

Stimulierung zelleigener Reparaturprozesse durch Kalorienreduktion

Katja Matt¹
Katharina Burger¹
Karin Rupprecht²
Daniel Gebhard¹
Jörg Bergemann¹

Zusammenfassung

Eine kalorienrestriktive Ernährung kann die Lebensspanne einer Vielzahl von Modellorganismen wie Nagern oder Wirbellosen verlängern, oxidativen Stress verringern und die DNA-Reparatur positiv beeinflussen. Zahlreiche Studien belegen diese Ergebnisse, aber es existieren nur wenige Studien mit humanen Probanden. Mit Hilfe des von uns entwickelten modifizierten Host Cell Reactivation Assays wurde der Zusammenhang von Kalorienreduktion und zelleigener DNA-Reparatur im Menschen untersucht. Bei Probanden, die zu Beginn der Studie eine niedrige DNA-Reparaturkapazität zeigten, konnte im Verlauf der kalorienrestriktiven Periode ein positiver Effekt auf die zelleigene DNA-Reparaturkapazität nachgewiesen werden. Bei Probanden, die zu Beginn der Studie eine normale DNA-Reparaturkapazität zeigten, gab es keine Veränderungen. Verringerung der DNA-Reparaturfähigkeit, Akkumulation oxidativer DNA-Schäden, mitochondriale Dysfunktion, Verkürzung der Telomere, aber auch die Kalorienaufnahme haben starken Einfluss auf Alterungs- und Krankheitsprozesse. Die hier gezeigte DNA-Reparaturunterstützende Wirkung der Kalorienreduktion kann somit als wichtiger Beleg für die Zellgesundheit und somit auch ein gesünderes Altern gesehen werden.

Einleitung

Es wird angenommen, dass Kalorienreduktion als eine nicht-pharmakologische Intervention die Lebensspanne von Modellorganismen wie Nagern oder Wirbellosen verlängern und das Auftreten altersbedingter Erkrankungen reduzieren kann [Weindruch 2013]. Bereits 1935 wurde der Einfluss von Kalorienrestriktion auf Ratten untersucht, mit dem Ergebnis, dass ihre Lebensspanne erhöht wurde [McCay 1989]. Bei nicht-menschlichen Primaten konnte durch Kalorienrestriktion eine Reduktion der altersabhängigen und der Gesamtmortalität nachgewiesen werden [Colman et al. 2014]. Zudem konnte bereits nachgewiesen werden, dass Kalorienrestriktion oxidativen Stress reduziert [Qiu et al. 2010], die Basenexzisionsreparatur im Zellkern steigert [Stuart et al. 2010], vorbeugend gegenüber altersbedingten Erkrankungen wie Arteriosklerose wirkt [Fontana et al. 2004] und in einer Vielzahl von

Modellorganismen den Alterungsprozess verzögert [Cabelof et al., 2003; Roth et al., 2001]. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Kalorienrestriktion und ihre Auswirkungen auf Alterung und altersbedingte Erkrankungen in Modellorganismen intensiv erforscht wird, es aber schwierig ist, vergleichbare Studien mit humanen Probanden zu finden. Werden beispielsweise DNA-Reparatur und Alterung im Menschen untersucht, geschieht dies meist unter Verwendung von Zellkulturen. Hart und Setlow wiesen so beispielsweise eine Korrelation von DNA-Reparaturfähigkeit und einer erhöhten Lebenserwartung in unterschiedlichen Spezies, darunter auch Menschen, nach [Hart and Setlow 1974]. Des Weiteren konnte ein signifikanter Einfluss von reduzierter Kalorienaufnahme auf die DNA-Reparatur in Hepatozyten und Nierenzellen von Ratten nachgewiesen werden, ebenfalls in Versuchen an Zellkulturen [Weraarchakul et al. 1989].

Um einen systemischen Einfluss (z. B. Kalorienreduktion) auf den menschlichen Körper auf molekularbiologischer Ebene untersuchen zu können, ist eine Methode vorteilhaft, die es erlaubt, direkt aus dem menschlichen Körper heraus – ex vivo – zu messen. Idealerweise ist die Probenahme dabei minimalinvasiv, so dass Probanden für eine Studie einfach gewonnen werden können. Diese Anforderung erfüllt humanes Blut, da die Blutentnahme schnell und relativ schmerzfrei durchführbar ist und gleichzeitig die für die ex vivo Untersuchungen benötigten PBMCs einfach und schnell isoliert werden können. 2010 gab es bereits Untersuchungen zu DNA-Reparatur bei einer Ernährungsintervention, allerdings wurde dabei nicht der gesamte Reparaturprozess abgebildet, sondern lediglich die Erkennung des DNA-Schadens und die Inzision an der Reparaturstelle [Langie et al. 2006; Langie et al. 2010]. Der modifizierte Host Cell Reactivation Assay (HCRA) ist eine Methode zur Untersuchung der Nukleotidexzisionsreparatur. Der große Vorteil gegenüber anderen Methoden ist, dass die funktionelle Wiederherstellung eines zuvor geschädigten DNA-Bereiches (eines sog. Reporterplasmids) gemessen wird. Das Prinzip des Assays wurde erstmals 1985 von Protić-Sabljić et al. beschrieben und im Folgenden für eine Verwendung mit humanen Lymphozyten weiterentwickelt [Protić-Sabljić et al., 1985, Athas et al., 1991]. Indem fluoreszierende Proteine als Reporter verwendet wurden, wurde der HCRA später verfeinert und schließlich 2007 für eine Einzelzell-basierte durchflusszyto-

metrische Analyse angepasst [Roguev and Russev, 2000; Burger et al., 2007; Burger et al., 2010]. Hier wird die erfolgreiche Optimierung des HCRA für eine Anwendung mit humanen PBMCs beschrieben. Mit Hilfe dieser optimierten und reproduzierbaren Methode wurde schließlich der Einfluss von Kalorienreduktion auf die DNA-Reparatur humaner PBMCs im ex vivo Ansatz untersucht.

