



Universität Potsdam

DifE Deutsches Institut
für Ernährungsforschung
Potsdam-Rehbrücke

Vergleich anti-inflammatorischer Ernährungsstrategien auf Inflammation und Muskelfunktion bei älteren Erwachsenen

Kumulative Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

"doctor rerum naturalium" (Dr. rer. nat.)

in der Wissenschaftsdisziplin "Physiologie und Pathophysiologie"

angefertigt am

Deutsches Institut für Ernährungsforschung (DifE) Potsdam-Rehbrücke

Abteilung Ernährung und Gerontologie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

Institut für Ernährungswissenschaften

Universität Potsdam

vorgelegt von

Ulrike Haß

Potsdam, den 08.03.2023

Disputation: 31.08.2023

Soweit nicht anders gekennzeichnet, ist dieses Werk unter einem Creative-Commons-Lizenzvertrag Namensnennung 4.0 lizenziert. Dies gilt nicht für Zitate und Werke, die aufgrund einer anderen Erlaubnis genutzt werden. Um die Bedingungen der Lizenz einzusehen, folgen Sie bitte dem Hyperlink:
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.de>

Betreuung

Hauptbetreuung: Prof. Dr. Kristina Norman
Zweitbetreuung: PD Dr. Olga Ramich

Gutachten

Prof. Dr. Kristina Norman
Prof. Dr. Andreas F. H. Pfeiffer
Prof. Dr. Ursula Müller-Werdan

Online veröffentlicht auf dem
Publikationsserver der Universität Potsdam:
<https://doi.org/10.25932/publishup-61197>
<https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:kobv:517-opus4-611976>

Für Oma.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis.....	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
Zusammenfassung.....	V
Abstract	VII
Einleitung	1
Muskelaltern im Kontext des Inflammaging	1
Morphologische Veränderungen auf Muskelfaserebene	3
Bedeutung der Muskelfunktion in einer alternden Gesellschaft.....	5
Muskelkraft- und Muskelfunktionsmessungen in der Gerontologie	6
Vibrationstraining zur Steigerung der Muskelleistung als funktioneller Outcome	7
Altersgemäßes Bewegungsangebot zur Förderung der Muskelgesundheit	8
Anabole Resistenz und Proteinbedarf im Alter	10
Anti-inflammatorische Ernährung mit Fokus auf Omega-3-Fettsäuren.....	11
Fragestellungen und Ziele der Arbeit.....	14
Publikationen	17
Dietary Inflammatory Index and Cross-Sectional Associations with Inflammation, Muscle Mass and Function in Healthy Old Adults.....	18
Effects of an Omega-3 Supplemented, High-Protein Diet in Combination with Vibration and Resistance Exercise on Muscle Power and Inflammation in Old Adults: A Pilot Randomized Controlled Trial.	27
Effects of Exercise and Omega-3-Supplemented, High-Protein Diet on Inflammatory Markers in Serum, on Gene Expression Levels in PBMC, and after Ex Vivo Whole-Blood LPS Stimulation in Old Adults.	45
Diskussion.....	66
Zusammenhänge zwischen dem ernährungsbedingten Inflammationspotenzial und dem Inflammationsprofil bei älteren Erwachsenen.....	66
Assoziationen einer potenziell anti-inflammatorischen Ernährung mit Muskelmasse, -kraft und -funktion bei älteren Erwachsenen	68
Antizipierte Effekte einer proteinreichen Ernährung auf Muskelkraft und Muskelfunktion bei älteren Erwachsenen.....	69

Anaboles Potenzial einer mit Omega-3-Fettsäuren supplementierten, proteinreichen Ernährung auf die Muskelfunktion bei älteren Erwachsenen ...	71
Einfluss einer anti-inflammatorischen Ernährung auf das Entzündungsgeschehen und die inflammatorische Response bei älteren Erwachsenen.....	74
Auswirkungen einer altersgemäßen Sportintervention auf Muskelfunktion und Inflammation bei älteren Erwachsenen	78
Geschlechtergetrennte Analysen.....	81
Stärken und Limitierungen	83
Ausblick	86
Fazit.....	87
Literaturverzeichnis	89
Anhang	IX
Lebenslauf.....	X
Wissenschaftliche Beiträge	XI
Kongressbeiträge.....	XII
Danksagung	XIV
Eidesstattliche Erklärung.....	XV

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Aufbau einer motorischen Einheit bestehend aus einer muskelinnervierenden Nervenfaser (α -Motoneuron) und den ihrerseits innervierten Muskelfasern (eigene Darstellung).....	4
Abb. 2 Schematische Darstellung des Vibrationstrainings und der Frequenzbereiche (Hz), die (un-) willentliche Muskelkontraktionen auslösen (eigene Darstellung, modifiziert nach ©Novotec Medical GmbH).....	8
Abb. 3 45 nahrungsbezogene Parameter inkl. des inflammatorischen Potenzials zur Kalkulation des Dietary Inflammatory Index (eigene Darstellung, modifiziert nach Haß et al. 2021 [79]).	12
Abb. 4 Potenzielle Zusammenhänge zwischen dem Muskelstatus, der Ernährung und dem Entzündungsgeschehen bei gesunden älteren Erwachsenen weisen noch Klärungsbedarf auf (eigene Darstellung).....	14
Abb. 5 Schematischer Ablauf der explorativen, randomisiert kontrollierten AIDA-Pilotinterventionsstudie (eigene Darstellung).....	16
Abb. 6 Zusammenfassende Übersicht zu den Ergebnissen aus der AIDA-Studie (eigene Darstellung modifiziert nach Haß et al. 2022 [130]).	73

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Grenzwerte von etablierten gerontologischen und geriatrischen Muskelkraft- und Muskelfunktionstests zur Feststellung einer Sarkopenie nach EWGSOP2-Kriterien (aus Cruz-Jentoft et al. 2018 [25]).	6
--	---

Abkürzungsverzeichnis

ALA	α -Linolensäure
CCL-2	CC-Chemokinligand-2
CRP	C-reaktives Protein
CRT	Chair Rise Test
DAMP	Damage-associated Molecular Pattern
DII	Dietary Inflammatory Index
DPA	Docosahexaensäure
EPA	Eicosapentaensäure
FFQ	Food Frequency Questionnaire
Health ABC	Health, Aging, and Body Composition Studie
HMGB-1	High-mobility Group-box Protein-1
IGF	Insulin-like Growth Factor
IGFBP-3	IGF-bindendes Protein-3
IL	Interleukin
InCHIANTI	Invecchiare in Chianti Studie
IQR	Interquartilbereich
KG	Körpergewicht
LPS	Lipopolysaccharide
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
MuRF-1	Muscle RING-finger Protein-1
MyHC	Myosin Heavy Chain
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
Omega-3	Omega-3-Fettsäuren
p70S6K	Ribosomale Protein-S6-Kinase beta-1
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
SarcoPhAge	Sarcopenia and Physical impairment with advancing Age Studie
SASP	Seneszenz-assoziiertes sekretorischer Phänotyp
TNF-α	Tumornekrosefaktor alpha
UPS	Ubiquitin-Proteasom-System

Zusammenfassung

Mit dem Alter kann eine Zunahme leichtgradiger Entzündungsprozesse beobachtet werden, von denen angenommen wird, dass sie den typischen, altersbedingten Verlust an Muskelmasse, -kraft und -funktion „befeuern“. Diese als Inflammaging bezeichneten Prozesse können auf ein komplexes Zusammenspiel aus einem dysfunktionalen (viszeralem) Fettgewebe, einer Dysbiose und damit einhergehender mikrobieller Translokation und geringerer Abwehrfähigkeit sowie einer insgesamt zunehmenden Immunseneszenz zurückgeführt werden. In Summa begünstigt ein pro-inflammatorisches Milieu metabolische Störungen und chronische, altersassoziierte Erkrankungen, die das Entzündungsgeschehen aufrechterhalten oder vorantreiben. Neben einem essenziellen Bewegungsmangel trägt auch eine westlich geprägte, industrialisierte Ernährungsweise zum Entzündungsgeschehen und zur Entwicklung chronischer Erkrankungen bei. Daher liegt die Vermutung nahe, dem Entzündungsgeschehen mit ausreichend Bewegung und einer anti-inflammatorischen Ernährung entgegenzuwirken. In dieser Hinsicht werden insbesondere Omega-3-Fettsäuren (Omega-3) mit anti-inflammatorischen Eigenschaften verbunden. Obwohl ein Zusammenhang zwischen dem ernährungsbedingten Inflammationspotenzial bzw. der Zufuhr von Omega-3 und dem Inflammationsprofil bereits untersucht wurde, fehlen bislang Untersuchungen insbesondere bei älteren Erwachsenen, die den Link zwischen dem Inflammationspotenzial der Ernährung und Sarkopenie-relevanten Muskelparametern herstellen.

Aufgrund des Proteinmehrbedarfs zum Erhalt der funktionellen Muskulatur im Alter wurde bereits eine Vielzahl an Sport- und Ernährungsinterventionen durchgeführt, die eine Verbesserung des Muskelstatus mit Hilfe von strukturiertem Krafttraining und einer proteinreichen Ernährung zeigen. Es gibt zudem Hinweise, dass Omega-3 auch die Proteinsynthese verstärken könnten. Unklar ist jedoch, inwiefern eine anti-inflammatorische Ernährung mit Fokus auf Omega-3 sowohl die Entzündungsprozesse als auch den Muskelproteinmetabolismus und die neuromuskuläre Funktionalität im Alter günstig unterstützen kann. Dies vor allem im Hinblick auf die Muskelleistung, die eng mit der Sturzneigung und der Autonomie im Alltag verknüpft ist, aber in Interventionsstudien mit älteren Erwachsenen bisher wenig Berücksichtigung erhielt. Darüber hinaus werden häufig progressive Trainingselemente genutzt, die nach Studienabschluss oftmals wenig Anschluss im Lebensalltag der Betroffenen finden und somit wenig nachhaltig sind.

Ziel dieser Arbeit war demnach die Evaluierung einer proteinreichen und zusätzlich mit Omega-3 supplementierten Ernährung in Kombination mit einem wöchentlichen Vibrationstraining und altersgemäßen Bewegungsprogramm auf Inflammation und neuromuskuläre Funktion bei älteren, selbständig lebenden Erwachsenen.

Hierzu wurden zunächst mögliche Zusammenhänge zwischen dem ernährungsbedingten Inflammationspotenzial, ermittelt anhand des Dietary Inflammatory Index, und dem Muskelstatus sowie dem Inflammationsprofil im Alter eruiert. Dazu dienten die Ausgangswerte von älteren, selbständig lebenden Erwachsenen einer postprandialen Interventionsstudie (POST-Studie), die im Querschnitt analysiert wurden. Die Ergebnisse bestätigten, dass eine pro-inflammatorische Ernährung sich einerseits in einem stärkeren Entzündungsgeschehen widerspiegelt und andererseits mit Sarkopenie-relevanten Parametern, wie einer geringeren Muskelmasse und Gehgeschwindigkeit, ungünstig assoziiert ist. Darüber hinaus zeigten sich diese Zusammenhänge auch in Bezug auf die Handgreifkraft bei den inaktiven, älteren Erwachsenen der Studie.

Anschließend wurde in einer explorativ ausgerichteten Pilot-Interventionsstudie (AIDA-Studie) in einem dreiarmligen Design untersucht, inwieweit sich eine Supplementierung mit Omega-3 unter Voraussetzung einer optimierten Proteinzufuhr und altersgemäßen Sportintervention mit Vibrationstraining auf die neuromuskuläre Funktion und Inflammation bei selbständig lebenden, älteren Erwachsenen auswirkt. Nach acht Wochen Intervention zeigte sich, dass eine mit Omega-3 supplementierte, proteinreiche Ernährung die Muskelleistung insbesondere bei den älteren Männern steigerte. Während sich die Kontrollgruppe nach acht Wochen Sportintervention nicht verbesserte, bestätigte sich zusätzlich eine Verbesserung der Beinkraft und der Testzeit beim Stuhl-Aufsteh-Test der älteren Erwachsenen mit einer proteinreichen Ernährung in Kombination mit der Sportintervention.

Darüber hinaus wurde deutlich, dass die zusätzliche Omega-3-Supplementierung insbesondere bei den Männern eine Reduktion der pro-inflammatorischen Zytokine im Serum zur Folge hatte. Allerdings spiegelten sich diese Beobachtungen nicht auf Genexpressionsebene in mononukleären Immunzellen oder in der LPS-induzierten Sekretion der Zytokine und Chemokine in Vollblutzellkulturen wider. Dies erfordert weitere Untersuchungen.

Abstract

With aging, a persistent low-grade inflammatory process can be observed, which is thought to "fuel" the typical age-related loss of muscle mass, strength and function. These processes, also known as inflammaging, can be attributed to a complex interplay of dysfunctional (visceral) adipose tissue, dysbiosis and associated microbial translocation, with a reduced immune defence and overall increasing immunosenescence. This pro-inflammatory milieu favours metabolic disorders and chronic, age-associated diseases, which in turn maintain or increase the inflammatory process. Additionally, inactivity and a westernized diet contribute to inflammation and the development of chronic diseases. Therefore, it is assumed that regular exercise and an anti-inflammatory diet can counteract inflammaging. In particular, omega-3 fatty acids (omega-3) are known for their anti-inflammatory properties. Although it has been shown that the dietary inflammatory load as well as the intake of omega-3 is associated with inflammation, studies that establish the link between the diet-related inflammatory load and sarcopenia-relevant muscle parameters are still lacking, especially in older adults.

Due to the higher protein requirement to maintain muscle function in higher age, exercise and nutritional interventions have been extensively studied and consistently show improvements in muscle status with resistance exercise and high-protein diets. Experimental investigations indicate that omega-3 may also support protein synthesis. However, it is unclear to what extent an anti-inflammatory diet with focus on omega-3 can support the inflammatory processes as well as muscle protein metabolism and neuromuscular function in higher age. In particular muscle power, which is a key element of functionality and strongly related with fall risk, received little attention in interventional studies with older adults so far. In addition, exercise studies often use elements of progressive resistance training protocols, which, however, are seldom sustained by the participants in everyday life after intervention. Therefore, the aim of this work was to evaluate a high-protein diet supplemented with omega-3 in combination with an age-appropriate, home-based resistance exercise program and weekly vibration training on inflammation and neuromuscular function in community-dwelling older adults.

For this purpose, cross-sectional associations between the diet-related inflammatory load, as determined by the Dietary Inflammatory Index, and muscle status as well as inflammation were investigated by baseline values of community-

dwelling older adults, who participated in a postprandial intervention study (POST study). This cross-sectional analysis confirmed that a pro-inflammatory diet was reflected in a higher systemic inflammation and at the same time was associated with unfavourable sarcopenia-relevant parameters such as lower muscle mass and slower gait speed. In addition, a higher dietary inflammatory load and higher inflammation were both found to be associated with lower hand grip strength in inactive, older adults.

Subsequently, the effects of an omega-3 supplemented, high-protein diet in combination with age-appropriate resistance exercises and weekly vibration training on neuromuscular function and inflammation were examined in community-dwelling older adults. For this purpose, an 8-week exploratory pilot trial in a three-arm study design (AIDA study) was carried out. It was shown that a high-protein diet, additionally supplemented with omega-3 increased muscle power particularly in older men. While the control group did not improve after eight weeks of exercise intervention, there was an improvement in leg strength and chair rise time in older adults receiving a high-protein diet combined with the exercise intervention.

Moreover, an additional omega-3 supplementation resulted in a reduction of circulating pro-inflammatory cytokines in particular in older men. However, these observations in serum were not reflected on gene expression levels in mononuclear immune cells or in lipopolysaccharide-induced secretion of the cytokines and chemokines in whole blood cultures and requires further investigation.

Einleitung

Die allgemeine Lebenserwartung ist im Verlauf der Jahre gestiegen und lag ab Geburt in Deutschland laut Hochrechnungen im Jahr 2021 bei 83,4 Jahren für die Mädchen und 78,6 Jahren für die Jungen [1]. Der Anteil der über 65-Jährigen in Deutschland ist laut des statistischen Bundesamtes inzwischen auf 22 % angestiegen und wird erwartungsgemäß weiter ansteigen. Obwohl u. a. technische Errungenschaften, bessere hygienische Bedingungen und Entwicklungen in der medizinischen Versorgung hierzu beitragen, ist eine längere Lebenserwartung nicht zwangsläufig gleichbedeutend mit einer besseren Gesundheit.

Alternsprozesse können sowohl auf molekularer, zellulärer, physiologischer als auch funktioneller Ebene beobachtet werden, die sich gegenseitig bedingen und beeinflussen. Auf molekularer Ebene ist das Altern bspw. gekennzeichnet durch Telomerverkürzungen, Genominstabilität, Stammzellerschöpfung oder Verminderung der Proteostase [2]. Wirken sich diese Prozesse auch auf zellulärer Ebene aus, so werden u. a. Zellseneszenz und mitochondriale Dysfunktionen begünstigt. Diese beeinflussen wiederum die physiologischen Prozesse ungünstig und können sich langfristig negativ auf funktioneller Ebene niederschlagen [2]. Neben diesen endogenen Faktoren fördern zusätzlich exogene Faktoren wie Rauchen, übermäßiger Alkoholkonsum, Mangel an Bewegung oder Fehlernährung die Entstehung von chronischen und altersassoziierten Erkrankungen, die sich nachhaltig auf das kardiovaskuläre System, den Metabolismus, den Bewegungsapparat, etc. auswirken.

In Anbetracht des voranschreitenden demografischen Wandels, liegt der Fokus zunehmend auf der Förderung des *Healthy* bzw. *Active Aging*. Abweichend vom reaktiven Krankheitsmanagement, soll demnach das Eintreten von chronisch degenerativen Erkrankungen möglichst lange hinausgezögert werden, um so die Gesundheitsspanne proportional zur Lebensspanne zu verlängern [3]. Denn schließlich ist nicht ein langes Leben per se, sondern vielmehr die Lebensdauer in Gesundheit mitentscheidend für ein zufriedenes, selbstbestimmtes Leben. Unter anderem der Erhalt der Muskulatur und der Funktionsfähigkeit wird in dieser Hinsicht als relevant erachtet [4, 5].

Muskelaltern im Kontext des Inflammaging

Unter physiologischen Bedingungen sind Entzündungsprozesse wünschenswerte und selbstlimitierende Reaktionen auf Gewebeschäden oder Infektionen, um

Krankheitserreger zu eliminieren, die Zellreparatur zu fördern und homöostatische Bedingungen wiederherzustellen [6]. Mit steigendem Lebensalter können jedoch leichtgradige, persistierende Entzündungsprozesse beobachtet werden, die sich langfristig negativ auf die Zellfunktionen auswirken und zu multifaktoriell- und altersbedingten Erkrankungen wie der Skelettmuskelatrophie beitragen [7, 8]. Dieser als „*Inflammaging*“ bezeichnete Alternsprozess wird dabei nicht als rein pro-inflammatorisches Geschehen beschrieben, sondern als eine Imbalance zwischen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen [9, 10]. Der alternde Organismus verliert demnach seine dynamische Flexibilität, das Inflammationsäquilibrium aufrechtzuerhalten. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind komplex und noch nicht abschließend untersucht. Eine Rolle spielt hierbei die mit dem Alter beobachtete ungünstige Verteilung des Körperfetts und eine zunehmende Dysfunktion der Adipozyten, die mit Veränderungen in der Insulinsensitivität, verringerter Aufnahmekapazität freier Fettsäuren (Lipotoxizität) und ektopischen Lipideinlagerungen in verschiedensten Organen einhergehen [11]. Die unphysiologische Vergrößerung der Adipozyten führt langfristig zur Hypoxie im Fettgewebe, mit in der Folge Zellnekrose und Makrophageninfiltration [12]. Dies ruft zunächst eine lokale Entzündungsreaktion hervor, welche sich jedoch perspektivisch zu einer systemischen Entzündung ausweiten kann [12]. Im dysfunktionalen Fettgewebe akkumulieren zudem seneszente Zellen, die vermehrt pro-inflammatorische Zytokine sezernieren.

Eine weitere Rolle spielt die Immunseneszenz, bei der die adaptiven und regulatorischen Prozesse mit dem Alter abnehmen. Einerseits weisen ältere Erwachsene weniger naive B-Zellen und regulatorische T-Zellen auf, während andererseits die T-Gedächtniszellen eine erhöhte Anzahl aufweisen [6]. Die Abnahme der Immunzellvielfalt erhöht das Versagen der Immunabwehr gegen Krankheitserreger und stimuliert die Entzündungsreaktion, da insbesondere die sich nicht-teilenden, gealterten B-Zellen Zytokine sezernieren können [6, 7].

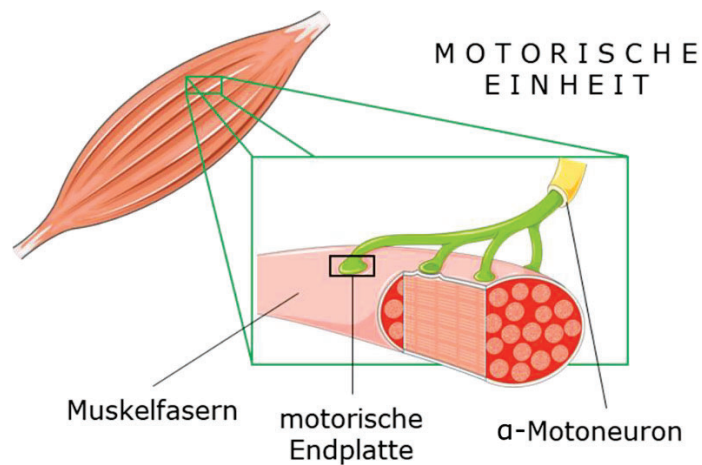
Mitochondriale Defekte führen zu einer erhöhten Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies und zu vermehrtem oxidativen Stress [13]. Hinzu kommt eine gestörte Autophagie und die Akkumulierung von unzureichend beseitigten Zellschäden (sog. Schaden-assoziierte molekulare Muster (Damage-associated Molecular Pattern – DAMP)), die ihrerseits als Alarmine für das Inflammasom fungieren [7, 14]. Ein bekannter Vertreter ist das chromatinbindende Protein High-mobility Group-box Protein-1 (HMGB-1), welches unter normalen Umständen

intrazellulär die Transkription unterstützt, jedoch extrazellulär den DAMP-induzierten Entzündungsprozess verstärkt [15]. Eine altersassoziierte Dysbiose und Veränderungen der Darmmukosa begünstigen darüber hinaus die Translokation von Endotoxinen wie den Lipopolysacchariden (LPS), die ihrerseits systemische Entzündungsreaktionen triggern [14]. Als entscheidende Determinante für das voranschreitende Entzündungsgeschehen werden die seneszenten (Immun-) Zellen angesehen, die große Mengen an Zytokinen und Immunmodulatoren ausschütten (sog. Seneszenz-assoziiertes sekretorischer Phänotyp (SASP)) und dadurch benachbarte Gewebestrukturen und -funktionen stören [6, 8]. Pro-inflammatorische Zytokine, wie in etwa der Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α), Interleukin 6 (IL-6) oder IL-1 β spielen hierbei eine tragende Rolle. Sie sind bekannt dafür, proteolytische Signalwege wie das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) zu aktivieren und gleichzeitig anabol wirkende, insulinähnliche Wachstumsfaktoren (Insulin-like Growth Factor – IGF) zu inhibieren [16]. In dieser Konsequenz zeigte sich in einer älteren Subkohorte der Invecchiare in Chianti Studie (InCHIANTI: n=526; 58 % Frauen 66 \pm 16 Jahre, Männer 65 \pm 15 Jahre) nicht nur, dass eine höhere IL-6-Serumkonzentration negativ mit einer geringeren Handgreifkraft und Muskelleistung assoziiert war, sondern auch, dass die positive Assoziation der IGF-1-Konzentration mit der Handgreifkraft und Muskelleistung abhängig von der IL-6-Konzentration war [17]. Im Rahmen der Framingham Heart Studie (n=558; 78 Jahre (range 72–92); 58 % Frauen) sowie der Health, Aging, and Body Composition Studie (Health ABC: n=2177, 53 % Frauen: 73 \pm 3 Jahre, Männer: 74 \pm 3 Jahre) waren niedrigere IGF-1 Konzentrationen [18] und erhöhte Konzentrationen von IL-6 [18, 19], TNF- α und C-reaktives Protein (CRP) [19] prädiktiv für die Abnahme der Magermasse und Muskelkraft.

Morphologische Veränderungen auf Muskelfaserebene

Strukturell lassen sich Muskelfasern grob einteilen in Myosin Heavy Chain (MyHC) -Fasern des Typ 1 (langsam, ausdauernd; slow-twitch) und Typ 2 (schnell, kraftvoll; fast-twitch). MyHC Typ 1-Fasern sind vor allem bei leichten, repetitiven Bewegungsabläufen beteiligt (z. B. Gehen), während Typ 2-Fasern bei Aufgaben involviert sind, die einen erhöhten Kraftaufwand und eine erhöhte Leistung erfordern. Innerviert werden die Muskelfasern durch α -Motoneurone, mit denen Sie eine motorische Einheit bilden (Abb. 1). Im Vergleich zu MyHC Typ 1-Fasern adaptieren und atrophieren Typ 2-Fasern schneller entsprechend ihrer Reizumgebung [20]. Daher erklärt sich der altersspezifische Kraft- und

Funktionsverlust insbesondere durch einen Rückgang an MyHC Typ 2-Fasern mit einer Verschiebung hin zu einem größeren Anteil an MyHC Typ 1-Fasern [21].



Erstellt mit Hilfe von smart (Servier Medical Art, CC-BY 3.0).

Abb. 1 Aufbau einer motorischen Einheit bestehend aus einer muskelinnervierenden Nervenfasern (α -Motoneuron) und den ihrerseits innervierten Muskelfasern (eigene Darstellung).

Normalerweise ähnelt die Anordnung der Muskelfasern einem Schachbrettmuster [21]. Jedoch kann mit dem Altern eine Fasertypengruppierung beobachtet werden, bei der auch die benachbarten Fasern überwiegend den Typ 1 exprimieren. Dieser Muskelfaserumbau ist auf einen Untergang und eine anschließende Reorganisation der muskelinnervierenden α -Motoneurone zurückzuführen (sog. Denervation-Reinnervationszyklus), wobei die denervierten MyHC Typ 2-Fasern durch die angrenzenden Motoneurone der Typ 1-Fasern re-innerviert werden [20, 21]. Dies bewahrt sie initial vor Apoptose und Atrophie, bedeutet aber langfristig eine Konversion in den langsameren Muskelfaserphänotyp, da die Innervierungsveränderung und die Qualität der synaptischen Verbindung Einfluss auf den Typ und die Genexpression der Muskelfasern nehmen [21, 22]. Ungefähr ein Drittel der Muskelfasern im höheren Alter weisen nicht strikter Weise den Typ 1 oder Typ 2 auf, weshalb sie auch als „mixed fibres“ bezeichnet werden [22].

Zusätzlich zur veränderten Verteilung der Fasertypen wird die Muskelqualität durch eine ektope Fettinfiltration des Muskelgewebes (Myosteatose) negativ beeinflusst, die unabhängig von der subkutanen Fettmasse mit steigendem Lebensalter und Immobilität zunimmt [23]. Übergreifend erklären dieser strukturelle Umbau und die Einschränkungen in der neuromuskulären Funktion einerseits die charakteristischen Kraft- und Funktionsverluste und andererseits weshalb die Atrophie der reinen Muskelmasse nicht vordergründig geschieht [21, 24].

Bedeutung der Muskelfunktion in einer alternden Gesellschaft

Mit zunehmendem Alter nehmen Muskelmasse und -funktion nicht nur sichtbar, sondern auch spürbar ab. Nach dem 50. Lebensjahr ist ein kontinuierlicher Abbau der Muskelmasse (1–2 % p. a.) sowie der Muskelkraft (1,5–5 % p. a.) zu beobachten, welcher ab dem 70. Lebensjahr rapide zunimmt [22, 25]. Im Rahmen eines ausgeprägten Muskelalters kann sich eine Sarkopenie entwickeln, welche den progressiven und generalisierten Verlust an Skelettmuskelmasse und -kraft darstellt, der sich definitionsgemäß auf die Funktionalität auswirkt [25] und zu einer nachweislich höheren Sturz- und Frakturinzidenz im Alter beiträgt [26]. Seit 2016 ist die Sarkopenie daher offiziell als degenerative Muskelerkrankung anerkannt und in das internationale Klassifikationssystem für medizinische Diagnosen aufgenommen worden (ICD-10-GM: M62.5) [27]. Der Sarkopenie wird darüber hinaus eine zentrale Rolle bei der Entstehung des Frailty-Syndroms zugeschrieben [28]. Dieses beschreibt eine erhöhte Vulnerabilität gegenüber gesundheitsbezogenen Stressoren, die aufgrund von multiplen Systembeeinträchtigungen schneller auftritt als das normale Altern [29]. In Summa sorgt die pathologische Muskel- und Funktionsabnahme für eine verzögerte Rekonvaleszenz und erhöht das Risiko für postoperative Komplikationen und Infektionen, einschließlich längeren Krankenhausaufenthalten, sowie einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko, die konsequenterweise auch das Gesundheitssystem finanziell belasten [30-32].

Der morphologische Muskelfaserumbau und neuromuskuläre Funktionsverlust haben zur Folge, dass die Maximalkraft und insbesondere die Muskelleistung (Schnellkraft) signifikant mit dem Alter abnehmen, wobei der Rückgang der Muskelleistung dem Kraft- und Masseverlust messbar vorausgeht [33]. Die Muskelleistung ist essenziell für viele alltägliche Bewegungen [21, 33] und hängt stärker mit den (instrumentellen) Aktivitäten im Alltag zusammen, als die Sarkopenie [34]. Denn die Möglichkeit, sich zu bewegen, beinhaltet die Ausführung von Kraft entlang einer Strecke pro Zeiteinheit. Demzufolge ist nicht die alleinige Muskelkraft, sondern vor allem die Muskelleistung (= Muskelkraft × Kontraktionsgeschwindigkeit) als Schlüsselement der Funktionalität anzusehen [35].

Sofern die Leistungsverluste mit zunehmendem Alter nicht ausreichend kompensiert werden, können sie zu ausgeprägten Mobilitätseinschränkungen

führen [36]. Diese wirken sich bekanntermaßen auf die Autonomie und Pflegebedürftigkeit aus, welche wiederum mit der Lebensqualität verbunden sind [32, 37]. Die Muskelleistung gilt zudem als verlässlicher Prädiktor für die Sturzneigung, da sie für die Ausführung schneller, korrekterer Bewegungen relevant ist. Mit abnehmender Muskelleistung nehmen demnach das Sturzrisiko [38] und in der Folge auch die Sturzangst zu, welche ebenfalls eine Minderung der Lebensqualität nach sich zieht [39].

Muskelkraft- und Muskelfunktionsmessungen in der Gerontologie

Um die Muskelfunktion in ihrer Gesamtheit evaluieren zu können, benötigt es Messungen, welche die Kraft [kg], Geschwindigkeit [m/s] und Leistung [Watt] akkurat widerspiegeln können. Die in der Geriatrie und Gerontologie etablierten Messverfahren umfassen bspw. die Handgreifkraftmessung [40], die Gehgeschwindigkeitsmessung über eine definierte Strecke oder den Stuhl-Aufsteh-Test (Chair Rise Test – CRT) [41], für die bereits diagnostische Grenzwerte hantiert werden Tab. 1.

Tab. 1 Grenzwerte von etablierten gerontologischen und geriatrischen Muskelkraft- und Muskelfunktionstests zur Feststellung einer Sarkopenie nach EWGSOP2-Kriterien (aus Cruz-Jentoft et al. 2018 [25]).

Test	Grenzwert	
	Frauen	Männer
Handgreifkraft	< 16 kg	< 27 kg
Stuhl-Aufsteh-Test	> 15 Sek.	> 15 Sek.
Gehgeschwindigkeit	< 0,8 m/s	< 0,8 m/s

EWGSOP European Working Group on Sarcopenia in Older People.

Insbesondere der Transfer vom Sitz in den Stand gilt als wichtiger neuromuskulärer Risikofaktor für Stürze und sturzbedingte Frakturen [42]. In dieser Hinsicht besitzen die CRTs einen prognostischen Wert bezüglich der individuellen Sturzgefahr bei älteren Erwachsenen [43] und sind mit der Ausübung von Alltagsaktivitäten assoziiert [32]. Traditionell wird bei dem CRT manuell die Zeit gestoppt, die eine Person benötigt, um schnellstmöglich fünfmal nacheinander mit verschränkten Armen von einem Stuhl in den vollen Stand aufzustehen und wieder niederzusetzen [41]. Dabei gilt, je kürzer die Zeit, desto schneller die Testausübung und umso mobiler ist die ausübende Person. Diese analoge Testung ist praktikabel im Klinikalltag, jedoch ist die gemessene Zeit nur begrenzt

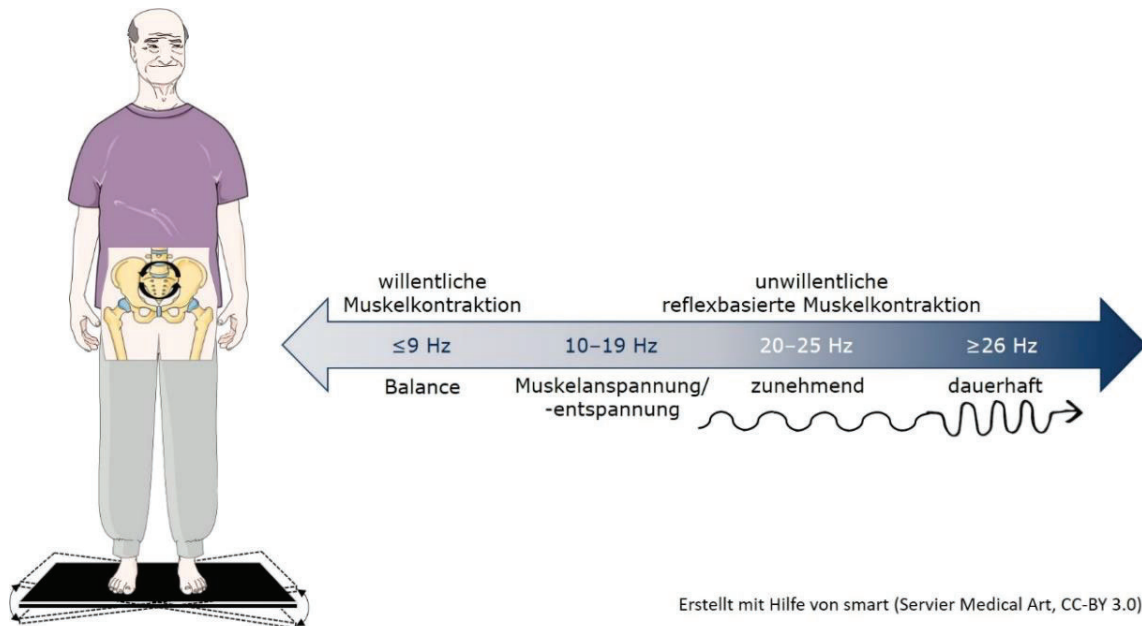
aussagekräftig und bietet insbesondere bei relativ gesunden Älteren wenig Differenzierungsmöglichkeiten (Ceiling Effect) [44]. Im wissenschaftlichen Kontext bietet sich die digitale Erfassung mittels Mechanografie an. Hierbei werden komplette Bewegungsabläufe auf einer bodenseitigen Messplatte ausgeführt und die Muskelfunktion über verschiedene Muskelparameter präzise abgebildet [44]. Durch die verbaute Sensorik in der Messplatte, werden die Spannungsänderungen während der Bewegungsausführung registriert und mittels Software in die erwünschten Parameter umgerechnet [44]. So wird während der Ausübung des CRT nicht allein die CRT-Zeit [s], sondern auch die Muskelleistung [Watt] dargestellt. Durch diese sensible Messtechnik können Veränderungen über die Zeit, insbesondere bei Verlaufsmessungen, präzise detektiert werden.

Vibrationstraining zur Steigerung der Muskelleistung als funktioneller Outcome

Unter Berücksichtigung des frühzeitig einsetzenden Verlustes an Muskelleistung, gilt es eine Trainingsform anzubieten, die explizit die neuromuskulären Defizite anspricht und auch im höheren Lebensalter effizient und sicher ausgeführt werden kann. Während das klassische Krafttraining essenziell für die Förderung der Muskelkraft ist, ist das Vibrationstraining dazu geeignet, die Muskelleistung zu steigern [45]. Im Zuge des Vibrationstrainings auf einer oszillierenden Platte werden die Beine seitenalternierend, ähnlich einer Wippbewegung, auf und ab bewegt (Abb. 2). Durch die sinusförmige Vibration wird eine natürliche Hüftrotation angesprochen, die vom Bewegungsmuster her vergleichbar ist mit dem normalen Gang [46]. Durch die ganzkörperseitige Vibration werden nicht nur einzelne Muskelgruppen angesprochen, sondern gleichzeitig gesamte Muskelketten trainiert und dadurch das intra- und intermuskuläre Zusammenspiel verbessert.

Mechanisch betrachtet bewirkt die Vibration schnelle, kurze Längenänderungen des Muskel-Sehnen-Komplexes (Muskelspindel) wodurch der Dehnreflex ausgelöst wird [47]. Mit steigender Vibrationsfrequenz (Schwingungen pro Sekunde) nehmen die unwillkürlichen Muskelkontraktionen zu (Abb. 2), wobei eine Frequenz von bspw. 20 Hz umgerechnet 20 Muskelkontraktionszyklen pro Sekunde entsprechen [46, 48]. Hierbei bleibt dem Muskel nicht ausreichend Zeit, um zwischen den Kontraktionszyklen vollständig zu relaxieren und steht somit unter kontinuierlicher Anspannung. Der Muskeltonus nimmt mit steigender Frequenz zu (Abb. 2). Die unbewussten und reflexartigen Muskelkontraktionen werden durch

eine kontinuierliche, hochfrequentierte Befehrerung der α -Motoneurone ausgelöst [47]. Folglich werden immer mehr motorische Einheiten rekrutiert [49].



Erstellt mit Hilfe von smart (Servier Medical Art, CC-BY 3.0).

Abb. 2 Schematische Darstellung des Vibrationstrainings und der Frequenzbereiche (Hz), die (un-) willentliche Muskelkontraktionen auslösen (eigene Darstellung, modifiziert nach ©Novotec Medical GmbH).

Die günstigen neuromuskulären Veränderungen, die mit dem Vibrationstraining einhergehen, werden daher hauptsächlich auf Verbesserungen in der Erregungsschwelle der α -Motoneurone, der Entladungsrate der motorischen Einheiten und der Synchronisation sowie intramuskulären Koordination zurückgeführt [47, 49]. Dies wirkt sich günstig auf die MyHC Typ 2-Fasern und die Muskelkontraktionsgeschwindigkeit aus und trainiert damit die Muskelleistung. Zudem reduziert sich die arterielle Gefäßsteifigkeit und die Durchblutung wird gesteigert [46]. Aufgrund der zahlreichen Muskelkontraktionszyklen, die innerhalb kürzester Zeit ausgelöst werden, werden die Vorteile des Vibrationstrainings zudem in der kurzen, effizienten Trainingsdauer mit verhältnismäßig geringer kardiopulmonaler Belastung gesehen [46]. Dadurch eignet es sich explizit für ältere Erwachsene und untrainierte Personen mit geringerer Fitness. Verschiedene systematische Übersichtsarbeiten fassen zusammen, dass das Vibrationstraining üblicherweise mit einem Krafttraining kombiniert wird und bei älteren Erwachsenen effektiv und sicher eingesetzt werden kann [50, 51].

Altersgemäßes Bewegungsangebot zur Förderung der Muskelgesundheit

Angesichts der defizitären neuromuskulären Übertragung, nimmt regelmäßige Bewegung gerade im höheren Alter eine relevante Stellung ein. Bereits nach zwei

Wochen reduzierter körperlicher Aktivität, kann bei gesunden über 65-Jährigen eine um 26 % reduzierte Muskelproteinsynthese und daraus resultierende Abnahme der Beinmuskelmasse um 4 % beobachtet werden [52]. Eine kürzlich veröffentlichte Metaanalyse bestätigte, dass innerhalb eines Untersuchungszeitraumes von 14 Tagen insbesondere die Magermasse der unteren Extremitäten von der Atrophie betroffen ist (-8,5 %) [53]. Beachtenswert war innerhalb dieses kurzen Zeitraumes jedoch vor allem der Verlust der Beinmuskelfkraft (9-15 %) und -muskelleistung (14-16 %) [53]. Vor diesem Hintergrund wird der Bewegungsmangel als eine Hauptursache für die Entwicklung der Sarkopenie und die damit verbundenen Konsequenzen angesehen [54]. Da ein überwiegend sitzender Lebensstil außerdem einen wesentlichen Beitrag zum Entzündungsgeschehen leistet [55], wurde kürzlich vorgeschlagen den Begriff des Inflammaging zu „*Inflamm-inactivity*“ zu erweitern [56]. Generell sind die Entzündungsprozesse jedoch bei regelmäßiger Bewegung, wenn auch in Abhängigkeit der Intensität, im gewissen Maß reversibel [57, 58].

Um die (Muskel-) Gesundheit aktiv zu fördern, wird älteren Erwachsenen ab 65 Jahren pro Woche mindestens 150 Minuten Bewegung mit moderater Intensität empfohlen [59]. Dies kann bspw. auf fünf Tage á 30 Minuten aufgeteilt werden, jedoch sollte jede Bewegungseinheit mindestens 10 Minuten umfassen. Darüber hinaus wird empfohlen, an mindestens zwei bis drei Tagen in der Woche kräftigende Übungen zu machen [59, 60]. Unter Berücksichtigung des Adaptionprinzipes stellt sich ein Effekt vor allem dann ein, wenn die regelmäßige Bewegung langfristig gesteigert und über das empfohlene Maß hinausgeht [59, 60]. Prinzipiell gilt jedoch jedes Maß an (zusätzlicher) Bewegung als gesundheitlich vorteilhaft, insbesondere wenn dadurch ein überwiegend sitzender Lebensstil zunehmend reduziert wird [59]. In dieser Hinsicht konnte die Lifestyle Interventions and Independence for Elders Studie (LIFE: n=1635; Intervention: 79±5 Jahre, Kontrolle: 79±5 Jahre; 67 % Frauen) zeigen, dass ein strukturiertes Bewegungsprogramm zur Erhöhung der alltäglichen Aktivität über 2,6 Jahre half, die Auftrittswahrscheinlichkeit für Mobilitätseinschränkungen bei älteren Erwachsenen mit bereits erhöhtem Risiko hierfür zu senken [61, 62].

Für ältere Erwachsene gibt es inzwischen ein breites Angebot an altersgemäßen Übungen. Ein Beispiel ist die „Bewegungspackung“, die als Initiative der Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung kostenlos angeboten wird und aufgrund der Eigengewichtsübungen ohne spezielles Equipment auskommt [63].

Dadurch lässt sich das Programm verhältnismäßig einfach und sicher in den Alltag integrieren. Heimsport gilt als niedrighschwellige, praktikable und effektive Methode, um dem Mangel an Bewegung entgegenzuwirken und somit das Risiko für die damit verbundenen Gesundheitsprobleme bei älteren Erwachsenen zu reduzieren [64]. Optimalerweise sollte der Heimsport jedoch supervidiert werden, um die Adhärenz zu erhöhen.

Für den Erhalt sowie die Förderung der Muskelgesundheit ist außerdem die nutritive Versorgung maßgebend. Drummond et al. konnten zeigen, dass unter ambulanten Bedingungen die Muskelproteinsyntheserate älterer Erwachsener nach einer einmaligen Dosis essenzieller Aminosäuren um 40 % zunahm, jedoch nicht nach sieben Tagen Bettruhe [65]. Es wird angenommen, dass die bewegungsinduzierte Muskelproteinsynthese durch eine nährstoffstimulierte Vasodilatation und dadurch stärkere Nährstoffzufuhr zum Muskel verbessert wird [66, 67]. Demzufolge empfiehlt sich eine Kombination aus adäquater Protein-/Aminosäuregabe und Sport, um die Muskelproteinsynthese im Alter effektiv anzusprechen.

