUDELN, REIS, KARTOFFELN

92. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Nudeln (z.B. Spaghetti, Spätzle, Ravioli, Lasagne) gegessen?

- ¼ Teller oder weniger

- ½ Teller
- 1 Teller
- 2 Teller
- 3 Teller oder mehr

93. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Reis (auch Couscous, Bulgur) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

94. Wenn du Reis (auch Bulgur, Couscous) isst, wieviel isst du davon meistens?

- ¼ Teller oder weniger
- ½ Teller
- 1 Teller
- 2 Teller
- 3 Teller oder mehr

95. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen gekochte Kartoffel (z.B. Salzkartoffeln, Pellkartoffel, Kartoffelklöße) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

96. Wenn du gekochte Kartoffel isst, wieviel isst du davon meistens? Gemeint sind mittelgroße Kartoffel.

- ½ Portion oder 1 Kartoffel (oder weniger)
- 1 Portion oder 2 Kartoffeln
- 1 ½ Portionen oder 3 Kartoffeln
- 2 Portionen oder 4 Kartoffeln
- 2 ½ Portionen oder 5 Kartoffeln (oder mehr)

97. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen gebratene Kartoffel (auch Kroketten oder Kartoffelpuffer) gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

98. Wenn du gebratene Kartoffel isst, wieviel isst du davon meistens?

- ¼ Teller oder weniger
- ½ Teller
- 1 Teller
- 2 Teller
- 3 Teller oder mehr

99. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Pommes Frites gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag

- 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
100. Wenn du Pommes Frites isst, wieviel isst du davon meistens? Gemeint ist eine mittlere Portion am Imbissstand.
- ¼ Portion oder weniger
 - ½ Portion
 - 1 Portion
 - 2 Portionen
 - 3 Portionen oder mehr

PIZZA

101. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Pizza gegessen?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
102. Wenn du Pizza isst, wieviel isst du davon meistens? Mit einer Portion ist einer Tiefkühlpizza von etwa 350 g.
- ¼ Portion oder weniger
 - ½ Portion
 - 1 Portion
 - 2 Portionen
 - 3 Portionen oder mehr

SNACKS

103. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Kuchen, Torten oder süße Backwaren (auch Muffins, Apfeltaschen, Baklava) gegessen?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat

- 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
104. Wenn du Kuchen, Torten oder süße Backwaren isst, wieviel isst du davon meistens?
- ½ Stück oder weniger
 - 1 Stück
 - 2 Stück
 - 3 Stück
 - 4 Stück
105. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Kekse (z.B. Butterkekse, Plätzchen) gegessen?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
106. Wenn du Kekse isst, wieviel isst du davon meistens?
- 2 Kekse (oder weniger)
 - 3 Kekse
 - 4 Kekse
 - 5 Kekse
 - 6 Kekse oder mehr
107. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Schokolade oder Schokoriegel (auch Pralinen) gegessen?
- Nie

- 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
108. Wenn du Schokolade oder Schokoriegel isst, wieviel isst du davon meistens? Gemeint ist eine Tafel von 100 g.
- ½ kleinen Schokoriegel (oder weniger)
 - ¼ Tafel oder 1 kleiner Schokoriegel
 - ½ Tafel oder 1 großer Schokoriegel
 - 1 Tafel oder 2 Schokoriegel
 - 2 Tafeln (oder mehr)
109. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Süßigkeiten (z.B. Bonbons, Fruchtgummi, Hustenbonbons, Lakritz) gegessen?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
110. Wenn du Süßigkeiten isst, wieviel isst du davon meistens?
- 1 Stück
 - 2-5 Stück
 - 6-10 Stück
 - 11-20 Stück
 - 21 Stück oder mehr

111. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Eis gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

112. Wenn du Eis isst, wieviel isst du davon meistens?

- ½ Kugel oder weniger
- 1 Kugel
- 2 Kugeln oder 1 Eis am Stiel
- 3 Kugeln
- 4 Kugeln oder mehr

113. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Kartoffelchips gegessen?

- Nie
- 1x pro Monat
- 2-3x pro Monat
- 1-2x pro Woche
- 3-4x pro Woche
- 5-6x pro Woche
- 1x pro Tag
- 2x pro Tag
- 3x pro Tag
- 4-5x pro Tag

114. Wenn du Kartoffelchips isst, wieviel isst du davon meistens? Gemeint ist eine Dessertschale von 150 ml.

- ¼ Schale oder weniger
- ½ Schale
- 1 Schale
- 2 Schalen

- 3 Schalen oder mehr
115. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Salzgebäck oder Cracker (z.B. Salzstangen) gegessen?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
116. Wenn du Salzgebäck oder Cracker isst, wieviel isst du davon meistens? Gemeint ist eine Dessertschale von 150 ml.
- $\frac{1}{4}$ Schale oder weniger
 - $\frac{1}{2}$ Schale
 - 1 Schale
 - 2 Schalen
 - 3 Schalen oder mehr
117. Wie oft hast du in den letzten vier Wochen Nüsse (z.B. Erdnüsse, Walnüsse, Haselnüsse) gegessen?
- Nie
 - 1x pro Monat
 - 2-3x pro Monat
 - 1-2x pro Woche
 - 3-4x pro Woche
 - 5-6x pro Woche
 - 1x pro Tag
 - 2x pro Tag
 - 3x pro Tag
 - 4-5x pro Tag
118. Wenn du Nüsse isst, wieviel isst du davon meistens?
- $\frac{1}{4}$ Portion oder weniger

- ½ Portion
- 1 Portion
- 2 Portionen
- 3 Portionen oder mehr

ALLGEMEINES

119. Welches Fett verwendest du bei der Zubereitung von Fleisch oder Fisch hauptsächlich?
- Butter, Margarine
 - Olivenöl
 - Pflanzliches Kochfett (z.B. Biskin, Palmin)
 - Tierisches Kochfett (z.B. Schmalz)
 - Sonnenblumen-, Distel-, Keim-, Rapsöl etc.
 - Weiß ich nicht
 - Kein
120. Welches Fett verwendest du bei der Zubereitung von Gemüse hauptsächlich?
- Butter, Margarine
 - Olivenöl
 - Pflanzliches Kochfett (z.B. Biskin, Palmin)
 - Tierisches Kochfett (z.B. Schmalz)
 - Sonnenblumen-, Distel-, Keim-, Rapsöl etc.
 - Weiß ich nicht
 - Kein
121. Isst du üblicherweise vegetarisch?
- Nein
 - Ja
122. Welche der folgenden Lebensmittel isst du nicht
- Fleisch, Geflügel und Wurst
 - Fisch
 - Milch- und Milchprodukte
 - Eier
123. Wie häufig in der Woche bereitest du aus Grundzutaten/frischen Lebensmitteln eine warme Mahlzeit (Mittag- oder Abendessen) selbst zu?
- Täglich
 - 5-6x pro Woche
 - 3-4x pro Woche

- 1-2x pro Woche
- Nie

8. Eidesstaatliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe und nur die ausgewiesenen Hilfsmittel verwendet habe. Die Arbeit wurde weder an einer anderen Stelle eingereicht noch von anderen Personen vorgelegt.