Methoden

Um den Einfluss einer Kalorienreduktion (F. X. Mayr-Therapie) auf die DNA-Reparaturkapazität frisch isolierter humaner PBMCs zu untersuchen, wurde der von uns entwickelte modifizierte HCRA angewandt. Die Isolierung der PBMCs wurde mit Leucosep® Tubes (Greiner Bio One International GmbH) nach Herstellerangaben isoliert. Der modifizierte HCRA basiert auf der Deaktivierung eines Reportergens durch UVC-Bestrahlung. Nach dem Einbringen des beschädigten Reporters in humane Zellen kann durch die Fähigkeit der Zelle zur DNA-Reparatur eine funktionelle Wiederherstellung des Reportergens erfolgen. Folglich kommt es zur Expression des fluoreszierenden Proteins, welches durchflusszytometrisch detektiert werden kann. UVC schädigt die DNA direkt und führt hauptsächlich zur Bildung von Cyclobutan-Pyrimidin-Dimeren (CPDs) und Pyrimidin(6-4)Pyrimidon Photoprodukten (6-4PPs). Diese DNA-Schäden werden über den Mechanismus der Nukleotidexzisionsreparatur (NER) repariert, folglich stellt das Ergebnis der Analyse die Reparaturkapazität der Zellen für die NER dar. Des Weiteren wurde mit dem modifizierten HCRA die DNA-Reparaturkapazität kryokonservierter und frisch isolierter PBMCs verglichen. Hierbei wurde für die Kryokonservierung bei -196 °C ein Medium bestehend aus 10% Fötalem Kälberserum, 10% DMSO als Gefrierschutz und 80% RPMI Medium ohne Phenolrot verwendet. Nach dem Auftauen wurden die kryokonservierten PBMCs ohne Kultivierung direkt für den modifizierten HCRA verwendet. Abb. 1 zeigt den Ablauf von der Zellisolation bis zur Auswertung.

Ergebnisse

Für die Bestimmung der DNA-Reparaturkapazität während einer Periode der Kalorienrestriktion wurden von jedem Studienteilnehmer drei Blutproben benötigt, aus denen die PBMCs isoliert wurden: eine vor

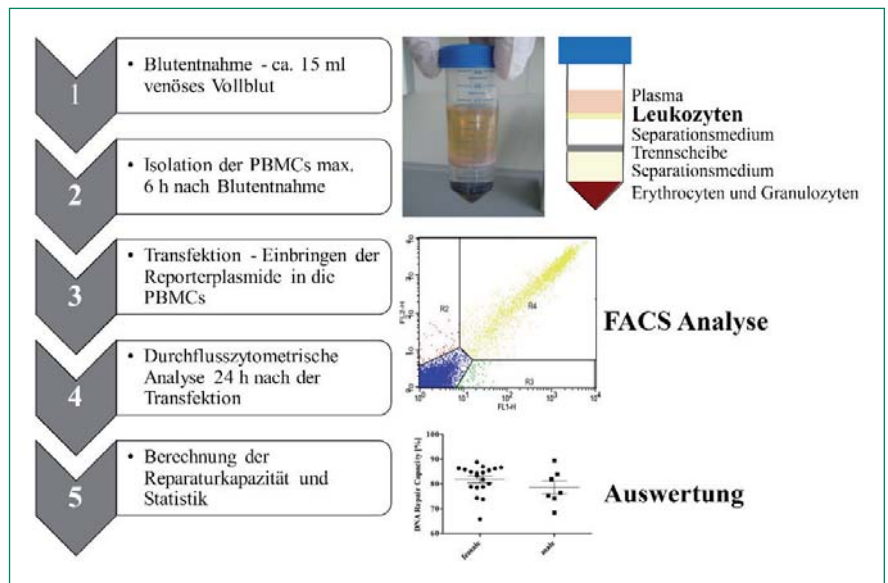


Abb. 1 Versuchsablauf modifizierter HCRA mit humanen PBMCs. Die PBMCs wurden mit Leucosep® Tubes isoliert, anschließend wurden die Reporterplasmide in die Zellen eingebracht, nach 24 h wurde die durchflusszytometrische Analyse durchgeführt und anschließend erfolgte die Berechnung der DNA-Reparaturkapazität, sowie die statistische Analyse.

Beginn, die zweite am achten Tag der kalorienrestriktiven Periode und die dritte während der Nachkur. Im Jahr 2014 konnte acht Teilnehmer für die Studie gewonnen werden, in der Folgestudie 2015 waren es 18 Probanden.

Jede Studie wurde, je nach DNA-Reparaturkapazität vor Beginn der Vorkur, für die Auswertung in zwei Gruppen unterteilt: die erste Gruppe bildeten die 50% der Probanden mit den höheren DNA-Reparaturkapazitätswerten, die zweite Gruppe bildeten die niedrigen 50%. In der Studie von 2014, die in Abb. 2 dargestellt ist, ist ein signifikanter Anstieg der DNA-Reparatur vom Zeitpunkt vor Beginn der Vorkur zum achten Tag der kalorienrestriktiven Phase erkennbar ($p = 0,0216$). Dies lässt auf einen Einfluss der Kalorienreduktion auf die DNA-Reparatur der PBMCs der betroffenen Probanden schließen. Der signifikante Anstieg der DNA-Reparaturkapazität hielt bis zum Ende der Studie an ($p = 0,0013$), wobei die DNA-Reparaturkapazität auf das Niveau der Reparaturkapazität der Probanden anstieg, die schon vor Beginn eine normale DNA-Reparaturkapazität aufwiesen. Deren DNA-Reparatur veränderte sich im Verlauf der Studie hingegen nicht signifikant [Matt et al. 2016].