Anabole Resistenz und Proteinbedarf im Alter

Das Muskelaltern ist nicht nur durch einen Muskelproteinabbau, sondern auch durch einen unzureichenden Muskelaufbau gekennzeichnet [54]. Hierzu trägt eine mit dem Alter auftretende anabole Resistenz bei, die sich durch eine herabgesetzte Muskelproteinsynthese auf die Gabe von Proteinen bzw. Aminosäuren äußert [68]. Dies wird zusätzlich begünstigt durch eine altersbedingte Proteinmaldigestion und reduzierte Aminosäureresorption, verminderte (postprandiale) hormonelle Response, geringere muskuläre Aminosäureaufnahme und veränderte intramuskuläre Signalwege [69, 70]. Experimentelle Studien konnten zeigen, dass ältere im Vergleich zu jüngeren Erwachsenen ungefähr die doppelte Menge an Protein zuführen müssen, um die anabole Schwelle zu überwinden und eine vergleichbare Muskelproteinsynthese hervorzurufen [71, 72]. Diese wird mit ca. 25–30 g Protein und 2,5–2,8 g Leucin pro Mahlzeit erreicht [69]. Um die zugeführte Proteinmenge optimal ausnutzen zu können, kann eine Verteilung der Proteinzufuhr über die Mahlzeiten hilfreich sein [67]. Aufgrund des erhöhten Bedarfs empfehlen Fachgesellschaften daher für Erwachsene ab 65 Jahren eine tägliche Proteinzufuhr von mind. 1–1,2 g/kg Körpergewicht (KG) [66, 69]. Wird ein Muskelaufbau in Kombination mit Sport angestrebt, kann eine höhere Proteinzufuhr (1,2–1,5 g/kg KG) sinnvoll sein [67].

Für den Erhalt der Muskelgesundheit ist allerdings nicht nur die Proteinmenge, sondern auch die Proteinqualität entscheidend, welche primär anhand des Aminosäureprofils definiert wird [73]. Leucin gilt als eine der potentesten Aminosäuren in der Aktivierung des Signalweges von Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) und der ribosomalen Protein-S6-Kinase beta-1 (p70S6K), in Folge derer die Muskelproteinsynthese stimuliert wird [74, 75]. Lebensmittel mit der höchsten Proteinqualität umfassen bspw. Eier, Milch(-produkte), mageres (Rind-)Fleisch und Soja [73]. Mit einem Anteil von ~11 % erweist sich das reine Molkenprotein als äußerst leucinreich [70]. Aufgrund der leichten Verdaulichkeit des Molkenproteins kommt es zu einer schnellen, wenn auch nur relativ kurz andauernden Hyperaminoazidämie [76]. Hierdurch empfiehlt sich eine rasche Zufuhr vor bzw. nach dem Sport, da der anabole Effekt nur in etwa 1,5–2 Stunden postprandial anhält [74].

Anti-inflammatorische Ernährung mit Fokus auf Omega-3-Fettsäuren

Neben einer adäquaten Proteinversorgung zur Unterstützung des Muskelaufbaus, wird angenommen, dass eine anti-inflammatorische Ernährung ihren Beitrag zur Minderung, bzw. Balancierung des Entzündungsgeschehens und somit zur Reduzierung des Muskelabbaus leisten kann. In der Literatur lassen sich zahlreiche mehr oder minder wissenschaftlich fundierte Ernährungskonzepte zur Reduzierung des Entzündungsgeschehens ausmachen. Am häufigsten untersucht und mit am besten belegt ist in dieser Hinsicht die traditionelle Mediterrane Diät [77], weshalb sie weitläufig empfohlen wird. Die Adhärenz außerhalb des Mittelmeerraums wird jedoch in Frage gestellt, weshalb sie mehrfach adaptiert wurde [2, 78].

Zur überregionalen Evaluierung des Inflammationspotenzials einer Ernährungsweise können verschiedene Indices und Scores herangezogen werden. Auf diesem Gebiet wurde z. B. der Dietary Inflammatory Index (DII) bereits vielfach angewendet und im Kontext verschiedener Regionen, Populationen und Entitäten untersucht und validiert [79, 80]. Der DII bezieht sich auf insgesamt 45 Nährstoffe und Lebensmittel (Abb. 3), die jeweils mit pro- bzw. anti-inflammatorischen Effekten in Bezug auf etablierte Entzündungsfaktoren (CRP, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α) assoziiert sind [81]. Hierbei impliziert ein höherer Indexwert ein höheres, pro-inflammatorisches Potenzial in der Ernährung. Prinzipiell kann der Index global eingesetzt werden und ist nicht regional beschränkt.

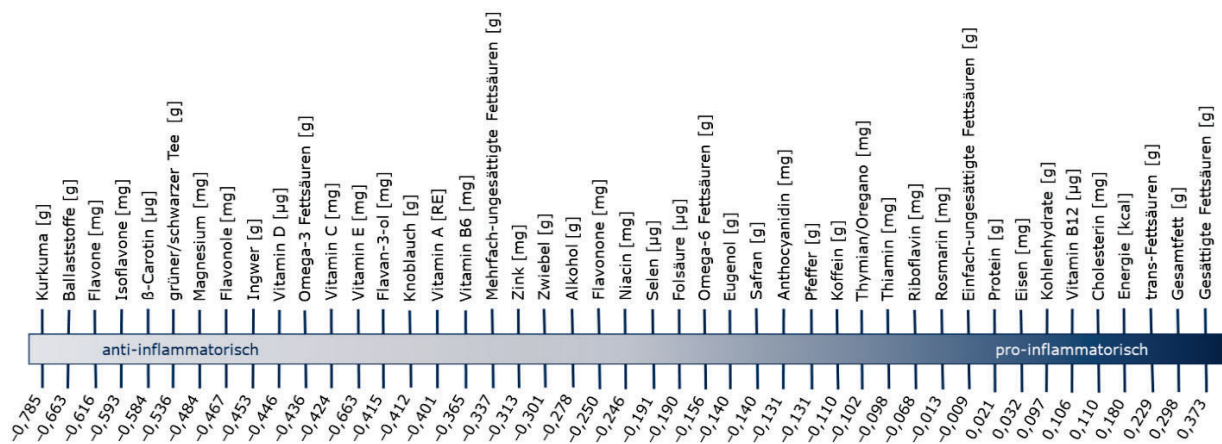


Abb. 3 45 nahrungsbezogene Parameter inkl. des inflammatorischen Potenzials zur Kalkulation des Dietary Inflammatory Index (eigene Darstellung, modifiziert nach Haß et al. 2021 [79]).

Generell zielt eine anti-inflammatorische Ernährung darauf ab, die Zufuhr von potenziell entzündungshemmenden Lebensmitteln zu erhöhen und entzündungsfördernden Lebensmitteln zu minimieren. Demzufolge haben die anti-inflammatorischen Ernährungsweisen miteinander gemein, dass sie auf eine überwiegend pflanzenbasierte Ernährung setzen, mit einem hohen Anteil an Gemüse, Obst, Hülsenfrüchten, Vollkornprodukten sowie Nüssen [2, 82]. Tierische Produkte sollten lediglich moderat konsumiert werden, bestehend aus vorzugsweise Fisch, Eiern, Milchprodukten und magerem Fleisch bzw. Geflügel [2]. Wenn die Produktauswahl möglichst geringprozessierte Lebensmittel beinhaltet, zeichnet sich diese Ernährungsweise auch durch eine hohe Nährstoffdichte aus, mit einem relativ geringen Gehalt an Energie, gesättigten Fettsäuren, Salz und raffiniertem Zucker [83]. Die Hauptfettquellen sind unraffinierte, pflanzliche Öle mit einem überwiegenden Anteil an einfach ungesättigten Fettsäuren (Olivenöl, Rapsöl). Insbesondere der erhöhte Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Ernährung, im Speziellen der Omega-3-Fettsäuren (Omega-3; fetter Seefisch, Leinsamen, Walnüsse), zeichnet die anti-inflammatorische Ernährung aus [84].

Als langkettige Omega-3 sind Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) bekannt für ihre direkten und indirekten immunregulierenden Effekte. Sie verändern die Zusammensetzung der Phospholipide von Zellmembranen durch Verdrängung der Omega-6-Fettsäure Arachidonsäure, verbessern die Membranfluidität und modulieren die Aktivität von Transkriptionsfaktoren, wodurch insgesamt die Genexpression von pro-inflammatorisch wirksamen Proteinen reduziert wird [85-88]. Die Produktion der Arachidonsäure unterliegt zudem der kompetitiven Hemmung der Delta-5-Desaturase durch EPA, wodurch

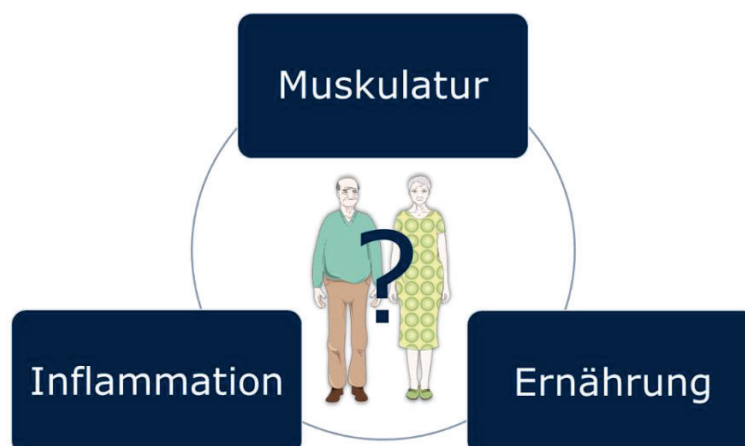
die Produktion von pro-inflammatorischen Metaboliten ebenfalls vermindert ist [85, 88]. Freies EPA und DHA dienen des Weiteren als Vorläufer für die Synthese von aktiv entzündungsauflösenden Metaboliten (Specialized Pro-resolving Mediators – SPM), wie den Resolvinen, Maresinen und Protektinen [84, 89]. Eine Metaanalyse bestätigte die günstigen Effekte einer Omega-3-Supplementierung auf Entzündungsmarker wie CRP, IL-6 und TNF- α unter verschiedenen gesundheitlichen Bedingungen [86]. Bei der inflammationsinduzierten Muskelatrophie über das UPS, spielen vor allem die muskelspezifischen Ubiquitin-Ligasen Atrogin-1 und Muscle RING-finger Protein-1 (MuRF-1) eine übergeordnete Rolle. In Zellkulturexperimenten zeigte sich bereits, dass EPA und DHA die katabolen Signalwege in C2C12-Myoblasten durch Gensuppression von Atrogin-1 und MuRF-1 herunterregulieren konnten [90]. Dieser Nachweis war in Humanstudien bisher noch nicht möglich [91]. Insgesamt zeigen verschiedene Metaanalysen, dass eine höhere Zufuhr von Omega-3 mit einer besseren Muskelmasse und -kraft älterer Erwachsener assoziiert ist [92-94]. Die derzeitigen Zufuhrempfehlungen für EPA und DHA (250 mg/Tag in Deutschland) für gesunde Erwachsene gelten in erster Linie zur Primärprävention von koronaren Herzkrankheiten [95]. Da die Empfehlungen möglicherweise nicht ausreichend im Kontext verschiedener chronisch entzündlicher Erkrankungen sind [96] und sich klinische Effekte vermutlich erst ab höheren Dosen zeigen lassen [93, 97], wird eine höhere, tägliche Zufuhr von mindestens 2 g Omega-3 als ratsam angesehen [93, 97]. Diese Dosierungen sind auch im Einklang mit der Bewertung durch die europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority – EFSA), die eine tägliche Supplementierung von bis zu 5 g Omega-3 als unbedenklich ansieht [98].

Fragestellungen und Ziele der Arbeit

Angesichts der frühzeitig einsetzenden Muskeldegeneration sind präventive Maßnahmen erstrebenswert. Hierbei wird den Lebensstilfaktoren eine besondere Rolle beigemessen, da sie potenziell veränderbar und nachweislich effektiv sind. Ernährungsmodifikationen und Bewegungsinterventionen stehen zweifelsohne im Vordergrund, wenn eine Steigerung der Muskelmasse, -kraft und -funktion auch im höheren Lebensalter angestrebt werden. Insbesondere eine erhöhte Proteingabe in Kombination mit einem Krafttraining sind als Maßnahmen gut untersucht und werden daher von führenden Expertengruppen bereits empfohlen [66, 69]. Vor dem Hintergrund des Inflammaging ist bisher jedoch kaum untersucht, inwiefern das Inflammationspotenzial der Ernährung mit dem Inflammationsprofil bei gesunden älteren Erwachsenen zusammenhängt und inwieweit sich dies auch im Muskelstatus widerspiegelt (Abb. 4). Hieraus ergab sich zunächst folgende Fragestellung:

I. Inwiefern ist das (anti-) inflammatorische Potenzial der individuellen Ernährung mit dem Inflammationsprofil und dem Muskelstatus bei älteren Erwachsenen assoziiert?

Zur Beantwortung der Fragestellung (I) wurden die Ausgangswerte einer postprandialen Interventionsstudie herangezogen (POST-Studie [99]) und im Hinblick auf Assoziationen zwischen dem DII und verschiedenen Entzündungsmarkern, oxidativem Stress sowie relevanten Muskelparametern bei 79 älteren, selbständig lebenden Erwachsenen (65–85 Jahre) im Querschnitt untersucht und den Beobachtungen bei 59 jüngeren Erwachsenen (18–35 Jahre) gegenübergestellt (**Publikation 1**).



Erstellt mit Hilfe von smart (Servier Medical Art, CC-BY 3.0).

Abb. 4 Potenzielle Zusammenhänge zwischen dem Muskelstatus, der Ernährung und dem Entzündungsgeschehen bei gesunden älteren Erwachsenen weisen noch Klärungsbedarf auf (eigene Darstellung).

Des Weiteren ist unklar, inwieweit das Entzündungsgeschehen im Rahmen von Ernährungsmodifikationen beeinflussbar ist und gleichzeitig eine Verbesserung des Muskelstatus in Kombination mit einem altersgemäßen, alltagsnahen Sportprogramm erzielt werden kann.

Interessanterweise konnte eine Metaanalyse bereits zeigen, dass sich eine Omega-3-Supplementierung in Kombination mit und ohne Kraftsport günstig auf Muskelkraft und -funktion bei gesunden älteren Erwachsenen auswirken kann [100]. Cornish et al. schlossen in ihrer Analyse jedoch Interventionen, die gleichzeitig auch eine ausreichende Proteinzufuhr im höheren Alter berücksichtigen, methodisch aus [100]. Eine adäquate Proteinzufuhr ist neben ausreichend Bewegung allerdings maßgeblich und angesichts der inflammationsinduzierten Proteolyse wird angenommen, dass eine anti-inflammatorische Ernährung zur Unterstützung der Muskelproteinsynthese dienlich sein könnte [101]. Dupont et al. stellten daher die These auf, dass eine Supplementierung von Omega-3 insbesondere in Kombination mit Sport und einer adäquaten Proteinzufuhr eine anabol verstärkende Wirkung zeigen könnte, aber im Kontext des Muskelalters bislang Untersuchungen fehlen, um dies eindeutig anzuzeigen [102]. Obwohl die Muskelleistung essenziell hinsichtlich der autonomen Funktionalität im Alter ist, wurde sie in Interventionsstudien im Vergleich zur Muskelkraft bisher kaum berücksichtigt [34]. Dementsprechend ergab sich die weiterführende Fragestellung:

II. Wie wirkt sich eine mit Omega-3-Fettsäuren supplementierte, proteinreiche Ernährung in Kombination mit einem Vibrationstraining und Eigengewichtsübungen auf die Muskelleistung von älteren Erwachsenen aus?

Um Fragestellung (II) zu beantworten, wurde eine 8-wöchige Sport- und Ernährungsintervention mit insgesamt 61 selbständig lebenden, älteren Erwachsenen (65–85 Jahre) aus der Region Berlin/Brandenburg im explorativen Ansatz als Pilotstudie durchgeführt (AIDA-Studie, Abb. 5).

Hierzu erhielten alle Teilnehmenden ein wöchentliches Vibrationstraining und dreimal wöchentlich Eigengewichtsübungen für den Heimsport. Zusätzlich erhielten die Teilnehmenden entweder eine mit Molkenprotein unterstützte, proteinreiche Ernährung (1,2–1,5 g Protein/kg/KG/Tag) oder eine proteinreiche und omega-3-supplementierte Ernährung (2,2 g Omega-3/Tag). Währenddessen hielt die Kontrollgruppe die gewohnte Ernährung bei. Vor und nach der

Intervention wurden verschiedene Sarkopenie-relevante Muskelparameter inkl. der Muskelleistung mechanografisch untersucht und im Gruppenvergleich analysiert (**Publikation 2**).

Da noch ungeklärt ist, inwiefern sich diese kombinierte Intervention einerseits auf das systemische Inflammationsprofil und andererseits auf immunrelevante Marker der älteren Erwachsenen auswirkt, leitete dies über zur abschließenden Fragestellung:

III. Wie wirkt sich eine mit Omega-3-Fettsäuren supplementierte, proteinreiche Ernährung in Kombination mit einem Vibrationstraining und Eigengewichtsübungen auf das Entzündungsgeschehen und die inflammatorische Antwort von älteren Erwachsenen aus?

Zur Beantwortung der Fragestellung (III) wurden während der obengenannten Interventionsstudie (AIDA-Studie) jeweils zu Beginn und nach den acht Wochen im Nüchternzustand Blutproben entnommen (Abb. 5). Diese dienten der Vorher-Nachher-Analysen im Gruppenvergleich und wurden im Hinblick auf zirkulierende Entzündungsmarker (IL-6, IL-10, IL-6/IL-10-Verhältnis, IL-1RA, HMGB-1 und CC-Chemokinligand-2 (CCL-2)), sowie die Genexpression der Zytokine und Chemokine in peripheren mononukleären Blutzellen (Peripheral Blood Mononuclear Cells – PBMC) (*IL6, IL10, IL1RN, IL1B, CCL2, TNFA*) untersucht. Zusätzlich wurde die Zytokinsekretion nach LPS-Stimulierung in Vollblutzellkulturen ausgewertet (**Publikation 3**).

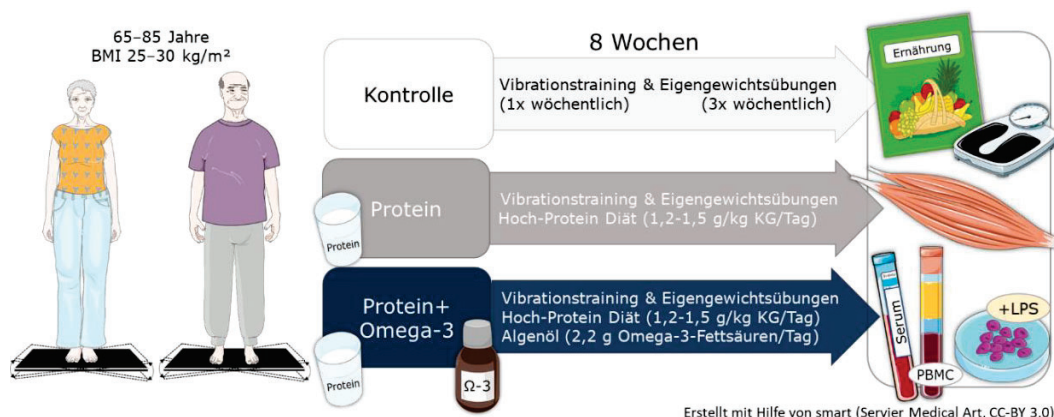


Abb. 5 Schematischer Ablauf der explorativen, randomisiert-kontrollierten AIDA-Pilotinterventionsstudie (eigene Darstellung).

Ältere, selbständig lebende Erwachsene erhielten über acht Wochen Vibrationstraining und Eigengewichtsübungen. Die Kontrollgruppe führte die gewohnte Ernährung fort. Die Proteingruppe ernährte sich proteinreich, unterstützt mit einem täglichen Molkenproteingetränk (35 g Protein, inkl. 4 g Leucin). Die Protein+Omega-3-Gruppe wurde zusätzlich täglich mit einem omega-3-reichen Algenöl supplementiert. Vor und nach der Intervention wurden die Effekte anhand von anthropometrischen Vermessungen, verschiedenen Muskelkraft und -funktionstests sowie nüchtern entnommenen Blutproben eruiert. BMI Body Mass Index, KG Körpergewicht, LPS Lipopolysaccharide, PMBC periphere mononukleäre Blutzellen.

Publikationen

Publikation 1

Dietary Inflammatory Index and Cross-Sectional Associations with Inflammation, Muscle Mass and Function in Healthy Old Adults.

Ulrike Haß, Catrin Herpich, Bastian Kochlik, Daniela Weber, Tilman Grune, Kristina Norman.

The Journal of Nutrition, Health & Aging. 2022;26(4):346

doi: 10.1007/s12603-022-1753-4

Impact factor: 5.285 (2021)

Publikation 2

Effects of an Omega-3 Supplemented, High-Protein Diet in Combination with Vibration and Resistance Exercise on Muscle Power and Inflammation in Old Adults: A Pilot Randomized Controlled Trial.

Ulrike Haß, Bastian Kochlik, Catrin Herpich, Stefan Rudloff, Kristina Norman.

Nutrients. 2022;14(20):4274

doi: 10.3390/nu14204274

Impact factor: 6.706 (2021)

Publikation 3

Effects of Exercise and Omega-3-Supplemented, High-Protein Diet on Inflammatory Markers in Serum, on Gene Expression Levels in PBMC, and after Ex Vivo Whole-Blood LPS Stimulation in Old Adults.

Ulrike Haß, Sarah Heider, Bastian Kochlik, Catrin Herpich, Olga Pivovarova-Ramich, Kristina Norman.

International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(2):928

doi: 10.3390/ijms24020928

Impact factor: 6.208 (2021)

Publikation 1

Dietary Inflammatory Index and Cross-Sectional Associations with Inflammation, Muscle Mass and Function in Healthy Old Adults.

Ulrike Haß, Catrin Herpich, Bastian Kochlik, Daniela Weber, Tilman Grune, Kristina Norman.

The Journal of Nutrition, Health & Aging. 2022;26(4):346

doi: 10.1007/s12603-022-1753-4

Impact factor: 5.285 (2021)

Eigenanteil

Literaturrecherche

Entwicklung des Manuskriptkonzeptes

Statistische Auswertung

Anfertigung der Grafiken und Tabellen

Anfertigung der Publikation

Dietary Inflammatory Index and Cross-Sectional Associations with Inflammation, Muscle Mass and Function in Healthy Old Adults

U. Haß^{1,2}, C. Herpich^{1,2}, B. Kochlik², D. Weber^{3,4}, T. Grune^{1,3,4,5,6,7}, K. Norman^{1,2,6,8}

1. University of Potsdam, Institute of Nutritional Science, Nuthetal, Germany; 2. German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbrücke, Department of Nutrition and Gerontology, Nuthetal, Germany; 3. German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbrücke, Department of Molecular Toxicology, Nuthetal, Germany; 4. NutriAct-Competence Cluster Nutrition Research, Berlin-Potsdam, Germany; 5. German Center for Diabetes Research (DZD), Muenchen-Neuherberg, Germany; 6. German Center for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Berlin, Berlin, Germany; 7. Department of Physiological Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Vienna, Vienna, Austria; 8. Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, Department of Geriatrics and Medical Gerontology, Berlin, Germany

Corresponding Author: Prof. Dr. Kristina Norman, University of Potsdam, Institute of Nutritional Science, Arthur-Scheunert-Allee 114-116, 14558 Nuthetal, Germany, email: kristina.norman@dife.de

Abstract

IMPORTANCE Inflammaging is considered a driver of age-related loss of muscle mass and function (sarcopenia). As nutrition might play a role in this process, the Dietary Inflammatory Index® (DII) has been developed to quantify the inflammatory potential of an individual diet. **OBJECTIVES:** We aimed to examine associations between the DII, inflammation, oxidative stress and sarcopenia-related parameters in healthy old compared to young adults.

DESIGN, SETTING, AND PARTICIPANTS: This cross-sectional study included data of 79 community-dwelling, healthy old adults (65-85 years) and 59 young adults (18-35 years) who participated in a randomized controlled trial from April to December 2019.

MEASUREMENTS: The DII was computed with dietary data collected from 24-h recall interviews. Associations between the DII, inflammatory and oxidative stress markers as well as bioimpedance-derived body composition, handgrip strength and gait speed were determined with multiple linear regression analyses adjusted for age, sex, physical activity and insulin resistance.

RESULTS: Regression analyses revealed significant relationships between a higher interleukin (IL) 6 and IL-6:IL-10-ratio and higher percentage fat mass (%FM), waist-to-height-ratio (WHtR) as well as lower percentage skeletal muscle mass (%SMM) and gait speed exclusively in old adults. Subsequent analyses showed that IL-6 was associated with a pro-inflammatory diet as indicated by a higher DII, again exclusively in old adults (beta coefficient (β)= 0.027, standard error (SE) 0.013, $p=0.037$). While the DII was not related with handgrip strength or oxidative stress in neither old nor young adults, linear models confirmed that a higher DII was inversely associated with gait speed in old participants ($\beta=-0.022$, SE 0.006, $p<0.001$). Finally, a pro-inflammatory diet was significantly associated with higher %FM, WHtR and lower %SMM in both age groups.

CONCLUSION AND RELEVANCE: A pro-inflammatory diet reflected by the DII is associated with higher systemic inflammation, slower gait speed as well as lower muscle mass in old adults. Intervention studies are needed to examine whether anti-inflammatory dietary approaches can help to improve muscle mass and function and thus minimize the risk for sarcopenia in the long-term.

Key words: Inflammaging, healthy aging, nutrition, sarcopenia, physical function.

Abbreviations: β : beta regression coefficient; BMI: body mass index; CRP: C-reactive protein; CV: coefficients of variability; DII: Dietary Inflammatory Index®; EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid; ELISA: immunosorbent assays; FFQ: food frequency questionnaires; %FM: percentage fat mass; HOMA-IR: homeostasis model assessment

Received October 28, 2021
Accepted for publication February 4, 2022

– insulin resistance; IL: interleukin; MDA: malondialdehyde; SASP: senescence-associated secretory phenotype; SE: standard error; %SMM: percentage skeletal muscle mass; TNF- α : tumour necrosis factor alpha; WHtR: waist-to-height-ratio.

Introduction

Accelerated aging is associated with a chronically inflamed phenotype and oxidative stress (1). Among other factors, the age-related increase in abdominal fat, immunosenescence and senescence-associated secretory phenotype (SASP) contribute to chronic, overactivated inflammatory reactions (inflammaging), thus promoting various age-related diseases (2, 3). Pro-inflammatory cytokines, such as tumour necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin (IL) 1 β or IL-6, play a dominant role in the underlying inflammatory processes (4).

Dietary patterns have been recognized to play an important role regarding inflammation; either having beneficial (Mediterranean diet) (5) or detrimental effects (Western diet) (6). In this context, the Dietary Inflammatory Index® (DII) was developed and validated globally within different cohorts to quantify the inflammatory potential of an individual diet (7-10). The DII consists of 45 dietary parameters which have been associated with either pro- or anti-inflammatory effects on six of the most established inflammatory biomarkers (C-reactive protein (CRP), IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α). Although the DII has been investigated in several pathologies such as cancer (11), depression (12) or cardiovascular disease (13), knowledge about associations between the dietary inflammatory burden reflected by the DII and sarcopenia-relevant outcomes in healthy old adults is still scarce. Since it is recognized that a chronic pro-inflammatory load contributes to loss of skeletal muscle and disability in higher age, this topic has gained more attention (14). It is well established, that sarcopenia development starts early in life (15). Therefore, the aim of this investigation was to examine associations between the DII and inflammaging as well as muscle mass and function in healthy old in comparison to young participants.

Materials and methods

Study design and population sample

This cross-sectional evaluation was performed in 80 healthy old (aged 65–85 years) and 60 healthy young adults (aged 18–35 years), who participated in a previously described study (16). The study was approved by the University of Potsdam ethics committee, registered at the German study register (DRKS00017090) and carried out in accordance with the Declaration of Helsinki. Exclusion criteria were any malignant or severe disease, any type of diabetes mellitus, stroke or heart attack within the last 6 months, food allergies or pregnancy. All participants gave written informed consent.

Biomarker analyses

All blood samples were taken after an overnight fast between 8–9 am. Blood serum and EDTA plasma were stored at -80°C until analysis.

Inflammatory and oxidative stress markers

To examine the inflammatory status, serum IL-6 [pg/mL] and IL-10 [pg/mL] were quantified using immunosorbent assays (ELISA) (IL-6 inter-assay coefficients of variability (CV): 4.7–5.0%, intra-assay CV: 4.2–5.1%; IL-10 inter-assay CV: 1.9–2.0%, intra-assay CV: 3.7–4.8%; BioVendor, Brno, Czech Republic). As a marker for oxidative stress, malondialdehyde (MDA) [$\mu\text{mol/L}$] was measured in plasma samples by High-Performance Liquid Chromatography according to Wong et al. (17) with modifications by Weber et al. (18).

Metabolic parameters

Serum triglycerides [mmol/L] and serum glucose [mmol/L] were analysed using a colorimetric method (ABX Pentra 400, Horiba, Ltd. Japan). Serum insulin [$\mu\text{U/mL}$] was quantified using ELISA (intra-assay CV: 4.8–6.0%, inter-assay CV: 8.1–9.0%; BioVendor, Brno, Czech Republic). The prevalence of insulin resistance risk was estimated using the homeostasis model assessment – insulin resistance (HOMA-IR) (19), where a value <2 is deemed normal, while an insulin resistance becomes very likely at values above 2.5 and values above 5 are typically found in persons with type 2 diabetes.

Anthropometrics, muscle mass and function

Weight [kg], height [cm] and waist circumference [cm] were measured according to standard criteria, to subsequently calculate body mass index (BMI) [kg/m^2] and waist-to-height-ratio (WtHR) as an indicator for abdominal obesity (>0.5) (20). Body composition was estimated with single-frequency bioelectrical impedance analysis (Bioimpedance

Analyzer Quantum/S Akern Srl/RJL Systems, Florence, Italy) at 50 kHz with the participants lying in the supine position and electrodes placed on the right hand and foot. Skeletal muscle mass was calculated with the equation by Janssen et al. (21) and expressed in relation to body weight (%SMM). Percentage of fat mass (%FM) was calculated according to Kyle et al. (22). Maximum handgrip strength of the dominant hand [kg] was measured with a Jamar dynamometer (Sammons Preston Rolyan, Chicago, IL, USA). According to the standardized approach by Roberts et al. (23), participants were instructed to sit straight-backed with the feet placed flat on the floor, shoulder adducted but the elbow in 90° flexion, while forearm and wrist are in neutral position. Assessment of gait speed [m/s] was done during a 4-m walk test at the participants' usual pace in the old, but was not performed in the young participants due to its age specificity. Measures of muscle function were normalized to BMI, since body mass can influence physical performance (24).

Physical activity

The International Physical Activity Questionnaire-short form was used to assess the time spent in intense, moderate or low activity within one week prior to the study (25).

Dietary assessment and calculation of the DII

Dietary data were collected in a 24-h dietary recall interview. From initially 140 participants, 24-h recalls were available for 138 individuals. Dietary intakes were calculated with the nutrition software EBISpro version 2016 (Dr. J. Erhart, Willstätt-Legelshurst, Germany), which is based on the German Food Code and Nutrient Database ("Bundeslebensmittelschlüssel" version 3.02) with nearly 15,000 food items (26). Afterwards, computation of the DII was done in a stepwise manner following the instructions by Shivappa and colleagues (7).

Statistics

Data analysis was performed in SPSS Statistics version 25 (IBM Corp., Chicago, IL, USA). The DII was analysed as continuous variable. Investigation of data distribution was done using Kolmogorov-Smirnov tests. According to the distribution, independent samples t-tests or Mann-Whitney U-tests were performed to compare continuous variables between the two age groups. Data are presented as either mean \pm standard deviation or median with interquartile range. Differences in categorical variables were determined with Chi-square test. Associations between the DII and inflammation, oxidative stress levels, as well as muscle mass and function were assessed with multiple linear regression analyses. Additionally, these analyses were performed in a sub-sample within the old study group characterized as sedentary ($n=59$). In case of non-normal distribution, data has been log-transformed. Adjustments were made for age and sex (model 1), and additionally for physical

Table 1. Characteristics and biomarker concentrations of old and young participants

	Young (n=59)	Old (n=79)	p-value#
Sex [n]	♀ 43 / 16 ♂	♀ 59 / 20 ♂	0.811
Age [years]	26.1 (6.3)	72.4 (8.9)	–
Body mass index [kg/m ²]	22.8 (3.6)	28.8 (6.2)	0.009
Waist-to-height-ratio	0.44 (0.05)	0.56 (0.11)	0.009
Fat mass [%]	29.0±6.2	34.0±6.9	0.009
Skeletal muscle mass [%]	37.3±5.2	30.5±5.6	0.009
Handgrip strength [kg]	36.2 (10.6)	28.5 (12.0)	0.009
Gait speed† [m/s]	–	1.35 (0.29)	–
Dietary Inflammatory Index	2.73 (2.56)	3.11 (3.15)	0.668
Triglycerides [mmol/L]	0.80 (0.47)	1.09 (0.62)	0.014
Glucose [mmol/L]	4.58 (0.39)	5.24 (0.56)	0.014
Insulin [μU/mL]	10.2 (2.9)	10.2 (4.0)	1.0
HOMA-IR	2.1 (0.7)	2.35 (1.05)	0.014
IL-6 [pg/mL]	2.87 (1.66)	3.56 (2.30)	0.014
IL-10 [pg/mL]	5.34 (2.01)	7.64 (2.55)	0.014
IL-6:IL-10-ratio	0.46 (0.35)	0.46 (0.31)	1.0
MDA [μmol/L]	0.57 (0.30)	0.86 (0.49)	0.014

Values are presented as mean ± standard deviation or median with (interquartile range) and p-value for significance level after independent samples t-Test or Mann-Whitney U-test and #Bonferroni correction to counteract type I error; sex distribution was tested with Chi-square; †measurement not performed in young participants; HOMA-IR homeostasis model assessment – insulin resistance; IL interleukin; MDA malondialdehyde

activity since this is recognized to affect the inflammatory condition (model 2). Regression analyses regarding inflammatory and oxidative stress markers were further adjusted for insulin resistance (model 3), since there were differences between age groups. To allow for discrimination for the risk of insulin resistance, the cut-off for HOMA-IR was set at 2.5. Results are presented as beta regression coefficient (β) with standard error (SE). Statistical significance was assumed at $p < 0.05$.

Results

Subject characteristics

79 old (72.4±5.5 years) and 59 young (26.5±4.2 years) participants were included in our analyses. Approximately 75% of the participants were female and sex was equally distributed in both groups. Key subject characteristics and relevant biomarker concentrations are shown in Table 1. Old participants showed significantly lower muscle mass and strength compared to young participants. Moreover, old adults had significantly higher inflammatory levels and significantly higher MDA concentrations compared to young adults. Additionally, old participants exhibited significantly higher triglyceride and glucose levels as well as higher HOMA indices compared to the young participants.

Inflammatory status and associations with muscle strength, muscle function and body composition

Fully-adjusted regression analyses revealed significant relationships between a pro-inflammatory status as indicated by higher IL-6 and IL-6:IL-10-ratio and sarcopenia-related parameters as indicated by lower %SMM, handgrip strength and gait speed in the old group, but not in the young group (Table 2). Moreover, higher %FM and WHtR were also significantly associated with higher IL-6 and IL-6:IL-10-ratio.

Dietary assessment and dietary inflammatory load

The mean dietary inflammatory load reflected by the DII did not differ between both groups (Table 1). Caloric and carbohydrate intake were significantly different between groups, whereas other macronutrient intakes were comparable (Supplemental figure 1 a and b).

The DII and its associations with inflammation and oxidative stress

Subsequent multiple linear regression models revealed that higher DII scores were significantly associated with higher IL-6 concentrations in the old group, but not in the young group (Table 3). However, the DII was not associated with MDA concentrations in old and young adults (Table 3).

Table 2. Associations between inflammatory status and body composition as well as muscle function in old and young participants

		Young (n=59)			Old (n=79)		
		IL-6	IL-10	IL-6:IL-10	IL-6	IL-10	IL-6:IL-10
WHtR	β	-0.009	-0.008	0.000	0.097***	0.021	0.079**
	SE	0.028	0.025	0.022	0.026	0.063	0.025
%FM‡	β	-0.172	1.451	-1.206	9.770***	1.812	8.039**
	SE	3.318	3.029	2.633	2.575	6.148	2.432
%SMM‡	β	-0.607	-2.508	1.511	-6.218**	-2.984	-4.787*
	SE	2.676	2.425	2.119	1.908	4.444	1.806
HGS/BMI	β	-0.079	0.010	-0.058	-0.154**	0.040	-0.139*
	SE	0.052	0.049	0.041	0.057	0.130	0.053
Gait speed/BMI†	β	–	–	–	-0.217***	0.014	-0.188***
	SE				0.048	0.120	0.046

Values are presented as β beta coefficient with SE standard error after multiple linear regression analysis with log-transformed data at baseline, adjusted for age, sex, physical activity and insulin resistance; significant associations marked as *p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001; †not log-transformed; ‡measurement not performed in young participants; %FM percentage fat mass; Gait speed/BMI gait speed normalized to body mass index; HGS/BMI handgrip strength normalized to body mass index; IL interleukin; %SMM percentage skeletal muscle mass; WHtR waist-to-height-ratio

Table 3. Associations between the Dietary Inflammatory Index® and inflammatory status, oxidative stress, metabolic parameters, body composition and muscle function in old and young participants

	Young (n=59)			Old (n=79)		
	β	SE	p-value	β	SE	p-value
Inflammation						
IL-6	0.005	0.015	0.752	0.027	0.013	0.037
IL-10	0.021	0.016	0.200	0.008	0.006	0.161
IL-6:IL-10	-0.016	0.019	0.391	0.019	0.014	0.186
Oxidative stress						
MDA	-0.021	0.013	0.105	-0.019	0.011	0.085
Metabolic profile						
Triglycerides	0.021	0.013	0.108	0.031	0.010	0.002
Glucose	0.000	0.002	0.917	0.009	0.003	0.012
Insulin	0.016	0.007	0.037	0.028	0.009	0.002
HOMA-IR	0.016	0.008	0.053	0.036	0.010	0.001
Fat distribution						
WHtR	0.007	0.003	0.028	0.012	0.003	<0.001
%FM	0.915	0.338	0.009	0.744	0.310	0.019
Muscle mass and function						
%SMM	-0.709	0.271	0.011	-0.524	0.229	0.025
HGS/BMI	-0.010	0.005	0.078	-0.005	0.006	0.397
Gait speed/BMI †	–	–	–	-0.022	0.006	<0.001

Values are presented as β beta coefficient with SE standard error and p-value for significance level after multiple linear regression analysis with log-transformed data at baseline adjusted for age, sex, physical activity and regarding inflammatory/oxidative stress markers also for insulin resistance; †measurement not performed in young participants; %FM percentage fat mass; Gait speed/BMI gait speed normalized to body mass index; HGS/BMI handgrip strength normalized to body mass index; HOMA homeostasis model assessment – insulin resistance; IL interleukin; MDA malondialdehyde; %SMM percentage skeletal muscle mass; WHtR waist-to-height-ratio

The DII and its associations with muscle strength, muscle function and body composition

As can be seen in Table 3, regression analyses adjusted for age, sex and physical activity showed that higher DII scores

were not significantly associated with handgrip strength, but with lower gait speed and lower %SMM in old adults. In addition, significant associations were found between higher DII scores and higher %FM as well as WHtR in both age groups.

The DII and its associations with metabolic status

The DII was significantly positive associated with triglyceride, glucose, and insulin concentrations, as well as HOMA indices in the old group, whereas significant positive associations were only seen between the DII and insulin concentrations in the young group (Table 3).

Discussion

This cross-sectional analysis showed that a pro-inflammatory diet reflected by a higher DII score was associated with higher systemic inflammation and slower gait speed as well as poorer muscle mass in old adults. A higher DII was further associated with higher (abdominal) fat mass and metabolic markers.

In accordance with a typical German, westernized diet, the overall dietary intake was predominantly pro-inflammatory in both age groups (Table 1). This can be attributed to a relatively high fat intake, particularly a high intake of saturated fatty acids (Supplemental figure 1 b) and omega-6:omega-3-ratio (Supplemental figure 1 c). Omega-3 and omega-6 fatty acids are known for their modulating effects on inflammatory processes (27) and a dietary intake low in omega-6:omega-3-ratio of ideally $\leq 2:1$ is associated with a reduced pro-inflammatory cytokine release (28). Furthermore, smoking (29), alcohol consumption (30), and medication use (31) can affect the inflammatory status. However, the number of smokers was low and alcohol intake between groups was comparable (data not shown). Young participants did not take any medication, but the medication taken by old participants might have had an effect on inflammation parameters, as for example statins are known for their anti-inflammatory effects (31).

The DII was positively associated with IL-6 in the old group but not in the young group, which might imply a better compensation of the pro-inflammatory dietary load in young adults. The observed association became even more prominent in a sub-sample characterized as sedentary old (Supplemental figure 2 a). This is plausible, as physical activity is associated with anti-inflammatory effects also at an older age (32). Moreover, higher DII scores were accompanied by significantly higher IL-6 but not by IL-10 in the old participants, which might imply a failing anti-inflammatory compensatory mechanism contributing to inflammaging (33).

Additionally, the associations between the DII and metabolic parameters within the old group might be interpreted as a limited metabolic response capacity to the higher inflammatory dietary load, also possibly as part of the inflammaging process (34). This also seems to be reflected by the observed unfavourable body composition including lower %SMM, higher %FM and higher WHtR in relation to the pro-inflammatory status.

Regarding muscle mass and function, the DII was negatively associated with %SMM and gait speed in the old group, but not with handgrip strength. Significant associations between higher DII and lower handgrip strength were only seen in the sedentary sub-sample (Supplemental figure 2 b), which might

be attributed to the fact that the whole old study group still performed quite well in relevant functional parameters.

A recent retrospective analysis within the Australian Geelong Osteoporosis Study indicated that a long-term anti-inflammatory diet reflected by a lower DII is associated with higher muscle mass in men (35) and women (36). Chronic irregular inflammatory processes in general are recognized as drivers for age-related diseases, including musculoskeletal disorders. Therefore, a diet with low inflammatory load possibly represents a relevant tool to prevent loss of muscle mass in aging by supporting cytokine balance.

Strength and Limitations

Originally, the DII is computed based on food frequency questionnaires (FFQ). Contrarily, we used 24h-recall based data to calculate the DII, which does not reflect habitual diet as reliably. However, it has been recommended by the developers of the DII to use an open-ended strategy to gain more dietary information and thereby increase the chance to include most of the 45 DII-relevant dietary parameters (7). In the present study, 31 from 45 possible DII parameters were available for its calculation, which is higher than the average expected 25-30 DII parameters from FFQs (37). Beside IL-6 and IL-10, future studies might include additional inflammation markers, since the DII has also been associated with CRP, IL-1 β , IL-4 and TNF- α . Certainly, one main limitation of our study is the small sample size. Nonetheless, our results are in agreement with other studies with more participants (38). Furthermore, BIA measurements must be interpreted with caution. In order to assess fat and fat free mass it might not be as accurate as dual x-ray absorptiometry; however, using adequate equations, BIA provides comparable estimates of skeletal muscle mass in healthy adults (39).

Conclusion

We conclude that a pro-inflammatory diet is associated with higher systemic inflammation as well as adverse body composition expressed by higher fat mass including higher abdominal fat distribution in healthy community-dwelling old adults. More interestingly, a pro-inflammatory diet is also associated with poorer muscle mass and slower gait speed, both sarcopenia-relevant parameters, in old adults. Intervention studies are needed to examine whether anti-inflammatory dietary approaches can help to improve muscle mass and function and thus minimize the risk for sarcopenia in the long-term.

Author contributions: C.H. and U.H. collected the data. C.H. and D.W. did laboratory assessments. U.H. performed the statistical analyses. U.H. wrote the manuscript with contributions from C.H., B.K., D.W., T.G., and K.N.. All authors reviewed and commented on subsequent drafts of the manuscript.

Conflicts of interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Ethical statement: This project complies with the current laws and ethical standards of the country in which it was performed. The study was approved by the University of Potsdam ethics committee, registered at the German study register (DRKS00017090) and carried out in accordance with the Declaration of Helsinki. All participants gave written informed consent.