6
 Zeppelinstraße 8
 01324 Dresden
 Telefon: 0351 2632231
 Telefax: 0351 2632168
f.x.mayr
 therapiezentrum | sachsen
 dresden
 www.fxmayr-dresden.de

Moderne F. X. Mayr Therapie
 Colon Hydrotherapie
 Hyperthermie
 Bioresonanztherapie
 Klassische Aromatherapie

Liebe dein Leben und das Leben liebt dich.

FA für Allgemeinmedizin
 Naturheilverfahren
 Psychotherapie
 Homöopathie
 Diagnostik und Therapie
 nach F. X. Mayr
 dr. med.
 gesine petereit
 www.naturheilkunde-dresden.com

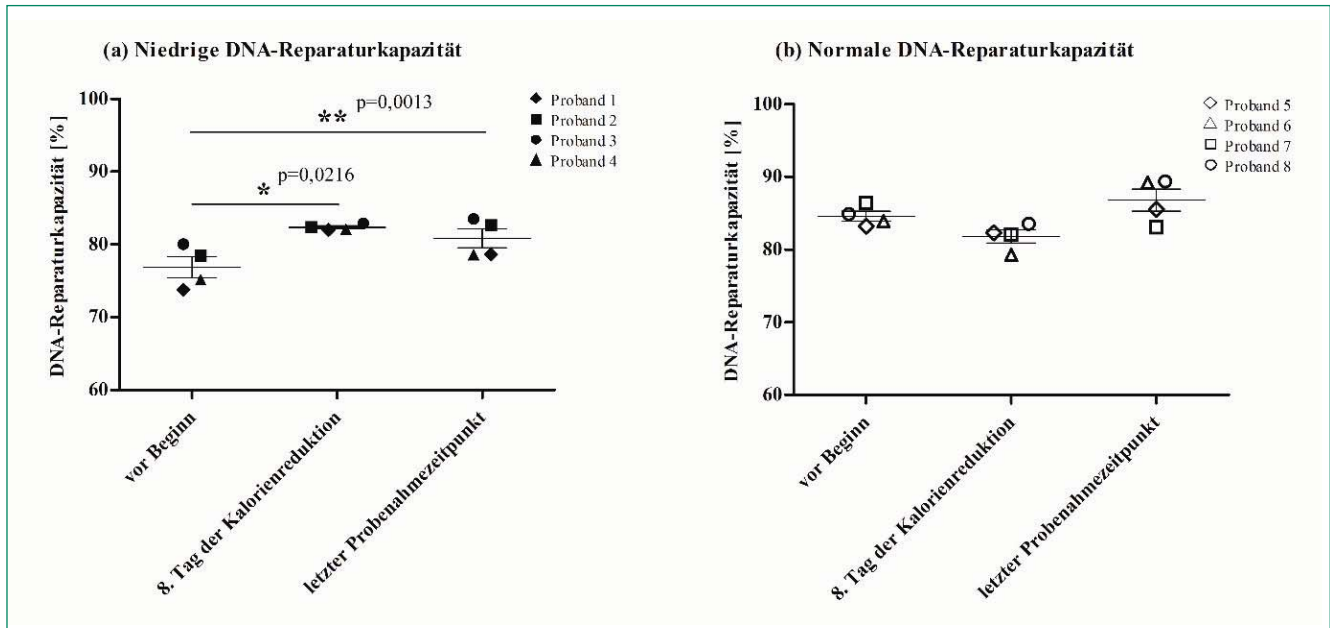


Abb. 2 Einfluss der Kalorienreduktion auf die DNA-Reparatur humaner PBMCs-Studie aus dem Jahr 2014. Es konnten acht Probanden während einer kalorienrestriktiven Periode untersucht werden. (a) Die vier Probanden mit einer niedrigen DNA-Reparaturkapazität vor Beginn zeigten einen signifikanten Anstieg der DNA-Reparatur sowohl zum achten Tag der Kalorienreduktion ($p=0,0216$) als auch zum Probenahmezeitpunkt während der Nachkur ($p=0,0013$). (b) Die verbleibenden vier Probanden mit einer normalen Reparaturkapazität vor Beginn zeigten während der Studie keine Veränderungen hinsichtlich der DNA-Reparatur [Matt et al. 2016].