Funding: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

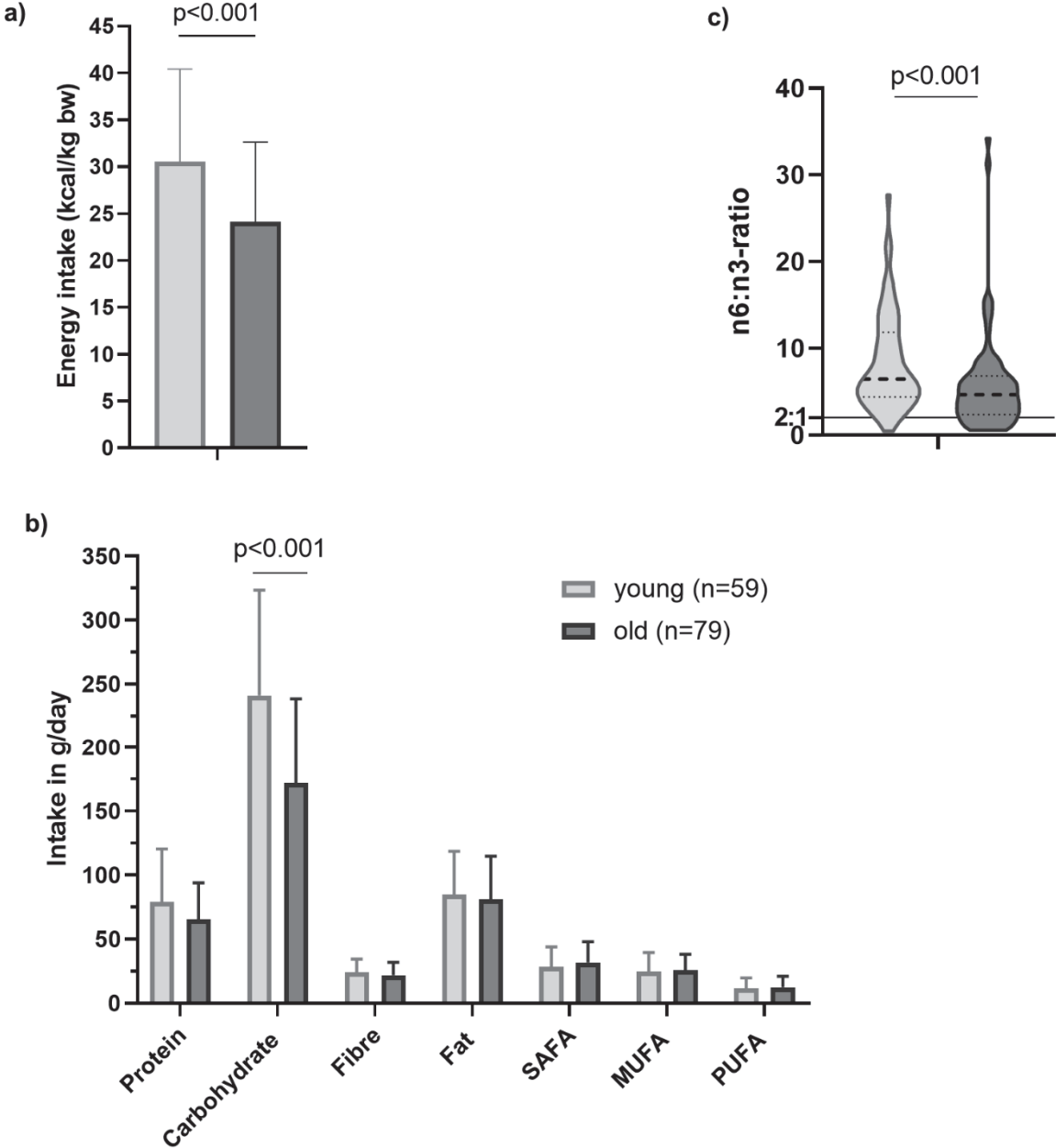
Open Access: This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits use, duplication, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license and indicate if changes were made.

References

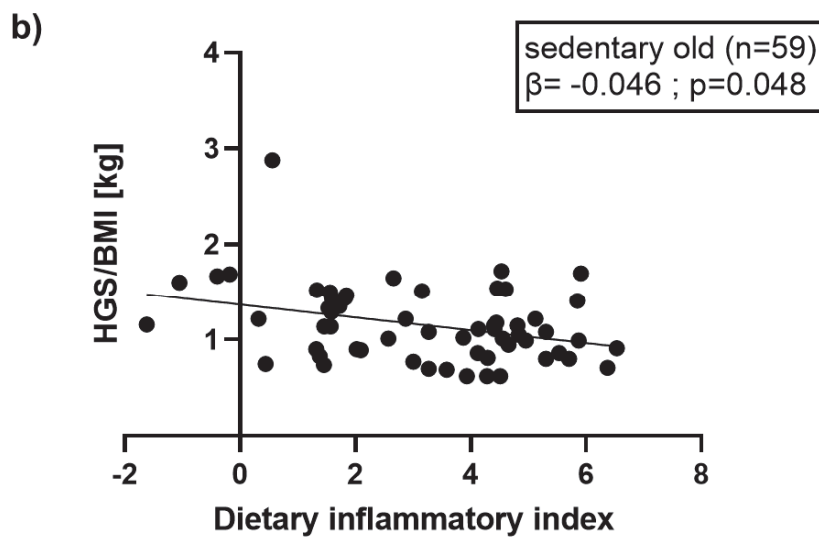
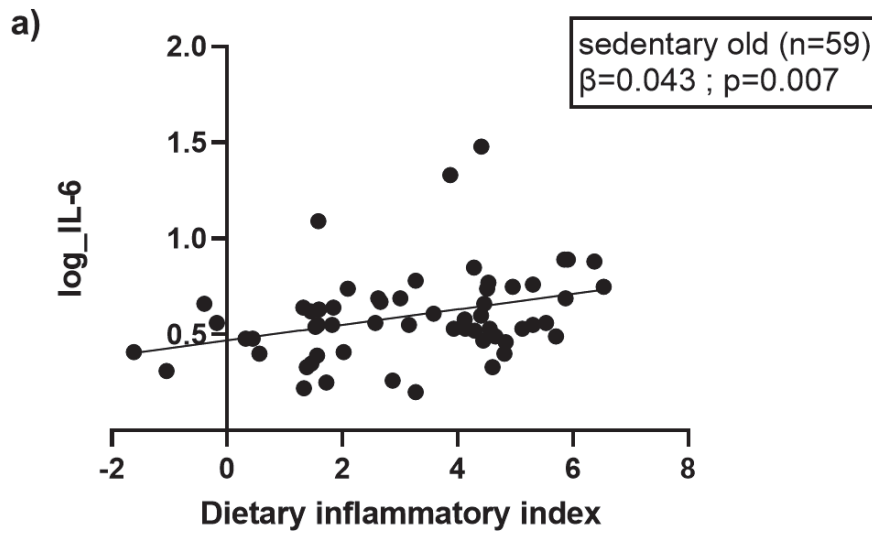
- Zuo L, Prather ER, Stetskevich M, et al. Inflammation and Oxidative Stress in Human Diseases: From Molecular Mechanisms to Novel Treatments. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18), doi: 10.3390/ijms20184472.
- Kalinkovich A, Livshits G. Sarcopenic obesity or obese sarcopenia: A cross talk between age-associated adipose tissue and skeletal muscle inflammation as a main mechanism of the pathogenesis. *Ageing research reviews*. 2017;35:200-21, doi: 10.1016/j.arr.2016.09.008.
- Furman D, Campisi J, Verdini E, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*. 2019;25(12):1822-32, doi: 10.1038/s41591-019-0675-0.
- Boirie Y. Physiopathological mechanism of sarcopenia. *The journal of nutrition, health & aging*. 2009;13(8):717-23.
- Estruch R. Anti-inflammatory effects of the Mediterranean diet: the experience of the PREDIMED study. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2010;69(3):333-40, doi: 10.1017/s0029665110001539.
- Myles IA. Fast food fever: reviewing the impacts of the Western diet on immunity. *Nutrition journal*. 2014;13:61, doi: 10.1186/1475-2891-13-61.
- Shivappa N, Steck SE, Hurley TG, Hussey JR, Hebert JR. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public health nutrition*. 2014;17(8):1689-96, doi: 10.1017/s1368890013002115.
- Shivappa N, Steck SE, Hurley TG, et al. A population-based dietary inflammatory index predicts levels of C-reactive protein in the Seasonal Variation of Blood Cholesterol Study (SEASONS). *Public health nutrition*. 2014;17(8):1825-33, doi: 10.1017/s1368890013002565.
- Tabung FK, Steck SE, Zhang J, et al. Construct validation of the dietary inflammatory index among postmenopausal women. *Ann Epidemiol*. 2015;25(6):398-405, doi: 10.1016/j.annepidem.2015.03.009.
- Wirth MD, Shivappa N, Davis L, et al. Construct Validation of the Dietary Inflammatory Index among African Americans. *The journal of nutrition, health & aging*. 2017;21(5):487-91, doi: 10.1007/s12603-016-0775-1.
- Zahedi H, Djalalinia S, Asayesh H, et al. A Higher Dietary Inflammatory Index Score is Associated with a Higher Risk of Incidence and Mortality of Cancer: A Comprehensive Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Prev Med*. 2020;11:15, doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_332_18.
- Wang J, Zhou Y, Chen K, et al. Dietary inflammatory index and depression: a meta-analysis. *Public health nutrition*. 2018;1-7, doi: 10.1017/s1368890018002628.
- Shivappa N, Godos J, Hebert JR, et al. Dietary Inflammatory Index and Cardiovascular Risk and Mortality-A Meta-Analysis. *Nutrients*. 2018;10(2), doi: 10.3390/nu10020200.
- Dalle S, Rossmeislova L, Kopko K. The Role of Inflammation in Age-Related Sarcopenia. *Frontiers in physiology*. 2017;8:1045, doi: 10.3389/fphys.2017.01045.
- Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and ageing*. 2018, doi: 10.1093/ageing/afy169.
- Herpich C, Haß U, Kochlik B, et al. Postprandial dynamics and response of fibroblast growth factor 21 in older adults. *Clin Nutr*. 2021;40(6):3765-71, doi: 10.1016/j.clnu.2021.04.037.
- Wong SH, Knight JA, Hopfer SM, Zaharia O, Leach CN, Jr., Sunderman FW, Jr. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clinical chemistry*. 1987;33(2 Pt 1):214-20.
- Weber D, Stuetz W, Bernhard W, et al. Oxidative stress markers and micronutrients in maternal and cord blood in relation to neonatal outcome. *European journal of clinical nutrition*. 2014;68(2):215-22, doi: 10.1038/ejcn.2013.263.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9, doi: 10.1007/bf00280883.
- Browning LM, Hsieh SD, Ashwell M. A systematic review of waist-to-height ratio as a screening tool for the prediction of cardiovascular disease and diabetes: 0.5 could be a suitable global boundary value. *Nutr Res Rev*. 2010;23(2):247-69, doi: 10.1017/s0954422410000144.
- Janssen I, Heymsfield SB, Baumgartner RN, Ross R. Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical impedance analysis. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md : 1985). 2000;89(2):465-71, doi: 10.1152/jappl.2000.89.2.465.
- Kyle UG, Genton L, Karsegard L, Slosman DO, Pichard C. Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20–94 years. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif). 2001;17(3):248-53, doi: 10.1016/s0899-9007(00)00553-0.
- Roberts HC, Denison HJ, Martin HJ, et al. A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: towards a standardised approach. *Age and ageing*. 2011;40(4):423-9, doi: 10.1093/ageing/afr051.
- Hardy R, Cooper R, Aihie Sayer A, et al. Body mass index, muscle strength and physical performance in older adults from eight cohort studies: the HALCYON programme. *PLoS one*. 2013;8(2):e56483, doi: 10.1371/journal.pone.0056483.
- Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Medicine and science in sports and exercise*. 2003;35(8):1381-95, doi: 10.1249/01.mss.0000078924.61453.fb.
- Hartmann BM, Vázquez-Cañedo AL, Bell S, Kreams C, Brombach C. The German nutrient database: Basis for analysis of the nutritional status of the German population. *J Food Compos Anal*. 2008;21:115-8, doi: https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.03.008.
- Schmitz G, Ecker J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in lipid research*. 2008;47(2):147-55, doi: 10.1016/j.plipres.2007.12.004.
- Cotogni P, Muzio G, Trombetta A, Ranieri VM, Canuto RA. Impact of the omega-3 to omega-6 polyunsaturated fatty acid ratio on cytokine release in human alveolar cells. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2011;35(1):114-21, doi: 10.1177/0148607110372392.
- Tibuakuu M, Kamimura D, Kianoush S, et al. The association between cigarette smoking and inflammation: The Genetic Epidemiology Network of Arteriopathy (GENOA) study. *PLoS one*. 2017;12(9):e0184914, doi: 10.1371/journal.pone.0184914.
- Kuprys PV, Tsukamoto H, Gao B, et al. Summary of the 2018 Alcohol and Immunology Research Interest Group (AIRIG) meeting. *Alcohol*. 2019;77:11-8, doi: 10.1016/j.alcohol.2018.08.010.
- Bu DX, Griffin G, Lichtman AH. Mechanisms for the anti-inflammatory effects of statins. *Curr Opin Lipidol*. 2011;22(3):165-70, doi: 10.1097/MOL.0b013e3283453e41.
- Renner SW, Qiao Y, Gmelin T, et al. Association of fatigue, inflammation, and physical activity on gait speed: the Long Life Family Study. *Ageing clinical and experimental research*. 2021, doi: 10.1007/s40520-021-01923-x.
- Mincicullo PL, Catalano A, Mandraffino G, et al. Inflammation and Anti-Inflammation: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*. 2016;64(2):111-26, doi: 10.1007/s00005-015-0377-3.
- Calder PC, Bosco N, Bourdet-Sicard R, et al. Health relevance of the modification of low grade inflammation in ageing (inflammageing) and the role of nutrition. *Ageing research reviews*. 2017;40:95-119, doi: 10.1016/j.arr.2017.09.001.
- Davis JA, Mohebbi M, Collier F, et al. The role of diet quality and dietary patterns in predicting muscle mass and function in men over a 15-year period. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2021;1-11, doi: 10.1007/s00198-021-06012-3.
- Davis JA, Mohebbi M, Collier F, et al. Diet quality and a traditional dietary pattern predict lean mass in Australian women: Longitudinal data from the Geelong Osteoporosis Study. *Prev Med Rep*. 2021;21:101316, doi: 10.1016/j.pmedr.2021.101316.
- Hebert JR, Shivappa N, Wirth MD, Hussey JR, Hurley TG. Perspective: The Dietary Inflammatory Index (DII)-Lessons Learned, Improvements Made, and Future Directions. *Advances in nutrition* (Bethesda, Md). 2019;10(2):185-95, doi: 10.1093/advances/nmy071.
- Gojanovic M, Holloway-Kew KL, Hyde NK, et al. The Dietary Inflammatory Index Is Associated with Low Muscle Mass and Low Muscle Function in Older Australians. *Nutrients*. 2021;13(4), doi: 10.3390/nu13041166.
- Bosaeus I, Wilcox G, Rothenberg E, Strauss BJ. Skeletal muscle mass in hospitalized elderly patients: comparison of measurements by single-frequency BIA and DXA. *Clinical nutrition* (Edinburgh, Scotland). 2014;33(3):426-31, doi: 10.1016/j.clnu.2013.06.007.

How to cite this article: U. Haß, C. Herpich, B. Kochlik, et al. Dietary Inflammatory Index and Cross-Sectional Associations with Inflammation, Muscle Mass and Function in Healthy Old Adults. *J Nutr Health Aging*. 2022;26(4):346-351; <https://doi.org/10.1007/s12603-022-1753-4>

Supplemental



Supplemental figure 1 Comparisons between old and young participants regarding a) energy intake in kilocalorie (kcal) per kilogram body weight (kg bw) per day, b) nutritional intake in gram (g) per day and c) distribution of daily omega (n)-6 to n-3 intakes with line at 2:1 indicating ideal intakes; MUFA mono-unsaturated fatty acids, PUFA poly-unsaturated fatty acids, SAFA saturated fatty acids



Supplemental figure 2 Regression analysis adjusted for sex between dietary inflammatory index and a) log-transformed interleukin 6 (IL-6) and b) handgrip strength of the dominant hand normalized to body mass index (HGS/BMI) in a sub-sample characterized as sedentary old adults

Publikation 2

Effects of an Omega-3 Supplemented, High-Protein Diet in Combination with Vibration and Resistance Exercise on Muscle Power and Inflammation in Old Adults: A Pilot Randomized Controlled Trial.

Ulrike Haß, Bastian Kochlik, Catrin Herpich, Stefan Rudloff, Kristina Norman.

Nutrients. 2022;14(20):4274

doi: 10.3390/nu14204274

Impact factor: 6.706 (2021)

Eigenanteil

Literaturrecherche

Konzeptualisierung des Studiendesigns

Einwerbung des Produktsponsorings

Datenerhebung

Statistische Auswertung

Anfertigung der Ergebnistabellen

Anfertigung der Publikation

Article

Effects of an Omega-3 Supplemented, High-Protein Diet in Combination with Vibration and Resistance Exercise on Muscle Power and Inflammation in Old Adults: A Pilot Randomized Controlled Trial

Ulrike Haß ^{1,2} , Bastian Kochlik ¹ , Catrin Herpich ^{1,2,3}, Stefan Rudloff ⁴ and Kristina Norman ^{1,2,3,5,*}

¹ Department of Nutrition and Gerontology, German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke, 14558 Nuthetal, Germany

² Institute of Nutritional Science, University of Potsdam, 14558 Nuthetal, Germany

³ Department of Geriatrics and Medical Gerontology, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin and Humboldt-Universität zu Berlin, 13347 Berlin, Germany

⁴ Institute of Sports Science, Martin Luther University of Halle-Wittenberg, 06108 Halle (Saale), Germany

⁵ German Center for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Berlin, 10115 Berlin, Germany

* Correspondence: kristina.norman@dife.de



Citation: Haß, U.; Kochlik, B.; Herpich, C.; Rudloff, S.; Norman, K. Effects of an Omega-3 Supplemented, High-Protein Diet in Combination with Vibration and Resistance Exercise on Muscle Power and Inflammation in Old Adults: A Pilot Randomized Controlled Trial. *Nutrients* **2022**, *14*, 4274. <https://doi.org/10.3390/nu14204274>

Academic Editor: Ann-Sofie Sandberg

Received: 15 September 2022

Accepted: 11 October 2022

Published: 13 October 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: Inflammaging is considered to drive loss of muscle function. Omega-3 fatty acids exhibit anti-inflammatory properties. Therefore, we examined the effects of eight weeks of vibration and home-based resistance exercise combined with a whey-enriched, omega-3-supplemented diet on muscle power, inflammation and muscle biomarkers in community-dwelling old adults. Methods: Participants were randomized to either exercise (3x/week, $n = 20$), exercise + high-protein diet (1.2–1.5 g/kg, $n = 20$), or exercise + high-protein and omega-3-enriched diet (2.2 g/day, $n = 21$). Muscle power (watt/m²) and chair rise test (CRT) time (s) were assessed via CRT measured with mechanography. Furthermore, leg strength (kg/m²) and fasting concentrations of inflammatory (interleukin (IL-) 6, IL-10, high-mobility group box-1 (HMGB-1)) and muscle biomarkers (insulin-like growth factor (IGF-) 1, IGF-binding protein-3, myostatin) were assessed. Results: Sixty-one participants (70.6 ± 4.7 years; 47% men) completed the study. According to generalized linear mixed models, a high-protein diet improved leg strength and CRT time. Only IGF-1 increased with additional omega-3. Sex-specific analyses revealed that muscle power, IL-6, IL-6/IL-10 ratio, and HMGB-1 improved significantly in the male high-protein, omega-3-enriched group only. Conclusion: Vibration and home-based resistance exercise combined with a high-protein, omega-3-enriched diet increased muscle power and reduced inflammation in old men, but not in old women. While muscle biomarkers remained unchanged, a high-protein diet combined with exercise improved leg strength and CRT time.

Keywords: inflammaging; healthy aging; omega-3; high protein; muscle power; chair rise test; mechanography; whole body vibration

1. Introduction

Aging is associated with a decline in muscle function. One contributing factor to this multi-factorial process is inflammaging [1]. Chronic inflammatory processes are known to activate proteolytic pathways and inhibit growth factors [2], and are predictive of lower muscle strength and muscle power in old adults [3]. Muscle power is determined by neuromuscular function [4] and exhibits an earlier and a more pronounced decline with age compared to muscle mass and strength [5]. Since movement is the action of force along a distance in a certain time, muscle power (= force × velocity) rather than mere muscle strength is the key element of functionality and determines fall risk [6] and mobility limitations [7]. In particular, sit-to-stand transitions are described as “the most important

neuromuscular risk factor for falls and fall-related fractures” [8] (p. 167). Therefore, chair rise tests (CRT) have prognostic value regarding individual fall risk in community-dwelling old adults [9] and are related to limitations in activities of daily living [10], which in turn are associated with lower quality of life and higher health care costs [10]. While resistance exercise is essential to preserve muscle strength and function, vibration exercise improves muscle power [11].

Aged muscles show a blunted response on protein intake, which is known as anabolic resistance [12]. Accordingly, ≥ 1.2 g protein/kg body weight (bw)/day is recommended in older-aged individuals; and in particular, whey protein is known as potent anabolic stimulus due to its high leucine content [13]. Furthermore, a diet-induced higher inflammatory burden is associated with systemic inflammation [14] as well as with reduced muscle mass and function in healthy old adults [15]. Omega-3 fatty acids have anti-inflammatory properties and have been shown to improve leg strength and CRT time in old adults [16]. Smith et al. [17] experimentally demonstrated that omega-3 supplementation (3.4 g/day) potentiates muscle protein synthesis in old adults following a hyper-aminoacidemic, hyper-insulinemic clamp. Different trials showed positive effects of omega-3 alone or combined with resistance exercise on lean mass, strength, or muscle function [16]. However, previous results from exercise and nutrition research are conflicting, and intervention studies combining vibration exercise and dietary modifications with omega-3 and protein supplementation that focus on muscle power in old adults still have to be performed [18]. Therefore, the primary aim of this pilot study was to estimate the effects of a high-protein diet supplemented with high-dose omega-3 fatty acids in combination with vibration and home-based resistance exercise on muscle power in old adults. In a second step, we evaluated how concomitant changes in inflammation were related to changes in muscle parameters. Further endpoints include leg strength, muscle biomarkers, and body composition.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Population Sample

This 8-week open-labelled, randomized-controlled pilot trial was conducted in a 3-arm design with community-dwelling old adults (65–85 years) who were recruited via the institute’s website, flyers, newsletters, and newspaper ads (01/2020–01/2022). Neuromuscular adaptation and gains in muscle power occur within 2–8 weeks of resistance exercise [19], and likely occur with more efficacy in combination with vibration exercise [20]. Due to the anticipated synergistic effects of vibration exercise with nutritional intervention, and in order to ensure compliance, the intervention was conducted over eight weeks. The study was approved by the University of Potsdam ethics committee (protocol code 58/2019), registered at the German study register (DRKS00018995) and carried out in accordance with the Declaration of Helsinki. Exclusion criteria were smoking, any malignant or severe disease, diabetes mellitus type 1 and 2, dementia, or severe food intolerances regarding milk protein, lactose, seafood or algae. All participants gave written informed consent. Following an overnight fast, all measurements were performed before and after treatment at the German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke. Participants were further instructed to refrain from alcohol and vigorous exercise the day prior to examinations.

2.2. Dietary Intervention

Participants were randomly assigned to either control, high-protein, or high-protein plus omega-3 fatty acids. Simple randomization with random numbers were used to generate random allocation sequence. While the control group continued their usual diet, both protein-enriched groups received a daily 300 mL whey drink (27 g protein; including 4 g leucine; 136 kcal). They were instructed to evenly distribute their daily protein intake with 25–30 g protein/meal, with a goal of 1.2–1.5 g protein/kg bw/day, as this has been recommended by leading experts [13] to overcome anabolic resistance. To support a sufficient protein intake per meal, we assisted the participants with a scoring system that translated protein amounts of common foods to points (5 g protein = 1 point). Participants were fur-

ther instructed to consume the whey drink within one hour after exercise on training days. Additionally, the high-protein, omega-3-enriched group was supplemented daily with 3.5 mL algae oil (2195 mg omega-3 fatty acids; including 1397 mg docosahexaenoic acid (DHA), 749 mg eicosapentaenoic acid (EPA), and 49 mg docosapentaenoic acid; 20 kcal) and instructed to take the oil with a fat-containing meal. The use of at least 2 g omega-3 fatty acids per day is deemed necessary to observe an effect in human interventional trials [18,21]. Compliance was evaluated by weighing left-overs of the supplements at the end of the study, as well as by measuring the omega-3 index in plasma.

2.3. Vibration and Home-Based Resistance Exercise

All participants received weekly vibration exercise on a Galileo[®] side-alternating vibration plate (Novotec Medical GmbH, Pforzheim, Germany) under guidance at the institute. This included a one-minute warm-up phase with a frequency at 12 Hz, three minutes of dynamic and static squatting at an amplitude of 1.5–2 mm, and a one-minute cool-down phase at 12 Hz. Additionally, all participants received instructions for home-based resistance exercises, which had to be performed three times per week. These sessions of approximately 45 min included body weight training with three sets of seated crunches, marching, squats, chair rises, and chair dips, which were easily and safely implementable in everyday life with no further equipment needed aside from one chair. To account for individual physical conditions and accordingly avoid under- or overtraining during the intervention period, vibration frequency and number of repetitions of home-based exercises were evaluated individually for each participant at baseline. The training protocol for each participant thus started at their individual upper performance limit, followed by a weekly increase in vibration frequency (+2 Hz) and number of repetitions (+2) to ensure progression. Adherence to training protocols were documented with training diaries.

2.4. Anthropometric Measurements

Weight (kg), height (cm), and waist circumference (cm) were measured according to standard criteria to subsequently calculate body mass index (BMI) (kg/m^2) and waist/height ratio. Body composition expressed as fat-free mass index (FFMI) (kg/m^2) was estimated with single frequency bioimpedance analysis (Bioimpedance Analyzer Quantum/S Akern, Florence, Italy; with resolution on impedance components: resistance (Rz) 1% and reactance (Xc) 2% according to the manufacturer) at 50 kHz with the participants lying in the supine position and electrodes placed on the right hand and foot.

2.5. Muscle Power

Our primary outcome of interest, muscle power, was assessed digitally via CRT, using LEONARDO[®] mechanography with a bench (height 46 cm) anchored to the force plate (Mechanograph[®] GRFP STD, Novotec Medical GmbH, Pforzheim, Germany). During the CRT, participants moved five times as fast as possible with arms crossed from a seated to a standing position. CRT time (s) and muscle power normalized for height squared (watt/m^2) were recorded.

2.6. Muscle Strength and Function

Knee extension strength (kg/m^2) was measured in both legs by performing five seconds of maximal isometric contraction, while seated in a dynamometer chair (Iso-CheckMobil, DigiMax Systems, Hamm, Germany) with hips and knees at 90 degrees and arms crossed. Grip strength (kg/BMI) was measured according to a standardized approach [22] using LEONARDO[®] mechanography (Mechanograph[®] GF, Novotec Medical GmbH, Pforzheim, Germany). Four-meter gait speed (m/s) was measured at participants' usual pace from a standing start.

2.7. Laboratory Assessments

Fasting blood samples were taken between 8–10 a.m. and stored at -80°C until analysis. Serum C-reactive protein (CRP) (mg/L) was analysed using a colorimetric method (ABX Pentra 400, Horiba Ltd., Kyoto, Japan), while interleukin (IL-) 6 (pg/mL), IL-10 (pg/mL), high-mobility group box (HMGB)-1 (ng/mL), myostatin (ng/mL), insulin-like growth factor (IGF)-1 (ng/mL) and IGF-binding protein (IGFBP)-3 (mg/mL) concentrations were measured by using commercial immunosorbent assays (IL-6 inter-assay coefficients of variability (CV): 4.7–5.0%, intra-assay CV: 4.2–5.1%; IL-10 inter-assay CV: 3.7–4.8%, intra-assay CV: 1.9–2.0%; IGF-1 inter-assay CV: 5.53–6.56%, intra-assay CV: 5.08–6.65%; IGFBP-3 inter-assay CV: 3.0–6.8%, intra-assay CV: 2.5–5.6% (all BioVendor, Brno, Czech Republic); HMGB-1 inter-assay CV: 1.3–10.7%, intra-assay CV: 3.2–10.2% (IBL International GmbH, Hamburg, Germany); myostatin inter-assay CV: 3.1–6.0%, intra-assay CV: 1.8–5.4% (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA)). IL-6 to IL-10 and IGF-1 to IGFBP-3 were also expressed as ratios, reflecting cytokine balance and IGF-1 bioavailability, respectively. Fatty acid spectrum was measured in plasma phospholipid fraction by gas chromatography as previously reported [23]. The omega-3 index represents the sum of EPA and DHA as percentage [%] of the total fatty acid spectrum.

2.8. Physical Activity

ActiGraph wGT3X-BT accelerometers (Actigraph Corp., Pensacola, FL, USA), worn on the right hip, were used to determine time spent in vigorous, moderate, low or sedentary activity (min./day) during the first and last study weeks. Participants were asked to record when the accelerometer was detached, e.g., when taking a shower or during swimming, to control for non-wear times. Data from at least four out of seven days (wear time \geq six h/day) [24] were analysed with ActiLife 6.13.4 software (Actigraph Corp., Pensacola, FL, USA), using Freedson cut-points [25].

2.9. Dietary Assessment

Dietary intake was recorded using 3-day dietary protocols and calculated with the nutrition software EBISpro version 2016 (Dr. J. Erhart, Willstätt-Legelshurst, Germany).

2.10. Data Analysis

Statistical analyses were performed with SPSS Statistics version 25 (IBM Corp., Chicago, IL, USA). Data distribution was checked using Kolmogorov-Smirnov tests and Q-Q plots and presented as either mean \pm standard deviation or median with interquartile range. Analysis of variance or Kruskal-Wallis tests were performed to compare continuous variables between the three groups at baseline. Differences in categorical variables were determined with Chi-square test. Within-group comparisons before and after treatment were tested with either paired *t*-test or Wilcoxon rank test. Associations between changes in dietary intakes, biomarker concentrations, muscle function, and body composition were determined with either Pearson (r) or Spearman (ρ) correlations.

Generalized linear mixed models with random effect on subjects to control for individual variance were used to investigate group-time interactions. Group \times time-interaction effects were evaluated in comparison to the reference group (control) at baseline as well as between the high-protein and the high-protein, omega-3-enriched group, and can be interpreted as the difference in the groups' regression line before and after treatment. All models were adjusted for age, sex, and physical activity, since we observed significant associations with muscle parameters and biomarkers. Due to skewness, biomarker concentrations have been log-transformed before analyses. Results are presented as beta regression coefficient (β) with robust standard error (SE). Statistical significance was assumed at $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Baseline Characteristics

A total of 61 old adults were included in the final analysis (see flow chart Supplementary Materials Figure S1). Participants were 70.6 ± 4.7 years old (53% women) and baseline characteristics such as age, sex distribution, body composition, muscle parameters, and biomarker concentrations were similar between the three groups (Table 1). Dietary intakes, fitness conditions, and physical activity were also comparable between the groups (Supplementary Materials Table S1).

3.2. Exercise Adherence, Dietary Compliance and Nutrient Intake

Participants of all three groups started with comparable vibration frequencies as well as exercise repetition numbers, and training protocols increased similarly between groups (Supplementary Materials Table S1).

Regarding whey supplementation, compliance rates were 98% and 96% in the high-protein group and the high-protein, omega-3-enriched group, respectively. Consequently, protein intakes increased significantly in both the high-protein ($+0.76 \pm 0.33$ g/kg bw, $p < 0.001$) and the high-protein, omega-3-enriched group ($+0.62 \pm 0.35$ g/kg bw, $p < 0.001$), resulting in 1.73 ± 0.27 g/kg/bw and 1.56 ± 0.36 g/kg/bw in the high-protein and the high-protein, omega-3-enriched group, respectively (Supplementary Materials Table S1).

Regarding omega-3 supplementation, the compliance was 85% and the omega-3 plasma index increased by $3.7 \pm 1.7\%$ ($p < 0.001$) in the high-protein, omega-3-enriched group. At the same time, the omega-3 plasma index decreased in the control ($-0.6 \pm 1.0\%$; $p = 0.015$) and the high-protein group ($-1.0 \pm 1.4\%$; $p = 0.006$) (Table 1).

3.3. Higher Protein Intake Improved Leg Strength, CRT Time, and Fat-Free Mass

Changes in leg strength ($r = 0.357$; $p = 0.005$ and $r = 0.370$; $p = 0.004$), CRT time ($r = -0.356$; $p = 0.005$ and $r = -0.359$; $p = 0.005$), and FFMI ($\rho = 0.324$, $p = 0.011$ and $\rho = 0.320$, $p = 0.012$) correlated moderately with changes in protein and leucine intake.

Table 2 displays changes in muscle parameters and body composition that were associated with each intervention in adjusted mixed models. Both protein-enriched interventions showed significantly higher FFMI after eight weeks. Although leg strength increased in both the high-protein ($+3.3 \pm 4.8$ kg/m², $p = 0.004$) and the high-protein, omega-3-enriched group ($+2.3 \pm 4.4$ kg/m², $p = 0.029$) in unadjusted within-group comparisons (Table 1), a significant change compared to control was only observed for the high-protein group (Table 2). However, the high-protein group did not significantly change compared to the high-protein, omega-3-enriched group (Table 2). CRT time was significantly decreased in the high-protein compared to the control group, but not significantly different compared to the high-protein, omega-3-enriched group (Table 2).

3.4. Effects of Omega-3 Supplementation on Muscle Power, Inflammation, and IGF-1

Changes in muscle power correlated positively with increase in EPA intake ($r = 0.269$; $p = 0.038$) and almost significantly with increasing DHA intake ($\rho = 0.245$; $p = 0.059$), but not with the increase in omega-3 plasma index ($\rho = 0.135$; $p = 0.302$). Moreover, increase in muscle power correlated inversely with decrease in IL-6 concentrations ($\rho = -0.257$; $p = 0.047$).

According to unadjusted within-group comparisons, muscle power increased significantly only in the high-protein, omega-3-enriched group ($+20.0 \pm 24.2$ watt/m², $p = 0.001$) (Table 1). However, no significant group-time interaction effects were observed in adjusted mixed model analyses (Table 2).

Table 1. Subject characteristics, body composition, physical function, and biomarkers compared between before (V1) and after (V2) eight weeks of control, high-protein (protein) and high-protein plus omega-3 (omega-3) diet.

	Control (n = 20)		Protein (n = 20)		p-Value ^Y (V1 vs. V2)		Omega-3 (n = 21)		p-Value ^Y (V1 vs. V2)		p-Value [†] (V1)	
	V1	V2	V1	V2	V1	V2	V1	V2	V1	V2	V1	V2
Sex (women/men)	10/10		11/9				11/10					
Age (years)	69.9 ± 4.5		71.5 ± 4.6				70.4 ± 5.1					
Waist/height ratio	0.58 ± 0.06	0.57 ± 0.06	0.60 ± 0.05	0.60 ± 0.06	0.110		0.59 ± 0.06	0.59 ± 0.05	0.653			
BMI (kg/m ²)	26.9 ± 2.7	26.9 ± 2.7	28.2 ± 2.3	28.4 ± 2.4	0.284		27.8 ± 2.7	28.0 ± 2.7	0.011			
FFMI (kg/m ²)	18.1 ± 2.1	18.0 ± 2.2	18.8 ± 2.1	19.2 ± 2.2	0.144		18.4 ± 2.4	18.8 ± 2.5	0.146			
Grip strength (kg/BMI)	1.21 (0.59)	1.20 (0.59)	1.00 (0.43)	0.95 (0.46)	0.260		1.15 (0.57)	1.13 (0.56)	0.794			
Gait speed (m/s)	1.33 (0.25)	1.30 (0.25)	1.37 (0.29)	1.29 (0.30)	0.351		1.31 (0.22)	1.32 (0.22)	0.024			
Muscle power (watt/m ²)	308 ± 68	311 ± 66	280 ± 68	289 ± 74	0.292		297 ± 62	317 ± 69	0.001			
CRT time (s)	4.68 (1.55)	5.46 (1.60)	5.13 (1.29)	4.39 (1.27)	0.057		4.60 (1.13)	4.51 (0.76)	0.823			
Leg strength (kg/m ²) *	22.2 ± 6.6	22.5 ± 6.3	20.6 ± 6.6	23.9 ± 7.4	0.004		22.4 ± 4.0	24.4 ± 6.0	0.029			
Omega-3 plasma index (%)	5.1 ± 1.2	4.5 ± 1.2	5.6 ± 1.7	4.7 ± 1.1	0.006		4.9 ± 1.4	8.6 ± 1.9	<0.001			
CRP (mg/mL)	1.20 (1.63)	1.00 (1.57)	1.23 (2.10)	1.07 (1.90)	0.268		2.21 (3.12)	1.52 (2.82)	0.478			
IL-6 (pg/mL)	2.97 (1.34)	2.98 (1.32)	2.62 (1.65)	2.62 (1.08)	0.911		3.01 (2.10)	2.56 (1.72)	0.004			
IL-10 (pg/mL)	8.21 (4.28)	8.58 (3.82)	7.84 (3.55)	8.12 (3.90)	0.687		9.43 (4.21)	8.02 (4.22)	0.001			
IL-6/IL-10 ratio	0.37 (0.38)	0.35 (0.33)	0.34 (0.25)	0.28 (0.18)	0.575		0.34 (0.23)	0.31 (0.20)	0.821			
HMBG-1 (ng/mL)	0.38 (1.29)	0.23 (0.80)	0.29 (0.50)	0.26 (0.36)	0.723		0.25 (0.64)	0.20 (0.26)	0.006			
IGF-1 (ng/mL)	204.7 ± 55.5	206.1 ± 48.8	205.5 ± 62.1	215.1 ± 70.9	0.492		230.4 ± 56.6	259.2 ± 63.7	0.004			
IGFBP-3 (mg/mL)	4.35 (1.37)	4.43 (1.86)	3.91 (2.55)	3.56 (4.44)	0.370		4.92 (2.83)	5.32 (3.36)	0.085			
IGF-1/IGFBP-3 ratio	47.0 ± 15.1	47.6 ± 16.1	55.3 ± 20.8	54.0 ± 21.4	0.741		48.8 ± 13.7	49.8 ± 15.4	0.744			
Myostatin (ng/mL)	2.52 (0.93)	2.85 (1.40)	2.36 (1.60)	2.50 (1.38)	0.709		2.72 (1.08)	2.90 (1.52)	0.821			

Values presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range). * One male subject excluded due to measurement error. † Between-group comparison at baseline (V1) with analysis of variance or Kruskal-Wallis test. ‡ Within-group comparison before and after treatment (V1 vs. V2) with paired t-test or Wilcoxon rank test. BMI—body mass index; CRP—c-reactive protein; CRT—chair rise test; FFMI—fat-free mass index; HMBG-1—high-mobility group box-1; IGF-1—insulin-like growth factor-1; IGFBP-3—IGF-binding protein-3; IL—interleukin.

Table 2. Baseline values and effects of eight weeks of high-protein (protein) or high-protein plus omega-3 (omega-3) diet in comparison to control on muscle parameters, body composition and biomarkers.

Outcome Variable	Baseline Values		Mixed Models with Interaction Effects [#]					
	Control (n = 20)	Protein Omega-3 (n = 21)	Protein Effects (Protein vs. Control) β (SE)	p-Value	Combined Effects (Omega-3 vs. Control) β (SE)	p-Value	Omega-3 Additional Effects (Omega-3 vs. Protein) β (SE)	p-Value
Muscle power (watt/m ²)	308 ± 68	280 ± 68	4.688 (11.632)	0.688	16.469 (10.452)	0.118	12.572 (9.381)	0.184
CRT time (s)	4.68 (1.55)	5.13 (1.29)	-0.939 (0.355)	0.009	-0.420 (0.352)	0.236	0.431 (0.303)	0.159
Leg strength (kg/m ²)	22.2 ± 6.6	20.6 ± 6.6	3.109 (1.388)	0.027	1.965 (1.266)	0.124	-1.177 (1.503)	0.436
FEMI (kg/m ²)	18.1 ± 2.1	18.8 ± 2.1	0.517 (0.252)	0.042	0.581 (0.236)	0.015	0.043 (0.279)	0.877
IL-6 (pg/mL)	2.97 (1.34)	2.62 (1.65)	-0.030 (0.044)	0.500	-0.078 (0.040)	0.056	-0.048 (0.034)	0.161
IL-10 (pg/mL)	8.21 (4.28)	7.84 (3.55)	-0.017 (0.030)	0.563	-0.046 (0.023)	0.050	-0.028 (0.025)	0.252
IL-6/IL-10 ratio	0.37 (0.38)	0.34 (0.25)	-0.013 (0.047)	0.792	-0.032 (0.043)	0.464	-0.020 (0.035)	0.579
HMGB-1 (ng/mL)	0.38 (1.29)	0.29 (0.50)	0.076 (0.158)	0.631	-0.152 (0.143)	0.287	-0.227 (0.133)	0.093
IGF-1 (ng/mL)	204.7 ± 55.5	205.5 ± 62.1	0.006 (0.031)	0.840	0.044 (0.020)	0.029	0.037 (0.032)	0.241
IGFBP-3 (mg/mL)	4.35 (1.37)	3.91 (2.55)	0.025 (0.038)	0.518	0.046 (0.035)	0.183	0.022 (0.037)	0.584
IGF-1/IGFBP-3 ratio	47.0 ± 15.1	55.3 ± 20.8	-0.018 (0.044)	0.687	-0.003 (0.039)	0.945	0.015 (0.041)	0.716
Myostatin (ng/mL)	2.52 (0.93)	2.36 (1.60)	-0.030 (0.035)	0.390	-0.011 (0.035)	0.757	0.019 (0.031)	0.538

Values at baseline presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range). [†] Between-group comparison at baseline with analysis of variance or Kruskal-Wallis test. [#] p-values for the comparison among the groups from baseline to 8 weeks obtained from generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age, sex, and physical activity. Please note: Biomarkers are shown as absolute values at baseline, but have been log-transformed before mixed model analyses. Data presented as beta-coefficient (β) with standard error (SE). CRT—chair rise test; FEMI—fat-free mass index; HMGB-1—high-mobility group box-1; IGF-1—insulin-like growth factor-1; IGFBP-3—IGF-binding protein-3; IL—interleukin.

Regarding inflammation, only the high-protein, omega-3-enriched group showed significantly decreased concentrations of IL-6, IL-10, and HMGB-1 in within-group comparisons (Table 1). Table 2 also displays adjusted changes in inflammation and muscle biomarkers according to each intervention. There was a trend, although non-significant, towards decreased IL-6 and IL-10 concentrations in the high-protein, omega-3-enriched group compared to control.

Unadjusted within-group comparisons showed that IGF-1 significantly increased only in the high-protein, omega-3-enriched group (Table 1). Moreover, in adjusted mixed model analyses, IGF-1 concentrations significantly increased with additional omega-3 supplementation compared to control (Table 2). However, neither IGFBP-3, IGF-1/IGFBP-3, nor myostatin concentrations showed significant changes in any of the models (Table 2).

3.5. Sex-Specific Differences in Muscle Parameters and Inflammation

Due to sex-specific associations with muscle parameters and inflammatory cytokine concentrations emerging in our previous models, we also performed the analyses separately for women and men. Supplementary Materials Tables S2 and S3 present the baseline values as well as effects of each intervention, separately displayed for female and male participants, respectively. Significant group-time interactions regarding muscle parameters occurred only in men (Supplementary Materials Table S3). Compared to control, a significant increase in muscle power as well as significant reductions in IL-6, IL-6/IL-10 ratio and HMGB-1 concentrations were observed in the male high-protein, omega-3-enriched group (Supplementary Materials Table S3). Comparing analyses between the high-protein and high-protein, omega-3-enriched groups confirmed higher muscle power, lower IL-6 and tendentially lower HMGB-1 after eight weeks with additional omega-3 supplementation in men (Supplementary Materials Table S3).

4. Discussion

This pilot trial in community-dwelling old adults resulted in increased leg strength and reduced CRT time after eight weeks of vibration and home-based resistance exercise, combined with a high-protein diet. Moreover, additional omega-3 supplementation improved muscle power and reduced IL-6 and IL-6/IL-10 ratio as well as HMGB-1 in male participants only.

To the best of our knowledge, this is the first study investigating the combination of a high-protein and omega-3-enriched diet with vibration exercise in a three-arm design in community-dwelling old adults focusing on muscle power. Previously, two trials examined the effects of a 12-week resistance training (three times/week) model combined with a daily multi-nutrient supplement (whey, casein, creatine, vitamin D, and omega-3) on muscle mass, strength, and function in 32 sedentary [26] and 49 healthy old men [27]. Although effects could not be attributed to single nutrients, both trials observed significant intervention effects for lean mass, strength, and, regarding sedentary men, also for CRT time (−9%). Protein and omega-3 seem to act synergistically on muscle protein synthesis by augmenting amino acid transport [28], increasing protein kinase activity [17,28], and improving mitochondrial function [29].