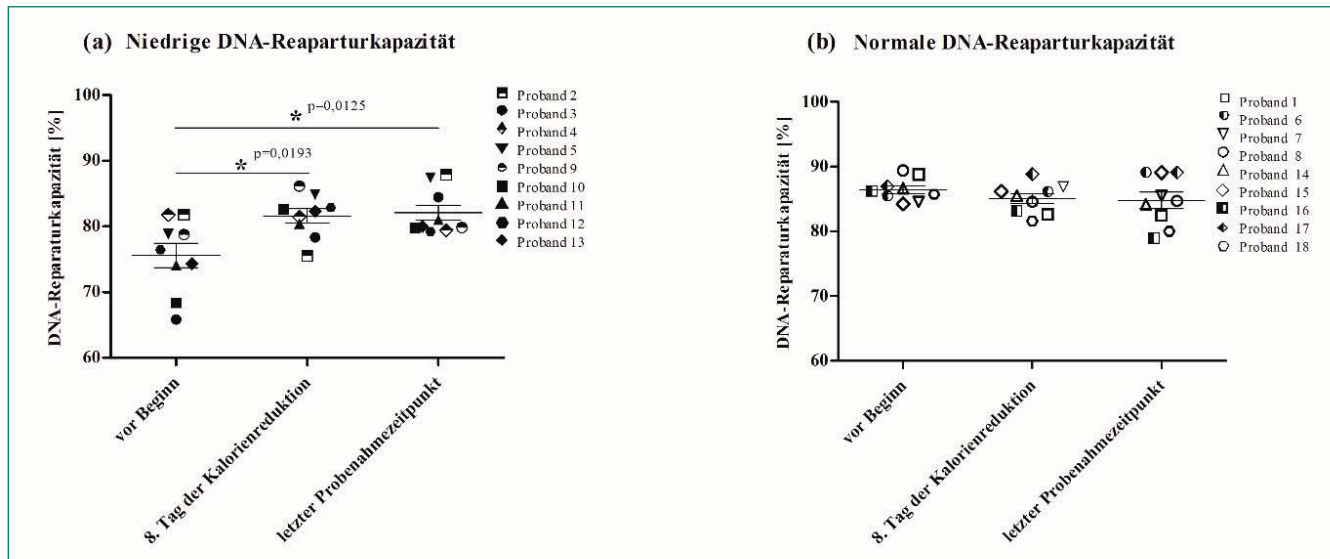


Abb. 3 Einfluss der Kalorienreduktion auf die DNA-Reparatur humaner PBMCs-Studie aus dem Jahr 2015. Es konnten 18 Probanden während einer Phase der Kalorienreduktion untersucht werden. (a) Neun Probanden wiesen vor Beginn eine niedrige DNA-Reparaturkapazität auf. In diesen Probanden steigerte sich die DNA-Reparaturfähigkeit signifikant zum achten Tag Kalorienreduktion ($p=0,0193$) und blieb bis zum Ende der Studie gegenüber dem Anfangswert signifikant höher ($p=0,0125$). (b) Die DNA-Reparatur der übrigen neun Probanden änderte sich im Laufe der Studie nicht signifikant [Matt et al. 2016].

In der Studie von 2015 konnten PBMCs von 18 Probanden hinsichtlich möglicher Veränderungen der DNA-Reparaturkapazität während einer kalorienrestriktiven Phase untersucht werden. Um saisonale Unterschiede der DNA-Reparaturkapazität ausschließen zu können, fand die zweite Studie zur selben Jahreszeit statt wie der erste. Das Ergebnis der Wiederholungs-

studie zeigt Abb. 3. Bei Probanden, die vor der Vorkur eine niedrigere DNA-Reparatur aufwiesen, steigerte sich die DNA-Reparaturkapazität im Verlauf der kalorienrestriktiven Periode signifikant, sowohl zum achten Tag ($p=0,0193$), als auch zur letzten Probenahme ($p=0,0125$). Dies weist wiederum auf einen positiven Effekt der Kalorienreduktion auf die DNA-Reparatur-

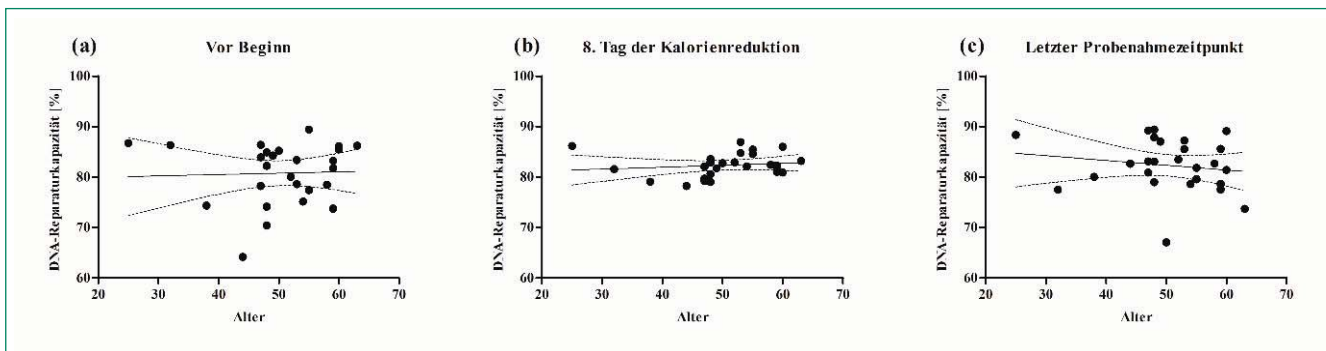


Abb. 4 Einfluss des Alters auf die DNA-Reparaturkapazität während der Kalorienreduktion - Zusammenfassung der Daten aus den Studien 2014 und 2015. Ein Einfluss des Alters auf die DNA-Reparatur konnte zu keinem Messzeitpunkt festgestellt werden.

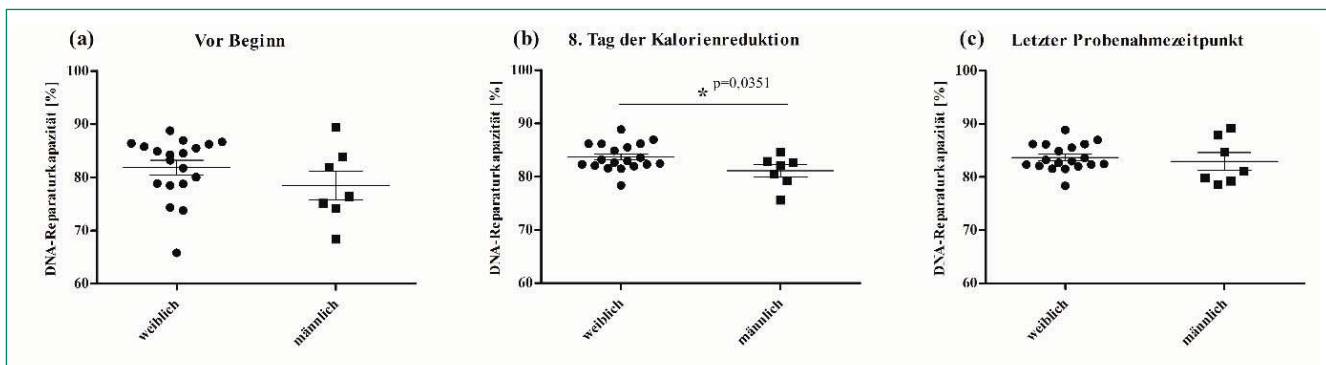


Abb. 5 Einfluss des Geschlechts auf die die DNA-Reparaturkapazität während der Kalorienreduktion - Zusammenfassung der Daten aus den Studien 2014 und 2015. (a) Vor Beginn der kalorienrestriktiven Periode gab es keinen geschlechtsspezifischen Unterschied hinsichtlich der DNA-Reparaturkapazität. (b) Am achten Tag der Kalorienreduktion zeigten männliche gegenüber weiblichen Probanden eine signifikant niedrigere DNA-Reparaturkapazität ($p=0,0351$). (c) Beim letzten Probenahmezeitpunkt war wiederum kein Unterschied hinsichtlich der DNA-Reparatur zwischen männlichen und weiblichen Probanden erkennbar.

kapazität hin und bestätigt somit die im Rahmen der Studie 2014 gewonnenen Ergebnisse. Es kann folglich gesagt werden, dass die DNA-Reparaturkapazität der Probanden mit niedriger DNA-Reparatur vor der Vorkur auf das Niveau die DNA-Reparaturkapazität der Probanden angehoben wurde, die schon vor Beginn der Vorkur eine normale DNA-Reparatur aufwiesen. Bei diesen wiederum konnten keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich der DNA-Reparatur festgestellt werden [Matt et al. 2016].

Das Alter der Probanden hatte zu keinem Zeitpunkt einen Einfluss auf die DNA-Reparaturkapazität, wie Abb. 4 zeigt.

Bei der Auswertung der Ergebnisse nach Geschlecht der Probanden fiel auf, dass männliche Probanden am achten Tag der Kalorienreduktion eine signifikant niedrigere DNA-Reparaturkapazität aufwiesen als weibliche Probanden. Vor der Vorkur und während der Nachkur waren keine signifikanten Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen Probanden erkennbar, wie Abb. 5 zeigt [Matt et al. 2016].

Versuche zur Untersuchung der Probenstabilität zeigten, dass die Isolation der PBMCs innerhalb eines Zeitfensters von 6–8 h stattfinden muss, um aussagekräftige Ergebnisse für die DNA-Reparaturkapazität

zu erhalten. Dieses Problem kann durch Kryokonservierung der isolierten PBMCs in flüssigem Stickstoff ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) umgangen werden. Beim Vergleich der DNA-Reparaturkapazitäten der frisch isolierten und der kryokonservierten PBMCs ist kein signifikanter Unterschied erkennbar, wie Abbildung 6 zeigt [Weber 2015]. Kryokonservierung könnte also eine geeignete Methode zur Erhöhung der Stabilität der Proben sein.

Diskussion

Seit Jahren ist bekannt, dass Kalorienrestriktion oxidativen Stress, das Altern, altersbedingte Erkrankungen und die Lebensspanne von Modellorganismen positiv beeinflussen kann [Colman et al., 2014; Qiu et al., 2010; Smith et al., 2007]. Bei Mäusen wurde gezeigt, dass kalorienrestriktiv ernährte ältere Tiere eine Reparaturfähigkeit für UV-Schäden vergleichbar mit der von jungen Tieren aufwiesen [Licastro et al. 1988]. Zudem konnte eine positive Korrelation von DNA-Reparaturvermögen und der erwarteten maximalen Lebenserwartung festgestellt werden [Hall et al., 1984; Hart and Setlow, 1974]. Bei der Betrachtung von Studien mit humanen Probanden fällt auf, dass es wenige Studien gibt, die Kalorienrestriktion länger als nur Stunden oder Tage untersuchen [Fontana et al., 2006; Racette et al., 2006; Walford et al., 2002].

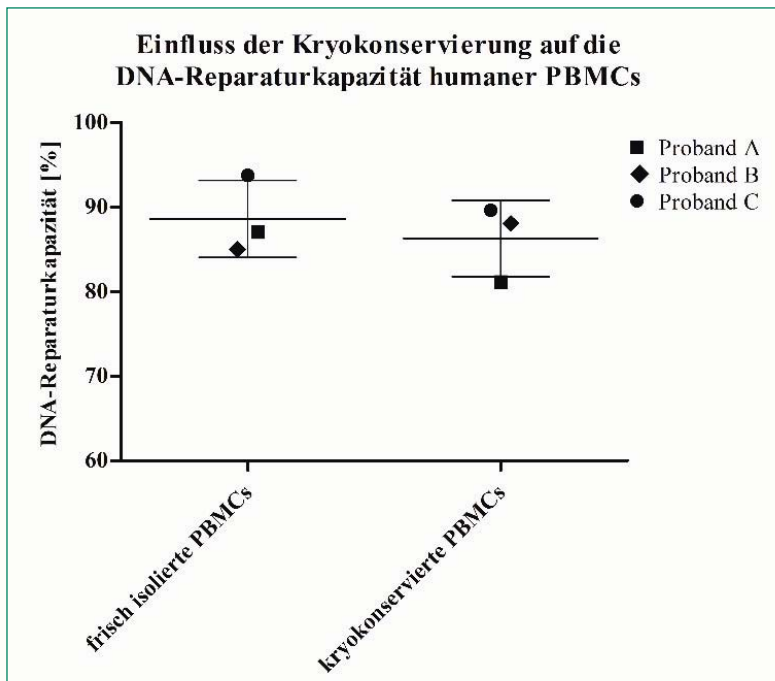


Abb. 6 Einfluss Kryokonservierung auf die die DNA-Reparaturkapazität humaner PBMCs. Es ist kein signifikanter Unterschied zwischen der DNA-Reparaturkapazität frisch isolierter PBMCs und der DNA-Reparaturkapazität kryokonservierter PBMCs erkennbar [Weber 2015].