4.1. Different Effects on Muscle Strength and Power

Regarding leg strength and CRT time, the high-protein group showed significant improvements compared to control in the whole sample as well as separately analysed in male participants. This significant effect was lost when compared to the omega-3 supplemented group (Table 2). Importantly, the male high-protein group showed worse CRT time and leg strength at baseline, which may explain a stronger increase in the high-protein group after eight weeks, at least compared to control (Supplementary Materials Table S3). However, additional omega-3 supplementation was not superior to protein supplementation alone in our study. Since plateau effects of protein anabolism are known [12], one explanation may be that maximal rates of muscle protein synthesis were already reached with protein

intakes above 1.5 g/kg bw in both our protein-enriched groups. Furthermore, a recent meta-analysis concluded that omega-3 supplementation improves leg strength, but to a lesser extent when combined with resistance exercise, since exercise is already a strong anabolic stimulus [16].

Mixed models showed no significant improvement of muscle power in the whole study population, except for the male high-protein, omega-3-enriched group in sex-specific analyses. These intervention effects were further confirmed in direct comparison analyses between the high-protein and high-protein, omega-3-enriched group (Supplementary Materials Table S3). Moreover, changes in muscle power correlated positively with increased EPA as well as DHA intake, and inversely with decreased IL-6 concentrations. Importantly, although changes in omega-3 plasma index did not correlate with changes in IL-6 concentrations, a decline in IL-6 was exclusively observed in the high-protein, omega-3-enriched group. However, the beneficial effects of omega-3 fatty acids on muscle power are likely not only limited to their anti-inflammatory properties, as EPA and DHA exert different functions in skeletal muscle. While EPA is involved in muscle protein turnover, DHA is more relevant in neuromuscular functions [28]. Since muscle power is determined by neuromuscular function [4], the incorporation of omega-3 fatty acids in muscle and neuron membranes has been assumed to support the neuronal activation [28].

4.2. Impact on Growth Factors

IGF-1 increased significantly in our high-protein, omega-3-enriched group, which is in line with another observation after eight weeks of omega-3 supplementation in 62 middle-aged men with cardiovascular disease [30]. Although underlying mechanisms are largely unknown, one possible explanation attributes this to the anti-inflammatory properties of omega-3 fatty acids, since cytokines suppress anabolic signalling pathways [31].

Other muscle biomarkers remained unchanged in this study. Myostatin, for instance, is known as an inhibitor of skeletal muscle development, and suppression of myostatin has been shown to promote muscle growth [32]. However, since increased as well as decreased serum concentrations have been observed with aging, its contribution to the age-related loss of muscle mass and function is still under debate [32,33] and might therefore be of less relevance to muscle mass and function in this study.

4.3. No Significant Changes in the Control Group

Surprisingly, we observed no significant changes in muscle parameters, biomarkers or body composition in our control group. This is unexpected, since the control group received vibration and home-based resistance exercises at similar frequencies and amounts as the high-protein and high-protein, omega-3-enriched groups (Supplementary Materials Table S1). Home-based exercise programmes are beneficial in counteracting sedentariness and improving physical function, particularly in times with restricted activity, as has been shown during the COVID-19 pandemic [34]. However, compared to progressive, supervised strength training, home-based resistance exercise is a relatively mild-to-moderate intervention. In this regard, our exercise protocol may have lacked the intensity needed to gain significant improvements without any dietary intervention in well-functioning, community-dwelling old adults without physical limitations.

4.4. Sex-Specific Differences

Although our study is likely underpowered to detect sex-specific intervention effects, significant effects on muscle parameters and inflammation were only observed in men. Underlying mechanisms for sex-specific differences are complex and still under investigation, but are presumably attributed to sex-related genetic differences, concomitant hormonal milieu [35], and immune response [36], which also persist at older age. Furthermore, men exhibit a higher amount of type 2 muscle fibres and motor units [35], which result in greater strength and increased neuromuscular activation, i.e., muscle power. In our study, men

showed greater muscle strength and power compared to women (Supplementary Materials Table S4). Moreover, visceral fat triggers a pro-inflammatory milieu [36]. In comparison to our female participants, men showed higher waist/height ratio and cytokine concentrations (Supplementary Materials Table S4), and were therefore probably more prone to improvements regarding inflammation.

4.5. Strength and Limitations

One strength of this trial is the use of modern assessment techniques such as mechanography, which allowed a more greatly differentiated evaluation of muscle function. Moreover, since dietary records are prone to different record errors, we measured omega-3 plasma index to control for participants' adherence to omega-3 supplementation.

Limitations of our study may comprise the small sample size and the relatively short intervention time. However, this was a first pilot trial following an explorative approach to determine combined effects of a triple intervention in a three-arm study design on muscle power, inflammation and muscle biomarkers in community-dwelling old adults. Another limitation of our study may be the extent of vibration exercises (one session weekly) to improve muscle power.

5. Conclusions

Eight weeks of vibration and resistance exercise combined with a high-protein, omega-3-enriched diet is associated with increased muscle power and reduced inflammation in community-dwelling old men. IGF-1 increased in the omega-3-supplemented group only. Overall, a high-protein diet combined with exercise improved leg strength and CRT time. Significant sex-specific differences occurred regarding improvements in muscle function and inflammatory response, which should be further investigated in larger future trials.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/nu14204274/s1>, Figure S1: Flow chart of recruitment; Table S1: Daily dietary intake, physical activity, home-based exercises, and vibration frequency compared between before (V1) and after (V2) eight weeks of control, high-protein (protein) and high-protein plus omega-3 (omega-3) diet; Table S2: Baseline values and effects of eight weeks of high-protein (protein) or high-protein plus omega-3 (omega-3) diet in comparison to control on muscle parameters, body composition and biomarkers displayed for female participants; Table S3: Baseline values and effects of eight weeks of high-protein (protein) or high-protein plus omega-3 (omega-3) diet in comparison to control on muscle parameters, body composition and biomarkers displayed for male participants; Table S4: Key characteristics compared between female and male participants.

Author Contributions: Conceptualization, U.H. and K.N.; investigation, U.H. and S.R.; laboratory assessments, B.K. and C.H.; formal analysis, U.H.; funding acquisition, U.H.; writing—original draft preparation, U.H.; writing—review and editing, B.K., C.H., S.R. and K.N. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the German Society for Nutritional Medicine (DGEM), "DGEM research grant 2020".

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the University of Potsdam ethics committee (protocol code 58/2019 and date of approval: 21 October 2019).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Acknowledgments: This project received material support sponsored by SinoPlaSan AG, Baltmannsweiler Straße 50, 73262 Reichenbach an der Fils, Germany, and by Nutriprot GmbH, Carl-Zeiss-Straße 27, 24568 Kaltenkirchen, Germany.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders and sponsors had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

- Franceschi, C.; Campisi, J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J. Gerontology. Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2014**, *69* (Suppl. S1), S4–S9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Dalle, S.; Rossmeslova, L.; Koppo, K. The Role of Inflammation in Age-Related Sarcopenia. *Front. Physiol.* **2017**, *8*, 1045. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Barbieri, M.; Ferrucci, L.; Ragno, E.; Corsi, A.; Bandinelli, S.; Bonafè, M.; Olivieri, F.; Giovagnetti, S.; Franceschi, C.; Guralnik, J.M.; et al. Chronic inflammation and the effect of IGF-I on muscle strength and power in older persons. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2003**, *284*, E481–E487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Hepple, R.T.; Rice, C.L. Innervation and neuromuscular control in ageing skeletal muscle. *J. Physiol.* **2016**, *594*, 1965–1978. [[CrossRef](#)]
- Wiegmann, S.; Felsenberg, D.; Armbrrecht, G.; Dietzel, R. Longitudinal changes in muscle power compared to muscle strength and mass. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* **2021**, *21*, 13–25. [[PubMed](#)]
- Simpkins, C.; Yang, F. Muscle power is more important than strength in preventing falls in community-dwelling older adults. *J. Biomech.* **2022**, *134*, 111018. [[CrossRef](#)]
- Bean, J.F.; Leveille, S.G.; Kiely, D.K.; Bandinelli, S.; Guralnik, J.M.; Ferrucci, L. A comparison of leg power and leg strength within the InCHIANTI study: Which influences mobility more? *J. Gerontol. Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2003**, *58*, 728–733. [[CrossRef](#)]
- Runge, M.; Hunter, G. Determinants of musculoskeletal frailty and the risk of falls in old age. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* **2006**, *6*, 167–173.
- Lusardi, M.M.; Fritz, S.; Middleton, A.; Allison, L.; Wingood, M.; Phillips, E.; Criss, M.; Verma, S.; Osborne, J.; Chui, K.K. Determining Risk of Falls in Community Dwelling Older Adults: A Systematic Review and Meta-analysis Using Posttest Probability. *J. Geriatr. Phys. Ther.* **2017**, *40*, 1–36. [[CrossRef](#)]
- Mijnarends, D.M.; Luiking, Y.C.; Halfens, R.J.G.; Evers, S.; Lenaerts, E.L.A.; Verlaan, S.; Wallace, M.; Schols, J.; Meijers, J.M.M. Muscle, Health and Costs: A Glance at their Relationship. *J. Nutr. Health Aging* **2018**, *22*, 766–773. [[CrossRef](#)]
- Marín, P.J.; Rhea, M.R. Effects of vibration training on muscle power: A meta-analysis. *J. Strength Cond. Res. Natl. Strength Cond. Assoc.* **2010**, *24*, 871–878. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Moore, D.R.; Churchward-Venne, T.A.; Witard, O.; Breen, L.; Burd, N.A.; Tipton, K.D.; Phillips, S.M. Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires greater relative protein intakes in healthy older versus younger men. *J. Gerontol. Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2015**, *70*, 57–62. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bauer, J.; Biolo, G.; Cederholm, T.; Cesari, M.; Cruz-Jentoft, A.J.; Morley, J.E.; Phillips, S.; Sieber, C.; Stehle, P.; Teta, D.; et al. Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: A position paper from the PROT-AGE Study Group. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* **2013**, *14*, 542–559. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Haß, U.; Herpich, C.; Norman, K. Anti-Inflammatory Diets and Fatigue. *Nutrients* **2019**, *11*, 2315. [[CrossRef](#)]
- Haß, U.; Herpich, C.; Kochlik, B.; Weber, D.; Grune, T.; Norman, K. Dietary Inflammatory Index and Cross-Sectional Associations with Inflammation, Muscle Mass and Function in Healthy Old Adults. *J. Nutr. Health Aging* **2022**, *26*, 346–351. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Cornish, S.M.; Cordingley, D.M.; Shaw, K.A.; Forbes, S.C.; Leonhardt, T.; Bristol, A.; Candow, D.G.; Chilibeck, P.D. Effects of Omega-3 Supplementation Alone and Combined with Resistance Exercise on Skeletal Muscle in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* **2022**, *14*, 2221. [[CrossRef](#)]
- Smith, G.I.; Atherton, P.; Reeds, D.N.; Mohammed, B.S.; Rankin, D.; Rennie, M.J.; Mittendorfer, B. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: A randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **2011**, *93*, 402–412. [[CrossRef](#)]
- Bird, J.K.; Troesch, B.; Warnke, I.; Calder, P.C. The effect of long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids on muscle mass and function in sarcopenia: A scoping systematic review and meta-analysis. *Clin. Nutr. ESPEN* **2021**, *46*, 73–86. [[CrossRef](#)]
- Macaluso, A.; De Vito, G. Muscle strength, power and adaptations to resistance training in older people. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2004**, *91*, 450–472. [[CrossRef](#)]
- Osawa, Y.; Oguma, Y. Effects of whole-body vibration on resistance training for untrained adults. *J. Sport. Sci. Med.* **2011**, *10*, 328–337.
- Troesch, B.; Eggersdorfer, M.; Laviano, A.; Rolland, Y.; Smith, A.D.; Warnke, I.; Weimann, A.; Calder, P.C. Expert Opinion on Benefits of Long-Chain Omega-3 Fatty Acids (DHA and EPA) in Aging and Clinical Nutrition. *Nutrients* **2020**, *12*, 2555. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Roberts, H.C.; Denison, H.J.; Martin, H.J.; Patel, H.P.; Syddall, H.; Cooper, C.; Sayer, A.A. A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: Towards a standardised approach. *Age Ageing* **2011**, *40*, 423–429. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Jannasch, F.; Bedu-Addo, G.; Schulze, M.B.; Mockenhaupt, F.P.; Danquah, I. Serum phospholipid fatty acids, dietary patterns and type 2 diabetes among urban Ghanaians. *Nutr. J.* **2017**, *16*, 63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

24. Colley, R.; Connor Gorber, S.; Tremblay, M.S. Quality control and data reduction procedures for accelerometry-derived measures of physical activity. *Health Rep.* **2010**, *21*, 63–69.
25. Freedson, P.S.; Melanson, E.; Sirard, J. Calibration of the Computer Science and Applications, Inc. accelerometer. *Med. Sci. Sport. Exerc.* **1998**, *30*, 777–781. [[CrossRef](#)]
26. Nilsson, M.I.; Mikhail, A.; Lan, L.; Di Carlo, A.; Hamilton, B.; Barnard, K.; Hettinga, B.P.; Hatcher, E.; Tarnopolsky, M.G.; Nederveen, J.P.; et al. A Five-Ingredient Nutritional Supplement and Home-Based Resistance Exercise Improve Lean Mass and Strength in Free-Living Elderly. *Nutrients* **2020**, *12*, 2391. [[CrossRef](#)]
27. Bell, K.E.; Sniijders, T.; Zulyniak, M.; Kumbhare, D.; Parise, G.; Chabowski, A.; Phillips, S.M. A whey protein-based multi-ingredient nutritional supplement stimulates gains in lean body mass and strength in healthy older men: A randomized controlled trial. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0181387. [[CrossRef](#)]
28. McGlory, C.; Calder, P.C.; Nunes, E.A. The Influence of Omega-3 Fatty Acids on Skeletal Muscle Protein Turnover in Health, Disuse, and Disease. *Front. Nutr.* **2019**, *6*, 144. [[CrossRef](#)]
29. Lalia, A.Z.; Dasari, S.; Robinson, M.M.; Abid, H.; Morse, D.M.; Klaus, K.A.; Lanza, I.R. Influence of omega-3 fatty acids on skeletal muscle protein metabolism and mitochondrial bioenergetics in older adults. *Aging* **2017**, *9*, 1096–1129. [[CrossRef](#)]
30. Gholamhosseini, S.; Nematipour, E.; Djazayeri, A.; Javanbakht, M.H.; Koohdani, F.; Zareei, M.; Djalali, M. ω -3 fatty acid differentially modulated serum levels of IGF1 and IGFBP3 in men with CVD: A randomized, double-blind placebo-controlled study. *Nutrition* **2015**, *31*, 480–484. [[CrossRef](#)]
31. Bagheri, A.; Soltani, S.; Hashemi, R.; Heshmat, R.; Motlagh, A.D.; Esmailzadeh, A. Inflammatory potential of the diet and risk of sarcopenia and its components. *Nutr. J.* **2020**, *19*, 129. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Wiedmer, P.; Jung, T.; Castro, J.P.; Pomatto, L.C.D.; Sun, P.Y.; Davies, K.J.A.; Grune, T. Sarcopenia—Molecular mechanisms and open questions. *Ageing Res. Rev.* **2021**, *65*, 101200. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Larsson, L.; Degens, H.; Li, M.; Salviati, L.; Lee, Y.I.; Thompson, W.; Kirkland, J.L.; Sandri, M. Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol. Rev.* **2019**, *99*, 427–511. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Chaabene, H.; Prieske, O.; Herz, M.; Moran, J.; Höhne, J.; Kliegl, R.; Ramirez-Campillo, R.; Behm, D.G.; Hortobágyi, T.; Granacher, U. Home-based exercise programmes improve physical fitness of healthy older adults: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis with relevance for COVID-19. *Ageing Res. Rev.* **2021**, *67*, 101265. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Landen, S.; Hiam, D.; Voisin, S.; Jacques, M.; Lamon, S.; Eynon, N. Physiological and molecular sex differences in human skeletal muscle in response to exercise training. *J. Physiol.* **2021**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Varghese, M.; Song, J.; Singer, K. Age and Sex: Impact on adipose tissue metabolism and inflammation. *Mech. Ageing Dev.* **2021**, *199*, 111563. [[CrossRef](#)]

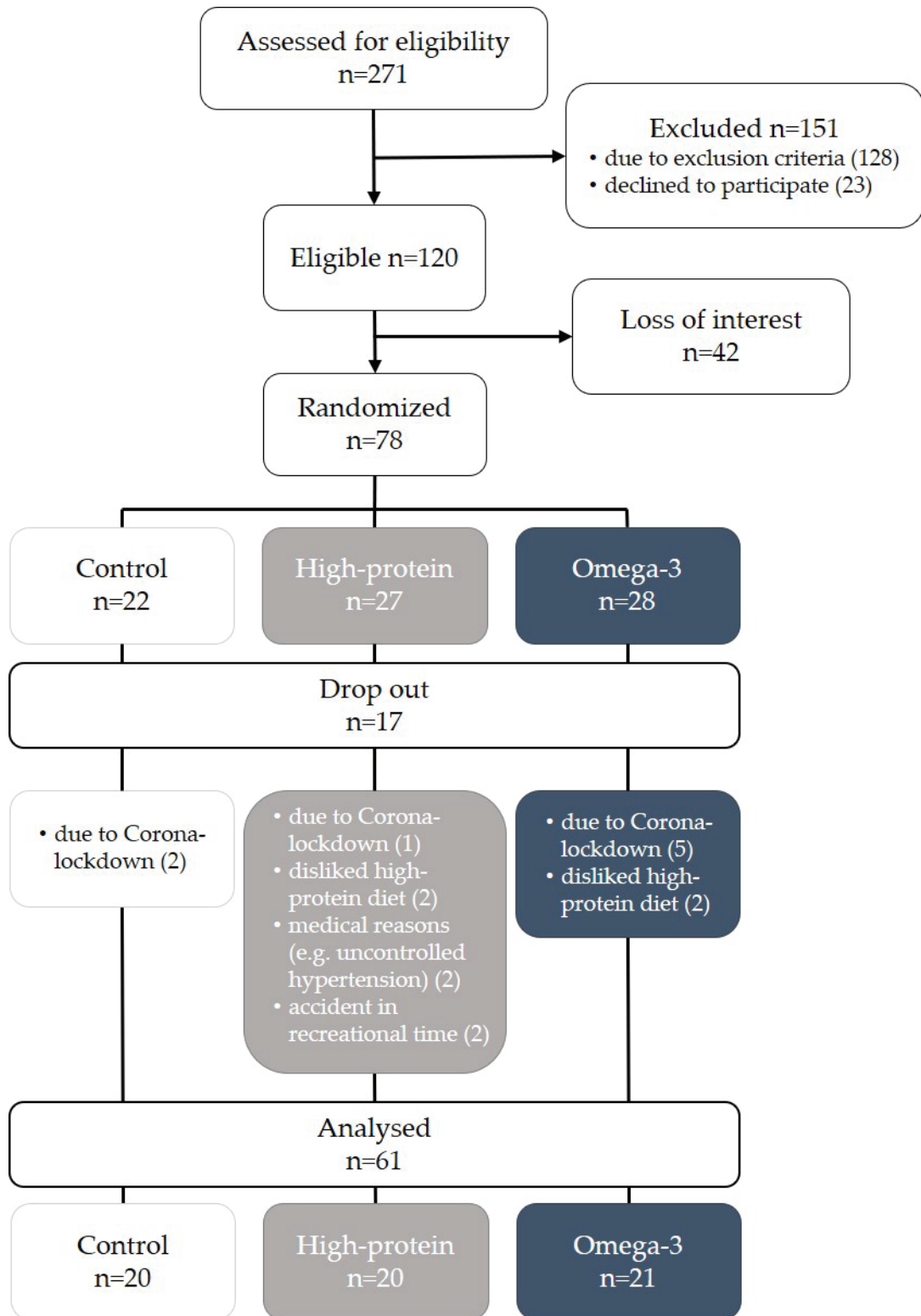


Figure S1. Flow chart of recruitment

Table S1. Daily dietary intake, physical activity, home-based exercises, and vibration frequency compared between before (V1) and after (V2) eight weeks of control, high-protein (protein) and high-protein plus omega-3 (omega-3) diet.

	Control (n = 20)		Protein (n = 20)		Omega-3 (n = 21)		p-value [†] (V1)	p-value [§] (Group × time)
	V1	V2	V1	V2	V1	V2		
Energy (kcal)	1899 ± 339	1986 ± 450	1966 ± 523	2195 ± 433	1958 ± 494	2028 ± 412	0.881	0.336
Carbohydrates (En%)	37.9 ± 6.1	35.8 ± 5.2	40.1 ± 6.1	34.9 ± 4.8	41.6 ± 7.8	35.9 ± 4.8	0.215	0.144
Protein (g/kg bw)	0.96 ± 0.19	0.97 ± 0.26	0.97 ± 0.20	1.73 ± 0.27 ^a	0.93 ± 0.21	1.56 ± 0.36 ^a	0.809	<0.001
Leucine (g)	5.6 ± 1.3	5.8 ± 1.7	5.8 ± 2.3	11.9 ± 1.7 ^a	5.6 ± 1.4	10.8 ± 2.3 ^a	0.851	<0.001
Fat (En%)	43.3 ± 5.3	45.8 ± 4.7	40.2 ± 5.8	37.3 ± 5.5 ^a	39.5 ± 7.2	37.2 ± 5.1 ^a	0.127	0.036
Omega-6 (g)	9.8 (7.3)	12.7 (8.9)	10.3 (4.9)	10.7 (8.0)	8.5 (5.5)	11.2 (5.5)	0.482	0.886
Omega-3 (g)	3.1 (2.1)	3.2 (3.4)	2.4 (3.7)	3.0 (3.2)	2.7 (2.1)	5.0 (2.8)	0.371	0.008
EPA (mg)	185 (503)	195 (395)	65 (165)	80 (258)	80 (250)	830 (370) ^{ab}	0.512	<0.001
DHA (mg)	235 (565)	245 (453)	145 (260)	215 (375)	150 (260)	1570 (385) ^{ab}	0.309	<0.001
Sedentary activity (min)	7539 ± 634	6966 ± 1077	7477 ± 674	7195 ± 910	7633 ± 730	7477 ± 755	0.764	0.170
Light activity (min)	2123 ± 677	1777 ± 614	2266 ± 578	2098 ± 665	2196 ± 621	1958 ± 531	0.772	0.246
Moderate activity (min)	197 ± 126	168 ± 133	171 ± 139	155 ± 132	165 ± 127	172 ± 117	0.720	0.461
Vigorous activity (min)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (1)	0 (2)	0 (4)	0.211	0.914
Cross crunches (n)	30 (26)	44 (27)	30 (38)	44 (39)	40 (70)	54 (65)	0.433	0.394
Marching (n)	40 (20)	52 (20)	50 (43)	61 (40)	40 (70)	54 (60)	0.694	0.303
Squats (n)	18 (9)	31 (8)	18 (10)	29 (10)	20 (15)	34 (17)	0.636	0.893
Chair rises (n)	15 (11)	29 (10)	20 (16)	34 (23)	20 (13)	34 (15)	0.190	0.639
Chair dips (n)	16 (10)	24 (8)	15 (10)	29 (9)	20 (10)	30 (16)	0.203	0.080
Vibration frequency (Hz)	20.0 (4.5)	33 (0)	20.5 (3.4)	33 (0)	20.0 (5.5)	33 (0)	0.922	0.828

Values presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range). [†] Group comparison at baseline (V1) with analysis of variance (ANOVA) or Kruskal-Wallis test. [§] Group comparison over time with repeated measures ANOVA. ^a Significantly different to control group. ^b Significantly different to protein group. bw body weight; DHA docosahexaenoic acid; EPA eicosapentaenoic acid.

Table S2. Baseline values and effects of eight weeks of high-protein (protein) or high-protein plus omega-3 (omega-3) diet in comparison to control on muscle parameters, body composition and biomarkers displayed for female participants.

W O M E N	Baseline values		Mixed-models with interaction effects [#]					
	Control (n = 10)	Protein (n = 11)	Omega-3 (n = 11)	p-value [†]	Protein effects (Protein vs Control)	Combined effects (Omega-3 vs Control)	Omega-3 additional effects (Omega-3 vs Protein)	p-value
Outcome variable					β (SE)	β (SE)	β (SE)	
Muscle power (watt/m ²)	232 (45)	264 (100)	252 (84)	0.629	-6.272 (15.355)	3.661 (15.499)	5.051 (11.307)	0.657
CRT-time (s)	5.52 (2.33)	4.74 (1.34)	4.84 (0.65)	0.410	-0.395 (0.441)	-0.390 (0.496)	0.190 (0.364)	0.604
Leg strength (kg/m ²)	18.4 (6.5)	20.8 (8.1)	20.1 (7.2)	0.346	1.271 (1.612)	1.592 (1.292)	-1.141 (1.391)	0.416
FFMI (kg/m ²)	16.0 (1.2)	17.6 (2.2)	16.5 (1.5)	0.164	0.570 (0.272)	0.631 (0.326)	0.034 (0.371)	0.927
IL-6 (pg/mL)	2.97 (1.55)	2.09 (1.28)	2.86 (2.07)	0.212	0.043 (0.053)	0.015 (0.049)	-0.014 (0.038)	0.710
IL-10 (pg/mL)	7.73 (5.59)	7.86 (3.44)	7.66 (4.24)	0.855	-0.048 (0.038)	-0.058 (0.022)	-0.007 (0.026)	0.776
IL-6/IL-10 ratio	0.46 ± 0.30	0.29 ± 0.13	0.36 ± 0.16	0.165	0.093 (0.055)	0.069 (0.048)	-0.007 (0.038)	0.851
HMGB-1 (ng/mL)	0.50 (1.13)	0.20 (0.55)	0.13 (0.53)	0.170	0.276 (0.230)	0.079 (0.169)	-0.152 (0.129)	0.242
IGF-1 (ng/mL)	175.9 (37.0)	201.7 (67.9)	219.2 (89.6)	0.096	0.011 (0.035)	0.049 (0.031)	0.046 (0.036)	0.211
IGFBP-3 (ng/mL)	3.89 (1.97)	3.89 (2.26)	3.70 (3.08)	0.757	0.044 (0.052)	0.079 (0.043)	0.054 (0.040)	0.178
IGF-1/IGFBP-3 ratio	48.1 ± 16.1	62.5 ± 19.1	55.0 ± 12.5	0.143	-0.033 (0.044)	-0.028 (0.049)	-0.008 (0.045)	0.854
Myostatin (ng/mL)	2.74 (3.10)	2.12 (1.01)	2.72 (1.18)	0.502	0.011 (0.042)	0.044 (0.043)	0.041 (0.031)	0.194

Values at baseline presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range). [†] Between-group comparison at baseline with analysis of variance (ANOVA) or Kruskal-Wallis test. [#] p-values for the comparison among the groups from baseline to 8 weeks obtained from generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age, sex, and physical activity. Please note: Biomarkers are shown as absolute values at baseline, but have been log-transformed before mixed-model analysis. Data presented as beta-coefficient (β) with (standard error (SE)). CRT chair rise test; FFMI fat-free mass index; HMGB-1 high-mobility group box-1; IGF-1 insulin-like growth factor-1; IGFBP-3 IGF-binding protein-3; IL interleukin.

Table S3. Baseline values and effects of eight weeks of high-protein (protein) or high-protein plus omega-3 (omega-3) diet in comparison to control on muscle parameters, body composition and biomarkers displayed for male participants.

M E N	Baseline values			Mixed-models with interaction effects †								
	Control (n = 10)	Protein (n = 9)	Omega-3 (n = 10)	p-value †	β (SE)	p-value	β (SE)	Combined effects (Omega-3 vs Control)	p-value	β (SE)	Omega-3 additional effects (Omega-3 vs Protein)	p-value
Muscle power (watt/m ²)	361 ± 34	297 ± 81 ^a	341 ± 37	0.045	17.065 (17.223)	0.327	28.376 (13.576)	0.042	21.606 (10.088)	0.037		
CRT-time (s)	4.54 ± 0.73	6.17 ± 1.95 ^{a,b}	4.37 ± 0.83	0.009	-1.532 (0.543)	0.007	-0.388 (0.481)	0.424	0.689 (0.372)	0.069		
Leg strength (kg/m ²)	25.4 ± 5.3	19.5 ± 7.5	24.1 ± 3.1	0.078	4.417 (1.839)	0.020	3.064 (2.085)	0.148	-1.714 (2.085)	0.415		
FFMI (kg/m ²)	19.9 ± 1.3	20.6 ± 1.2	20.6 ± 1.1	0.314	0.533 (0.443)	0.235	0.501 (0.312)	0.115	0.139 (0.281)	0.623		
IL-6 (pg/mL)	2.97 (1.40)	3.69 (2.52)	3.33 (4.02)	0.722	-0.100 (0.064)	0.124	-0.176 (0.057)	0.003	-0.085 (0.038)	0.030		
IL-10 (pg/mL)	8.74 (6.79)	7.81 (5.17)	10.27 (7.24)	0.182	0.024 (0.039)	0.550	-0.047 (0.039)	0.237	-0.052 (0.026)	0.053		
IL-6/IL-10-ratio	0.40 ± 0.32	0.47 ± 0.20	0.37 ± 0.16	0.658	-0.125 (0.067)	0.066	-0.129 (0.062)	0.042	-0.033 (0.044)	0.457		
HMGB-1 (ng/mL)	0.22 (1.37)	0.34 (0.61)	0.36 (0.83)	0.586	-0.088 (0.162)	0.588	-0.434 (0.212)	0.046	-0.315 (0.179)	0.084		
IGF-1 (ng/mL)	238.8 ± 54.7	201.4 ± 67.6	242.7 ± 64.6	0.304	0.004 (0.054)	0.939	0.034 (0.025)	0.184	0.028 (0.033)	0.409		
IGFBP-3 (mg/mL)	4.71 (3.79)	4.41 (5.38)	5.69 (2.50)	0.366	0.000 (0.053)	0.997	0.012 (0.053)	0.825	-0.014 (0.046)	0.757		
IGF-1/IGFBP-3-ratio	46.0 ± 14.8	46.4 ± 20.3	42.0 ± 12.2	0.798	0.002 (0.078)	0.981	0.024 (0.060)	0.689	0.042 (0.051)	0.413		
Myostatin (ng/mL)	2.44 ± 0.61	3.62 ± 1.83	2.96 ± 1.42	0.189	-0.078 (0.053)	0.150	-0.062 (0.053)	0.248	-0.039 (0.057)	>0.999		

Values at baseline presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range). † Between-group comparison at baseline with analysis of variance (ANOVA) or Kruskal-Wallis test. ^a Significantly different to control group. ^b Significantly different to omega-3 group. †p-values for the comparison among the groups from baseline to 8 weeks obtained from generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age, sex, and physical activity. Please note: Biomarkers are shown as absolute values at baseline, but have been log-transformed before mixed-model analysis. Data presented as beta-coefficient (β) with (standard error). CRT chair rise test; FFMI fat free mass index; HMGB-1 high-mobility group box-1; IGF-1 insulin-like growth factor-1; IGFBP-3 IGF-binding protein-3; IL interleukin.

Table S4. Key characteristics compared between female and male participants.

	Women (n = 32)	Men (n = 29)	p-value
Waist/height ratio	0.58 ± 0.05	0.61 ± 0.06	0.064
Muscle power (watt/m ²)	252.2 (79.7)	343.0 (58.6)	<0.001
Leg strength (kg/m ²) *	19.6 (8.9)	24.2 (5.1)	0.022
IL-6 (pg/mL)	2.39 (1.07)	3.19 (1.93)	0.011
IL-10 (pg/mL)	7.75 (3.14)	9.43 (4.89)	0.038
IL-6/IL-10 ratio	0.37±0.21	0.41±0.23	0.474

Values presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range) and compared using *t*-Test or Mann-Whitney U-Test. * One male subject excluded due to measurement error. IL interleukin.

Publikation 3

Effects of Exercise and Omega-3-Supplemented, High-Protein Diet on Inflammatory Markers in Serum, on Gene Expression Levels in PBMC, and after Ex Vivo Whole-Blood LPS Stimulation in Old Adults.

Ulrike Haß, Sarah Heider, Bastian Kochlik, Catrin Herpich, Olga Pivovarova-Ramich, Kristina Norman.

International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(2):928

doi: 10.3390/ijms24020928

Impact factor: 6.208 (2021)

Eigenanteil

Literaturrecherche

Konzeptualisierung des Studiendesigns

Einwerbung des Produktsponsorings

Datenerhebung

Statistische Auswertung

Anfertigung der Grafiken und Tabellen

Anfertigung der Publikation



Article

Effects of Exercise and Omega-3-Supplemented, High-Protein Diet on Inflammatory Markers in Serum, on Gene Expression Levels in PBMC, and after Ex Vivo Whole-Blood LPS Stimulation in Old Adults

Ulrike Haß^{1,2}, Sarah Heider^{2,3}, Bastian Kochlik¹ , Catrin Herpich^{1,2,4}, Olga Pivovarova-Ramich^{3,5,6,†} and Kristina Norman^{1,2,4,7,*,†}

- ¹ Department of Nutrition and Gerontology, German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke, 14558 Nuthetal, Germany
 - ² Institute of Nutritional Science, University of Potsdam, 14558 Nuthetal, Germany
 - ³ Research Group Molecular Nutritional Medicine, German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke, 14558 Nuthetal, Germany
 - ⁴ Department of Geriatrics and Medical Gerontology, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin and Humboldt-Universität zu Berlin, 13347 Berlin, Germany
 - ⁵ Department of Endocrinology, Diabetes and Nutrition, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, 10117 Berlin, Germany
 - ⁶ German Center for Diabetes Research (DZD), 85764 München-Neuherberg, Germany
 - ⁷ German Centre for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Berlin, 10785 Berlin, Germany
- * Correspondence: kristina.norman@charite.de
† These authors contributed equally to this work.



Citation: Haß, U.; Heider, S.; Kochlik, B.; Herpich, C.; Pivovarova-Ramich, O.; Norman, K. Effects of Exercise and Omega-3-Supplemented, High-Protein Diet on Inflammatory Markers in Serum, on Gene Expression Levels in PBMC, and after Ex Vivo Whole-Blood LPS Stimulation in Old Adults. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 928. <https://doi.org/10.3390/ijms24020928>

Academic Editor: Walter Fiedler

Received: 30 November 2022

Revised: 21 December 2022

Accepted: 28 December 2022

Published: 4 January 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Inflammaging is related to cell senescence and reflects an erratic immune system, which promotes age-associated diseases. Exercise and nutrition, particularly omega-3 fatty acids, are able to affect inflammation. Therefore, we examined the effects of an 8-week exercise and dietary intervention on the inflammatory response in community-dwelling old adults. All participants received weekly vibration and home-based resistance exercise. Furthermore, participants were randomized to either a control, high-protein (1.2–1.5 g/kg), or high-protein, omega-3-enriched (2.2 g/day) diet. Before and after treatment, inflammatory markers in fasting serum and after whole-blood ex vivo lipopolysaccharide (LPS) stimulation were assessed. Gene expression levels of inflammatory markers were quantified in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). Sixty-one participants (age: 70.6 ± 4.7 years; 47% men) completed the study. According to generalized linear mixed models, a high-protein, omega-3-enriched diet decreased circulating anti-inflammatory interleukin (IL-) 10 and IL-1 receptor antagonist (IL-1RA). Sex-stratified analyses showed also significantly reduced pro-inflammatory markers in men with a high-protein, omega-3-enriched diet. Gene expression of IL-1RA was significantly reduced after both protein-enriched diets compared with controls. In comparison to a high-protein diet, exercise alone showed lower LPS-induced release of c-c motif chemokine ligand-2 (CCL-2), which tended to be more pronounced in men compared with women. Eight weeks of a high-protein, omega-3-enriched diet combined with exercise decreased circulating anti-inflammatory markers, and pro-inflammatory markers in men. A high-protein diet attenuated anti-inflammatory markers on gene expression level in PBMC. Exercise alone resulted in a lower pro-inflammatory response to LPS-exposure in whole-blood cultures.

Keywords: inflammaging; immunosenescence; cytokines; gene expression; peripheral blood mononuclear cells; lipopolysaccharide stimulation; omega-3 fatty acids; high-protein diet; whole-body vibration exercise

1. Introduction

A persistent low-grade inflammation in higher age, also known as inflammaging, alters cell function and fuels age-related diseases such as cardio-metabolic diseases as well as musculoskeletal disorders, such as sarcopenia [1]. For instance, inflammation-driven macrophage infiltration into arterial walls and in pancreas causes atherosclerotic plaque formation and β -cell apoptosis, which in turn leads to atherosclerosis and insulin resistance, respectively [2]. Furthermore, it is known that chronic inflammation inhibits growth factors and activates proteolytic pathways, resulting in loss of skeletal muscle [3]. Underlying mechanisms of inflammaging are complex and include increasing cellular senescence and accumulation of endogenous cell debris (damage-associated molecular patterns) [1]. Furthermore, immune senescence and senescent cells, which particularly accumulate in visceral adipose tissue, stimulate an innate inflammatory response (senescence-associated secretory phenotype) [4]. Moreover, old adults exhibit less naive B cells and regulatory T cells, while memory regulatory T cells show increased numbers. This decrease in immune cell diversity increases failure to self-tolerance, resulting in increased inflammation, impaired host defense against pathogens, and an elevated risk of autoimmunity in old adults [1,4]. In particular, non-dividing, aged B cells, which are present in inflammatory processes, are able to secrete cytokines and are involved in antibody production associated with autoimmunity [4].

The term “inflamm-aging” has recently been extended to “inflamm-inactivity”, since it is recognized that a sedentary lifestyle causes a relevant proportion of inflammatory processes [5], which are reversible with regular exercise even in higher age, as different meta-analyses have shown [6,7]. Furthermore, a lower dietary inflammatory burden has been associated with lower systemic inflammation in old adults [8]. In particular, omega-3 polyunsaturated fatty acids (omega-3) have direct and indirect anti-inflammatory properties due to altered cell membrane phospholipid fatty acid composition with modulation of pro- and anti-inflammatory transcription factor activity, resulting in reduced inflammatory gene expressions [9–11]. A recent meta-analysis affirmed the beneficial effects of omega-3 supplementation on common inflammatory markers such as c-reactive protein (CRP), interleukin (IL-) 6, and tumor necrosis factor (TNF-) α under various health conditions [10]. Although still under debate, evidence further suggests that proteins in particular from dairy/whey or soy have anti-inflammatory potential [12–15]. We recently performed an intervention trial to assess the physical and biochemical effects of whole-body vibration training and home-based exercise in combination with a high-protein, omega-3-enriched diet in community-dwelling old adults [16]. Hereby, we observed significant alterations of several circulating inflammatory markers with additional omega-3 supplementation [16]. Therefore, the primary aim of this sub-analysis was the detailed investigation of the impact of an omega-3-supplemented, high-protein diet in combination with exercise on inflammatory status in old adults using analyses of inflammatory markers in serum, on gene expression levels in peripheral blood mononuclear cells (PBMC), and in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole-blood cultures. Since we observed sex-specific differences in our previous analyses [16] and it is recommended to consider the impact of sex on inflammation even in higher age [17], we also examined sex-related inflammatory responses in sub-group analyses.

2. Results

2.1. Baseline Characteristics

In total, 61 old adults (70.6 ± 4.7 years; 53% women) were included in the final analysis. The three groups, consisting of either a control, a high-protein (protein), or a high-protein, omega-3-enriched diet (protein + omega-3), showed similar baseline characteristics such as age, sex distribution, body composition (Table 1) as well as physical fitness and dietary intakes (see Table S1 as published in [16]). Baseline values of inflammatory markers were also comparable between groups, aside from serum IL-1RA (Table 1).

Table 1. Baseline characteristics and inflammatory markers, displayed for control, high-protein (protein), and high-protein, omega-3 enriched (protein + omega-3) groups.

	Control (n = 20)	Protein (n = 20)	Protein + Omega-3 (n = 21)
Sex [female/male]	10/10	11/9	11/10
Age [years]	69.9 ± 4.5	71.5 ± 4.6	70.4 ± 5.1
Medication [n]	3 ± 2	2 ± 2	2 ± 2
Waist/height ratio	0.58 ± 0.06	0.60 ± 0.05	0.59 ± 0.06
Body mass index [kg/m ²]	26.9 ± 2.7	28.2 ± 2.3	27.8 ± 2.7
Fat mass index [kg/m ²]	8.75 ± 2.38	9.44 ± 2.28	9.37 ± 1.98
Serum concentrations			
IL-6 (pg/mL)	2.97 (1.34)	2.62 (1.65)	3.01 (2.10)
IL-10 (pg/mL)	8.21 (4.28)	7.84 (3.55)	9.43 (4.21)
IL-6/IL-10 ratio	0.37 (0.38)	0.34 (0.25)	0.34 (0.23)
IL-1RA (pg/mL)	923 ± 366	790 ± 432	1228 ± 661 ^a
CCL-2 (pg/mL)	214 (119)	229 (118)	251 (62)
HMGB-1 (ng/mL)	0.38 (1.29)	0.29 (0.50)	0.25 (0.64)
Gene expression levels in PBMC			
IL6	0.03 (0.04)	0.05 (0.07)	0.05 (0.05)
IL10	0.19 (0.20)	0.17 (0.28)	0.16 (0.21)
IL1RN	0.05 (0.03)	0.05 (0.01)	0.05 (0.01)
IL1B	0.04 (0.03)	0.04 (0.02)	0.04 (0.01)
CCL2	0.004 (0.007)	0.005 (0.005)	0.005 (0.003)
TNFA	0.56 (0.28)	0.66 (0.24)	0.57 (0.19)
LPS-induced concentrations in whole-blood cultures			
IL-6 (pg/mL)	7618 (3598)	6407 (5659)	7059 (5004)
IL-10 (pg/mL)	2.48 (7.12)	3.41 (4.32)	2.66 (2.82)
IL-1RA (pg/mL)	6194 (2640)	5116 (4605)	4913 (4310)
IL-1β (pg/mL)	850 (587)	954 (660)	879 (440)
CCL-2 (pg/mL)	122 (100)	109 (131)	101 (82)
TNF-α (pg/mL)	3245 ± 1488	2787 ± 1394	3117 ± 1151

Continuous variables are expressed as mean ± standard deviation or median (interquartile range). ^a Significantly different to protein group. CCL-2/CCL2 c-c motif chemokine ligand-2; IL interleukin, β/B beta, RA/RN receptor antagonist; HMGB-1 high-mobility group box-1; LPS lipopolysaccharide; PBMC peripheral blood mononuclear cell; TNF-α/TNFA tumor necrosis factor-α.

2.2. Adherence to Interventions and Changes in Body Composition

With regard to our exercise intervention, the participants started with overall comparable physical fitness and showed similar adherence to exercise protocols regarding vibration training as well as home-based exercises (see Table S1 as published in [16]).

The high adherence rate of omega-3 supplementation resulted in a significantly increased omega-3 plasma index only in the protein + omega-3 group (see Table 1 as published in [16]). Moreover, high compliance rates of whey supplementation in the protein and protein + omega-3 group resulted in significantly increased protein intakes in both groups (see Table S1 as published in [16]). Due to the higher protein intakes, fat intakes significantly decreased in both protein-enriched groups compared with control (see Table S1 as published in [16]). However, further relevant dietary intakes, such as caloric and carbohydrate intake, did not change significantly between groups (see Table S1 as published in [16]).

Although the body mass index (BMI) significantly increased only within the protein + omega-3 group ($+0.26 \pm 0.43 \text{ kg/m}^2$, $p = 0.011$), changes in fat mass index (FMI) were comparable between the control ($+0.15 \pm 0.73 \text{ kg/m}^2$), the protein ($-0.24 \pm 0.82 \text{ kg/m}^2$), and the protein + omega-3 ($-0.18 \pm 0.82 \text{ kg/m}^2$) group (overall $p = 0.257$).

2.3. Omega-3 Supplementation Decreased Circulating Inflammatory Markers

To investigate intervention effects on inflammatory markers in old adults, we first assessed the circulating levels of IL-6, IL-10, IL-1 receptor antagonist (IL-1RA), c-c motif chemokine ligand-2 (CCL-2), and high-mobility group box-1 (HMGB-1) in fasting serum samples. According to unadjusted within-group comparisons before and after treatment, serum concentrations of IL-6 ($p = 0.005$), IL-10 ($p < 0.001$), IL-1RA ($p = 0.001$), and HMGB-1 ($p = 0.001$) significantly decreased in the protein + omega-3 group (Figure 1). Fully adjusted mixed models confirmed significant decreased IL-10 ($p = 0.041$) and IL-1RA ($p = 0.016$) serum concentrations in the protein + omega-3 group compared with control (Figure 1).