Eine dieser wenigen Studien befasst sich beispielsweise mit dem überdurchschnittlich hohen Anteil an über 100-Jährigen auf der japanischen Insel Okinawa und schreibt dieses Phänomen der lebenslangen niedrigen Kalorienaufnahme der Menschen zu [Kagawa, 1978]. Keine dieser Studien erforschte die Auswirkung von Kalorienreduktion auf die DNA-Reparatur mit einem funktionellen Assay wie dem HCRA. Genau dies war im Fokus der hier präsentierten Studien zum systemischen Einfluss der Kalorienreduktion auf die DNA-Reparaturkapazität humaner PBMCs. Interessanterweise gibt es interindividuelle Unterschiede hinsichtlich der DNA-Reparaturfähigkeit vor der Vorkur. Diese wurde schon in anderen Studien beschrieben. Bykov et al. fanden heraus, dass es interindividuelle Schwankungen der Effizienz der DNA-Reparatur um den Faktor 20 gibt [Bykov et al., 1999]. Um Schwankungen bei der Durchführung des hier etablierten Assays zu minimieren, wurde für die Studien 2014 und 2015 dieselbe Plasmid-Lösung verwendet. So konnte gezeigt werden, dass mittels modifiziertem HCRA verlässliche und reproduzierbare Untersuchungen der DNA-Reparatur humaner PBMCs in ex vivo Ansätzen möglich ist. Für die Untersuchung der Auswirkungen einer Kalorienreduktion wurde zwei Studien durchgeführt, die acht und 18 Probanden involvierten. Bei beiden Studien konnte bei der Hälfte der Probanden eine signifikante Steigerung der DNA-Reparaturkapazität zum achten Tag der Kalorienreduktion, sowie zum Messzeitpunkt während der Nachkur nachgewiesen wer-

den. Hierbei wurde das Niveau der Reparaturkapazität der Probanden mit niedriger DNA-Reparatur vor der Vorkur auf ein normales Niveau angehoben, das vergleichbar mit dem der Probanden mit normaler Reparatur (85% bis 90%) war. In keiner unserer Messungen war eine DNA-Reparaturkapazität höher als 90% zu verzeichnen. Dies kann bedeuten, dass die obere Detektionsgrenze des Assays erreicht ist und sich die Reparaturkapazitätswerte von Personen mit normaler DNA-Reparatur an dieser oberen Grenze befinden. Es gab bereits eine Studie zum Einfluss einer Ernährungsintervention auf die Nukleotidexzisionsreparatur humaner Lymphozyten [Langie et al. 2010], allerdings sind die hier vorgestellten Studien unseres Wissens die ersten, die einen Einfluss von Kalorienreduktion auf die DNA-Reparaturfähigkeit in Menschen mit einem funktionellen ex vivo Assay nachwiesen. Seit einiger Zeit wird der Zusammenhang von Fasten und Chemotherapie untersucht [Safdie et al. 2009], da Krebs eine häufig auftretende altersbedingte Erkrankung ist, gegen die Fasten/Kalorienrestriktion möglicherweise vorbeugend wirken kann. Studien mit Mäusen, Hefen und Krebszelllinien zeigten, dass kurzzeitiges Fasten vor einer Chemotherapie die Effektivität der Therapie vermutlich durch eine Fasten-induzierte niedrige Glucosekonzentration und eine gleichzeitige Abhängigkeit der Krebszellen von Glucose steigert [Lee et al., 2012; Raffaghello et al., 2008]. Bei Menschen berichteten fastende Patienten über weniger und schwächere Nebenwirkungen der Chemotherapie [Safdie et al., 2009]. Die Akkumulation von DNA-Schäden wird als erster Schritt der Krebsentstehung angesehen [Hanahan and Weinberg, 2000]. Eine Stimulierung der zelleigenen Reparaturkapazität in Personen mit verminderter DNA-Reparaturfähigkeit könnte sowohl die Entstehung von Krebserkrankungen, als auch deren Verlauf/Therapie positiv beeinflussen. Es sind verschiedene Mechanismen, die zu den positiven Effekten der Kalorienreduktion auf die Gesundheit und das Altern, wie beispielsweise die Reduktion von Entzündungsvorgängen, eine Verringerung der IGF-1 Konzentration im Blut oder auch eine gesteigerte Insulinsensitivität [zusammengefasst in Longo and Fontana, 2010 und Ribarič, 2012] führen. Es ist zudem bekannt, dass Kalorienrestriktion oxidativen Stress verringert und dass oxidativer Stress die Genexpression von Genen, die für die Nukleotidexzisionsreparatur verantwortlich sind, verändern kann, genauer gesagt, dass oxidativer Stress zu einer verringerten Nukleotidexzisionsreparatur führen kann [Langie et al., 2007]. Diese Erkenntnisse zeigen einen Mechanismus auf, der den im Rahmen der Studien 2014 und 2015 gewonnenen Ergebnissen zugrunde liegen könnte: bei Probanden mit niedriger DNA-Reparaturkapazität vor der Vorkur ist die Steigerung der Reparaturkapazität auf eine Reduktion des oxidativen Stresses zurückzuführen, die wiederum durch

die Kalorienreduktion erreicht werden konnte. Die vorgestellten Studien bilden den Grundstein für weitere Studien rund um Kalorienreduktion und DNA-Reparatur. Um die zugrundeliegenden Mechanismen umfassender aufzuklären, müssen aber weitere Studien mit humanen Probanden und einer größeren Anzahl Biomarker (z.B. Messung des oxidativen Stresses, Untersuchung der mitochondrialen Funktion, Genexpression von DNA-Reparatur-assoziierten Genen) durchgeführt werden. Um eine breitdiagnostische Anwendung des modifizierten HCRA gewährleisten zu können, muss zudem die Problematik der Probenstabilität gelöst werden. Erste Versuche zur Kryokonservierung humaner PBMCs haben gezeigt, dass es hinsichtlich der DNA-Reparaturkapazität keinen signifikanten Unterschied zwischen kryokonservierten und frisch isolierten PBMCs gibt. Die Kryokonservierung stellt folglich eine vielversprechende Methode zur Erweiterung des Zeitfensters für die Untersuchungen zur DNA-Reparaturkapazität dar, allerdings muss überprüft werden, ob andere Tests (z.B. Genexpressionsanalysen) zum selben Ergebnis kommen. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die hier präsentierten Ergebnisse, die mittels funktionellem ex vivo Assay gewonnen wurden, einen ersten Beweis für einen Einfluss von Kalorienreduktion auf die Nukleotidexzisionsreparatur im Menschen darstellen, wenngleich noch nicht abschließend geklärt ist, ob allein die Kalorienreduktion oder weitere Faktoren im Einzelnen oder im Verbund für die erzielten Veränderungen der DNA-Reparaturkapazität verantwortlich sind. Es muss nun untersucht werden, ob auch andere Arten der Kalorienreduktion wie beispielsweise klassisches Heilfasten oder intermittierendes Fasten denselben positiven Effekt auf die DNA-Reparaturkapazität haben.

Katja Matt, Katharina Burger, Daniel Gebhard,
Jörg Bergemann
Anton-Günther-Straße 51
72488 Sigmaringen | Deutschland

Karin Rupprecht
In den Burgwiesen 3
72488 Sigmaringen | Deutschland

Literatur

- Athas, W.F., Hedayati, M.A., Matanoski, G.M., Farmer, E.R., Grossman, L., 1991. Development and field-test validation of an assay for DNA repair in circulating human lymphocytes. *Cancer Res.* 51 (21), 5786–5793
- Burger, K., Kieser, N., Gallinat, S., Mielke, H., Knott, S., Bergemann, J., 2007. The influence of folic acid depletion on the Nucleotide Excision Repair capacity of human dermal fibroblasts measured by a modified Host Cell Reactivation Assay. *Biofactors* 31 (3-4), 181–190
- Burger, K., Matt, K., Kieser, N., Gebhard, D., Bergemann, J., 2010. A modified fluorimetric host cell reactivation assay to determine the repair capacity of primary keratinocytes, melanocytes and fibroblasts. *BMC Biotechnol.* 10, 46. 10.1186/1472-6750-10-46
- Bykov, V.J., Sheehan, J.M., Hemminki, K., Young, A.R., 1999. In situ repair of cyclobutane pyrimidine dimers and 6-4 photoproducts in human skin exposed to solar simulating radiation. *The Journal of investigative dermatology* 112 (3), 326–331. 10.1046/j.1523-1747.1999.00523.x
- Cabelof, D.C., Yanamadala, S., Raffoul, J.J., Guo, Z., Soofi, A., Heydari, A.R., 2003. Caloric restriction promotes genomic stability by induction of base excision repair and reversal of its age-related decline. *DNA Repair (Amst.)* 2 (3), 295–307
- Colman, R.J., Beasley, T.M., Kemnitz, J.W., Johnson, S.C., Weindruch, R., Anderson, R.M., 2014. Caloric restriction reduces age-related and all-cause mortality in rhesus monkeys *Nature communications* 5, 3557. 10.1038/ncomms4557

Produkte für die orthomolekulare Praxis

- Vitamine
- Mineralstoffe
- Enzyme
- Aminosäuren
- Fettsäuren
- Phytonutrienten
- Präbiotika
- Probiotika
- Kräuter