Subsequent sex-stratified analyses indicated that additional omega-3 supplementation led to significantly decreased IL-10 in both women ($p = 0.021$) and men ($p = 0.004$) (Figure S1), while in men, also significantly decreases in IL-6 ($p = 0.005$), CCL-2 ($p = 0.010$), and HMGB-1 ($p = 0.049$) were found compared with control (Figure S1). Moreover, compared with the protein group, additional omega-3 supplementation in men resulted in significantly reduced CCL-2 ($p = 0.004$) and HMGB-1 ($p = 0.001$), and also showed a trend towards decreased IL-6 ($p = 0.095$) (Figure S1). Furthermore, a lower IL-6/IL-10 ratio ($p = 0.053$) was observed in the male protein + omega-3 group compared with control (Figure S1), and IL-1RA concentrations tended to decrease in the female ($p = 0.093$) as well as in the male ($p = 0.099$) protein + omega-3 group compared with control (Figure S1). Comparison between sexes revealed that the changes in IL-10 ($p = 0.028$) and CCL-2 ($p = 0.011$) were significantly different between women and men, while the change in IL-6 showed a trend ($p = 0.075$) (Figure S1).

2.4. Gene Expression Levels of Inflammatory Markers in PBMC Are Reduced with Both Protein-Enriched Dietary Interventions

To better understand intervention effects on immune cells in old adults, we analyzed expression levels of genes coding cytokines/chemokines in isolated PBMC. Within-group comparison showed significant reductions in gene expression levels of IL-6 (*IL6*; $p = 0.030$) and CCL-2 (*CCL2*; $p = 0.011$) exclusively in the protein group (Figure 2). Furthermore, IL-1RA (*IL1RN*) expression levels significantly decreased in the protein ($p < 0.001$) as well as in the protein + omega-3 group ($p = 0.001$) (Figure 2). Adjusted mixed models confirmed a significant reduction in *IL1RN* after eight weeks of a protein ($p = 0.013$) as well as a protein + omega-3 diet ($p = 0.018$) compared with control (Figure 2). In addition, the protein group showed a trend towards reduced gene expression levels of *CCL2* compared with control ($p = 0.098$) (Figure 2).

In women, sex-stratified analyses indicated in the protein as well as the protein + omega-3 group significant reductions on gene expression levels of *IL6* ($p = 0.016$ and $p = 0.004$) and *IL1RN* ($p = 0.010$ and $p = 0.004$) (Figure S2). In men, the protein group showed significant decreases in gene expression levels of *CCL2* compared with control ($p = 0.019$) (Figure S2), and a trend towards lower gene expression levels of *CCL2* ($p = 0.067$) and TNF- α (*TNFA*; $p = 0.090$) compared with the protein + omega-3 group (Figure S2). Although no statistically significant changes in IL-1 β (*IL1B*) gene expression levels were found within sexes, the male protein + omega-3 group showed a significantly greater decline in expression levels compared with the female protein + omega-3 group ($p = 0.025$) (Figure S2). However, no further sex-specific response was observed for gene expression levels.

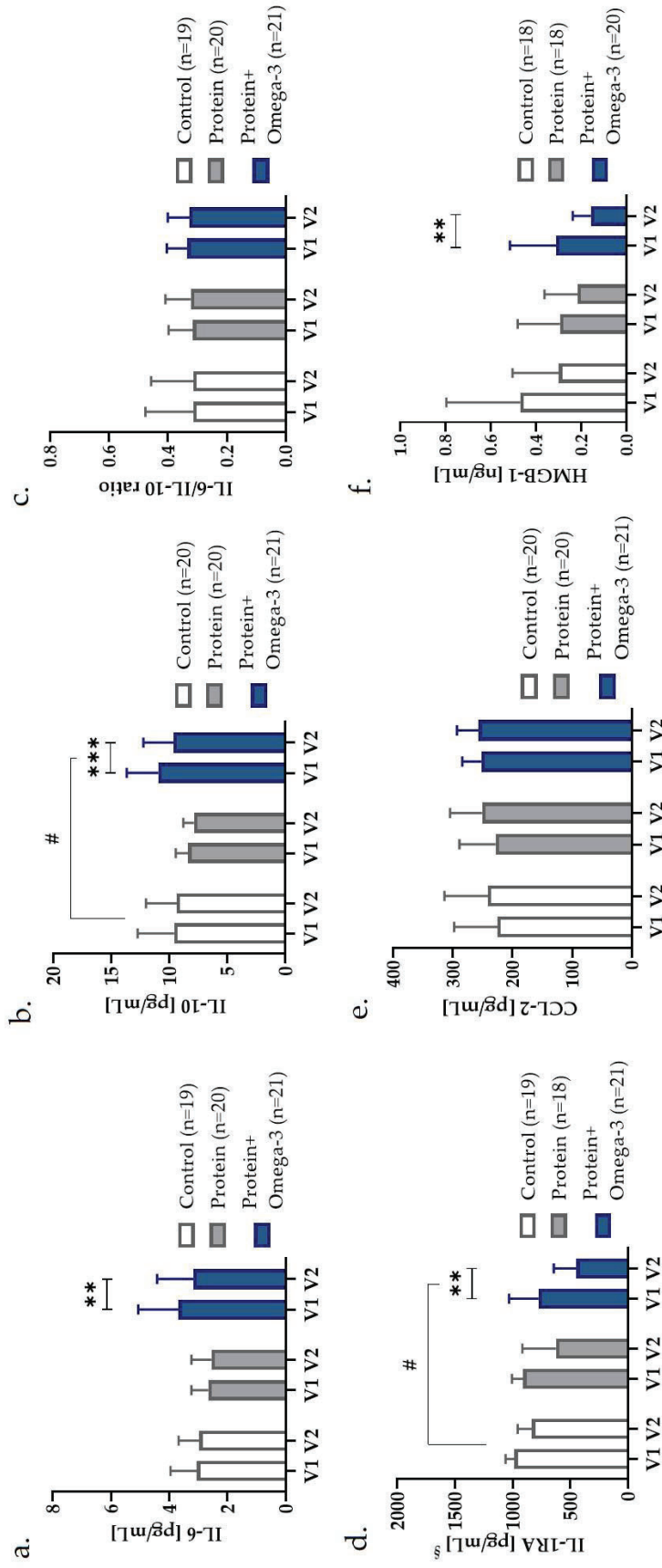


Figure 1. Fasting serum concentrations of (a) IL-6, (b) IL-10, (c) IL-6/IL-10 ratio, (d) IL-1RA, (e) CCL-2, and (f) HMGB-1 presented as estimated mean with 95% confidence interval before (V1) and after (V2) eight weeks of control, high-protein (protein) or high-protein, omega-3-enriched (protein + omega-3) diet. * $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ obtained from within-group comparisons with either paired *t*-test or Wilcoxon rank test, and # $p < 0.05$ indicating group \times time-interaction effects between groups in generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age, sex, and fat mass index, \S and due to significantly different cases at baseline, also adjusted for baseline values. CCL-2 c-c motif chemokine ligand-2; HMGB-1 high-mobility group box-1; IL interleukin, RA receptor antagonist.

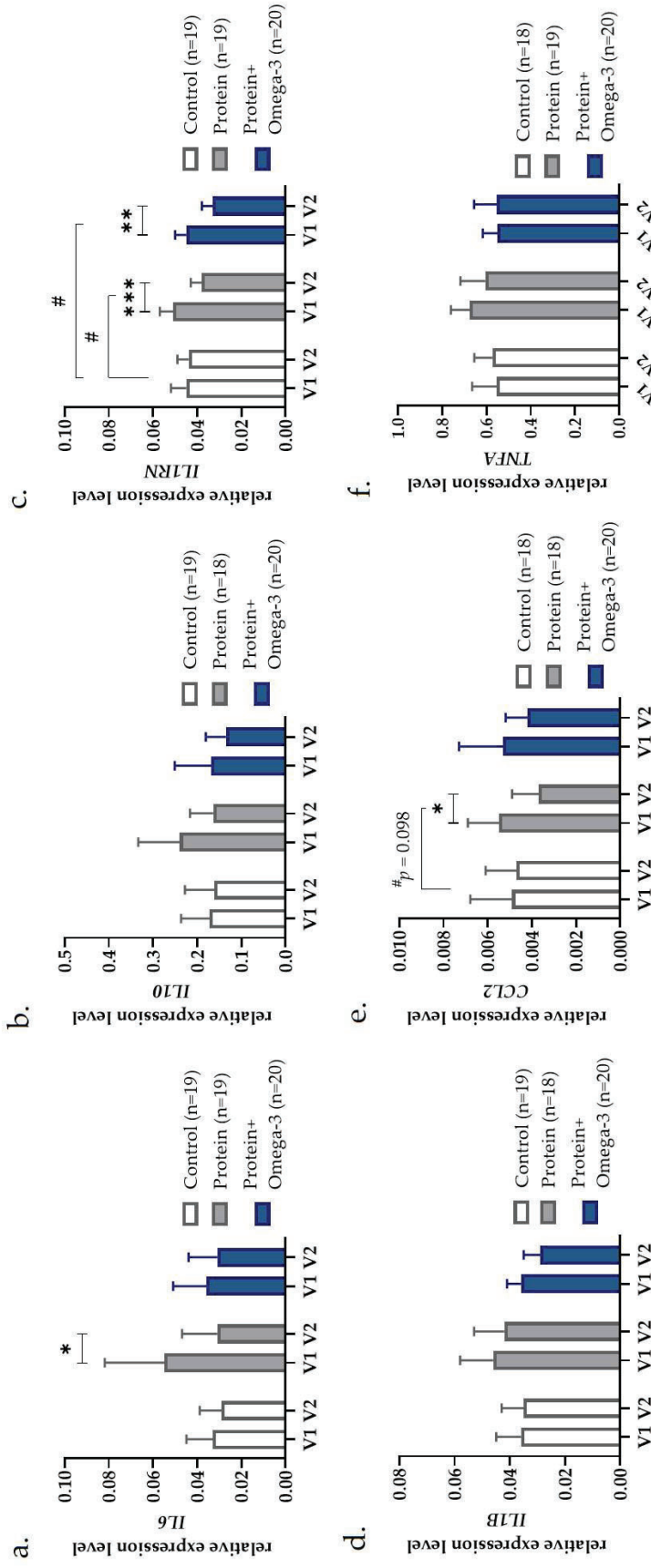


Figure 2. Gene expression levels analyzed in peripheral blood mononuclear cells of (a) *IL6*, (b) *IL10*, (c) *IL1B*, (d) *IL1RN*, (e) *IL1B*, and (f) *TNFA* presented as estimated mean with 95% confidence interval before (V1) and after (V2) eight weeks of control, high-protein (protein) or high-protein, omega-3-enriched (protein + omega-3) diet. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ obtained from within-group comparisons with either paired *t*-test or Wilcoxon rank test, and # $p < 0.05$ indicating group \times time-interaction effects in generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age, sex, and fat mass index. CCL2 c-c motif chemokine ligand-2; IL interleukin, B beta, RN receptor antagonist; TNFA tumor necrosis factor- α .

2.5. Reduction in Ex Vivo LPS-Stimulated Cytokine/Chemokine Release after Exercise and Dietary Interventions

To investigate how exercise and dietary interventions affect the immune cell capacity of old adults, we evaluated the LPS-stimulated secretion levels of cytokines/chemokines in whole-blood cultures. Unadjusted within-group comparison indicated a significantly diminished LPS-induced production of IL-1RA in the protein group ($p = 0.020$) as well as protein + omega-3 group ($p = 0.030$) (Figure 3). However, only the protein group showed a trend towards decreased IL-1RA concentrations compared with control ($p = 0.066$) in adjusted mixed models (Figure 3).

Furthermore, within-group comparisons depicted a significant lower LPS-induced release of CCL-2 after eight weeks exclusively in the control group ($p = 0.046$) (Figure 3). Mixed model analyses confirmed significant differences of the intervention effects in the control vs. protein group ($p = 0.046$) (Figure 3).

In women, a significant reduced LPS-induced release of IL-1RA in the protein group ($p = 0.044$) and a trend towards reduced IL-1 β release in the protein + omega-3 group ($p = 0.051$) was observed compared with control (Figure S3). In men, CCL-2 release significantly reduced in the control group compared with the protein group ($p = 0.004$) and tended also to be lower in the protein + omega-3 compared with the protein group ($p = 0.096$) (Figure S3). Moreover, the male protein + omega-3 group showed a trend towards greater decline in LPS-induced TNF- α release compared with the protein group ($p = 0.064$) (Figure S3). Furthermore, direct comparison of changes between women and men showed a trend towards a stronger decline in CCL-2 ($p = 0.072$) as well as IL-1 β release ($p = 0.080$) in the male compared with the female control group (Figure S3).

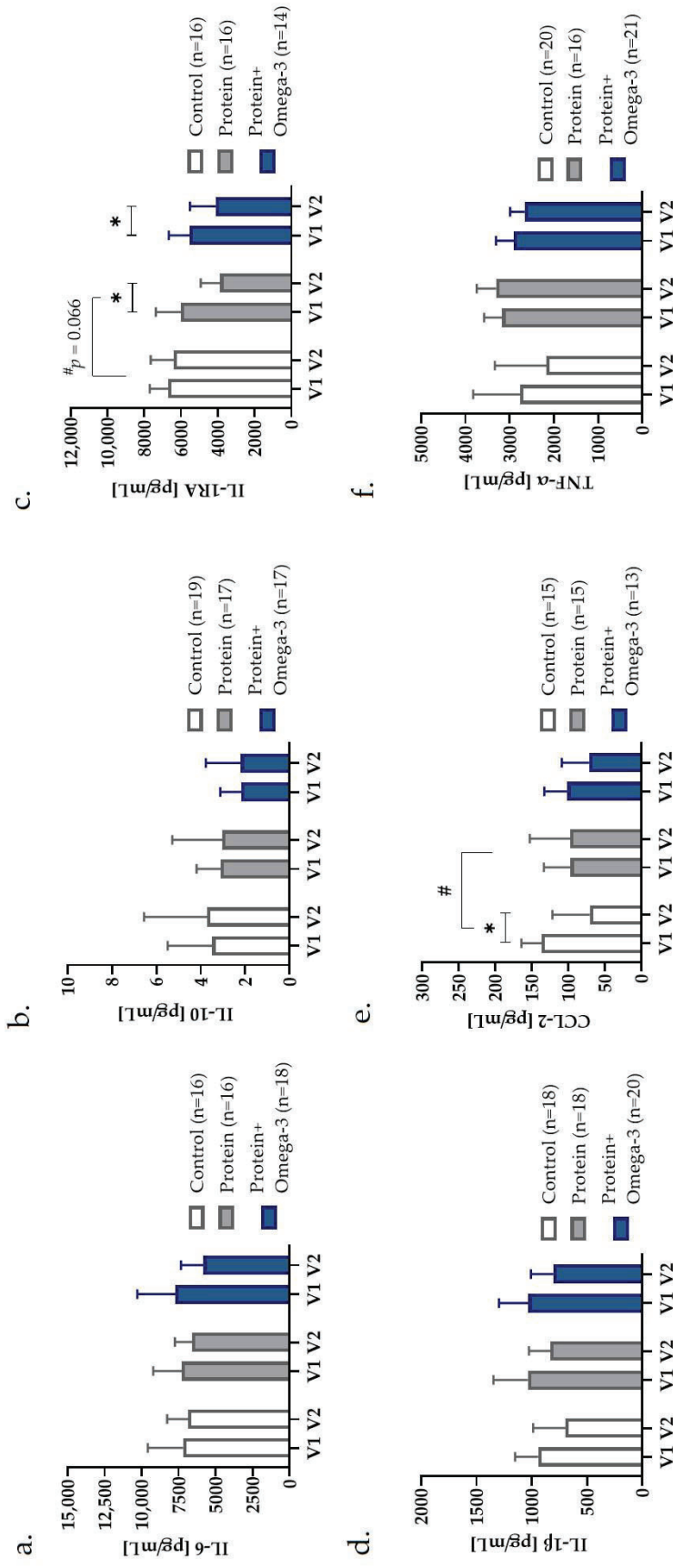


Figure 3. Ex vivo whole-blood LPS-induced concentrations of (a) IL-6, (b) IL-10, (c) IL-1RA, (d) IL-1β, (e) CCL-2, and (f) TNF-α presented as estimated mean with 95% confidence interval before (V1) and after (V2) eight weeks of control, high-protein (protein) or high-protein, omega-3-enriched (protein + omega-3) diet. * $p < 0.05$ obtained from within-group comparisons with either paired *t*-test or Wilcoxon rank test, and # $p < 0.05$ indicating group × time-interaction effects between groups in generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age, sex, and fat mass index. CCL-2 c-c motif chemokine ligand-2; IL interleukin, RA receptor antagonist; TNF-α tumor necrosis factor-α.

3. Discussion

To the best of our knowledge, the present sub-analysis is the first to investigate the impact of a whey protein-enriched, omega-3-supplemented diet in combination with whole-body vibration training and home-based exercise on the inflammatory status in community-dwelling old adults, using the combination of analyses in serum, in PBMC, and in ex vivo LPS-stimulated whole-blood cultures. A high-protein, omega-3-enriched diet (for 8 weeks) resulted in significantly decreased circulating anti-inflammatory IL-10 and IL-1RA. Moreover, circulating pro-inflammatory IL-6, CCL-2, and HMGB-1 decreased with omega-3 supplementation in men. Gene expression levels of *IL1RN* were significantly reduced with both a high-protein and high-protein, omega-3-enriched diet. According to mixed models, exercise alone compared with exercise combined with a high-protein diet showed a diminished LPS-induced release of CCL-2 in whole-blood cultures, which is likely attributable to men.

3.1. Isolated Effects of Exercise Intervention on LPS-Induced Chemokine Release

Details regarding the dietary compliance rates and exercise adherence of our participants were recently published [16]. In brief, the participants were comparably compliant to training protocols regarding vibration training and home-based exercises [16]. Aside from significantly lower LPS-induced CCL-2 release in whole-blood cultures, we observed no further significant changes in inflammatory markers on protein or gene expression levels in our control group, receiving only exercise. This is unexpected, since it has been reported that exercise in general is improving the inflammatory response in old adults [7]. However, our results are in line with another study, which observed no changes in IL-6, IL-10, IL-1 β , and TNF- α on protein and gene expression levels after nine weeks of vibration training (3 days/week) in community-dwelling old adults [18].

Another study performing 12 weeks of moderate strength exercises with 45 healthy old women also observed no changes in IL-2, IL-6, IL-10, TNF- α , and interferon- γ , produced by T lymphocytes [19].

Home-based resistance exercise programs are effective in counteracting sedentariness [20], but are relatively mild-to-moderate interventions compared with progressive, supervised strength training. Therefore, our combined exercise protocol may have been not intense enough to gain significant changes on the immune response in healthy old adults.

3.2. Decreased Inflammatory Markers in Serum after High-Protein, Omega-3 Enriched Diet

Although there is a lack of knowledge about interaction effects between exercise and omega-3 supplementation, particularly in old adults, it is assumed that omega-3 acts complementary to exercise in immunomodulatory and anti-inflammatory processes [21]. This is in line with our observation on circulating inflammatory markers. At least in men, exercise in combination with a high-protein, omega-3-enriched diet led to significant reduced concentrations of IL-6, CCL-2, and HMGB-1 (Figure S1). The additional effects of omega-3 were moreover confirmed by direct comparisons between the protein and the protein + omega-3 group (Figure S1). We also found a reduction in the anti-inflammatory IL-10 and IL-1RA, which might be interpreted as a compensatory effect to the decreasing pro-inflammatory concentrations. However, there is a lack of studies which investigate the combined effect of training and diet on pro-inflammatory and anti-inflammatory markers in healthy old adults.

3.3. Gene Expression Levels of Inflammatory Markers Reduced with Protein-Enriched Diets

We observed significantly lower gene expression levels of *IL6* and *IL1RN* with both protein-enriched diets in women. Furthermore, *CCL2* expression was significantly lower in men after the high-protein intervention. Literature on the influence of dietary protein on inflammation is controversial and may depend on the protein source and amino acid composition. In 37 patients (64 ± 6 years) with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease, six weeks of an animal- or plant-based high-protein diet resulted in equally

reduced inflammation [13,22]. Indeed, evidence suggests that proteins particularly from dairy/whey or soy have also anti-inflammatory potential [12,23]. Whey consists of different proteins, including β -lactoglobulin, α -lactalbumin, glycomacropeptide, and lactoferrin, possessing anti-inflammatory and immune-regulatory properties. The anti-inflammatory effect of whey has recently been shown after 13 weeks of supplementation in old adults with sarcopenia [15] as well as after even 3 weeks in 42 patients with acute stroke [14].

3.4. Attenuated or no Change in LPS-Induced Immune Response with Dietary Interventions

In our study, we used the ex vivo whole-blood assay which is a promising method to assess the cytokine release and cell activation in response to dietary or exercise intervention. It has been demonstrated that old compared with young adults show an attenuated pro-inflammatory response to LPS exposure, possibly reflecting an impaired host defense against pathogens [24]. A study performed in healthy old women, found an increased production of concanavalin A- and LPS-induced cytokine release from lymphocytes after 12 weeks of strength exercise and omega-3 supplementation, which was interpreted as improved immune system and functioning of neutrophils [19]. In contrast, we observed a trend towards lower LPS-induced concentrations of IL-1 β in the female protein + omega-3 group, and lower CCL-2 and TNF- α release in the male protein + omega-3 group (Figure S3). Interestingly, in patients with Alzheimer's disease, significantly decreased LPS-induced release of IL-6 and IL-1 β in PBMC after six months of omega-3 supplementation (2.3 g/day) was reported [25]. However, in 46 healthy (middle-) aged adults no effect of 12 weeks daily supplementation with 1 g omega-3 on LPS-induced concentrations of IL-1 β and TNF- α in PBMC was observed [26]. Results from human studies examining LPS-induced cytokine release or gene expression levels of inflammatory markers in response to omega-3 supplementation in old adults are therefore not consistent which in part might be due to the presence and type of underlying disease. Therefore, the clinical importance of our observations on the ageing immune system is uncertain, but it is likely that the additional supplementation with omega-3 fatty acids in moderate amounts caused no or only little effects on the immune response.

3.5. Sex-Related Differences

Since it has been recommended to consider the impact of sex on inflammation even in higher age [17], we performed sex-stratified analyses and compared changes between women and men. Sex-stratified analyses showed significant changes on various inflammatory markers in either women or men. However, only changes in circulating IL-10 and CCL-2 concentrations (Figure S1), gene expression levels of *IL1B* (Figure S2), as well as the LPS-induced release of IL-1 β and CCL-2, were significantly different between women and men (Figure S3). Progressive, unphysiological enlargement of adipocytes leads to an oxygen undersupply, resulting in cell necrosis with infiltration of macrophages and local inflammation, which in turn will extend to systemic inflammation on the long-term [27]. Since (visceral) adipose tissue triggers a pro-inflammatory milieu [17], the different response might partially be explained by higher abdominal fat mass as indicated by a higher waist/height ratio in our male compared with female participants (Table S1).

3.6. Strength and Limitations

One strength of this trial is the variety of assessments of inflammatory markers in serum, on gene expression level as well as in response to LPS exposure, which allowed us to have a differentiated evaluation of the inflammatory response in old adults. Furthermore, adherence to the exercise and dietary interventions was high in both the protein and the protein + omega-3 group [16].

Limitations of our study are the small sample size and the relatively short intervention time. However, this analysis was a pilot trial using an explorative approach to determine combined effects of a dietary and exercise intervention on inflammation in community-dwelling old adults. The triple intervention of exercise, whey/protein enrichment and omega-3 supplementation, might impede the interpretation of the results, since all of them

are associated with anti-inflammatory effects. However, we used a three-arm study design to distinguish the separate effects of the dietary interventions.

4. Materials and Methods

4.1. Study Design and Population Sample

This is a sub-analysis of an 8-week randomized controlled intervention trial in a 3-arm design, which has been described elsewhere in detail [16]. Briefly, we recruited community-dwelling old adults (65–85 years) without any malignant or severe disease, which are associated with chronic inflammation (e.g., rheumatism), diabetes mellitus type 1 and 2, dementia, or severe food allergies. The study was approved by the University of Potsdam ethics committee, registered at the German study register (DRKS00018995) and carried out in accordance with the Declaration of Helsinki. All participants gave written informed consent. Participants were instructed to refrain from alcohol and vigorous exercise the day prior to examination. Following an overnight fast, all measurements were performed at the German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke.

4.2. Anthropometric Measurements

Weight (kg), height (cm), and waist circumference (cm) were measured to subsequently calculate BMI (kg/m^2) and waist/height ratio. Body composition expressed as FMI (kg/m^2) was estimated with single frequency bioimpedance analysis (Bioimpedance Analyzer Quantum/S Akern, Florence, Italy) at 50 kHz with the participants lying in the supine position.

4.3. Dietary Assessment

Daily dietary intake was recorded using 3-day dietary protocols and calculated with the nutrition software EBISpro version 2016 (Dr. J. Erhart, Willstätt-Legelshurst, Germany).

4.4. Laboratory Assessments

All blood samples were collected between 8 and 10 a.m. after an overnight fast and stored at $-80\text{ }^\circ\text{C}$ until analysis. Commercial enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) were used to measure serum concentrations (pg/mL) of IL-6, IL-10, IL-1RA, CCL-2 (all BioVendor, Brno, Czech Republic), and HMGB-1 (ng/mL) (IBL International GmbH, Hamburg, Germany) according to manufacturer's instructions. IL-6 to IL-10 was also expressed as ratio, reflecting cytokine balance. The omega-3 plasma index was measured in phospholipid fractions by gas chromatography as described elsewhere [28] and represents the sum of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) as percentage of the total fatty acid spectrum.

4.5. PBMC Isolation, RNA Extraction, and Gene Expression with qPCR

To isolate PBMC, blood was collected with 8 mL BD Vacutainer[®] CPT[™]-tubes (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes/NJ, USA) and centrifuged ($1650\times g$, 20 min, $20\text{ }^\circ\text{C}$) within a two-hour window. After centrifugation, the PBMC layer was washed twice with phosphate-buffered saline and centrifuged ($250\times g$, 15 min, $20\text{ }^\circ\text{C}$). Isolated cells were counted and stored at $-80\text{ }^\circ\text{C}$ until further analyses.

Ribonucleic acid (RNA) was extracted from isolated PBMC using the NucleoSpin[®] RNA Plus kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany). Synthesis of cDNA was performed with High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems[™], Waltham/MA, USA). Gene expression was assessed by the quantitative real-time PCR (qPCR) using the SYBR[™] Green dye (Power SYBR[™] Green PCR Master Mix, Applied Biosystems[™], Waltham/MA, USA) and specific primers (Table S2). All samples were measured as triplicates in optical 384-well plates (Applied Biosystems[™], Waltham/MA, USA) and quantified using the standard curve method (Applied Biosystems[™], Waltham/MA, USA). Relative expression levels of the target genes IL-6 (*IL6*), IL-10 (*IL10*), IL-1RA (*IL1RN*), IL-1 β (*IL1B*), CCL-2 (*CCL2*), and TNF- α (*TNFA*) were normalized to the housekeeping gene beta-2-microglobulin (*B2M*).

4.6. Ex Vivo Whole-Blood LPS Stimulation

Ex vivo stimulation of whole-blood samples with LPS was performed to evaluate immune cell capacity as described previously [29]. In brief, after the collection, heparinized whole-blood was immediately diluted in a 1:5 ratio with RPMI 1640 medium (Invitrogen/Life Technology, Carlsbad/CA, USA). Blood cultures (2 mL/well) were either stimulated with 100 ng LPS/mL (LPS from *Escherichia coli*, O55:B5, Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany) or the same amount of medium (as a control) and incubated in sterile TC dish 35 standard (Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Germany) for 4 h, at 37 °C in 5% CO₂. After incubation, samples were centrifuged (2000 × g, 3 min, 20 °C) to remove cellular components and supernatants were frozen at −80 °C until further processing. LPS-induced concentrations (pg/mL) of IL-6, IL-10, IL-1RA, IL-1β, CCL-2, and TNF-α were measured with commercial ELISA (all BioVendor, Brno, Czech Republic).

4.7. Whole-Body Vibration Training and Home-Based Resistance Exercise

All participants trained once per week under guidance at the institute on a Galileo® side-alternating vibration plate (Novotec Medical GmbH, Pforzheim, Germany) and performed three times weekly a home-based and age-appropriate body weight exercise program, which consisted of seated crunches, marching, squats, chair rises, and chair dips (approx. 45 min). To account for individual physical conditions and accordingly avoid under- or overtraining, the training protocol for each participant started at their individual upper performance limit. To ensure progression, training protocols followed a weekly increase in vibration frequency (+2 Hz) and number of repetitions (+2). Adherence to the protocol was documented with training diaries.

4.8. Dietary Intervention

Participants were randomly assigned to either control, high-protein (protein) or high-protein, omega-3-enriched (protein + omega-3) diet groups. While the control group continued their usual diet, both protein-enriched groups received a high-protein diet (1.2–1.5 g protein/kg body weight/day), supported with a daily 300 mL whey drink (27 g protein; including 4 g leucine). In addition, the protein + omega-3 group was supplemented daily with 3.5 mL algae oil (2195 mg omega-3 fatty acids; including 1397 mg DHA, 749 mg EPA, and 49 mg docosapentaenoic acid). To evaluate compliance, left-overs of the whey and omega-3 supplements were weighed back at the end of the study, and additionally, omega-3 index was measured in plasma.

4.9. Data Analysis

Statistical analyses were performed with SPSS Statistics version 25 (IBM Corp., Chicago/IL, USA). Data distribution was checked using Kolmogorov–Smirnov tests and presented as either mean ± standard deviation or median with interquartile range (IQR). Extreme outliers of relative changes after treatment, identified with boxplots and defined as cases lying 3*IQR distant, were removed from the data set. Within-group comparisons before and after treatment were tested with either paired *t*-test or Wilcoxon rank test.

Generalized linear mixed models with random effect on subjects were used to investigate group × time-interaction effects between groups and presented as estimated mean with 95% confidence interval (95% CI). All models were adjusted for age, sex, and FMI, since we observed significant associations with our markers of interest. Inflammatory markers were also adjusted for baseline values, when significantly different between groups at baseline. Due to skewness, inflammatory markers have been log-transformed before analyses. In addition, we performed sex-stratified analyses with mixed models adjusted for age and FMI, and compared group-specific changes between sexes with either unpaired *t*-test or Mann–Whitney U-test. Statistical significance was assumed at *p* < 0.05.

5. Conclusions

Eight weeks of a high-protein, omega-3-enriched diet combined with exercise decreased circulating anti-inflammatory markers IL-10 and IL-1RA. In men, the pro-inflammatory markers IL-6, CCL-2, and HMGB-1 were reduced following a high-protein, omega-3-supplemented diet. A high-protein diet attenuated anti-inflammatory IL-1RA on gene expression levels in PBMC. Exercise alone resulted in a lower CCL-2 response to ex vivo LPS exposure in whole-blood-cultures, which is likely attributable to the effects seen in men.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms24020928/s1>.

Author Contributions: The authors' responsibilities were as follows—conceptualization, U.H., O.P.-R. and K.N.; funding acquisition, U.H.; collection of data, U.H.; laboratory assessments, S.H., B.K. and C.H.; statistical analysis, U.H. and S.H.; writing—original draft preparation, U.H. and S.H.; writing—review and editing, B.K., C.H., O.P.-R. and K.N. O.P.-R. and K.N. contributed equally to this work; shared last authorship. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the German Society for Nutritional Medicine (DGEM), "DGEM research grant 2020".

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the University of Potsdam ethics committee (protocol code 58/2019 and date of approval: 21 October 2019).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Acknowledgments: This project received material support sponsored by SinoPlaSan AG, Baltmannsweiler Straße 50, 73262 Reichenbach an der Fils, Germany, and by Nutriprot GmbH, Carl-Zeiss-Straße 27, 24568 Kaltenkirchen, Germany.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders and sponsors had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

Abbreviations

95% CI	95% confidence interval
β/B	beta
B2M	beta-2-microglobulin
BMI	body mass index
CCL-2/CCL2	c-c motif chemokine ligand-2
DHA	docosahexaenoic acid
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assays
EPA	eicosapentaenoic acid
FMI	fat mass index
HMGB-1	high-mobility group box-1
IL	interleukin
IQR	interquartile range
LPS	lipopolysaccharide
PBMC	peripheral blood mononuclear cells
qPCR	quantitative real-time polymerase chain reaction
RA/RN	receptor antagonist
RNA	ribonucleic acid
TNF- α /TNEA	tumor necrosis factor- α

References

- Franceschi, C.; Garagnani, P.; Parini, P.; Giuliani, C.; Santoro, A. Inflammaging: A new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2018**, *14*, 576–590. [\[CrossRef\]](#)
- Zuo, L.; Prather, E.R.; Stetskev, M.; Garrison, D.E.; Meade, J.R.; Peace, T.I.; Zhou, T. Inflammaging and Oxidative Stress in Human Diseases: From Molecular Mechanisms to Novel Treatments. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 4472. [\[CrossRef\]](#)
- Boirie, Y. Physiopathological mechanism of sarcopenia. *J. Nutr. Health Aging* **2009**, *13*, 717–723. [\[CrossRef\]](#)
- Teissier, T.; Boulanger, E.; Cox, L.S. Interconnections between Inflammaging and Immunosenescence during Ageing. *Cells* **2022**, *11*, 359. [\[CrossRef\]](#)
- Flynn, M.G.; Markofski, M.M.; Carrillo, A.E. Elevated Inflammatory Status and Increased Risk of Chronic Disease in Chronological Aging: Inflamm-aging or Inflamm-inactivity? *Aging Dis.* **2019**, *10*, 147–156. [\[CrossRef\]](#)
- Monteiro-Junior, R.S.; de Tarso Maciel-Pinheiro, P.; da Matta Mello Portugal, E.; da Silva Figueiredo, L.F.; Terra, R.; Carneiro, L.S.F.; Rodrigues, V.D.; Nascimento, O.J.M.; Deslandes, A.C.; Laks, J. Effect of Exercise on Inflammatory Profile of Older Persons: Systematic Review and Meta-Analyses. *J. Phys. Act. Health* **2018**, *15*, 64–71. [\[CrossRef\]](#)
- Zhao, H.; He, Z.; Yun, H.; Wang, R.; Liu, C. A Meta-Analysis of the Effects of Different Exercise Modes on Inflammatory Response in the Elderly. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 451. [\[CrossRef\]](#)
- Haß, U.; Herpich, C.; Kochlik, B.; Weber, D.; Grune, T.; Norman, K. Dietary Inflammatory Index and Cross-Sectional Associations with Inflammation, Muscle Mass and Function in Healthy Old Adults. *J. Nutr. Health Aging* **2022**, *26*, 346–351. [\[CrossRef\]](#)
- Calder, P.C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1851*, 469–484. [\[CrossRef\]](#)
- Kavyani, Z.; Musazadeh, V.; Fathi, S.; Hossein Faghfour, A.; Dehghan, P.; Sarmadi, B. Efficacy of the omega-3 fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: An umbrella meta-analysis. *Int. Immunopharmacol.* **2022**, *111*, 109104. [\[CrossRef\]](#)
- Rangel-Huerta, O.D.; Aguilera, C.M.; Mesa, M.D.; Gil, A. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: A systematic review of randomised clinical trials. *Br. J. Nutr.* **2012**, *107* (Suppl. S2), S159–S170. [\[CrossRef\]](#)
- Draganidis, D.; Karagounis, L.G.; Athanailidis, I.; Chatzinikolaou, A.; Jamurtas, A.Z.; Fatouros, I.G. Inflammaging and Skeletal Muscle: Can Protein Intake Make a Difference? *J. Nutr.* **2016**, *146*, 1940–1952. [\[CrossRef\]](#)
- Markova, M.; Koelman, L.; Hornemann, S.; Pivovarov, O.; Sucher, S.; Machann, J.; Rudovich, N.; Thomann, R.; Schneeweiss, R.; Rohn, S.; et al. Effects of plant and animal high protein diets on immune-inflammatory biomarkers: A 6-week intervention trial. *Clin. Nutr.* **2020**, *39*, 862–869. [\[CrossRef\]](#)
- Hashemilar, M.; Khalili, M.; Rezaeimanesh, N.; Sadeghi Hokmabadi, E.; Rasulzade, S.; Shamshirgaran, S.M.; Taheraghdam, A.; Farhoudi, M.; Shaafi, S.; Shakouri, S.K.; et al. Effect of Whey Protein Supplementation on Inflammatory and Antioxidant Markers, and Clinical Prognosis in Acute Ischemic Stroke (TNS Trial): A Randomized, Double Blind, Controlled, Clinical Trial. *Adv. Pharm. Bull.* **2020**, *10*, 135–140. [\[CrossRef\]](#)
- Liberman, K.; Njemini, R.; Luijing, Y.; Forti, L.N.; Verlaan, S.; Bauer, J.M.; Memelink, R.; Brandt, K.; Donini, L.M.; Maggio, M.; et al. Thirteen weeks of supplementation of vitamin D and leucine-enriched whey protein nutritional supplement attenuates chronic low-grade inflammation in sarcopenic older adults: The PROVIDE study. *Aging Clin. Exp. Res.* **2019**, *31*, 845–854. [\[CrossRef\]](#)
- Haß, U.; Kochlik, B.; Herpich, C.; Rudloff, S.; Norman, K. Effects of an Omega-3 Supplemented, High-Protein Diet in Combination with Vibration and Resistance Exercise on Muscle Power and Inflammation in Old Adults: A Pilot Randomized Controlled Trial. *Nutrients* **2022**, *14*, 4274. [\[CrossRef\]](#)
- Varghese, M.; Song, J.; Singer, K. Age and Sex: Impact on adipose tissue metabolism and inflammation. *Mech. Ageing Dev.* **2021**, *199*, 111563. [\[CrossRef\]](#)
- Cristi, C.; Collado, P.S.; Márquez, S.; Garatachea, N.; Cuevas, M.J. Whole-body vibration training increases physical fitness measures without alteration of inflammatory markers in older adults. *Eur. J. Sport Sci.* **2014**, *14*, 611–619. [\[CrossRef\]](#)
- de Lourdes Nahhas Rodacki, C.; Rodacki, A.L.; Coelho, I.; Pequito, D.; Krause, M.; Bonatto, S.; Naliwaiko, K.; Fernandes, L.C. Influence of fish oil supplementation and strength training on some functional aspects of immune cells in healthy elderly women. *Br. J. Nutr.* **2015**, *114*, 43–52. [\[CrossRef\]](#)
- Chaabene, H.; Prieske, O.; Herz, M.; Moran, J.; Höhne, J.; Kliegl, R.; Ramirez-Campillo, R.; Behm, D.G.; Hortobágyi, T.; Granacher, U. Home-based exercise programmes improve physical fitness of healthy older adults: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis with relevance for COVID-19. *Ageing Res. Rev.* **2021**, *67*, 101265. [\[CrossRef\]](#)
- Stupin, M.; Kibel, A.; Stupin, A.; Selthofer-Relatić, K.; Matić, A.; Mihalj, M.; Mihaljević, Z.; Jukić, I.; Drenjančević, I. The Physiological Effect of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids (n-3 PUFAs) Intake and Exercise on Hemorheology, Microvascular Function, and Physical Performance in Health and Cardiovascular Diseases; Is There an Interaction of Exercise and Dietary n-3 PUFA Intake? *Front. Physiol.* **2019**, *10*, 1129. [\[CrossRef\]](#)
- Markova, M.; Pivovarov, O.; Hornemann, S.; Sucher, S.; Frahnw, T.; Wegner, K.; Machann, J.; Petzke, K.J.; Hierholzer, J.; Lichtinghagen, R.; et al. Isocaloric Diets High in Animal or Plant Protein Reduce Liver Fat and Inflammation in Individuals With Type 2 Diabetes. *Gastroenterology* **2017**, *152*, 571–585.e8. [\[CrossRef\]](#)
- Nieman, K.M.; Anderson, B.D.; Cifelli, C.J. The Effects of Dairy Product and Dairy Protein Intake on Inflammation: A Systematic Review of the Literature. *J. Am. Coll. Nutr.* **2021**, *40*, 571–582. [\[CrossRef\]](#)

24. Bruunsgaard, H.; Pedersen, A.N.; Schroll, M.; Skinhoj, P.; Pedersen, B.K. Impaired production of proinflammatory cytokines in response to lipopolysaccharide (LPS) stimulation in elderly humans. *Clin. Exp. Immunol.* **1999**, *118*, 235–241. [[CrossRef](#)]
25. Vedin, I.; Cederholm, T.; Freund Levi, Y.; Basun, H.; Garlind, A.; Faxén Irving, G.; Jönhagen, M.E.; Vessby, B.; Wahlund, L.O.; Palmblad, J. Effects of docosahexaenoic acid-rich n-3 fatty acid supplementation on cytokine release from blood mononuclear leukocytes: The OmegAD study. *Am. J. Clin. Nutr.* **2008**, *87*, 1616–1622. [[CrossRef](#)]
26. Thies, F.; Miles, E.A.; Nebe-von-Caron, G.; Powell, J.R.; Hurst, T.L.; Newsholme, E.A.; Calder, P.C. Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults. *Lipids* **2001**, *36*, 1183–1193. [[CrossRef](#)]
27. Ellulu, M.S.; Patimah, I.; Khaza'ai, H.; Rahmat, A.; Abed, Y. Obesity and inflammation: The linking mechanism and the complications. *Arch. Med. Sci.* **2017**, *13*, 851–863. [[CrossRef](#)]
28. Jannasch, F.; Bedu-Addo, G.; Schulze, M.B.; Mockenhaupt, F.P.; Danquah, I. Serum phospholipid fatty acids, dietary patterns and type 2 diabetes among urban Ghanaians. *Nutr. J.* **2017**, *16*, 63. [[CrossRef](#)]
29. Kessler, K.; Hornemann, S.; Petzke, K.J.; Kemper, M.; Markova, M.; Rudovich, N.; Grune, T.; Kramer, A.; Pfeiffer, A.F.H.; Pivovarova-Ramich, O. Diurnal distribution of carbohydrates and fat affects substrate oxidation and adipokine secretion in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **2018**, *108*, 1209–1219. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Supplementary figures and tables to:

Haß *et al.*, Effects of exercise and omega-3-supplemented, high-protein diet on inflammatory markers in serum, on gene expression levels in PBMC, and after ex vivo whole-blood LPS stimulation in old adults

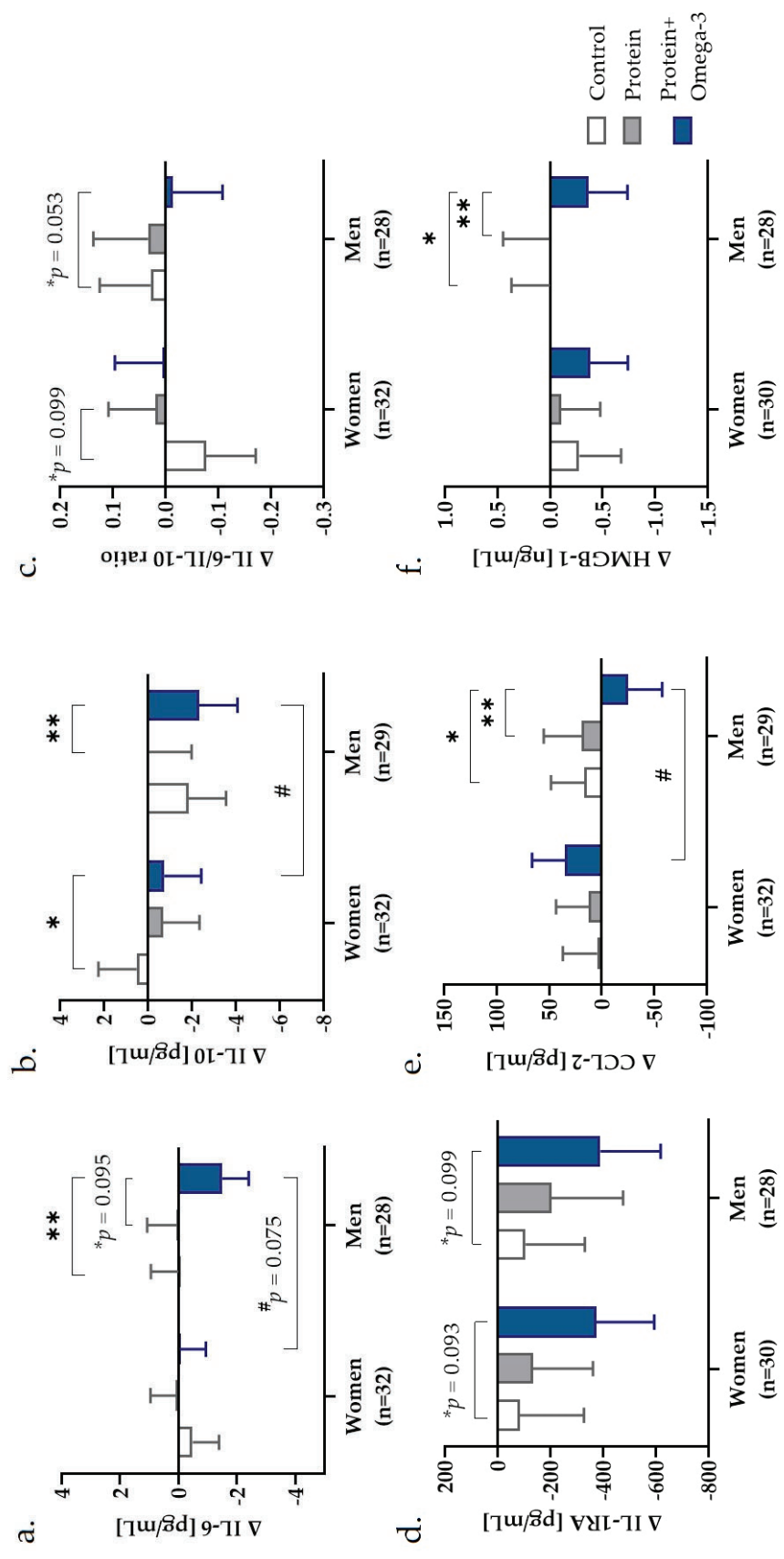


Figure S1. Delta (Δ) of serum concentrations of (a) IL-6, (b) IL-10, (c) IL-6/IL-10 ratio, (d) IL-1RA, (e) CCL-2, and (f) HMGB-1 presented as estimated mean with 95% confidence interval after eight weeks of control, high-protein (protein) or high-protein, omega-3-enriched (protein + omega-3) diet, displayed separately for women and men. Please note: Changes are shown as absolute values, but have been log-transformed before analyses. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ obtained from generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age and fat mass index to compare intervention effects within sex. # $p < 0.05$ obtained from comparisons of group-specific changes between sex with either unpaired t-test or Mann-Whitney U test. CCL-2 c-c motif chemokine ligand-2; HMGB-1 high-mobility group box-1; IL interleukin, RA receptor antagonist.