Tel (+31) 77 396 9161 | info@deltastar.nl | www.deltastar.nl

deltastar
NÄHRSTOFFE FÜR IHRE GESUNDHEIT



- Fontana, L., Klein, S., Holloszy, J.O., Premachandra, B.N., 2006. Effect of long-term calorie restriction with adequate protein and micronutrients on thyroid hormones. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 91 (8), 3232–3235. 10.1210/jc.2006-0328
- Fontana, L., Meyer, T.E., Klein, S., Holloszy, J.O., 2004. Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 101 (17), 6659–6663. 10.1073/pnas.0308291101
- Hall, K.Y., Hart, R.W., Benirschke, A.K., Walford, R.L., 1984. Correlation between ultraviolet-induced DNA repair in primate lymphocytes and fibroblasts and species maximum achievable life span. *Mechanisms of ageing and development* 24 (2), 163–173
- Hanahan, D., Weinberg, R.A., 2000. The hallmarks of cancer. *Cell* 100 (1), 57–70
- Hart, R.W., Setlow, R.B., 1974. Correlation between deoxyribonucleic acid excision-repair and life-span in a number of mammalian species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 71 (6), 2169–2173
- Kagawa, Y., 1978. Impact of Westernization on the nutrition of Japanese: changes in physique, cancer, longevity and centenarians. *Preventive medicine* 7 (2), 205–217
- Langie, S.A.S., Knaapen, A.M., Brauers, K.J.J., van Berlo, D., van Schooten, F.-J., Godschalk, R.W.L., 2006. Development and validation of a modified comet assay to phenotypically assess nucleotide excision repair. *Mutagenesis* 21 (2), 153–158. 10.1093/mutage/gel013
- Langie, S.A.S., Knaapen, A.M., Houben, Joyce M.J., van Kempen, F.C., de Hoon, Joep P.J., Gottschalk, R.W.H., Godschalk, R.W.L., van Schooten, F.J., 2007. The role of glutathione in the regulation of nucleotide excision repair during oxidative stress. *Toxicology letters* 168 (3), 302–309. 10.1016/j.toxlet.2006.10.027
- Langie, S.A.S., Wilms, L.C., Hämäläinen, S., Kleinjans, J.C.S., Godschalk, R.W.L., van Schooten, F.J., 2010. Modulation of nucleotide excision repair in human lymphocytes by genetic and dietary factors. *Br. J. Nutr.* 103 (4), 490–501. 10.1017/S0007114509992066
- Lee, C., Raffaghello, L., Brandhorst, S., Safdie, F.M., Bianchi, G., Martin-Montalvo, A., Pistoia, V., Wei, M., Hwang, S., Merlino, A., Emionite, L., Cabo, R. de, Longo, V.D., 2012. Fasting cycles retard growth of tumors and sensitize a range of cancer cell types to chemotherapy (124). 10.1126/scitranslmed.3003293
- Licastro, F., Weindruch, R., Davis, L.J., Walford, R.L., 1988. Effect of dietary restriction upon the age-associated decline of lymphocyte dna-repair activity in mice (11)
- Longo, V.D., Fontana, L., 2010. Calorie restriction and cancer prevention: metabolic and molecular mechanisms (2). 10.1016/j.tips.2009.11.004
- Matt, K., Burger, K., Gebhard, D., Bergemann, B., 2016. Influence of calorie reduction on DNA repair capacity of human peripheral blood mononuclear cells. *Mech Ageing Dev. Mar*;154:24-9
- McCay, C.M., Crowell, M.F., Maynard, L.A., 1989. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. 1935. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 5 (3), 155-71; discussion 172
- Protić-Sabljić, M., Whyte, D., Fagan, J., Howard, B.H., Gorman, C.M., Padmanabhan, R., Kraemer, K.H., 1985. Quantification of expression of linked cloned genes in a simian virus 40-transformed xeroderma pigmentosum cell line. *Molecular and cellular biology* 5 (7), 1685–1693
- Qiu, X., Brown, K., Hirschev, M.D., Verdin, E., Chen, D., 2010. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metab.* 12 (6), 662–667. 10.1016/j.cmet.2010.11.015
- Racette, S.B., Weiss, E.P., Villareal, D.T., Arif, H., Steger-May, K., Schechtman, K.B., Fontana, L., Klein, S., Holloszy, J.O., 2006. One year of caloric restriction in humans: feasibility and effects on body composition and abdominal adipose tissue. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 61 (9), 943–950
- Raffaghello, L., Lee, C., Safdie, F.M., Wei, M., Madia, F., Bianchi, G., Longo, V.D., 2008. Starvation-dependent differential stress resistance protects normal but not cancer cells against high-dose chemotherapy (24)
- Ribarič, S., 2012. Diet and aging. *Oxid Med Cell Longev* 2012, 741468. 10.1155/2012/741468
- Roguev, A., Russev, G., 2000. Two-wavelength fluorescence assay for DNA repair. *Analytical biochemistry* 287 (2), 313–318. 10.1006/abio.2000.4865
- Roth, G.S., Ingram, D.K., Lane, M.A., 2001. Caloric restriction in primates and relevance to humans. *Ann. N. Y. Acad. Sci* 928, 305–315
- Safdie, F.M., Dorff, T., Quinn, D., Fontana, L., Wei, M., Lee, C., Cohen, P., Longo, V.D., 2009. Fasting and cancer treatment in humans: A case series report (12)
- Smith, D.L., McClure, J.M., Matecic, M., Smith, J.S., 2007. Calorie restriction extends the chronological lifespan of *Saccharomyces cerevisiae* independently of the Sirtuins. *Aging cell* 6 (5), 649–662. 10.1111/j.1474-9726.2007.00326.x
- Stuart, J.A., Karahalil, B., Hogue, B.A., Souza-Pinto, N.C., Bohr, V.A., 2004. Mitochondrial and nuclear DNA base excision repair are affected differently by caloric restriction. *FASEB J* 18 (3), 595–597. 10.1096/fj.03-0890fje
- Walford, R.L., Mock, D., Verdery, R., MacCallum, T., 2002. Calorie restriction in biosphere 2: alterations in physiologic, hematologic, hormonal, and biochemical parameters in humans restricted for a 2-year period. *J. Gerontol. A Biol. Med. Sci* 57 (6), B211-24
- Weber, M., 2015. Optimierung des Host Cell Reactivation Assays zur Ermittlung der DNA-Reparaturkapazität bei humanen peripheren mononukleären Blutzellen. Bachelor Thesis an der Hochschule Albstadt-Sigmaringen
- Weindruch, R., 2003. Caloric restriction: life span extension and retardation of brain aging. *Clinical Neuroscience Research* 2 (5-6), 279–284. 10.1016/S1566-2772(03)00004-5
- Weraarchakul, N., Strong, R., Wood, W., Richardson, A., 1989. The effect of aging and dietary restriction on DNA repair (1). 10.1016/0014-4827(89)90193-6
- Witasek, A., 1999. Diagnostik und Therapie nach Dr. F. X. Mayr. *Forschende Komplementärmedizin* 6 (1), 45–46