Supplementary figures and tables to:

Haß *et al.*, Effects of exercise and omega-3-supplemented, high-protein diet on inflammatory markers in serum, on gene expression levels in PBMC, and after ex vivo whole-blood LPS stimulation in old adults

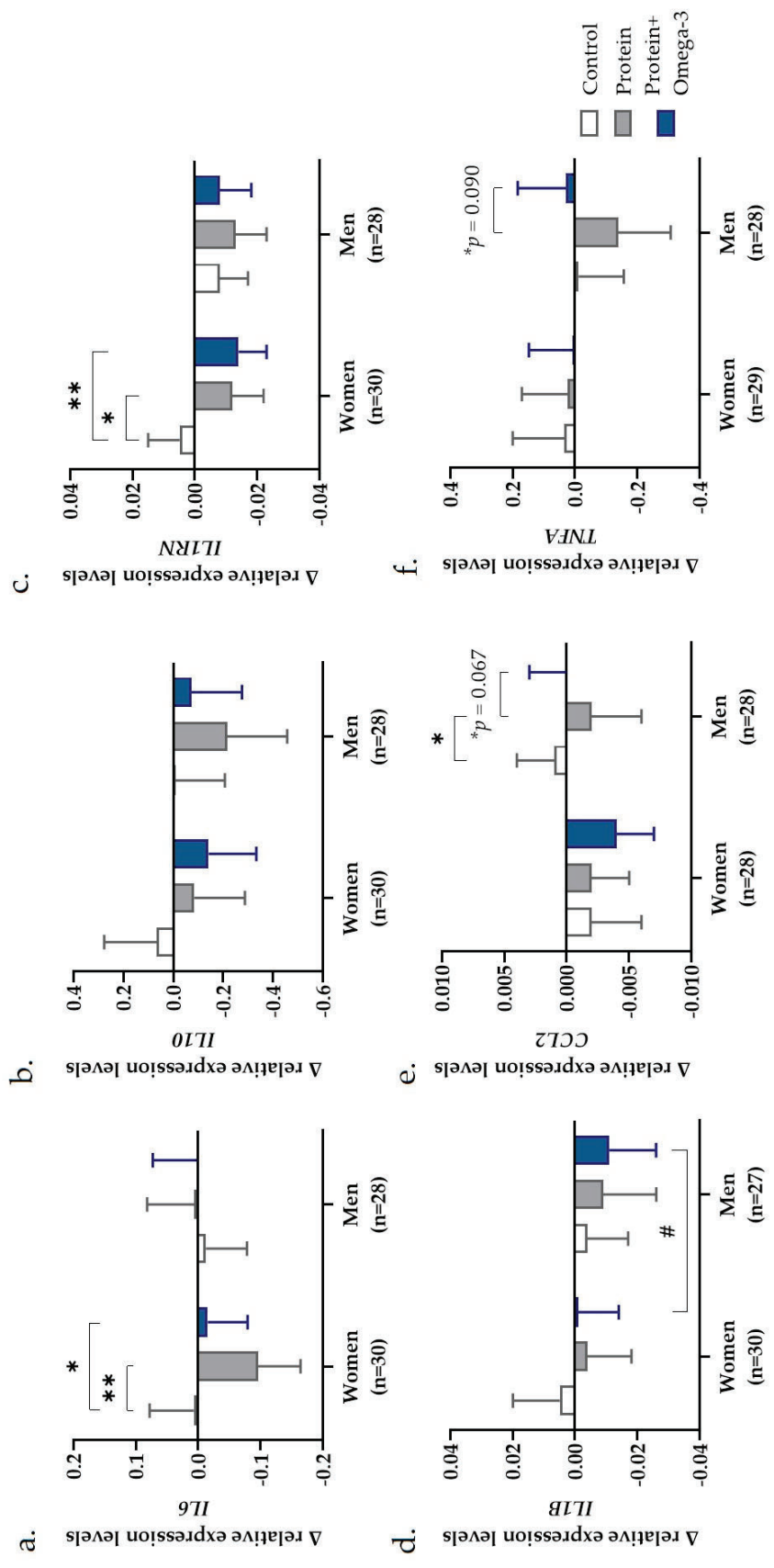


Figure S2. Delta (Δ) of gene expression levels of (a) *IL6*, (b) *IL10*, (c) *IL1RN*, (d) *IL1B*, (e) *CCL2*, and (f) *TNFA* presented as estimated mean with 95% confidence interval after eight weeks of control, high-protein (protein) or high-protein, omega-3-enriched (protein + omega-3) diet, displayed separately for women and men. Please note: Changes are shown as absolute values, but have been log-transformed before analyses. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ obtained from generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age and fat mass index to compare intervention effects within sex. # $p < 0.05$ obtained from comparisons of group-specific changes between sex with either unpaired t-test or Mann-Whitney U test. *CCL2* c motif chemokine ligand-2; *IL* interleukin, *B* beta, *RN* receptor antagonist; *TNFA* tumor necrosis factor- α .

Supplementary figures and tables to:

Haß *et al.*, Effects of exercise and omega-3-supplemented, high-protein diet on inflammatory markers in serum, on gene expression levels in PBMC, and after ex vivo whole-blood LPS stimulation in old adults

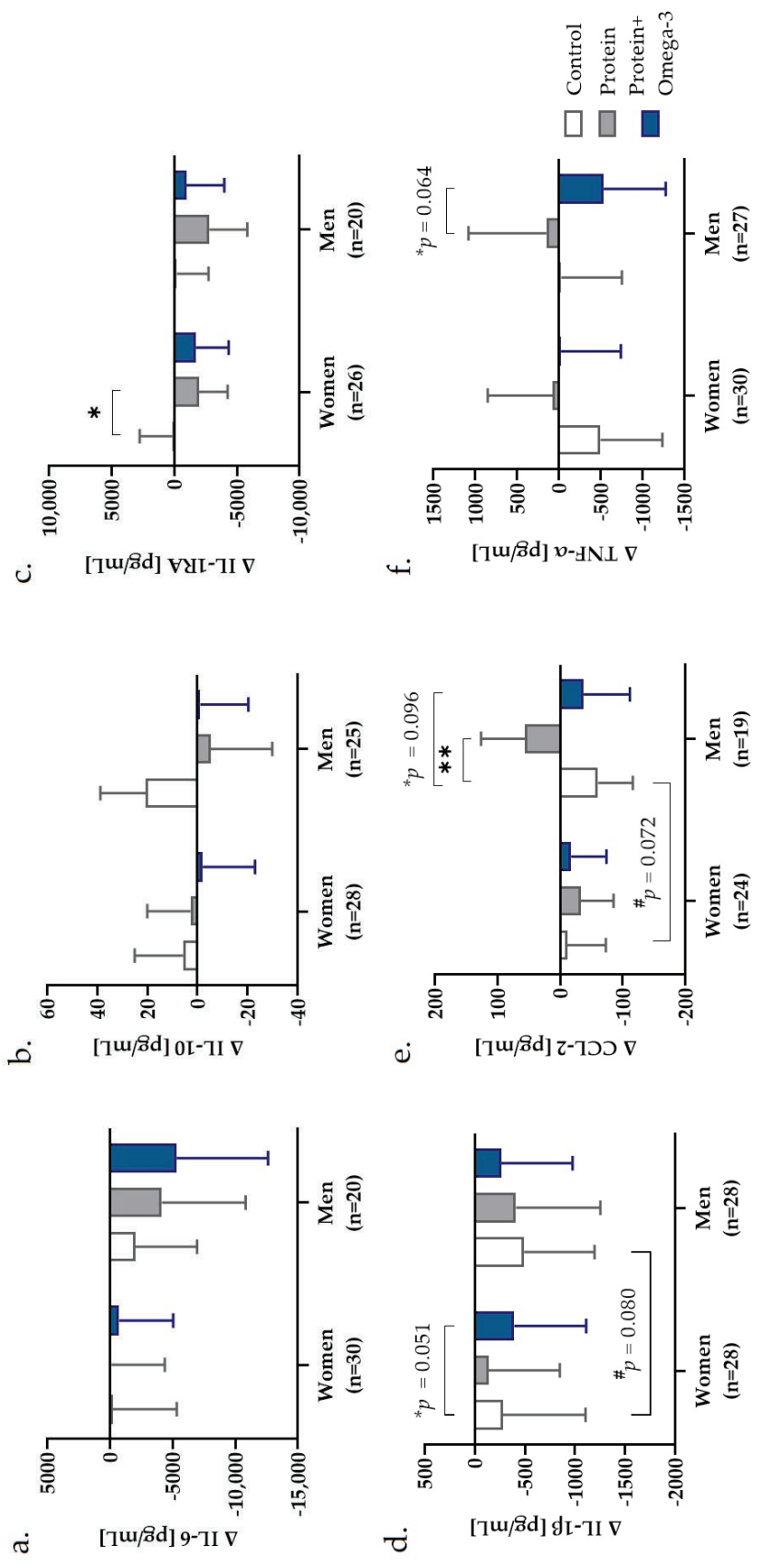


Figure S3. Delta (Δ) of ex vivo whole-blood LPS-stimulated concentrations of (a) IL-6, (b) IL-10, (c) IL-1RA, (d) IL-1 β , (e) CCL-2, and (f) TNF- α presented as estimated mean with 95% confidence interval after eight weeks of control, high-protein (protein) or high-protein, omega-3-enriched (protein + omega-3) diet, displayed separately for women and men. Please note: Changes are shown as absolute values, but were log-transformed before analyses. $* p < 0.05$, $** p < 0.01$ obtained from generalized linear mixed models with random effects on subjects, adjusted for age and fat mass index to compare intervention effects within sex. $\# p$ obtained from comparisons of group-specific changes between sex with either unpaired t-test or Mann-Whitney U test. CCL-2 c-c motif chemokine ligand-2; IL interleukin, RA receptor antagonist; TNF- α tumor necrosis factor- α .

Supplementary figures and tables to:
 Haß *et al.*, Effects of exercise and omega-3-supplemented, high-protein diet on inflammatory markers in serum, on gene expression levels in PBMC, and after ex vivo whole-blood LPS stimulation in old adults

Table S1. Key characteristics compared between women and men at baseline.

	Women (n=32)	Men (n=29)	p-value
Age [years]	68.0 ± 2.2	72.9 ± 5.9	0.003
Waist/height ratio	0.58 ± 0.05	0.61 ± 0.06	0.064
Body mass index [kg/m ²]	26.8 ± 2.3	28.1 ± 2.8	0.033
Fat mass index [kg/m ²]	10.1 ± 1.7	7.7 ± 2.1	<0.001
Serum concentrations			
IL-6 (pg/mL)	2.39 (1.07)	3.19 (1.93)	0.011
IL-10 (pg/mL)	7.75 (3.14)	9.43 (4.89)	0.038
IL-6/IL-10 ratio	0.37 ± 0.21	0.41 ± 0.23	0.474
IL-1RA (pg/mL)	868 ± 440	985 ± 432	0.428
HMGB-1 (ng/mL)	0.23 (0.77)	0.36 (1.28)	0.492
CCL-2 (pg/mL)	220 ± 75	232 ± 78	0.162
Gene expression levels in PBMC			
<i>IL6</i>	0.046 (0.048)	0.033 (0.046)	0.182
<i>IL10</i>	0.142 (0.155)	0.243 (0.224)	0.168
<i>IL1RN</i>	0.048 ± 0.011	0.052 ± 0.015	0.647
<i>IL1B</i>	0.035 (0.012)	0.042 (0.018)	0.214
<i>CCL2</i>	0.006 (0.004)	0.005 (0.004)	0.384
<i>TNFA</i>	0.614 ± 0.207	0.642 ± 0.237	0.811
LPS-induced concentrations in whole-blood cultures			
IL-6 (pg/mL)	6002 (3862)	12,060 (3200)	0.010
IL-10 (pg/mL)	4.08 ± 2.72	3.37 ± 2.38	0.573
IL-1RA (pg/mL)	5168 (4275)	6451 (3513)	0.249
IL-1β (pg/mL)	761 ± 262	1113 ± 387	0.008
CCL-2 (pg/mL)	96 (70)	153 (93)	0.225
TNF-α (pg/mL)	2333 ± 1020	3583 ± 1024	<0.001

Continuous variables are expressed as mean ± standard deviation or median (interquartile range). p-value obtained from either t-test or Mann-Whitney U test. CCL-2/CCL2 c-c motif chemokine ligand-2; IL interleukin, β/B beta, RA/RN receptor antagonist; HMGB-1 high-mobility group box-1; LPS lipopolysaccharide; PBMC peripheral blood mononuclear cell; TNF-α/TNFA tumor necrosis factor-α.

Supplementary figures and tables to:
 Haß *et al.*, Effects of exercise and omega-3-supplemented, high-protein diet on inflammatory markers in serum, on gene expression levels in PBMC, and after ex vivo whole-blood LPS stimulation in old adults

Table S2. Primers used for gene expression analysis by qPCR.

Gene name		Primer sequence (5' → 3')
<i>B2M</i>	forward	CTA TCC AGC GTA CTC CAA AG
	reverse	AAA CCC AGA CAC ATA GCA AT
<i>CCL2</i>	forward	CAT AGC AGC CAC CTT CAT TCC
	reverse	TCT GCA CTG AGA TCT TCC TAT TGG
<i>IL6</i>	forward	AGC CCT GAG AAA GGA GAC ATG TA
	reverse	TCT GCC AGT GCC TCT TTG CT
<i>IL10</i>	forward	ACG GCG CTG TCA TCG ATT
	reverse	GGC ATT CTT CAC CTG CTC CA
<i>IL1B</i>	forward	GCA ATG AGG ATG ACT TGT TCT TTG
	reverse	CAG AGG TCC AGG TCC TGG AA
<i>IL1RN</i>	forward	ACC TCC CTC ATG GAC TGG TCT T
	reverse	CTT CCT CCC TCA TTC CAC CTT C
<i>TNFA</i>	forward	GGA CCT CTC TCT AAT CAG CCC TC
	reverse	TCG AGA AGA TGA TCT GAC TGC C

B2M beta-2-microglobulin (housekeeping gene); *CCL2* c-c motif chemokine ligand-2; *IL* interleukin, *B* beta, *RN* receptor antagonist; *TNFA* tumor necrosis factor- α .

Diskussion

Persistierende, leichtgradig erhöhte Entzündungsprozesse gelten als Treiber für chronische, altersbedingte Erkrankungen, einschließlich der Skelettmuskelatrophie. Daher stellt eine Ernährung mit geringem Inflammationspotenzial möglicherweise ein relevantes Instrument dar, um den Verlust von funktioneller Muskelmasse im Alter zu minimieren. Dies setzt einen Kenntnisstand über das Inflammationspotenzial der Ernährung voraus und inwiefern sie einerseits mit dem Inflammationsprofil und andererseits mit dem Muskelstatus zusammenhängt. Im Weiteren stellen Bewegungs- und Ernährungsmodifikationen, inkl. einer adäquaten Proteinzufuhr, ein probates Mittel dar, den funktionellen Verlusten im Alter entgegenzuwirken [25]. Vor dem Hintergrund des Inflammaging und des immunmodulierenden Potenzials der Ernährung, soll zusätzlich gezielt auf eine anti-inflammatorische Ernährung gesetzt werden [84, 102]. Deren Wirkpotenzial muss zunächst in klinischen Interventionsstudien bei älteren Erwachsenen quantifiziert und verifiziert werden.

Zusammenhänge zwischen dem ernährungsbedingten Inflammationspotenzial und dem Inflammationsprofil bei älteren Erwachsenen

Obwohl der DII ursprünglich auf der Grundlage von Fragebögen zur Verzehrhäufigkeit von Nahrungsmitteln (Food Frequency Questionnaire – FFQ) entwickelt wurde und am häufigsten auf Basis von FFQs evaluiert wird, empfehlen die Entwickler vorzugsweise eine offenere Ernährungserhebung zu nutzen [81]. Da FFQs in ihrer Lebensmittelauswahl beschränkt sind, bietet eine offene Erhebung im Vergleich dazu die Möglichkeit, mehr Ernährungsinformationen zu gewinnen und erhöht die Chance, die meisten der 45 DII-relevanten Ernährungsparameter in die Berechnung einbeziehen zu können (Abb. 3). In der POST-Studie (Publikation 1) wurde als Basis für den DII ein 24-Stunden-Recall Interview genutzt, wodurch 31 von 45 möglichen DII-Parametern für die Berechnung zur Verfügung standen, was höher ist als die üblicherweise aus FFQs extrahierten 25–30 DII-Parameter [80] und zu verlässlicheren Ergebnissen beiträgt.

Das Konzept des DII basiert auf der Assoziation von den verschiedenen Nahrungsparametern mit etablierten Entzündungsfaktoren und ist vielfach anhand des Inflammationsprofils in unterschiedlichsten Populationen und Entitäten validiert worden [79, 80]. Querschnittsanalysen im Rahmen der POST-Studie zeigten, dass bei den älteren Teilnehmenden ein höherer, pro-inflammatorischer DII mit höheren IL-6-Konzentrationen assoziiert war, während dieser

Zusammenhang in der jüngeren Gruppe nicht zu erkennen war (Publikation 1). Dies bestätigt einerseits, dass sich das Inflammationspotenzial der Ernährung im Inflammationsprofil widerspiegeln lässt. Andererseits deutet dies auf eine eingeschränkte Kompensationsfähigkeit des ernährungsbedingten Inflammationspotenzials bei den älteren Erwachsenen hin. Darüber hinaus war bei den älteren Erwachsenen ein höherer DII von signifikant höheren IL-6-Werten, nicht aber von höheren IL-10-Werten begleitet (Publikation 1). Dies unterstützt die Vermutung, dass die balancierenden Mechanismen im Alter zurückgehen, welche zum Entzündungsgeschehen beitragen [9, 10].

Einer typisch deutschen, westlichen Ernährung entsprechend, erwies sich die Ernährungsweise beider Altersgruppen in der POST-Studie anhand des DII als überwiegend entzündungsfördernd (Publikation 1). Dies zeigte sich auch an einer verhältnismäßig hohen Fettzufuhr, mit insbesondere einer hohen Zufuhr an gesättigten Fettsäuren in beiden Gruppen (>10 Energie%; Publikation 1 – Supplemental 1b). Interessanterweise wiesen die älteren im Vergleich zu den jüngeren Erwachsenen trotz eines günstigeren Omega-6/Omega-3-Verhältnisses in der Ernährung (Publikation 1 – Supplemental 1c) ein pro-inflammatorisches Inflammationsprofil auf (Publikation 1). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass eine zusätzliche, höhere Gabe von Omega-3 im Alter notwendig werden könnte, um ausreichend von den immunmodulierenden Effekten im Vergleich zum jüngeren Erwachsenenalter profitieren zu können. Ein Omega-6/Omega-3-Verhältnis von idealerweise $\leq 2:1$ wird als nötig erachtet, um die Sekretion von entzündungsfördernden Zytokinen effektiv zu reduzieren [96, 103].

Ferner war in der POST-Studie ein höherer DII mit einer höheren prozentualen Fettmasse und einem höheren Taille-/Längenverhältnis (als Surrogat für die abdominelle Fettmasse) assoziiert (Publikation 1). Dies spiegelte sich in beiden Altersgruppen wider und entspricht dem westlichen Ernährungsstil. Gleichzeitig ist bekannt, dass eine höhere, insbesondere viszerale Fettmasse mit entzündlichen Prozessen einhergeht [11, 12], sodass sich die Beobachtungen vermutlich gegenseitig beeinflussen. In der POST-Studie zeigte sich des Weiteren, dass, abgesehen von den Insulinspiegeln, lediglich bei den älteren Erwachsenen ein höherer, pro-inflammatorischer DII mit ungünstigen Markern des Fett- und Glukosestoffwechsel assoziiert war (Publikation 1). Dieser Umstand könnte als eingeschränkte metabolische Flexibilität auf das ernährungsbedingte höhere

Inflammationspotenzial interpretiert werden und somit ein weiterer Ausdruck des Inflammaging-Prozesses darstellen [2, 7].

Assoziationen einer potenziell anti-inflammatorischen Ernährung mit Muskelmasse, -kraft und -funktion bei älteren Erwachsenen

Der Zusammenhang zwischen dem ernährungsbedingten Inflammationspotenzial und Erkrankungen, die einen chronisch entzündlichen Hintergrund mitbringen wie in etwa Krebs [104], Depression [105] oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen [106], wurde bereits vielfältig anhand des DII untersucht und bestätigt. Zusammenhänge zwischen dem ernährungsbedingten Inflammationspotenzial und Sarkopenie-relevanten Parametern, insbesondere bei gesunden älteren Erwachsenen sind bisher kaum untersucht worden.

Im Rahmen der POST-Studie bestätigte sich der negative Zusammenhang eines höheren, pro-inflammatorischen DII mit einer prozentual geringeren Skelettmuskelmasse und langsameren Gehgeschwindigkeit der älteren Erwachsenen sowie der Zusammenhang zwischen einem pro-inflammatorischen Status und einer geringeren Skelettmuskelmasse, Gehgeschwindigkeit und Handgreifkraft (Publikation 1). In der gesamten älteren Gruppe war zwar zunächst kein signifikanter Zusammenhang zwischen DII und der Handgreifkraft erkennbar (Publikation 1). In einer Subgruppenanalyse der inaktiven älteren Erwachsenen war ein höherer DII jedoch invers mit einer geringeren Handgreifkraft assoziiert (Publikation 1 – Supplemental 2b). Dies spricht einerseits für die Relevanz der körperlichen Aktivität im höheren Lebensalter und ist andererseits Ausdruck des noch verhältnismäßig fitten körperlichen Zustandes in der gesamten älteren Gruppe der POST-Studie.

Auch im Rahmen der AIDA-Studie zeichneten sich im Hinblick auf das anti-inflammatorische Potenzial einzelner Nährstoffe Assoziationen mit dem Muskelstatus ab. Eine höhere Zufuhr von Omega-3, ein höherer Omega-3-Plasmaindex und niedrigere inflammatorische Marker gingen mit einer besseren Muskelkraft und -funktion einher, wobei die Männer ausgeprägtere Zusammenhänge zeigten als die Frauen (Anhang – Tab. A 1). Zudem waren die EPA- und DHA-Zufuhr positiv mit den Veränderungen der Muskelleistung assoziiert, während gleichzeitig die Muskelleistungsverbesserungen auch mit den veränderten IL-6-Konzentrationen korrelierte (Publikation 2).

Die Beobachtungen sind vereinbar mit den Ergebnisse der Geelong Osteoporosis Studie (n=809; 66 Jahre (Interquartilbereich (IQR) 72–79), 34 % Frauen), in der

ein höherer DII mit einer geringeren Muskelmasse und -funktion bei älteren Erwachsenen einherging [107]. In dieser Kohorte wurde der translationale Ansatz in Bezug auf das Inflammationsprofil allerdings nicht berücksichtigt. Eine retrospektiv durchgeführte Analyse der gleichen Kohorte zeigte, dass das ernährungsbedingte Inflammationspotenzial auch langfristig über 15 Jahre nachbeobachtet mit den Veränderungen der Muskelmasse und -funktion der älteren Männer [108] und Frauen [109] zusammenhing. Bei Betrachtung einzelner Nährstoffe mit anti-inflammatorischem Potenzial wie Omega-3 konnte die Sarcopenia and Physical impairment with advancing Age Studie (SarcoPhAge: n=238; 72 Jahre (IQR: 70–78), 61 % Frauen) im Querschnitt zeigen, dass die Omega-3-Zufuhr positiv mit der Handgreifkraft zusammenhängt [110]. Einen langfristigen Zusammenhang zwischen den Veränderungen in der Omega-3-Zufuhr und Veränderungen in der Kraft oder auch Gehgeschwindigkeit konnte in der SarcoPhage-Kohorte allerdings nicht nachgewiesen werden [110].

Antizipierte Effekte einer proteinreichen Ernährung auf Muskelkraft und Muskelfunktion bei älteren Erwachsenen

Eine adäquate Proteinzufuhr ist neben ausreichend Bewegung maßgeblich für den Muskelerhalt. Eine Vielzahl an Studien belegt die Wirkung und den Nutzen einer Sport- und Proteinmodifikation auf die Muskelfunktionalität bei älteren Erwachsenen, weshalb sie fester Bestandteil der Empfehlungen für diese Altersgruppe sind [66, 69]. Diese Empfehlungen bildeten also eine Basis für die angestrebten Verbesserungen der Muskelkraft und -funktion in der AIDA-Interventionsstudie (Publikation 2).

Nach acht Wochen Sport- und Ernährungsintervention zeigten sich erste Korrelationen zwischen den Veränderungen in der Beinkraft, der CRT-Zeit sowie der fettfreien Masse und der veränderten Protein- und Leucinzufuhr (Publikation 2). Folglich zeigten sowohl die Protein- als auch die Protein+Omega-3-Gruppe jeweils signifikante Verbesserungen dieser Parameter in den gruppeninternen Vorher-Nachher-Analysen (Publikation 2). Auch im Vergleich zur Kontrollgruppe verbesserten sich die Beinkraft, CRT-Zeit und fettfreie Masse in der Proteingruppe, jedoch wiesen diese Verbesserungen keinen signifikanten Unterschied zu den Veränderungen der Protein+Omega-3-Gruppe auf (Publikation 2). Insgesamt stimmen die in der AIDA-Studie beobachteten funktionellen Verbesserungen beider Gruppen mit anderen Studienergebnissen zu proteinreichen

Ernährungsinterventionen in Kombination mit Heimspport bei älteren, selbständig lebenden Erwachsenen überein [111].

Die Verbesserungen der Muskelparameter sind auch auf die sehr gute Adhärenz in beiden Gruppen zurückzuführen. Der Molkenproteindrink wurde laut Protokollierung der Teilnehmenden und Restrückwaage der Produkte fast vollständig verbraucht (Proteingruppe: 98 %; Protein+Omega-3-Gruppe: 96 %) (Publikation 2). Folglich nahm die alimentäre Proteinzufuhr in beiden Gruppen um nahezu dreiviertel der Gesamtzufuhr zu (+72 %) und die anvisierte Proteinzufuhr von 1,2–1,5 g/kg KG wurde erreicht (Publikation 2 – Table S1). Aufgrund der erhöhten Proteinzufuhr, nahm zwar die Fettzufuhr in beiden Gruppen ab, allerdings blieb die kalorische Zufuhr zwischen allen drei Gruppen vergleichbar (Publikation 2 – Table S1).

Eine erhöhte Proteinzufuhr, insbesondere im Alter, ist immer wieder Gegenstand von Diskussionen um mögliche gesundheitliche Risiken für bspw. die Knochenmineraldichte [112] und Nierenfunktion [113]. Diese Überlegungen sind vermutlich im jüngeren Erwachsenenalter von größerer Relevanz, in dem eine geringere Energie- und Proteinaufnahme mit einer verbesserten Gesundheit und Langlebigkeit verbunden ist [114]. Nach dem sog. „Protein-Paradoxon“ kehren sich diese Befunde jedoch bei Erwachsenen über 65 Jahren um [114, 115]. Darüber hinaus ist der Erhalt der Muskelgesundheit im Alter von größter Bedeutung, um die Funktionalität und Autonomie im täglichen Leben zu bewahren [4, 5]. Die Proteinzufuhrempfehlungen in der AIDA-Studie sind daher konform mit den Empfehlungen führender Fachgesellschaften [66, 69].

Querschnittanalysen der Health ABC Studie [116] und dem National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES: n=4707, 63±11 Jahre, 50 % Frauen) [117] sowie eine Metaanalyse [118] bestätigten, dass eine höhere Proteinzufuhr mit einer höheren Knochenmineraldichte und niedrigeren Frakturinzidenz einhergeht. Dies erscheint nachvollziehbar vor dem Hintergrund der engen physiologischen Verbindung zwischen einer kräftigen Muskulatur, welche mit der Proteinzufuhr zusammenhängt, und der Knochenstruktur [119]. Auch bezüglich der Nierenfunktion zeigen längerfristige Interventionsstudien (>6 Monate) mit (prä-diabetischen) älteren Erwachsenen [120, 121] sowie prospektive Beobachtungen bei älteren Erwachsenen mit bereits bestehender Nierenfunktionseinschränkung [122] bisher keinen nachweislich negativen Effekt. Neuere Untersuchungen lassen daher vermuten, dass selbst bei einer bestehenden

Nierenfunktionsbeeinträchtigung, die Proteinunterversorgung im Sinne einer Protein-Energie-Malnutrition prädiktiv für einen ungünstigen Nierenfunktionsverlauf ist [113, 122]. Auch wenn sich eine höhere Proteinzufuhr auf die glomeruläre Filtrationsrate auswirkt, die grundsätzlich als reversible, physiologische Anpassung gilt [123], wird eine Proteinzufuhr von 1,5–3 g/kg KG/Tag auch im höheren Alter als unbedenklich angesehen [117, 124].

Anaboles Potenzial einer mit Omega-3-Fettsäuren supplementierten, proteinreichen Ernährung auf die Muskelfunktion bei älteren Erwachsenen

Nachdem erste Hinweise auf das anabole Potenzial einer potenziell anti-inflammatorischen Ernährung in den Querschnittsanalysen sichtbar wurden (Publikation 1, Publikation 2, Anhang – Tab. A 1), wurde dies im Rahmen der AIDA-Studie im Sinne eines additionalen Effekts weiterverfolgt. Die Teilnehmenden beider Gruppen mit einer proteinreichen Ernährung (Protein, Protein+Omega-3) erfuhren jeweils in den gruppeninternen Analysen signifikante Verbesserungen der Beinkraft, CRT-Zeit und fettfreien Masse nach acht Wochen Intervention (Publikation 2). Im direkten Vergleich zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen der Protein- und der Protein+Omega-3-Gruppe. Bekannte Plateaueffekte des Proteinanabolismus [72] könnten eine Erklärung hierfür sein, sodass durch die hohe Proteinzufuhr von über 1,5 g/kg KG in beiden Gruppen die maximale Muskelproteinsyntheserate bereits ausgereizt wurde. Eine Metaanalyse schlussfolgerte, dass eine Omega-3-Supplementierung die Beinkraft zwar verbessert, ihr Wirkspektrum jedoch geringer ist, wenn sie mit Krafttraining kombiniert wird, da das Training als solches bereits ein starker anaboler Stimulus darstellt [100].

Spannenderweise zeigten die gruppeninternen Vorher-Nachher-Analysen, dass sich die Muskelleistung lediglich innerhalb der Protein+Omega-3-Gruppe signifikant verbesserte (Publikation 2). Dies passt zu der Beobachtung, dass die größere Zufuhr von EPA und DHA positiv mit der verbesserten Muskelleistung korrelierte (Publikation 2). Im übergreifenden Gruppenvergleich war die Protein+Omega-3-Gruppe der Proteingruppe ohne Omega-3 jedoch nicht überlegen. Ein signifikanter Effekt stellte sich erst in den geschlechtergetrennten Analysen für die männlichen Teilnehmer ein (Publikation 2 – Table S3, Abb. 6).

Die wenigen Studien, die bisher zu kombinierten Interventionen von Sport, Protein- und Omega-3-Anreicherung bei älteren Erwachsenen durchgeführt

wurden, zeigten ebenfalls positive Ergebnisse. Zwei Studien kombinierten hierzu jeweils ein 12-wöchiges, kräftigendes Training (3×/Woche) mit einem Nahrungsergänzungsmittel (Omega-3, Molkenprotein, Kasein, Kreatin und Vitamin D) und untersuchten die Effekte hinsichtlich Magermasse, Kraft und Muskelfunktion bei 32 inaktiven [125] und 49 gesunden älteren Männern [126]. Bei Multikomponentenpräparaten ist die Nachvollziehbarkeit der Wirkung einzelner Nährstoffe zwar erschwert, aber in beiden Studien wurden signifikante Verbesserungen der Magermasse und Beinkraft im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Nahrungsergänzungsmittel beobachtet. Die inaktiven Männer profitierten darüber hinaus auch hinsichtlich der Muskelfunktion, ermittelt anhand der CRT-Zeit [125]. Dies könnte darauf hindeuten, dass bei Personen mit geringerer Fitness ein größeres Wirkpotenzial verfügbar ist.

In Bezug auf das anabole Potenzial von Omega-3, wird eine synergistische Wirkung mit dem Nahrungsprotein auf die Muskelproteinsynthese vermutet, indem der Aminosäuretransport gesteigert, die Aktivität der Proteinkinase erhöht [127] und die mitochondriale Funktion verbessert wird [128]. In einer der ersten experimentellen Untersuchungen hierzu, demonstrierten Smith et al., dass eine 8-wöchige Supplementierung mit Omega-3 (3,4 g/Tag) und unter Voraussetzung eines hyperaminoazidämischen, hyperinsulinämischen Clamps eine Steigerung der Muskelproteinsynthese in Muskelbiopsien von 16 gesunden, älteren Erwachsenen (71±2 Jahre, 33 % Frauen) nachweisbar war [127]. Folglich sind die im Rahmen der AIDA-Studie beobachteten Effekte von Omega-3, zumindest im Hinblick auf die verbesserte Muskelleistung (Publikation 2), höchstwahrscheinlich nicht allein auf die gezeigten anti-inflammatorischen Eigenschaften zurückzuführen (Publikation 2, Publikation 3). Die in der AIDA-Studie beobachteten positiven Korrelationen zwischen der veränderten EPA- und DHA-Zufuhr und der Veränderung in der Muskelleistung deuten ebenfalls hierauf hin (Publikation 2). EPA und DHA üben unterschiedliche Funktionen in der Skelettmuskulatur aus. EPA unterstützt bspw. den muskulären Proteinumsatz, während DHA vornehmlich für neuromuskuläre Funktionen relevant ist [129]. Da die Muskelleistung durch die neuromuskuläre Funktion bestimmt wird [21], liegt es außerdem nahe, dass die gesteigerte Aufnahme von Omega-3 in die Membranen die neuronale Aktivierung unterstützt [129]. Voraussetzung ist jedoch eine ausreichend hohe Zufuhr an EPA und DHA, um signifikante Zell- und Gewebefunktionen zu erreichen, die biologische oder klinische Auswirkungen messbar hervorrufen. Es wird

angenommen, dass eine höhere Dosis wahrscheinlich eine stärkere Wirkung erzielt, da die Aufnahme in die Zellmembranen dosisabhängig zu sein scheint [97]. Insbesondere bei kurzfristigen Interventionen wird daher eine Zufuhr von täglich 2–3 g Omega-3 als notwendig erachtet, um messbare Veränderungen erzielen zu können [93, 97]. Obwohl in der AIDA-Studie kein direkter Nachweis, etwa durch Muskelbiopsien, erbracht werden konnte, so weisen die gute Adhärenz bzgl. des omega-3-reichen Algenöls (85 %) und in der Folge nachweisliche Anstieg des Omega-3-Plasmaindex (+82 %) in diese Richtung (Publikation 2).

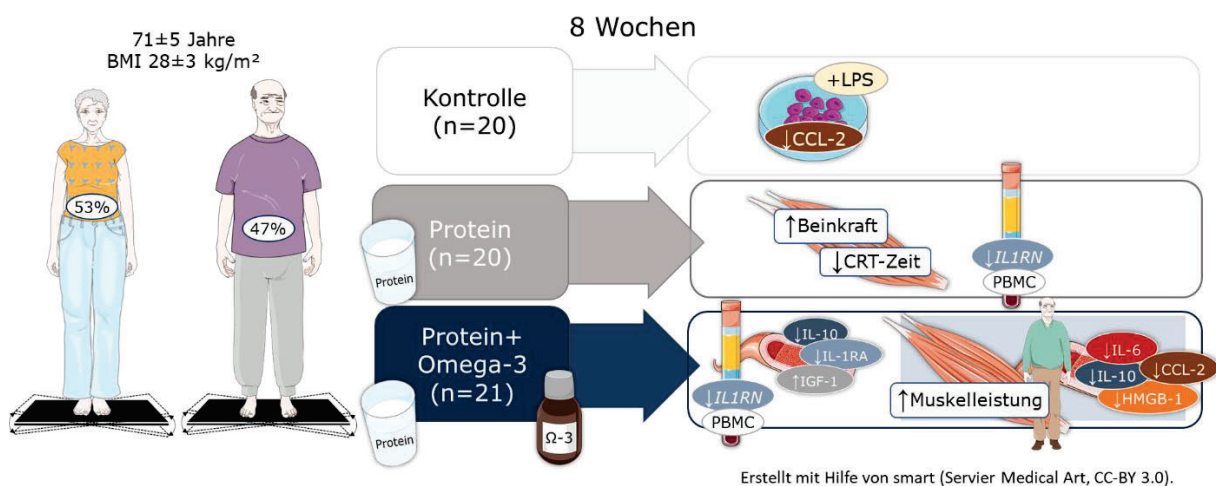


Abb. 6 Zusammenfassende Übersicht zu den Ergebnissen aus der AIDA-Studie (eigene Darstellung modifiziert nach Haß et al. 2022 [130]).

BMI Body Mass Index, CCL-2 CC-Chemokinligand-2, CRT Chair Rise Test, HMGB-1 High-Mobility Group-Box Protein 1, IGF-1 insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1, IL (RA/RN) Interleukin (Rezeptorantagonist), LPS Lipopolysaccharide, PBMC periphere mononukleäre Blutzellen.

Im Hinblick auf den Anabolismus sollten auch verschiedene, mit dem Muskelwachstum assoziierte Faktoren berücksichtigt werden. Im Rahmen der AIDA-Studie wurden daher neben Entzündungsmarkern zusätzlich Myostatin, IGF-1 und das IGF-bindende Protein-3 (IGFBP-3) evaluiert. Myostatin zeigte nach acht Wochen Sport- und Ernährungsintervention in keiner der drei Gruppen eine messbare Veränderung (Publikation 2). Als Wachstums-/Differenzierungsfaktor ist Myostatin als Regulator der Skelettmuskelentwicklung bekannt, dessen Unterdrückung in Tiermodellen das Muskelwachstum förderte [131]. Der Beitrag zur altersbedingten Muskelatrophie wird derzeit jedoch in Frage gestellt [132], da im höheren Alter sowohl erhöhte als auch unveränderte Serumkonzentrationen beobachtet wurden [133, 134] und könnte daher auch von geringerer Relevanz für die Muskelmasse und -funktion in der AIDA-Studie gewesen sein.

Während IGF-1 essenziell für das Zellwachstum ist, inhibiert IGFBP-3 nicht nur IGF-vermittelte Signalwege, sondern kann auch als Botenstoff fungieren, das im

SASP involviert ist [135]. Nach acht Wochen Sport- und Ernährungsintervention verändert sich die IGFBP-3-Konzentration im Rahmen der AIDA-Studie zwar nicht, jedoch stieg die IGF-1-Konzentration in der Protein+Omega-3-Gruppe signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe an (Publikation 2, Abb. 6). Dies deckt sich teilweise mit den Beobachtungen bei 62 mittelalten Männern (56 ± 7 Jahre) mit kardiovaskulärer Vorerkrankung, deren IGF-1- und IGFBP-3-Konzentrationen sich im Serum nach acht Wochen Omega-3-Supplementierung verbesserten [136]. Auf Genexpressionsebene war allerdings nur ein nicht-signifikanter Trend zu beobachten [136]. Obwohl die zugrundeliegenden Mechanismen noch weitgehend unbekannt sind, werden als eine mögliche Erklärung die anti-inflammatorischen Eigenschaften von Omega-3 herangezogen, da Zytokine anabole Signalwege unterdrücken [137]. Smith et al. haben zwar parallel keine Entzündungsmarker der älteren Erwachsenen mituntersucht, konnten jedoch eine signifikante Phosphorylierung und damit Aktivierung des mTOR-p70s6k-Signalweges nach einer 8-wöchigen Omega-3-Supplementierung unter Voraussetzung einer optimalen intravenösen Aminosäurezufuhr zeigen [127]. Zellkulturstudien lassen außerdem vermuten, dass die inflammationsinduzierten katabolen Signalwege über das UPS mit Hilfe einer Omega-3-Supplementierung reduziert werden könnten [90]. In Humanstudien erweist sich dieser Nachweis jedoch als erschwert. Dalle et al. untersuchten hierzu unter anderem Muskelbiopsien von 23 älteren Erwachsenen (71 ± 1 Jahre, 25 % Frauen) nach einem 12-wöchigen Krafttraining (3x/Woche) in Kombination mit einer Omega-3-Supplementierung (3 g/Tag) [91]. Obwohl sich die Teilnehmenden auf funktioneller Ebene signifikant verbesserten, zeigten sich keine Veränderungen der anabolen oder katabolen Signalwege. Lediglich die Expression von Nuclear Factor κ -Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells (NF- κ B) im Muskel tendierte zu einer nicht-signifikanten Reduktion [91].

Einfluss einer anti-inflammatorischen Ernährung auf das Entzündungsgeschehen und die inflammatorische Response bei älteren Erwachsenen

Evaluierung der Konzentrationen im Serum

Angesichts der günstigen Assoziationen zwischen dem (anti-) inflammatorischen Potenzial der Ernährung und dem Inflammaprofil, die bisher gezeigt wurden (Publikation 1, Publikation 2, Anhang – Tab. A 1), wurden im Folgenden die Interventionseffekte auf die Entzündungsprozesse bewertet.

Zunächst wurden im Rahmen der AIDA-Studie die systemisch messbaren Marker untersucht. Es zeigte sich, dass ausschließlich innerhalb der Protein+Omega-3-

Gruppe signifikante Reduktionen der IL-6- und HMGB-1-Konzentrationen auftraten (Publikation 2, Publikation 3). Dies wurde umso konsistenter sichtbar bei Betrachtung der männlichen Teilnehmenden – sowohl im Vergleich zur Kontrollgruppe als auch im Vergleich zur Proteingruppe (Publikation 2 – Table S3, Abb. 6). Interessanterweise stehen diese Beobachtungen im Kontrast zu zwei Interventionsstudien mit 23 älteren Erwachsenen (71±1 Jahre, 25 % Frauen) [91] bzw. 23 älteren Männern (Kontrolle: 71±5 Jahre, Intervention: 71±6 Jahre) [138], die jeweils nach einem 12-wöchigen Krafttraining (3×/Woche) kombiniert mit einer Omega-3-Supplementierung (3 g/Tag) keine signifikanten Veränderungen der IL-6- oder TNF- α -Konzentrationen sahen. Im Gegensatz zu den Eigengewichtsübungen in der AIDA-Studie, wurden in diesen Untersuchungen allerdings jeweils ein progressives Krafttraining eingesetzt, welches bereits einen starken, günstigen Einfluss auf das Entzündungsgeschehen nimmt [58].

Insgesamt lässt sich nicht gänzlich klären, wie das Zusammenspiel zwischen einer zusätzlichen Omega-3-Gabe und Sport bei älteren Erwachsenen explizit auf das Entzündungsgeschehen zu bewerten ist, da Studien hierzu bisher kaum durchgeführt wurden und die vorhandenen Untersuchungen zum Teil kontroverse Ergebnisse lieferten [138, 139]. Generell wird jedoch angenommen, dass Omega-3 bezüglich der immunmodulierenden und anti-inflammatorischen Prozesse komplementär zum Sport wirken könnte [139, 140].

Im Zuge der Abnahme pro-inflammatorischer Marker, ließ sich des Weiteren auch eine Abnahme der anti-inflammatorischen Marker IL-10 und IL-1RA beobachten (Publikation 2, Publikation 3, Abb. 6), was als kompensatorischer Effekt interpretiert werden könnte [141]. Allerdings fehlen bisher Studien, insbesondere bei älteren Erwachsenen, die die kombinierte Wirkung einer Sport- und Ernährungsintervention mit Fokus auf Omega-3 auf pro- und anti-inflammatorische Marker gleichzeitig untersuchen.

Evaluierung auf Ebene der Genexpression in peripheren mononukleären Blutzellen

Um die Interventionseffekte differenziert eruieren zu können und ein besseres Verständnis über die immunmodulierenden Eigenschaften zu erhalten, wurde im Rahmen der AIDA-Studie zusätzlich die Genexpression der Entzündungsmarker *IL6*, *IL10*, *IL1RN*, *IL1B*, *CCL2*, *TNFA* in isolierten PBMC gemessen. Hierbei zeigte sich in der gruppeninternen Auswertung, dass die Genexpression der inflammatorischen Marker *IL6* und *CCL2* hauptsächlich in der Proteingruppe abnahm (Publikation 3). Zusätzlich verringerte sich die Genexpression von *IL1RN*

sowohl in der Protein- als auch der Protein+Omega-3-Gruppe (Publikation 3). Diese Beobachtungen wirken zunächst kontraintuitiv, da die alimentäre Proteinzufuhr insbesondere von tierischer Herkunft als eher pro-inflammatorisch bewertet wird [142]. Der Einfluss von Nahrungsprotein auf die Entzündungsprozesse ist allerdings umstritten und scheint vornehmlich von der Proteinquelle und der Aminosäurezusammensetzung abzuhängen.

In Untersuchungen mit 37 älteren Erwachsenen (64±6 Jahren, 35 % Frauen), die einen Typ 2-Diabetes und eine nicht-alkoholische Fettlebererkrankung aufwiesen, konnten die zirkulierenden Entzündungsmarker sowohl mit einer 6-wöchigen proteinreichen, omnivoren als auch pflanzenbasierten Ernährung gesenkt werden [143, 144]. Es gibt Hinweise darauf, dass Proteine vor allem aus Soja- und Milchprodukten anti-inflammatorisch wirken können [145, 146]. Das Molkenprotein besteht bspw. aus verschiedenen Proteinen, wie in etwa β -Lactoglobulin, α -Lactalbumin, Glycomakropeptid und Lactoferrin, die anti-inflammatorische und immunmodulierende Eigenschaften besitzen [147]. Die anti-inflammatorischen Effekte von täglich 20 g Molkenprotein bestätigten sich sowohl nach einer 13-wöchigen Einnahme bei 288 älteren Erwachsenen mit leichtgradig erhöhten Entzündungsmarkern [148] als auch nach nur 3-wöchiger Gabe bei 42 Patienten nach einem akuten Schlaganfall [149]. Darüber hinaus könnte das Nahrungsprotein die günstigen Effekte einer insgesamt anti-inflammatorischen Ernährung verstärken, da die Aminosäuren die Sekretion von Glukagon stimulieren, welches ebenfalls die Delta-5-Desaturase hemmt und darüber die Konversion der Arachidonsäure in pro-inflammatorische Metabolite verringert [84].

Evaluierung der inflammatorischen Antwort nach LPS-Stimulierung in Vollblut-zellkulturen

Eine beeinträchtigte Barrierefunktion der Darmmukosa und zusätzliche Dysbiose fördern im Alter die mikrobielle Translokation von Endotoxinen, die ihrerseits systemische Entzündungsreaktionen triggern [14]. Einer der bekanntesten Vertreter ist das LPS, welches als ein Bestandteil von Gram-negativen Bakterien ein natürlich vorkommendes Endotoxin darstellt und hauptsächlich Monozyten im Blut stimuliert [150]. Daher wird die in vitro Stimulierung von Immunzellen mit LPS häufig als Modell zur Evaluierung der inflammatorischen Antwort genutzt.

Mit dem Inflammaging wird zudem ein erratisches Immunsystem verbunden, das auf Stressstimuli nicht angemessen reagiert. Während Konsens darüber besteht,

dass langfristig mit zunehmendem Alter ein leichtgradiger Anstieg der Entzündungsmarker beobachtet werden kann [7, 8], ist noch nicht eindeutig definiert, wie die kurzfristige Immunantwort auf eine akute Stimulation bei älteren Menschen ausfällt. Bruunsgaard et al. deuten eine reduzierte inflammatorische Antwort bei älteren Menschen als einen Defekt in der Akute-Phase-Reaktion und sehen eine herabgesetzte Immunantwort auf LPS als Indiz für die Wirtanfälligkeit gegenüber Pathogenen [150]. Dahingegen interpretieren Budamagunta et al. eine Überaktivierung der Immunantwort auf die akute Stimulation ganz im Sinne des unregulierten, seneszenten Immunsystems [151].

Um herauszufinden, inwiefern die Sport- und Ernährungsintervention die Immunzellkapazität bei älteren Erwachsenen beeinflusst, wurde im Rahmen der AIDA-Studie die ex vivo LPS-induzierte Sekretion von IL-6, IL-10, IL-1RA, IL-1 β , CCL-2 und TNF- α in Vollblutzellkulturen untersucht. Nach acht Wochen Sport- und Ernährungsintervention zeigten sich generell nur wenig Veränderungen in der inflammatorischen Antwort auf die LPS-Stimulierung (Publikation 3). Gruppeninterne Vorher-Nachher-Analysen zeigten eine reduzierte Sekretion von IL-1RA sowohl in der Protein- als auch der Protein+Omega-3-Gruppe, sowie eine Reduktion der CCL-2-Sekretion in der Kontrollgruppe (Publikation 3), die bei separater Betrachtung der männlichen Teilnehmer vor allem auf einen gleichzeitigen Anstieg der CCL-2-Sekretion in der Proteingruppe zurückgeführt werden kann (Publikation 3 – Figure S3).

Eine mit 45 gesunden, älteren Frauen durchgeführte Studie berichtete nach einem 12-wöchigen Krafttraining (3 \times /Woche) in Kombination mit einer Omega-3-Supplementierung (2 g/Tag) eine erhöhte Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine aus den Lymphozyten [152]. In einer Untersuchung bei 25 Personen mit einer Alzheimer Erkrankung ging dahingegen die LPS-induzierte Sekretion von IL-6 und IL-1 β in PBMC nach sechs Monaten Omega-3-Supplementierung (2,3 g/Tag) zurück [153]. Eine andere Untersuchung konnte keinerlei signifikante Veränderung der IL-1 β - und TNF- α -Sekretion nach 12 Wochen Omega-3-Supplementierung (1 g/Tag) bei 46 gesunden, mittelalten Erwachsenen (55–74 Jahre, 48 % Frauen) in LPS-stimulierten PBMC messen [154]. Kew et al. verabreichten 150 gesunden Erwachsenen (25–72 Jahre, 42 % Frauen) über sechs Monate verschiedene Dosierungen und Quellen von Omega-3 (4,5 bzw. 9,5 g/Tag α -Linolensäure (ALA); 0,77 bzw. 1,7 g EPA+DHA) [155]. Die Autoren schlussfolgerten, dass sich durch die Omega-3-Supplementierung zwar die Fettsäurezusammensetzung der

mononukleären Zellen veränderte, aber die Immunaktivität der LPS-stimulierten Neutrophilen, Monozyten und Lymphozyten nicht nachweisbar beeinflusst wurde [155].

Insgesamt gibt es nur wenige Humanstudien, welche die LPS-induzierte Sekretion von Zytokinen oder die Genexpression verschiedener Entzündungsmarker nach Supplementierung mit Omega-3 bei älteren Erwachsenen untersuchten. Darüber hinaus weisen sie inkonsistente Ergebnisse auf, die teilweise auf die unterschiedlichen Interventionen und auf die zugrundeliegenden Vorerkrankung zurückgeführt werden können. Vor diesem Hintergrund und angesichts der geringen Veränderungen, ist die klinische Bedeutung der Omega-3-Supplementierung im Kontext des alternden Immunsystems noch ungewiss. Aber es ist wahrscheinlich, dass die zusätzliche, moderate Omega-3-Supplementierung im Rahmen der AIDA-Studie entweder keine oder nur geringe Auswirkungen auf die Immunantwort hatte.

Auswirkungen einer altersgemäßen Sportintervention auf Muskelfunktion und Inflammation bei älteren Erwachsenen

Als Grundvoraussetzung zur Steigerung der Muskelkraft und -funktion erhielten alle Teilnehmenden in der AIDA-Studie einmal wöchentlich Vibrationstraining (20–35 Hz; 3–3,5 Minuten) in Kombination mit altersgemäßen, kräftigenden Eigengewichtsübungen im Heimspport (3×/Woche; 3×5 Übungen; ca. 45 Minuten). Alle drei Gruppen zeigten zu Studienbeginn eine vergleichbare Fitness und steigerten sich in ähnlichem Maße in ihren Trainingsprotokollen über die acht Wochen Intervention sowohl hinsichtlich des Vibrationstrainings als auch der Eigengewichtsübungen (Publikation 2 – Table S1). Trotz der guten Adhärenz, auch im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen, erzielte die Kontrollgruppe mit alleiniger Sportintervention keine nennenswerten Veränderungen der Körperzusammensetzung, Muskelparameter oder Entzündungsmarker (Publikation 2, Publikation 3). Es zeigte sich lediglich eine signifikant geringere LPS-induzierte Sekretion von CCL-2 (Publikation 3, Abb. 6). Diese ist insgesamt überraschend, da Sportinterventionen im Allgemeinen günstige Effekte auf verschiedene Sarkopenie-relevante Parameter und Entzündungsmarker zugesprochen werden.

Eine größer angelegte Interventionsstudie mit 424 inaktiven, älteren Erwachsenen (77±4 Jahre, 69 % Frauen), die bereits ein höheres Risiko für die Entwicklung für Mobilitätseinschränkungen aufwiesen, zeigte, dass zunächst nach 12 Monaten ein altersgemäßes, alltagsnahes Bewegungsprogramm die Anzahl der messbaren

Frailty-Kriterien reduzieren konnte [61]. In einer darauffolgenden Untersuchung zeigte sich zudem nach 2,6 Jahren ein reduziertes Risiko für die Manifestation der Mobilitätseinschränkungen [62]. Gerade in Zeiten eingeschränkter Aktivität, wie sich während der COVID-19-Pandemie nochmal deutlich gezeigt hat, sind Bewegungsprogramme für den Heimsport von großem Wert, um dem Bewegungsmangel entgegenzuwirken und die funktionelle Konstitution aufrechtzuerhalten oder gar zu verbessern [64]. Anzumerken ist hierbei, dass die altersgemäßen Eigengewichtsübungen für den Heimsport im Vergleich zu einem progressivem Krafttraining, wie sie üblicherweise in Interventionsstudien durchgeführt werden, nur eine verhältnismäßig leichte bis moderate Sportintervention darstellen. Aus dieser Perspektive hat das praxisorientierte Bewegungsprogramm in der AIDA-Studie vermutlich an Intensität gefehlt, um vor allem bei den noch relativ fitten, selbständig lebenden, älteren Erwachsenen, die (noch) keine Mobilitätseinschränkungen erfuhren, signifikant messbare Verbesserungen ohne weitere Ernährungsmodifikation zu erzielen.

Obwohl grundsätzlich durch das Vibrationstraining eine Verbesserung der Muskelfunktion erwartet werden könnte [45], sind die eingesetzten Trainingsprotokolle und auch die Ergebnisse der bisherigen Studien sehr heterogen. In einer Untersuchung von Cristi et al. zeigte ein ausschließliches Vibrationstraining (3×/Woche; 30–45 Hz; 2,5–9 Minuten) nach neun Wochen funktionelle Verbesserungen der Beinkraft, der Muskelleistung und dem CRT bei 16 älteren Erwachsenen (81±1 Jahre; 44 % Frauen) [156]. Rees et al. konnten nach acht Wochen Kraftübungen kombiniert mit einem Vibrationstraining (3×/Woche, 26 Hz; 4,5–9 Minuten) bei 30 älteren Erwachsenen (74±5 Jahre; 47 % Frauen) eine Verbesserung der Kraft und Leistung im Sprunggelenk erzielen, nicht jedoch in Bezug auf die Bein- oder Hüftmuskulatur [157]. Jo et al. nutzten bei 40 älteren Erwachsenen (Kontrolle: 75±5 Jahre, Intervention: 74±4 Jahre; 55 % Frauen) ein relativ mildes Trainingsprotokoll bestehend aus Dehnübungen in Kombination mit Vibrationstraining (3×/Woche, 10 Hz; 20 Minuten) [158]. Bereits nach vier Wochen registrierten sie eine signifikante Verbesserung der körperlichen Funktionalität, ermittelt anhand des Short Physical Performance Battery, und ein tendenziell besseres Drehmoment der isokinetischen Beinkraft [158]. Eine weitere Untersuchung mit 67 älteren Erwachsenen (72 Jahre (range: 59–86); 94 % Frauen) zeigte mit einem Trainingsprotokoll vergleichbar zur AIDA-Studie nach acht Wochen kräftigenden Übungen (2×/Woche) in Kombination mit

Vibrationstraining (1×/Woche; 12–20 Hz; 4 Minuten) eine Verbesserung der Gehgeschwindigkeit und Balance [48]. Die Kraft oder Muskelleistung wurden in der Untersuchung von Kawanabe et al. allerdings nicht eruiert [48]. Dahingegen zeigte eine andere Studie mit 29 älteren Frauen (Kontrolle: 61±7 Jahre, Intervention: 61±6 Jahre) eine Steigerung der Muskelleistung um 5 % nach insgesamt sechs Monaten ausschließlichem Vibrationstraining (2×/Woche; 28 Hz; 6 Minuten) [159].

Dass Entzündungsprozesse prinzipiell mit regelmäßigem Sport bei älteren Erwachsenen günstig beeinflusst werden können, konnten verschiedene Metaanalysen bereits zeigen [58, 160]. Hierbei wurde zudem deutlich, dass der anti-inflammatorische Effekt von der Intensität abhängt [57, 58]. Inwiefern auch das zusätzliche Vibrationstraining zum Entzündungsgeschehen beitragen kann, ist noch nicht abschließend geklärt, da bisherige Studien inkonsistente Ergebnisse zeigen. Eine Untersuchung setzte neun Wochen exklusives Vibrationstraining (3×/Woche; 30–45 Hz; 2,5–9 Minuten) bei 16 älteren Erwachsenen ein (81±1 Jahre; 44 % Frauen) und konnte trotz Verbesserungen auf funktioneller Ebene keine Veränderungen bei den zirkulierenden Entzündungsmarkern oder auf Genexpressionsebene feststellen [156]. Auch nach 12 Wochen Training (3×/Woche; 30–40 Hz; 3 Minuten) sahen Neves et al. keine Effekte auf die Entzündungsmarker oder den oxidativen Stress bei 20 älteren Erwachsenen mit chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (Kontrolle: 64±8 Jahre, Intervention: 64±8 Jahre; 40 % Frauen) [161]. Eine der wenigen Untersuchungen, die über anti-inflammatorische Effekte des Vibrationstrainings berichtete, nutzte ein exklusives Vibrationstraining (2×/Woche; 20–35 Hz; 1,5–7 Minuten) bei 28 älteren Erwachsenen (Kontrolle: 70±1 Jahre, Intervention: 71±2 Jahre; 71 % Frauen) [162]. Im Gegensatz zur AIDA-Studie, war hier nach acht Wochen Vibrationstraining die Genexpression von *IL10* in PBMC deutlich hochreguliert [162]. Gleichzeitig war die Plasmakonzentration von TNF- α reduziert, obwohl sich auch hier die Genexpression von *TNFA* nach den acht Wochen Intervention nicht veränderte [162].

Es wird deutlich, dass die Mehrzahl der Studien das Vibrationstraining dreimal wöchentlich anbot. Obwohl das in der AIDA-Studie eingesetzte Trainingsprotokoll bestehend aus kräftigenden Übungen (3×/Woche) in Kombination mit Vibrationstraining (1×/Woche; 20–35 Hz; 3–3,5 Minuten) möglicherweise nicht genügend Intensität bot, um die Entzündungsmarker messbar nach acht Wochen

zu beeinflussen, zeigen die Beobachtungen dennoch Überschneidungen mit den Erfahrungswerten der Studien mit ähnlichem Kontext [152, 161, 162].

Geschlechtergetrennte Analysen

Aufgrund der erwartbaren unterschiedlichen Konstitutionen wird empfohlen, Frauen und Männer getrennt zu analysieren [11, 132]. Die zugrunde liegenden Mechanismen für die geschlechterspezifischen Unterschiede sind komplex und werden noch untersucht. Geschlechterspezifische Unterschiede in der Genetik, das daraus resultierende hormonelle Milieu [163] und die Immunantwort [11, 132] werden als primäre Gründe genannt, die scheinbar auch im höheren Alter persistieren. Interessanterweise zeichnete sich bereits in Querschnittsanalysen der Ausgangswerte zur AIDA-Studie ab, dass die Männer im Vergleich zu den Frauen ausgeprägtere Assoziationen zwischen der Omega-3-Zufuhr, dem Omega-3-Plasmaindex sowie den Entzündungsmarkern mit der Muskelkraft und -funktion aufwiesen (Anhang – Tab. A 1). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Rossato et al. auch nach Auswertung der NHANES-Kohorte [94].

Durch die im Rahmen der AIDA-Studie durchgeführten geschlechtergetrennten Analysen zeigten sich unterschiedliche Auswirkungen der Intervention auf funktioneller Ebene sowie in Bezug auf das Inflammationsprofil der Frauen und Männer, die an dieser Stelle näher betrachtet werden sollen.

Evaluierung auf funktioneller Ebene

Alle signifikanten Veränderungen nach acht Wochen Sport- und Ernährungsintervention in Bezug auf die Muskelparameter wurden nach geschlechtergetrennter Analyse nur bei den Männern beobachtet (Publikation 2 – Table S3). Hierdurch wurden auch einige Effekte der Omega-3-Supplementierung deutlicher sichtbar. So war im Gesamtgruppenvergleich zunächst kein signifikanter Unterschied in der Verbesserung der Muskelleistung zwischen der Protein- und Protein+Omega-3-Gruppe festzustellen (Publikation 2). Wurden die männlichen Teilnehmer jedoch separat analysiert, kristallisiert sich der zusätzliche Effekt der Supplementierung mit Omega-3 im Vergleich zur Proteingruppe ohne Omega-3 heraus (Publikation 2 – Table S3). Als eine Erklärung könnten die genetisch bedingten, physiologischen Unterschiede zwischen Frauen und Männern dienen. Männer weisen im Allgemeinen eine höhere Anzahl an Satellitenzellen auf wodurch eine größere Regenerationskapazität vorhanden ist [132]. Zudem besitzen Männer generell mehr MyHC Typ 2-Fasern und motorische Einheiten, was sich in einer

besseren neuromuskulären Aktivierung und größeren Muskelkontraktionsfähigkeit ausdrückt [132, 163]. Dies ist nicht nur in den Ausgangswerten im direkten Vergleich zwischen den Frauen und Männern anhand der initial höheren Muskelkraft und -leistung sichtbar geworden (Publikation 2 – Table S4), sondern könnte auch Einfluss auf die Interventionseffekte genommen haben.

Evaluierung in Bezug auf das Inflammationsprofil

Mit steigendem Lebensalter kann eine Zunahme des Körpergewichts mit einer ungünstigen Veränderung der Körperzusammensetzung und Zunahme der (viszeralen) Fettmasse beobachtet werden [11]. Durch eine zunehmend unphysiologische Vergrößerung der Adipozyten kommt es langfristig zur Sauerstoffunterversorgung des Fettgewebes [12]. In der Folge nehmen Zellnekrose und Makrophageninfiltration zu, die zunächst eine lokale Entzündungsreaktion hervorrufen, welche sich jedoch perspektivisch zu einer systemischen Entzündung ausweiten kann [12]. In dieser Hinsicht triggert insbesondere eine höhere viszerale Fettmasse das pro-inflammatorische Milieu [11]. Dies deckt sich mit der Beobachtung, dass die Männer der AIDA-Studie im Vergleich zu den Frauen ein höheres Taille-/Längenverhältnis (als Surrogat für die abdominelle Fettmasse) und ebenso höhere Entzündungsmarker zu Studienbeginn aufwiesen (Publikation 2 – Table S4). Hierdurch war möglicherweise ein größeres Verbesserungspotenzial bei den Männern verfügbar.

Im Gesamtgruppenvergleich zeigte sich bereits ein Trend zu einer Abnahme der IL-6-Serumkonzentrationen in der Protein+Omega-3-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe ab (Publikation 2). Nach separater Analyse der Männer bestätigte sich die signifikante Verringerung der IL-6- und HMGB-1-Serumkonzentrationen (Publikation 2 – Table S3). Im direkten Vergleich zwischen den Frauen und Männern der Protein+Omega-3-Gruppe zeigte sich zudem eine tendenziell stärkere Abnahme der IL-6-Serumkonzentrationen und signifikant stärkere Abnahme der CCL-2-Serumkonzentrationen der Männer (Publikation 3 – Figure S1). Damit einhergehend zeigte sich eine stärkere Reduktion der IL-10-Serumkonzentrationen bei den Männern im Vergleich zu den Frauen der jeweiligen Protein+Omega-3-Gruppe (Publikation 3 – Figure S1). Die Beobachtungen spiegeln sich allerdings nicht auf Ebene der Genexpression oder nach LPS-Stimulierung wider. Insgesamt registrierten allerdings auch Cornish et al. nur bei den Männern der von ihnen 51 untersuchten älteren Erwachsenen (65±1 Jahre, 45 % Frauen) eine Reduktion der IL-6-Konzentration nach 12 Wochen

Krafttraining und ALA (14 g/Tag Leinsamenöl) [164]. Dieser Umstand ist besonders interessant, da bisher davon ausgegangen wurde, dass Frauen eine effektivere Konversionskapazität der ALA in EPA und DHA besitzen [89].

Evaluierung im Kontext der Omega-3-Fettsäurezufuhr

Obwohl geschlechterspezifische Dimorphismen in der Immunantwort [11, 132, 165] sowie im Omega-3-Stoffwechsel [166] bekannt sind und beide teilweise östrogenvermittelt sind, könnte dies bei postmenopausalen Frauen von geringerer Relevanz sein. Insgesamt ist die vorhandene Literatur zur Zufuhr und Aufnahme von Omega-3 bei gesunden, älteren Frauen und Männern bisher nicht eindeutig. Beispielsweise waren in der NHANES-Kohorte keine Assoziationen zwischen der Omega-3-Zufuhr und der Muskelkraft bei den Frauen zu erkennen, dafür aber bei den Männern [94]. In der Osteoporosis Risk Factor and Prevention-Fracture Prevention Studie (OSTPRE-FPS: n=554 Frauen, 68±2 Jahre) zeigte sich dahingegen sehr wohl ein positiver Zusammenhang zwischen der Omega-3-Zufuhr und der Muskelkraft sowie -funktion der untersuchten älteren Frauen [167]. Wenn dahingegen der Omega-3-Plasmaindex betrachtet wurde, zeigte sich in einer weiteren Querschnittsanalyse (n=836, 77±6 Jahre, 54 % Frauen) keine geschlechterspezifischen Assoziationen [168]. Im Gegensatz zur AIDA-Studie zeigte sich im Rahmen einer Interventionsstudie mit 50 älteren Erwachsenen (46 % Frauen: 71±3 Jahre, Männer: 71±5 Jahre), nach 18 Wochen progressivem Krafttraining (2x/Woche) und Omega-3-Supplementierung (3 g/Tag) ein signifikanter und geschlechterspezifischer Effekt in Bezug auf die Beinkraft und Muskelqualität zugunsten der Frauen [169]. Wiederum im Kontrast hierzu sahen Dalle et al. nach 12 Wochen Krafttraining und Omega-3-Supplementierung (3 g/Tag) zwar signifikante Verbesserungen auf funktioneller Ebene und zumindest tendenzielle Verbesserungen der inflammatorischen Antwort, die jedoch nicht geschlechterspezifisch waren [91].

Stärken und Limitierungen

Eine Stärke der hier vorgestellten Arbeit ist der kombinierte Ansatz, verschiedene Untersuchungsmethoden und analytische Verfahren zusammen zu bringen, um ein möglichst umfassendes Bild bei der Antwortgenerierung zu erhalten. So wurden zunächst Assoziationen in einer Querschnittsanalyse im Hinblick auf die Fragestellung des übergreifenden Zusammenhanges zwischen Ernährung, Inflammation und Muskulatur untersucht. Da die untersuchten Assoziationen

prinzipiell keine Kausalität erbringen und nur erste Hinweise aufzeigen können, wurden die Beobachtungen anschließend in einer interventionellen Pilotstudie überprüft.

In der POST-Querschnittanalyse (Publikation 1) wäre es wünschenswert gewesen, mehrere Entzündungsmarker gemessen zu haben, da der DII prinzipiell auch mit CRP, IL-1 β , IL-4 und TNF- α in Verbindung gebracht wurde und diese ebenso relevante Marker im Rahmen des Inflammaging darstellen. Dementsprechend kann die vorgelegte Analyse nur einen limitierten Blick auf das Inflammationsprofil bieten. Folglich wurden in der anschließenden AIDA-Interventionsstudie (Publikation 2, Publikation 3) in einem explorativen Ansatz ein umfangreicheres Spektrum an verschiedenen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen untersucht. Daher ist eine Stärke der AIDA-Studie einerseits das breite Spektrum der pro- und anti-inflammatorischen Marker und andererseits die Untersuchung dieser in verschiedenen Matrices (Serum/Plasma, PBMCs und Vollblutzellkultur) sowie mittels unterschiedlicher Analyseverfahren. Hierbei wurden die Interventionseffekte sowohl auf systemischer Ebene als auch auf Genexpressionsebene sowie nach LPS-Stimulierung evaluiert. Die kombinierte Analyse auf verschiedenen Ebenen erlaubte somit einen differenzierten Blick auf das komplexe Entzündungsgeschehen. Serumkonzentrationen spiegeln außerdem nicht strikter Weise die Prozesse auf zellulärer Ebene wider, zumal der Ursprung der zirkulierenden Entzündungsmarker nicht immer klar zuordenbar ist [170].

Neben dem kombinierten Einsatz verschiedener Analyseverfahren im Hinblick auf die Inflammation, ist als eine weitere Stärke ebenso der kombinierte Einsatz etablierter Muskelkraft- und Funktionsmessungen unter Verwendung der modernen Mechanografie zu nennen. Dies bot durch die sensiblere Messtechnik einen differenzierten Blick auf die Muskelleistung und ermöglichte es, die Veränderungen frühzeitig zu registrieren.

Die Verbesserungen der Muskelkraft und -funktion und insbesondere der Muskelleistung in Folge der Sport- und Ernährungsintervention (Publikation 2) lassen sich auf die sehr gute Adhärenz in den Gruppen zurückführen (Publikation 2 – Table S1). Die Auswertung von Ernährungsprotokollen bedeutet zwar einen Mehraufwand, sowohl für die Teilnehmenden als auch das wissenschaftliche Personal, bietet jedoch umfangreiche Informationen zum aktuellen Verzehr. Da sie prinzipiell auch ein Risiko für Über-/Unterschätzung des Verzehrs (Misreporting

Bias) aufweisen können [171], wurde in der AIDA-Studie zusätzlich der Omega-3-Plasmaindex als objektiver Marker der Omega-3-Aufnahme mitgemessen.

Limitierend in dieser Arbeit waren jeweils die verhältnismäßig kleinen Fallzahlen. Tatsächlich sind die Ergebnisse der POST-Studie (Publikation 1) trotz der kleinen Fallzahl vereinbar mit einer größeren Querschnittanalyse in diesem Bereich [107]. Aufgrund fehlender Erfahrungswerte und des daraus resultierenden explorativen Ansatzes im Sinne des kombinierten Einsatzes von Vibrationstraining mit einer protein- und omega-3-reichen Ernährung bei älteren Erwachsenen, orientierte sich die Fallzahl der AIDA-Studie an Fallzahlen, die üblich sind in Ernährungsinterventionsstudien und den Studien zum Vibrationstraining mit älteren Erwachsenen [48, 156-159, 161, 162].

Eine weitere Limitierung stellt die verhältnismäßig kurze Interventionsdauer in der AIDA-Studie aufgrund des Pilotstudiendesigns dar. Allerdings wird Omega-3 relativ schnell, innerhalb weniger Tage, in die Plasmamembran im Blut [172, 173] und innerhalb weniger Wochen in die Sarkolemma aufgenommen [129, 174]. Des Weiteren bewirkt Krafttraining je nach Intensität eine neuromuskuläre Adaptation innerhalb von 2–8 Wochen [175], die vermutlich umso effizienter in Kombination mit einem Vibrationstraining verläuft [46, 176]. Somit war, auch im Hinblick auf die Sicherstellung einer guten Adhärenz, eine 8-wöchige Intervention verhältnismäßig kurz, jedoch aufgrund der annehmbaren synergistischen Effekte zwischen Sport und Ernährung zumindest ausreichend, um messbare Verbesserungen der Muskelfunktion anzuzeigen. Nichtsdestotrotz stellt eine kürzere Interventionsdauer eine generelle Herausforderung dar, Verbesserungen der Muskelkraft und -funktion bei den selbständig lebenden, überwiegend fitten, älteren Teilnehmenden nachzuweisen. Obwohl gemäß der Trainingslehre der individuelle Trainingszustand der Teilnehmenden berücksichtigt wurde, um das größtmögliche Trainingspotenzial auszuschöpfen, wurde dies vor allem in der Kontrollgruppe mit ausschließlichem Training ohne Ernährungsintervention sichtbar.

Ausblick

Insbesondere wenn kein progressives Krafttraining angewendet wird, scheint eine Omega-3-Supplementierung von Vorteil für Muskelkraft und -funktion zu sein, da es Hinweise darauf gibt, dass Omega-3 in Kombination mit Sport die Stoffwechselkapazität erhöht, die Ausdauerkapazität verbessert, die muskuläre Erschöpfung verzögert und die Muskelhypertrophie sowie neuromuskuläre Funktion steigert [140]. Abgesehen von den anti-inflammatorischen Eigenschaften, könnte Omega-3 zudem das Auftreten von Muskelkater und Muskelsteifheit abschwächen und die Gelenkbeweglichkeit erhalten [100, 140].

Sollten sich neben diesen Eigenschaften auch die verstärkende Funktion bezüglich des Proteinanabolismus langfristig bestätigen, könnte Omega-3 eine neue Relevanz auch im Hinblick auf den zunehmenden Vegetarismus und Veganismus erhalten. Angesichts des demografischen Wandels kann zukünftig damit gerechnet werden, dass sich diese Ernährungsweisen auch vermehrt im höheren Alter durchsetzen werden. Eine pflanzenbasierte Ernährung bedeutet jedoch aufgrund des geringeren Konsums an tierischen Produkten häufig einen absolut geringeren Proteingehalt sowie eine geringere Proteinqualität. Hinsichtlich des Proteinmehrbedarfs im höheren Alter, würde dies kompensatorisch größere Mahlzeitenportionen bedeuten [73]. Da im Alter ein Rückgang des Appetits und der Nahrungszufuhr beobachtet werden kann (Anorexia of Aging) [177], stellt dies eine nicht zu unterschätzende Herausforderung dar. Bislang fehlen zudem einschlägige Untersuchungen zur anabolen Wirkung pflanzlicher Proteine im Vergleich zu tierischem Protein im höheren Lebensalter [73]. Bisherige Studien wurden überwiegend mit jüngeren, männlichen Erwachsenen durchgeführt, die keine pauschale Aussage für die ältere Generation erlauben – geschweige denn für Frauen. Während bspw. Sojaprotein bei jüngeren Männern die Muskelproteinsynthese ähnlich gut stimulierte wie Molkenprotein [178], zeigte sich bei älteren Männern nicht nur eine abgeschwächte Proteinsynthese, sondern auch mit zunehmender Dosierung eine verstärkte Oxidierung statt der angestrebten de novo Synthese [179]. Vor diesem Hintergrund wäre denkbar, dass Omega-3 auch bei geringerer Proteinzufuhr und -qualität die Proteinaufnahme in den Muskel zusätzlich unterstützen könnte. Hierbei könnten Muskelbiopsien die Analysen zukünftiger Studien komplettieren, um die Effekte auf zellulärer Ebene nicht nur hinsichtlich des lokalen Entzündungsgeschehen im Muskel, sondern vor allem in Bezug auf die angestrebte Muskelproteinsynthese umfassender zu evaluieren.

Fazit

Vor dem Hintergrund des Inflammaging und des immunmodulierenden Potenzials der Ernährung stellte sich die Frage, inwiefern das ernährungsbedingte Inflammationspotenzial, ermittelt anhand des DII, mit dem Inflammationsprofil sowie dem Muskelstatus bei älteren Erwachsenen zusammenhängt. Die vorgelegte Querschnittsanalyse im Rahmen der POST-Studie hat gezeigt, dass eine pro-inflammatorische Ernährung sich einerseits in einem stärkeren Entzündungsgeschehen widerspiegelt und andererseits ungünstig mit Sarkopenie-relevanten Parametern, wie einer geringeren Muskelmasse und Gehgeschwindigkeit bei selbständig lebenden, älteren Erwachsenen assoziiert ist. Nach separater Analyse der inaktiven Älteren bestätigten sich diese Zusammenhänge auch im Hinblick auf die Handgreifkraft. Gleichzeitig ging die pro-inflammatorische Ernährung mit einer höheren (abdominellen) Fettmasse einher, welche bekanntermaßen das Entzündungsgeschehen nährt und in den Kontext einer westlich geprägten, industrialisierten Ernährung passt.

Im Umkehrschluss war auch eine höhere absolute und relative Omega-3-Zufuhr sowie ein höherer Omega-3-Plasmaindex und ein niedrigeres Entzündungsgeschehen mit einer besseren Muskelkraft und -funktion von selbständig lebenden, älteren Erwachsenen assoziiert, die sich stärker bei den Männern ausdrückte, als bei den Frauen.

Aus diesen Befunden leitete sich die Frage ab, inwiefern sich der Muskelstatus selbständig lebender, älterer Erwachsener unter der Maßgabe einer optimierten Proteinzufuhr und altersgemäßen Sportintervention durch eine zusätzliche Supplementierung mit Omega-3 verbessern ließe. Als ein Schlüsselement der Funktionalität und angesichts des frühzeitigen Rückgangs, war die Muskelleistung hierbei von besonderem Interesse. Die hierzu durchgeführte AIDA-Interventionsstudie zeigte, dass eine omega-3-supplementierte, proteinreiche Ernährung in Kombination mit einem Vibrationstraining die Muskelleistung nach acht Wochen insbesondere bei den älteren Männern steigerte. Zusätzlich wurde eine Verbesserung der Beinkraft und CRT-Zeit nach acht Wochen einer proteinreichen Ernährung in Kombination mit der altersgemäßen Sportintervention und wöchentlichem Vibrationstraining erreicht.

Da in den gezeigten Querschnittsanalysen das (anti-) inflammatorische Potenzial der Ernährung nicht nur einen Zusammenhang zur Muskulatur, sondern gleichzeitig auch zum Inflammationsprofil aufwies und die AIDA-Studie bereits

günstige Effekte einer anti-inflammatorischen, omega-3-supplementierten Ernährung auf die Muskelleistung zeigte, stellte sich im Folgenden die Frage, inwiefern diese Ernährungsmodifikation auch einen Einfluss auf das Inflammationsprofil und die Immunantwort bei den älteren Teilnehmenden der AIDA-Studie genommen haben könnte. Um dies zu untersuchen wurden verschiedene analytische Verfahren herangezogen, die ein heterogenes Bild zeigten. Deutlich wurde, dass eine zusätzliche Omega-3-Supplementierung auf systemischer Ebene zu einer signifikanten Reduktion der zirkulierenden Zytokine führte. Insbesondere die älteren Männer profitierten in dieser Hinsicht von einer Reduktion pro-inflammatorischer Marker, wie in etwa IL-6, CCL-2 und HMGB-1. Diese Beobachtungen spiegelten sich jedoch nicht auf Genexpressionsebene in den untersuchten PBMC wider. Tatsächlich sank die Genexpression von *IL1RN* in beiden proteinangereicherten Gruppen, während die Genexpression von *CCL2* nur in der Proteingruppe einen tendenziellen Rückgang im Vergleich zur Kontrollgruppe aufwies. In LPS-stimulierten Vollblutzellkulturen zeigte sich ein etwas anderes Bild. Während eine nur tendenziell geringere Ausschüttung von IL-1RA in der Proteingruppe beobachtet werden konnte, zeigte sich nach LPS-Stimulierung eine signifikant geringere Sekretion von CCL-2 in der Kontrollgruppe im Vergleich zur Proteingruppe, die vermutlich auf die männlichen Teilnehmer zurückzuführen ist.

Da hinsichtlich dieser kombinierten Intervention bei älteren, selbständig lebenden Erwachsenen insbesondere in Bezug auf die Muskelleistung und inflammatorische Antwort Vorerfahrungen fehlen, sollten auf diese Untersuchung weitere Interventionsstudien folgen, die sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Zytokine berücksichtigen. Aufschlussreich könnten zudem Muskelbiopsien sein, um die Alternsprozesse und ihre potenziellen Verbesserungen nicht nur auf physiologischer und funktioneller Ebene zu evaluieren, sondern auch auf zellulärer und molekularer Ebene und somit die bestehenden Theorien im Kontext des Inflammaging detaillierter zu überprüfen.

Literaturverzeichnis

1. Statistisches Bundesamt. Ausblick auf die Bevölkerungsentwicklung in Deutschland und den Bundesländern nach dem Corona-Jahr 2020. Erste mittelfristige Bevölkerungsvorausberechnung 2021 bis 2035. 2021: Wiesbaden.
2. Leitão C, Mignano A, Estrela M, Fardilha M, Figueiras A, Roque F, and Herdeiro MT. The Effect of Nutrition on Aging - A Systematic Review Focusing on Aging-Related Biomarkers. *Nutrients*, 2022. 14(3):554.
3. Garmany A, Yamada S, and Terzic A. Longevity leap: mind the healthspan gap. *npj Regenerative Medicine*, 2021. 6(1):57.
4. Perrig-Chiello P, Perrig WJ, Uebelbacher A, and Stähelin HB. Impact of physical and psychological resources on functional autonomy in old age. *Psychol Health Med*, 2006. 11(4):470-82.
5. McGregor RA, Cameron-Smith D, and Poppitt SD. It is not just muscle mass: a review of muscle quality, composition and metabolism during ageing as determinants of muscle function and mobility in later life. *Longevity & Healthspan*, 2014. 3(1):9.
6. Teissier T, Boulanger E, and Cox LS. Interconnections between Inflammageing and Immunosenescence during Ageing. *Cells*, 2022. 11(3).
7. Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, and Santoro A. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol*, 2018. 14(10):576-590.
8. Franceschi C and Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014. 69 Suppl 1:S4-9.
9. Morrisette-Thomas V, Cohen AA, Fulop T, Riesco E, Legault V, Li Q, Milot E, Dusseault-Belanger F, and Ferrucci L. Inflamm-aging does not simply reflect increases in pro-inflammatory markers. *Mech Ageing Dev*, 2014. 139:49-57.
10. Minciullo PL, Catalano A, Mandraffino G, Casciaro M, Crucitti A, Maltese G, Morabito N, Lasco A, Gangemi S, and Basile G. Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016. 64(2):111-26.
11. Varghese M, Song J, and Singer K. Age and Sex: Impact on adipose tissue metabolism and inflammation. *Mech Ageing Dev*, 2021. 199:111563.
12. Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, and Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci*, 2017. 13(4):851-863.
13. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, Ferrucci L, Gilroy DW, Fasano A, Miller GW, Miller AH, Mantovani A, Weyand CM, Barzilai N, Goronzy JJ, Rando TA, Effros RB, Lucia A, Kleinstreuer N, and Slavich GM. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*, 2019. 25(12):1822-1832.
14. Fulop T, Larbi A, Dupuis G, Le Page A, Frost EH, Cohen AA, Witkowski JM, and Franceschi C. Immunosenescence and Inflamm-Aging As Two Sides of the Same Coin: Friends or Foes? *Front Immunol*, 2017. 8:1960.
15. Yang H, Wang H, and Andersson U. Targeting Inflammation Driven by HMGB1. *Frontiers in Immunology*, 2020. 11(484).
16. Dalle S, Rossmeislova L, and Koppo K. The Role of Inflammation in Age-Related Sarcopenia. *Front Physiol*, 2017. 8:1045.
17. Barbieri M, Ferrucci L, Ragno E, Corsi A, Bandinelli S, Bonafè M, Olivieri F, Giovagnetti S, Franceschi C, Guralnik JM, and Paolisso G. Chronic

- inflammation and the effect of IGF-I on muscle strength and power in older persons. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003. 284(3):E481-7.
18. Payette H, Roubenoff R, Jacques PF, Dinarello CA, Wilson PW, Abad LW, and Harris T. Insulin-like growth factor-1 and interleukin 6 predict sarcopenia in very old community-living men and women: the Framingham Heart Study. *J Am Geriatr Soc*, 2003. 51(9):1237-43.
 19. Schaap LA, Pluijm SM, Deeg DJ, Harris TB, Kritchevsky SB, Newman AB, Colbert LH, Pahor M, Rubin SM, Tylavsky FA, and Visser M. Higher inflammatory marker levels in older persons: associations with 5-year change in muscle mass and muscle strength. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2009. 64(11):1183-9.
 20. Qaisar R, Bhaskaran S, and Van Remmen H. Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration. *Free Radic Biol Med*, 2016. 98:56-67.
 21. Hepple RT and Rice CL. Innervation and neuromuscular control in ageing skeletal muscle. *J Physiol*, 2016. 594(8):1965-78.
 22. Wiedmer P, Jung T, Castro JP, Pomatto LCD, Sun PY, Davies KJA, and Grune T. Sarcopenia - Molecular mechanisms and open questions. *Ageing Res Rev*, 2021. 65:101200.
 23. Delmonico MJ, Harris TB, Visser M, Park SW, Conroy MB, Velasquez-Mieyer P, Boudreau R, Manini TM, Nevitt M, Newman AB, and Goodpaster BH. Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *Am J Clin Nutr*, 2009. 90(6):1579-85.
 24. Piasecki M, Ireland A, Piasecki J, Stashuk DW, Swiecicka A, Rutter MK, Jones DA, and McPhee JS. Failure to expand the motor unit size to compensate for declining motor unit numbers distinguishes sarcopenic from non-sarcopenic older men. *J Physiol*, 2018. 596(9):1627-1637.
 25. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyere O, Cederholm T, Cooper C, Landi F, Rolland Y, Sayer AA, Schneider SM, Sieber CC, Topinkova E, Vandewoude M, Visser M, and Zamboni M. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*, 2018. 10.1093/ageing/afy169.
 26. Yeung SSY, Reijnierse EM, Pham VK, Trappenburg MC, Lim WK, Meskers CGM, and Maier AB. Sarcopenia and its association with falls and fractures in older adults: A systematic review and meta-analysis. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2019. 10(3):485-500.
 27. Cao L and Morley JE. Sarcopenia Is Recognized as an Independent Condition by an International Classification of Disease, Tenth Revision, Clinical Modification (ICD-10-CM) Code. *J Am Med Dir Assoc*, 2016. 17(8):675-7.
 28. Wilson D, Jackson T, Sapey E, and Lord JM. Frailty and sarcopenia: The potential role of an aged immune system. *Ageing Res Rev*, 2017. 36:1-10.
 29. Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, Seeman T, Tracy R, Kop WJ, Burke G, and McBurnie MA. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2001. 56(3):M146-56.
 30. Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, and Roubenoff R. The healthcare costs of sarcopenia in the United States. *J Am Geriatr Soc*, 2004. 52(1):80-5.
 31. Norman K and Otten L. Financial impact of sarcopenia or low muscle mass - A short review. *Clin Nutr*, 2018. 10.1016/j.clnu.2018.09.026.
 32. Mijnders DM, Luiking YC, Halfens RJG, Evers S, Lenaerts ELA, Verlaan S, Wallace M, Schols J, and Meijers JMM. Muscle, Health and Costs: A Glance at their Relationship. *J Nutr Health Aging*, 2018. 22(7):766-773.

33. Wiegmann S, Felsenberg D, Armbrecht G, and Dietzel R. Longitudinal changes in muscle power compared to muscle strength and mass. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2021. 21(1):13-25.
34. Bahat G, Kilic C, Eris S, and Karan MA. Power Versus Sarcopenia: Associations with Functionality and Physical Performance Measures. *The journal of nutrition, health & aging*, 2021. 25(1):13-17.
35. Reid KF and Fielding RA. Skeletal muscle power: a critical determinant of physical functioning in older adults. *Exerc Sport Sci Rev*, 2012. 40(1):4-12.
36. Bean JF, Leveille SG, Kiely DK, Bandinelli S, Guralnik JM, and Ferrucci L. A comparison of leg power and leg strength within the InCHIANTI study: which influences mobility more? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2003. 58(8):728-33.
37. Veronese N, Koyanagi A, Cereda E, Maggi S, Barbagallo M, Dominguez LJ, and Smith L. Sarcopenia reduces quality of life in the long-term: longitudinal analyses from the English longitudinal study of ageing. *Eur Geriatr Med*, 2022. 13(3):633-639.
38. Simpkins C and Yang F. Muscle power is more important than strength in preventing falls in community-dwelling older adults. *J Biomech*, 2022. 134:111018.
39. Trombetti A, Reid KF, Hars M, Herrmann FR, Pasha E, Phillips EM, and Fielding RA. Age-associated declines in muscle mass, strength, power, and physical performance: impact on fear of falling and quality of life. *Osteoporos Int*, 2016. 27(2):463-71.
40. Roberts HC, Denison HJ, Martin HJ, Patel HP, Syddall H, Cooper C, and Sayer AA. A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: towards a standardised approach. *Age Ageing*, 2011. 40(4):423-9.
41. Guralnik JM, Ferrucci L, Pieper CF, Leveille SG, Markides KS, Ostir GV, Studenski S, Berkman LF, and Wallace RB. Lower extremity function and subsequent disability: consistency across studies, predictive models, and value of gait speed alone compared with the short physical performance battery. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2000. 55(4):M221-31.
42. Runge M and Hunter G. Determinants of musculoskeletal frailty and the risk of falls in old age. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2006. 6(2):167-73.
43. Lusardi MM, Fritz S, Middleton A, Allison L, Wingood M, Phillips E, Criss M, Verma S, Osborne J, and Chui KK. Determining Risk of Falls in Community Dwelling Older Adults: A Systematic Review and Meta-analysis Using Posttest Probability. *J Geriatr Phys Ther*, 2017. 40(1):1-36.
44. Taani MH, Kovach CR, and Buehring B. Muscle Mechanography: A Novel Method to Measure Muscle Function in Older Adults. *Res Gerontol Nurs*, 2017. 10(1):17-24.
45. Marín PJ and Rhea MR. Effects of vibration training on muscle power: a meta-analysis. *J Strength Cond Res*, 2010. 24(3):871-8.
46. Rittweger J. Vibration as an exercise modality: how it may work, and what its potential might be. *Eur J Appl Physiol*, 2010. 108(5):877-904.
47. Cardinale M and Bosco C. The Use of Vibration as an Exercise Intervention. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 2003. 31(1):3-7.
48. Kawanabe K, Kawashima A, Sashimoto I, Takeda T, Sato Y, and Iwamoto J. Effect of whole-body vibration exercise and muscle strengthening, balance, and walking exercises on walking ability in the elderly. *Keio J Med*, 2007. 56(1):28-33.

49. Pollock RD, Woledge RC, Martin FC, and Newham DJ. Effects of whole body vibration on motor unit recruitment and threshold. *J Appl Physiol* (1985), 2012. 112(3):388-95.
50. Sitjà-Rabert M, Rigau D, Fort Vanmeerghaeghe A, Romero-Rodríguez D, Bonastre Subirana M, and Bonfill X. Efficacy of whole body vibration exercise in older people: a systematic review. *Disabil Rehabil*, 2012. 34(11):883-93.
51. Pollock RD, Martin FC, and Newham DJ. The effect of whole body vibration on older people: a systematic review. *Physical Therapy Reviews*, 2012. 17(2):110-123.
52. Breen L, Stokes KA, Churchward-Venne TA, Moore DR, Baker SK, Smith K, Atherton PJ, and Phillips SM. Two weeks of reduced activity decreases leg lean mass and induces "anabolic resistance" of myofibrillar protein synthesis in healthy elderly. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013. 98(6):2604-12.
53. Di Girolamo FG, Fiotti N, Milanović Z, Situlin R, Mearelli F, Vinci P, Šimunič B, Pišot R, Narici M, and Biolo G. The Aging Muscle in Experimental Bed Rest: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Nutr*, 2021. 8:633987.
54. Wilkinson DJ, Piasecki M, and Atherton PJ. The age-related loss of skeletal muscle mass and function: Measurement and physiology of muscle fibre atrophy and muscle fibre loss in humans. *Ageing Res Rev*, 2018. 47:123-132.
55. Draganidis D, Jamurtas AZ, Stampoulis T, Laschou VC, Deli CK, Georgakouli K, Papanikolaou K, Chatzinikolaou A, Michalopoulou M, Papadopoulos C, Tsimeas P, Chondrogianni N, Koutedakis Y, Karagounis LG, and Fatouros IG. Disparate Habitual Physical Activity and Dietary Intake Profiles of Elderly Men with Low and Elevated Systemic Inflammation. *Nutrients*, 2018. 10(5).
56. Flynn MG, Markofski MM, and Carrillo AE. Elevated Inflammatory Status and Increased Risk of Chronic Disease in Chronological Aging: Inflamm-aging or Inflamm-inactivity? *Aging Dis*, 2019. 10(1):147-156.
57. Nimmo MA, Leggate M, Viana JL, and King JA. The effect of physical activity on mediators of inflammation. *Diabetes Obes Metab*, 2013. 15 Suppl 3:51-60.
58. Zhao H, He Z, Yun H, Wang R, and Liu C. A Meta-Analysis of the Effects of Different Exercise Modes on Inflammatory Response in the Elderly. *Int J Environ Res Public Health*, 2022. 19(16).
59. BZgA. *Forschung und Praxis der Gesundheitsförderung - Sonderheft 03: Nationale Empfehlungen für Bewegung und Bewegungsförderung*. 2017, Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung (BZgA).
60. Coelho-Júnior HJ, Uchida MC, Picca A, Bernabei R, Landi F, Calvani R, Cesari M, and Marzetti E. Evidence-based recommendations for resistance and power training to prevent frailty in community-dwellers. *Aging Clin Exp Res*, 2021. 33(8):2069-2086.
61. Cesari M, Vellas B, Hsu FC, Newman AB, Doss H, King AC, Manini TM, Church T, Gill TM, Miller ME, and Pahor M. A physical activity intervention to treat the frailty syndrome in older persons-results from the LIFE-P study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2015. 70(2):216-22.
62. Pahor M, Guralnik JM, Ambrosius WT, Blair S, Bonds DE, Church TS, Espeland MA, Fielding RA, Gill TM, Groessl EJ, King AC, Kritchevsky SB, Manini TM, McDermott MM, Miller ME, Newman AB, Rejeski WJ, Sink KM, and Williamson JD. Effect of structured physical activity on prevention of major mobility disability in older adults: the LIFE study randomized clinical trial. *Jama*, 2014. 311(23):2387-96.

63. Bundezentrale für gesundheitliche Aufklärung (BZgA). verfügbar online: <https://www.aelter-werden-in-balance.de/bewegungspackung/>. [zuletzt am 28.01.2023]
64. Chaabene H, Prieske O, Herz M, Moran J, Höhne J, Kliegl R, Ramirez-Campillo R, Behm DG, Hortobágyi T, and Granacher U. Home-based exercise programmes improve physical fitness of healthy older adults: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis with relevance for COVID-19. *Ageing Res Rev*, 2021. 67:101265.
65. Drummond MJ, Dickinson JM, Fry CS, Walker DK, Gundermann DM, Reidy PT, Timmerman KL, Markofski MM, Paddon-Jones D, Rasmussen BB, and Volpi E. Bed rest impairs skeletal muscle amino acid transporter expression, mTORC1 signaling, and protein synthesis in response to essential amino acids in older adults. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012. 302(9):E1113-22.
66. Deutz NE, Bauer JM, Barazzoni R, Biolo G, Boirie Y, Bosy-Westphal A, Cederholm T, Cruz-Jentoft A, Krznaric Z, Nair KS, Singer P, Teta D, Tipton K, and Calder PC. Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: recommendations from the ESPEN Expert Group. *Clin Nutr*, 2014. 33(6):929-36.
67. Witard OC, McGlory C, Hamilton DL, and Phillips SM. Growing older with health and vitality: a nexus of physical activity, exercise and nutrition. *Biogerontology*, 2016. 17(3):529-46.
68. Cuthbertson D, Smith K, Babraj J, Leese G, Waddell T, Atherton P, Wackerhage H, Taylor PM, and Rennie MJ. Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. *Faseb j*, 2005. 19(3):422-4.
69. Bauer J, Biolo G, Cederholm T, Cesari M, Cruz-Jentoft AJ, Morley JE, Phillips S, Sieber C, Stehle P, Teta D, Visvanathan R, Volpi E, and Boirie Y. Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE Study Group. *J Am Med Dir Assoc*, 2013. 14(8):542-59.
70. Moore DR. Keeping older muscle "young" through dietary protein and physical activity. *Adv Nutr*, 2014. 5(5):599s-607s.
71. Kumar V, Selby A, Rankin D, Patel R, Atherton P, Hildebrandt W, Williams J, Smith K, Seynnes O, Hiscock N, and Rennie MJ. Age-related differences in the dose-response relationship of muscle protein synthesis to resistance exercise in young and old men. *J Physiol*, 2009. 587(1):211-7.
72. Moore DR, Churchward-Venne TA, Witard O, Breen L, Burd NA, Tipton KD, and Phillips SM. Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires greater relative protein intakes in healthy older versus younger men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2015. 70(1):57-62.
73. Berrazaga I, Micard V, Gueugneau M, and Walrand S. The Role of the Anabolic Properties of Plant- versus Animal-Based Protein Sources in Supporting Muscle Mass Maintenance: A Critical Review. *Nutrients*, 2019. 11(8).
74. Wilkinson DJ, Hossain T, Hill DS, Phillips BE, Crossland H, Williams J, Loughna P, Churchward-Venne TA, Breen L, Phillips SM, Etheridge T, Rathmacher JA, Smith K, Szewczyk NJ, and Atherton PJ. Effects of leucine and its metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism. *J Physiol*, 2013. 591(11):2911-23.
75. Kimball SR and Jefferson LS. Control of protein synthesis by amino acid availability. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2002. 5(1):63-7.

76. Boirie Y, Dangin M, Gachon P, Vasson MP, Maubois JL, and Beaufrere B. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997. 94(26):14930-5.
77. Tsigalou C, Konstantinidis T, Paraschaki A, Stavropoulou E, Voidarou C, and Bezirtzoglou E. Mediterranean Diet as a Tool to Combat Inflammation and Chronic Diseases. An Overview. *Biomedicines*, 2020. 8(7):201.
78. Lankinen M, Uusitupa M, and Schwab U. Nordic Diet and Inflammation-A Review of Observational and Intervention Studies. *Nutrients*, 2019. 11(6).
79. Haß U, Schütte O, Franz K, and Norman K. Dietary Inflammatory Index (DII) – Useful Guide in Practical Advice or a Purely Theoretical Model in Nutritional Research? *Aktuel Ernährungsmed*, 2021. 46(03):174-185.
80. Hebert JR, Shivappa N, Wirth MD, Hussey JR, and Hurley TG. Perspective: The Dietary Inflammatory Index (DII)-Lessons Learned, Improvements Made, and Future Directions. *Adv Nutr*, 2019. 10(2):185-195.
81. Shivappa N, Steck SE, Hurley TG, Hussey JR, and Hebert JR. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr*, 2014. 17(8):1689-96.
82. Cao Y, Wittert G, Taylor AW, Adams R, Appleton S, and Shi Z. Nutrient patterns and chronic inflammation in a cohort of community dwelling middle-aged men. *Clin Nutr*, 2017. 36(4):1040-1047.
83. WHO (World Health Organization). Plant-based diets and their impact on health, sustainability and the environment: a review of the evidence. 2021, WHO European Office for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases.: Copenhagen: WHO Regional Office for Europe.
84. Sears B and Saha AK. Dietary Control of Inflammation and Resolution. *Front Nutr*, 2021. 8:709435.
85. Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta*, 2015. 1851(4):469-84.
86. Kavyani Z, Musazadeh V, Fathi S, Hossein Faghfour A, Dehghan P, and Sarmadi B. Efficacy of the omega-3 fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: An umbrella meta-analysis. *Int Immunopharmacol*, 2022. 111:109104.
87. Rangel-Huerta OD, Aguilera CM, Mesa MD, and Gil A. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: a systematic review of randomised clinical trials. *Br J Nutr*, 2012. 107 Suppl 2:S159-70.
88. Gutiérrez S, Svahn SL, and Johansson ME. Effects of Omega-3 Fatty Acids on Immune Cells. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(20).
89. Calder PC. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid derived specialised pro-resolving mediators: Concentrations in humans and the effects of age, sex, disease and increased omega-3 fatty acid intake. *Biochimie*, 2020. 178:105-123.
90. Yamaguchi A, Nishida Y, Maeshige N, Moriguchi M, Uemura M, Ma X, Miyoshi M, Kondo H, and Fujino H. Preventive effect of docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) against endotoxin-induced muscle atrophy. *Clin Nutr ESPEN*, 2021. 45:503-506.
91. Dalle S, Van Roie E, Hiroux C, Vanmunster M, Coudyzer W, Suhr F, Bogaerts S, Van Thienen R, and Koppo K. Omega-3 Supplementation Improves Isometric Strength But Not Muscle Anabolic and Catabolic Signaling in Response to Resistance Exercise in Healthy Older Adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2021. 76(3):406-414.

92. Huang YH, Chiu WC, Hsu YP, Lo YL, and Wang YH. Effects of Omega-3 Fatty Acids on Muscle Mass, Muscle Strength and Muscle Performance among the Elderly: A Meta-Analysis. *Nutrients*, 2020. 12(12).
93. Bird JK, Troesch B, Warnke I, and Calder PC. The effect of long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids on muscle mass and function in sarcopenia: A scoping systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr ESPEN*, 2021. 46:73-86.
94. Rossato LT, de Branco FMS, Azeredo CM, Rinaldi AEM, and de Oliveira EP. Association between omega-3 fatty acids intake and muscle strength in older adults: A study from National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2002. *Clin Nutr*, 2020. 39(11):3434-3441.
95. DGE. Evidenzbasierte Leitlinie: Fettkonsum und Prävention ausgewählter ernährungsmitbedingter Krankheiten. 2. Version. 2015, Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V.: Bonn. p. 231.
96. Gómez Candela C, Bermejo López LM, and Loria Kohen V. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health: nutritional recommendations. *Nutr Hosp*, 2011. 26(2):323-9.
97. Troesch B, Eggersdorfer M, Laviano A, Rolland Y, Smith AD, Warnke I, Weimann A, and Calder PC. Expert Opinion on Benefits of Long-Chain Omega-3 Fatty Acids (DHA and EPA) in Aging and Clinical Nutrition. *Nutrients*, 2020. 12(9).
98. EFSA. Scientific Opinion related to the Tolerable Upper Intake Level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). *EFSA Journal*, 2012. 10(7):2815.
99. Herpich C, Haß U, Kochlik B, Franz K, Laeger T, Klaus S, Bosy-Westphal A, and Norman K. Postprandial dynamics and response of fibroblast growth factor 21 in older adults. *Clin Nutr*, 2021. 40(6):3765-3771.
100. Cornish SM, Cordingley DM, Shaw KA, Forbes SC, Leonhardt T, Bristol A, Candow DG, and Chilibeck PD. Effects of Omega-3 Supplementation Alone and Combined with Resistance Exercise on Skeletal Muscle in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 2022. 14(11):2221.
101. Cholewa JM, Dardevet D, Lima-Soares F, de Araújo Pessôa K, Oliveira PH, Dos Santos Pinho JR, Nicastro H, Xia Z, Cabido CE, and Zanchi NE. Dietary proteins and amino acids in the control of the muscle mass during immobilization and aging: role of the MPS response. *Amino Acids*, 2017. 49(5):811-820.
102. Dupont J, Dedeyne L, Dalle S, Koppo K, and Gielen E. The role of omega-3 in the prevention and treatment of sarcopenia. *Aging Clin Exp Res*, 2019. 31(6):825-836.
103. Cotogni P, Muzio G, Trombetta A, Ranieri VM, and Canuto RA. Impact of the omega-3 to omega-6 polyunsaturated fatty acid ratio on cytokine release in human alveolar cells. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2011. 35(1):114-21.
104. Zahedi H, Djalalinia S, Asayesh H, Mansourian M, Esmaeili Abdar Z, Mahdavi Gorabi A, Ansari H, Noroozi M, and Qorbani M. A Higher Dietary Inflammatory Index Score is Associated with a Higher Risk of Incidence and Mortality of Cancer: A Comprehensive Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Prev Med*, 2020. 11:15.
105. Wang J, Zhou Y, Chen K, Jing Y, He J, Sun H, and Hu X. Dietary inflammatory index and depression: a meta-analysis. *Public Health Nutr*, 2018. 10.1017/s1368980018002628:1-7.
106. Shivappa N, Godos J, Hebert JR, Wirth MD, Piuri G, Speciani AF, and Grosso G. Dietary Inflammatory Index and Cardiovascular Risk and Mortality-A Meta-Analysis. *Nutrients*, 2018. 10(2).

107. Gojanovic M, Holloway-Kew KL, Hyde NK, Mohebbi M, Shivappa N, Hébert JR, O'Neil A, and Pasco JA. The Dietary Inflammatory Index Is Associated with Low Muscle Mass and Low Muscle Function in Older Australians. *Nutrients*, 2021. 13(4).
108. Davis JA, Mohebbi M, Collier F, Loughman A, Staudacher H, Shivappa N, Hébert JR, Pasco JA, and Jacka FN. The role of diet quality and dietary patterns in predicting muscle mass and function in men over a 15-year period. *Osteoporos Int*, 2021. 10.1007/s00198-021-06012-3:1-11.
109. Davis JA, Mohebbi M, Collier F, Loughman A, Shivappa N, Hébert JR, Pasco JA, and Jacka FN. Diet quality and a traditional dietary pattern predict lean mass in Australian women: Longitudinal data from the Geelong Osteoporosis Study. *Prev Med Rep*, 2021. 21:101316.
110. Lengelé L, Moehlinger P, Bruyère O, Locquet M, Reginster JY, and Beaudart C. Association between Changes in Nutrient Intake and Changes in Muscle Strength and Physical Performance in the SarcoPhAge Cohort. *Nutrients*, 2020. 12(11).
111. van den Helder J, Mehra S, van Dronkelaar C, Ter Riet G, Tieland M, Visser B, Kröse BJA, Engelbert RHH, and Weijs PJM. Blended home-based exercise and dietary protein in community-dwelling older adults: a cluster randomized controlled trial. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2020. 11(6):1590-1602.
112. Calvez J, Poupin N, Chesneau C, Lassale C, and Tomé D. Protein intake, calcium balance and health consequences. *Eur J Clin Nutr*, 2012. 66(3):281-95.
113. Narasaki Y, Rhee CM, Kramer H, and Kalantar-Zadeh K. Protein intake and renal function in older patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2021. 24(1):10-17.
114. Levine ME, Suarez JA, Brandhorst S, Balasubramanian P, Cheng CW, Madia F, Fontana L, Mirisola MG, Guevara-Aguirre J, Wan J, Passarino G, Kennedy BK, Wei M, Cohen P, Crimmins EM, and Longo VD. Low protein intake is associated with a major reduction in IGF-1, cancer, and overall mortality in the 65 and younger but not older population. *Cell Metab*, 2014. 19(3):407-17.
115. Klaus S, Pfeiffer AFH, Boeing H, Laeger T, and Grune T. The protein paradox-how much dietary protein is good for health? *Ernahrungs Umschau*, 2018. 65.
116. Weaver AA, Tooze JA, Cauley JA, Bauer DC, Tylavsky FA, Kritchevsky SB, and Houston DK. Effect of Dietary Protein Intake on Bone Mineral Density and Fracture Incidence in Older Adults in the Health, Aging, and Body Composition Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2021. 76(12):2213-2222.
117. Zhang YW, Cao MM, Li YJ, Dai GC, Lu PP, Zhang M, Bai LY, Chen XX, Shi L, Zhang C, and Rui YF. Dietary Protein Intake in Relation to the Risk of Osteoporosis in Middle-Aged and Older Individuals: A Cross-Sectional Study. *J Nutr Health Aging*, 2022. 26(3):252-258.
118. Groenendijk I, den Boeft L, van Loon LJC, and de Groot L. High Versus low Dietary Protein Intake and Bone Health in Older Adults: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Comput Struct Biotechnol J*, 2019. 17:1101-1112.
119. Hirschfeld HP, Kinsella R, and Duque G. Osteosarcopenia: where bone, muscle, and fat collide. *Osteoporos Int*, 2017. 28(10):2781-2790.
120. Porter Starr KN, McDonald SR, Jarman A, Orenduff M, Sloane R, Pieper CF, and Bales CW. Markers of Renal Function in Older Adults Completing a Higher Protein Obesity Intervention and One Year Later: Findings from the MEASUR-UP Trial. *J Nutr Gerontol Geriatr*, 2018. 37(2):117-129.

121. Møller G, Rikardt Andersen J, Ritz C, M PS, Navas-Carretero S, Jalo E, Christensen P, Simpson E, Taylor M, Martinez JA, Macdonald I, Swindell N, Mackintosh KA, Stratton G, Fogelholm M, Larsen TM, Poppitt SD, Dragsted LO, and Raben A. Higher Protein Intake Is Not Associated with Decreased Kidney Function in Pre-Diabetic Older Adults Following a One-Year Intervention-A Preview Sub-Study. *Nutrients*, 2018. 10(1).
122. Lee SW, Kim YS, Kim YH, Chung W, Park SK, Choi KH, Ahn C, and Oh KH. Dietary Protein Intake, Protein Energy Wasting, and the Progression of Chronic Kidney Disease: Analysis from the KNOW-CKD Study. *Nutrients*, 2019. 11(1).
123. Bie P and Astrup A. Dietary protein and kidney function: when higher glomerular filtration rate is desirable. *Am J Clin Nutr*, 2015. 102(1):3-4.
124. Franzke B, Neubauer O, Cameron-Smith D, and Wagner KH. Dietary Protein, Muscle and Physical Function in the Very Old. *Nutrients*, 2018. 10(7).
125. Nilsson MI, Mikhail A, Lan L, Di Carlo A, Hamilton B, Barnard K, Hettinga BP, Hatcher E, Tarnopolsky MG, Nederveen JP, Bujak AL, May L, and Tarnopolsky MA. A Five-Ingredient Nutritional Supplement and Home-Based Resistance Exercise Improve Lean Mass and Strength in Free-Living Elderly. *Nutrients*, 2020. 12(8).
126. Bell KE, Snijders T, Zulyniak M, Kumbhare D, Parise G, Chabowski A, and Phillips SM. A whey protein-based multi-ingredient nutritional supplement stimulates gains in lean body mass and strength in healthy older men: A randomized controlled trial. *PLoS One*, 2017. 12(7):e0181387.
127. Smith GI, Atherton P, Reeds DN, Mohammed BS, Rankin D, Rennie MJ, and Mittendorfer B. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2011. 93(2):402-412.
128. Lalia AZ, Dasari S, Robinson MM, Abid H, Morse DM, Klaus KA, and Lanza IR. Influence of omega-3 fatty acids on skeletal muscle protein metabolism and mitochondrial bioenergetics in older adults. *Aging (Albany NY)*, 2017. 9(4):1096-1129.
129. McGlory C, Calder PC, and Nunes EA. The Influence of Omega-3 Fatty Acids on Skeletal Muscle Protein Turnover in Health, Disuse, and Disease. *Front Nutr*, 2019. 6:144.
130. Haß U, Kochlik B, Herpich C, Rudloff S, and Norman K. Effects of an Omega-3 Supplemented, High-Protein Diet in Combination with Vibration and Resistance Exercise on Muscle Power and Inflammation in Old Adults: A Pilot Randomized Controlled Trial. *Nutrients*, 2022. 14(20):4274.
131. Esposito P, Picciotto D, Battaglia Y, Costigliolo F, Viazzi F, and Verzola D. Myostatin: Basic biology to clinical application. *Adv Clin Chem*, 2022. 106:181-234.
132. Della Peruta C, Lozanoska-Ochser B, Renzini A, Moresi V, Sanchez Riera C, Bouché M, and Coletti D. Sex Differences in Inflammation and Muscle Wasting in Aging and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. 24(5):4651.
133. Ratkevicius A, Joyson A, Selmer I, Dhanani T, Grierson C, Tommasi AM, DeVries A, Rauchhaus P, Crowther D, Alesci S, Yaworsky P, Gilbert F, Redpath TW, Brady J, Fearon KCH, Reid DM, Greig CA, and Wackerhage H. Serum Concentrations of Myostatin and Myostatin-Interacting Proteins Do Not Differ Between Young and Sarcopenic Elderly Men. *The Journals of Gerontology: Series A*, 2011. 66A(6):620-626.
134. Yarasheski KE, Bhasin S, Sinha-Hikim I, Pak-Loduca J, and Gonzalez-Cadavid NF. Serum myostatin-immunoreactive protein is increased in 60-

- 92 year old women and men with muscle wasting. *J Nutr Health Aging*, 2002. 6(5):343-8.
135. Kumari R and Jat P. Mechanisms of Cellular Senescence: Cell Cycle Arrest and Senescence Associated Secretory Phenotype. *Front Cell Dev Biol*, 2021. 9:645593.
 136. Gholamhosseini S, Nematipour E, Djazayeri A, Javanbakht MH, Koohdani F, Zareei M, and Djalali M. ω -3 fatty acid differentially modulated serum levels of IGF1 and IGFBP3 in men with CVD: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Nutrition*, 2015. 31(3):480-4.
 137. Bagheri A, Soltani S, Hashemi R, Heshmat R, Motlagh AD, and Esmailzadeh A. Inflammatory potential of the diet and risk of sarcopenia and its components. *Nutr J*, 2020. 19(1):129.
 138. Cornish SM, Myrie SB, Bugera EM, Chase JE, Turczyn D, and Pinder M. Omega-3 supplementation with resistance training does not improve body composition or lower biomarkers of inflammation more so than resistance training alone in older men. *Nutr Res*, 2018. 60:87-95.
 139. Strandberg E, Ponsot E, Piehl-Aulin K, Falk G, and Kadi F. Resistance Training Alone or Combined With N-3 PUFA-Rich Diet in Older Women: Effects on Muscle Fiber Hypertrophy. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2019. 74(4):489-494.
 140. Stupin M, Kibel A, Stupin A, Selthofer-Relatić K, Matic A, Mihalj M, Mihaljević Z, Jukić I, and Drenjančević I. The Physiological Effect of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids (n-3 PUFAs) Intake and Exercise on Hemorheology, Microvascular Function, and Physical Performance in Health and Cardiovascular Diseases; Is There an Interaction of Exercise and Dietary n-3 PUFA Intake? *Front Physiol*, 2019. 10:1129.
 141. Scott JP, Sale C, Greeves JP, Casey A, Dutton J, and Fraser WD. Effect of exercise intensity on the cytokine response to an acute bout of running. *Med Sci Sports Exerc*, 2011. 43(12):2297-306.
 142. Lopez-Legarrea P, de la Iglesia R, Abete I, Navas-Carretero S, Martinez JA, and Zulet MA. The protein type within a hypocaloric diet affects obesity-related inflammation: the RESMENA project. *Nutrition*, 2014. 30(4):424-9.
 143. Markova M, Pivovarova O, Hornemann S, Sucher S, Frahnow T, Wegner K, Machann J, Petzke KJ, Hierholzer J, Lichtinghagen R, Herder C, Carstensen-Kirberg M, Roden M, Rudovich N, Klaus S, Thomann R, Schneeweiss R, Rohn S, and Pfeiffer AF. Isocaloric Diets High in Animal or Plant Protein Reduce Liver Fat and Inflammation in Individuals With Type 2 Diabetes. *Gastroenterology*, 2017. 152(3):571-585.e8.
 144. Markova M, Koelman L, Hornemann S, Pivovarova O, Sucher S, Machann J, Rudovich N, Thomann R, Schneeweiss R, Rohn S, Pfeiffer AFH, and Aleksandrova K. Effects of plant and animal high protein diets on immune-inflammatory biomarkers: A 6-week intervention trial. *Clin Nutr*, 2020. 39(3):862-869.
 145. Draganidis D, Karagounis LG, Athanailidis I, Chatzinikolaou A, Jamurtas AZ, and Fatouros IG. Inflammaging and Skeletal Muscle: Can Protein Intake Make a Difference? *J Nutr*, 2016. 146(10):1940-1952.
 146. Nieman KM, Anderson BD, and Cifelli CJ. The Effects of Dairy Product and Dairy Protein Intake on Inflammation: A Systematic Review of the Literature. *J Am Coll Nutr*, 2021. 40(6):571-582.
 147. Marshall K. Therapeutic applications of whey protein. *Altern Med Rev*, 2004. 9(2):136-56.
 148. Liberman K, Njemini R, Luiking Y, Forti LN, Verlaan S, Bauer JM, Memelink R, Brandt K, Donini LM, Maggio M, Mets T, Wijers SLJ, Sieber C, Cederholm

- T, and Bautmans I. Thirteen weeks of supplementation of vitamin D and leucine-enriched whey protein nutritional supplement attenuates chronic low-grade inflammation in sarcopenic older adults: the PROVIDE study. *Aging Clin Exp Res*, 2019. 31(6):845-854.
149. Hashemilar M, Khalili M, Rezaeimanesh N, Sadeghi Hokmabadi E, Rasolzade S, Shamshirgaran SM, Taheraghdam A, Farhoudi M, Shaafi S, Shakouri SK, and Savadi Osgouei D. Effect of Whey Protein Supplementation on Inflammatory and Antioxidant Markers, and Clinical Prognosis in Acute Ischemic Stroke (TNS Trial): A Randomized, Double Blind, Controlled, Clinical Trial. *Adv Pharm Bull*, 2020. 10(1):135-140.
 150. Bruunsgaard H, Pedersen AN, Schroll M, Skinhoj P, and Pedersen BK. Impaired production of proinflammatory cytokines in response to lipopolysaccharide (LPS) stimulation in elderly humans. *Clin Exp Immunol*, 1999. 118(2):235-41.
 151. Budamagunta V, Manohar-Sindhu S, Yang Y, He Y, Traktuev DO, Foster TC, and Zhou D. Senescence-associated hyper-activation to inflammatory stimuli in vitro. *Aging (Albany NY)*, 2021. 13(15):19088-19107.
 152. de Lourdes Nahhas Rodacki C, Rodacki AL, Coelho I, Pequito D, Krause M, Bonatto S, Naliwaiko K, and Fernandes LC. Influence of fish oil supplementation and strength training on some functional aspects of immune cells in healthy elderly women. *Br J Nutr*, 2015. 114(1):43-52.
 153. Vedin I, Cederholm T, Freund Levi Y, Basun H, Garlind A, Faxén Irving G, Jönhagen ME, Vessby B, Wahlund LO, and Palmblad J. Effects of docosahexaenoic acid-rich n-3 fatty acid supplementation on cytokine release from blood mononuclear leukocytes: the OmegAD study. *Am J Clin Nutr*, 2008. 87(6):1616-22.
 154. Thies F, Miles EA, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Hurst TL, Newsholme EA, and Calder PC. Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults. *Lipids*, 2001. 36(11):1183-93.
 155. Kew S, Banerjee T, Minihane AM, Finnegan YE, Muggli R, Albers R, Williams CM, and Calder PC. Lack of effect of foods enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function. *Am J Clin Nutr*, 2003. 77(5):1287-95.
 156. Cristi C, Collado PS, Márquez S, Garatachea N, and Cuevas MJ. Whole-body vibration training increases physical fitness measures without alteration of inflammatory markers in older adults. *Eur J Sport Sci*, 2014. 14(6):611-9.
 157. Rees SS, Murphy AJ, and Watsford ML. Effects of whole-body vibration exercise on lower-extremity muscle strength and power in an older population: a randomized clinical trial. *Phys Ther*, 2008. 88(4):462-70.
 158. Jo NG, Kang SR, Ko MH, Yoon JY, Kim HS, Han KS, and Kim GW. Effectiveness of Whole-Body Vibration Training to Improve Muscle Strength and Physical Performance in Older Adults: Prospective, Single-Blinded, Randomized Controlled Trial. *Healthcare (Basel)*, 2021. 9(6).
 159. Russo CR, Lauretani F, Bandinelli S, Bartali B, Cavazzini C, Guralnik JM, and Ferrucci L. High-frequency vibration training increases muscle power in postmenopausal women. *Arch Phys Med Rehabil*, 2003. 84(12):1854-7.
 160. Monteiro-Junior RS, de Tarso Maciel-Pinheiro P, da Matta Mello Portugal E, da Silva Figueiredo LF, Terra R, Carneiro LSF, Rodrigues VD, Nascimento OJM, Deslandes AC, and Laks J. Effect of Exercise on Inflammatory Profile of Older Persons: Systematic Review and Meta-Analyses. *J Phys Act Health*, 2018. 15(1):64-71.

161. Neves CDC, Lacerda ACR, Lage VKS, Soares AA, Chaves MGA, Lima LP, Silva TJ, Vieira É LM, Teixeira AL, Leite HR, Matos MA, and Mendonça VA. Whole body vibration training increases physical measures and quality of life without altering inflammatory-oxidative biomarkers in patients with moderate COPD. *J Appl Physiol* (1985), 2018. 125(2):520-528.
162. Rodriguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Collado PS, Almar M, Martinez-Florez S, de Paz JA, González-Gallego J, and Cuevas MJ. Whole-body vibration improves the anti-inflammatory status in elderly subjects through toll-like receptor 2 and 4 signaling pathways. *Mech Ageing Dev*, 2015. 150:12-9.
163. Landen S, Hiam D, Voisin S, Jacques M, Lamon S, and Eynon N. Physiological and molecular sex differences in human skeletal muscle in response to exercise training. *J Physiol*, 2021. 10.1113/jp279499.
164. Cornish SM and Chilibeck PD. Alpha-linolenic acid supplementation and resistance training in older adults. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2009. 34(1):49-59.
165. El Sabeih R, Bonnet M, Le Corf K, Lang K, Kfoury A, Badran B, Hussein N, Virard F, Treilleux I, Le Romancer M, Lebecque S, Manie S, Coste I, and Renno T. A Gender-Dependent Molecular Switch of Inflammation via MyD88/Estrogen Receptor-Alpha Interaction. *J Inflamm Res*, 2021. 14:2149-2156.
166. Decsi T and Kennedy K. Sex-specific differences in essential fatty acid metabolism. *Am J Clin Nutr*, 2011. 94(6 Suppl):1914s-1919s.
167. Isanejad M, Tajik B, McArdle A, Tuppurainen M, Sirola J, Kröger H, Rikkonen T, and Erkkilä A. Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acid and alpha-linolenic acid are associated with physical capacity measure but not muscle mass in older women 65–72 years. *European Journal of Nutrition*, 2022. 61(4):1813-1821.
168. Reinders I, Song X, Visser M, Eiriksdottir G, Gudnason V, Sigurdsson S, Aspelund T, Siggeirsdottir K, Brouwer IA, Harris TB, and Murphy RA. Plasma Phospholipid PUFAs Are Associated with Greater Muscle and Knee Extension Strength but Not with Changes in Muscle Parameters in Older Adults. *The Journal of Nutrition*, 2014. 145(1):105-112.
169. Da Boit M, Sibson R, Sivasubramaniam S, Meakin JR, Greig CA, Aspden RM, Thies F, Jeromson S, Hamilton DL, Speakman JR, Hambly C, Mangoni AA, Preston T, and Gray SR. Sex differences in the effect of fish-oil supplementation on the adaptive response to resistance exercise training in older people: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2017. 105(1):151-158.
170. Pal M, Febbraio MA, and Whitham M. From cytokine to myokine: the emerging role of interleukin-6 in metabolic regulation. *Immunol Cell Biol*, 2014. 92(4):331-9.
171. Straßburg A. Ernährungserhebungen - Methoden und Instrumente. *Ernährungsumschau*, 2010. 10(8):422-430.
172. Browning LM, Walker CG, Mander AP, West AL, Madden J, Gambell JM, Young S, Wang L, Jebb SA, and Calder PC. Incorporation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids into lipid pools when given as supplements providing doses equivalent to typical intakes of oily fish. *Am J Clin Nutr*, 2012. 96(4):748-58.
173. Metherel AH, Armstrong JM, Patterson AC, and Stark KD. Assessment of blood measures of n-3 polyunsaturated fatty acids with acute fish oil supplementation and washout in men and women. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2009. 81(1):23-29.

174. Gerling CJ, Mukai K, Chabowski A, Heigenhauser GJF, Holloway GP, Spriet LL, and Jannas-Vela S. Incorporation of Omega-3 Fatty Acids Into Human Skeletal Muscle Sarcolemmal and Mitochondrial Membranes Following 12 Weeks of Fish Oil Supplementation. *Front Physiol*, 2019. 10:348.
175. Macaluso A and De Vito G. Muscle strength, power and adaptations to resistance training in older people. *Eur J Appl Physiol*, 2004. 91(4):450-72.
176. Osawa Y and Oguma Y. Effects of whole-body vibration on resistance training for untrained adults. *J Sports Sci Med*, 2011. 10(2):328-37.
177. Norman K, Haß U, and Pirlich M. Malnutrition in Older Adults-Recent Advances and Remaining Challenges. *Nutrients*, 2021. 13(8):2764.
178. Tang JE, Moore DR, Kujbida GW, Tarnopolsky MA, and Phillips SM. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *J Appl Physiol (1985)*, 2009. 107(3):987-92.
179. Yang Y, Churchward-Venne TA, Burd NA, Breen L, Tarnopolsky MA, and Phillips SM. Myofibrillar protein synthesis following ingestion of soy protein isolate at rest and after resistance exercise in elderly men. *Nutrition & Metabolism*, 2012. 9(1):57.

Anhang

Tab. A 1 Assoziationen der absoluten (g/Tag) und relativen (Omega-6/Omega-3) Zufuhr von Omega-3-Fettsäuren, dem Omega-3-Plasmaindex sowie Entzündungsmarkern im Nüchtern-Serum mit Parametern der Muskelkraft und -funktion in der AIDA-Studie.

	Greifkraft [kg/BMI]	Beinkraft [kg/BMI] ^a	Muskelleistung [watt/BMI]	CRT-Zeit [s]
Gesamt (n=61)	β (SE)	β (SE)	β (SE)	β (SE)
Omega-3-Zufuhr [g/Tag]	0.012 (0.012)	0.048 (0.036)	0.818 (0.382)*	-0.064 (0.077)
Omega-6/Omega-3-Verhältnis	-0.001 (0.010)	-0.058 (0.031)	-0.452 (0.319)	0.124 (0.061)*
Omega-3-Plasmaindex [%]	0.000 (0.020)	0.013 (0.061)	0.876 (0.636)	-0.253 (0.121)*
log-CRP	-0.141 (0.057)*	-0.274 (0.170)	-3.826 (1.858)*	0.508 (0.369)
log-IL-6	-0.109 (0.105)	-0.280 (0.303)	-6.301 (3.296)	0.725 (0.655)
log-IL-10	0.088 (0.127)	0.430 (0.361)	1.360 (4.086)	-1.023 (0.785)
log-IL-6/IL10-Verhältnis	-0.146 (0.096)	-0.494 (0.274)	-6.218 (3.042)*	1.231 (0.591)*
Frauen (n=32)	β (SE)	β (SE)	β (SE)	β (SE)
Omega-3-Zufuhr [g/Tag]	-0.016 (0.015)	-0.064 (0.045)	-0.342 (0.561)	-0.050 (0.132)
Omega-6/Omega-3-Verhältnis	0.018 (0.011)	0.017 (0.037)	0.517 (0.438)	0.047 (0.105)
Omega-3-Plasmaindex [%]	-0.032 (0.018)	-0.097 (0.058)	-1.279 (0.698)	-0.089 (0.171)
log-CRP	-0.120 (0.057)*	-0.069 (0.192)	-3.138 (2.249)	0.543 (0.532)
log-IL-6	-0.196 (0.133)	-0.199 (0.425)	-7.766 (5.022)	0.593 (1.215)
log-IL-10	0.093 (0.128)	0.204 (0.399)	2.929 (4.876)	-1.306 (1.117)
log-IL-6/IL-10-Verhältnis	-0.116 (0.082)	-0.166 (0.263)	-4.255 (3.138)	0.797 (0.740)
Männer (n=29)	β (SE)	β (SE)	β (SE)	β (SE)
Omega-3-Zufuhr [g/Tag]	0.030 (0.021)	0.149 (0.052)*	1.425 (0.565)*	-0.051 (0.108)
Omega-6/Omega-3-Verhältnis	-0.005 (0.016)	-0.106 (0.048)	-1.027 (0.406)*	0.170 (0.076)*
Omega-3-Plasmaindex [%]	0.038 (0.037)	0.139 (0.114)	3.000 (0.948)**	-0.454 (0.172)*
log-CRP	-0.160 (0.101)	-0.435 (0.280)	-4.560 (2.970)	0.489 (0.528)
log-IL-6	-0.078 (0.161)	-0.272 (0.445)	-6.160 (4.591)	0.824 (0.806)
log-IL-10	0.090 (0.227)	0.566 (0.615)	0.952 (6.666)	-0.874 (1.142)
log-IL-6/IL-10-Verhältnis	-0.224 (0.214)	-1.019 (0.567)	-12.082 (5.948)	2.304 (1.012)*

Werte dargestellt als beta-Koeffizient (β) mit Standardfehler (SE) nach linearen Regressionsmodellen, adjustiert für Alter, Geschlecht und in Modellen mit Omega-3-Fettsäurezufuhr zusätzlich für die Energiezufuhr. *p<0.05, **p<0.01; ^aEin männlicher Teilnehmer wegen Messfehler ausgeschlossen. BMI Body Mass Index; CRP C-reaktives Protein; CRT Chair Rise Test; IL interleukin; log logarithmiert.

Lebenslauf

Die Seite X (Lebenslauf) enthält persönliche Daten. Sie ist deshalb nicht Bestandteil dieser Veröffentlichung.

Wissenschaftliche Beiträge

Erstautorschaften Journals

Haß U, Kochlik B, Herpich C, Rudloff S, Norman K. *Associations between omega-3 fatty acids, inflammation and muscle parameters in community-dwelling old women and men*. Submitted 2023.

Haß U, Norman K. *Pflanzliche Ernährung und ausreichende Proteinzufuhr für ein gesundes Altern*. *Aktuel Kardiol*. In press 2023.

Haß U, Heider S, Kochlik B, Herpich C, Pivovarova-Ramich O, Norman K. *Effects of Exercise and Omega-3-Supplemented, High-Protein Diet on Inflammatory Markers in Serum, on Gene Expression Levels in PBMC, and after Ex Vivo Whole-Blood LPS Stimulation in Old Adults*. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):928.

Haß U, Kochlik B, Herpich C, Rudloff S, Norman K. *Effects of an Omega-3 Supplemented, High-Protein Diet in Combination with Vibration and Resistance Exercise on Muscle Power and Inflammation in Old Adults: A Pilot Randomized Controlled Trial*. *Nutrients*. 2022;14(20):4274.

Haß U, Herpich C, Kochlik B, Weber D, Grune T, Norman K. *Dietary Inflammatory Index and Cross-Sectional Associations with Inflammation, Muscle Mass and Function in Healthy Old Adults*. *J Nutr Health Aging*. 2022;26(4):346.

Haß U, Schütte O, Franz K, Norman K. *Dietary Inflammatory Index (DII)–Nützlicher Wegweiser in der praktischen Beratung oder rein theoretisches Modell in der Ernährungsforschung? Aktuel Ernährungsmed*. 2021;46(03):174.

Haß U, Herpich C, Norman K. *Anti-Inflammatory Diets and Fatigue*. *Nutrients*. 2019;11(10):2315.

Haß U, Schwejda-Güttes S, Kuhn KS, Markant A. *Einsatz und Nutzen funktioneller Parameter als Endpunkte in klinischen Ernährungsstudien*. *Aktuel Ernährungsmed*. 2018;43(03):162.

Erstautorschaften Buchkapitel

Haß U, Norman K. *Kapitel 3–Sarkopenie und Kachexie*. In: *Ernährungsmedizin in der Gastroenterologie*; Plauth M (Ed.). Berlin, Bosten: De Gruyter; 2021:33-52.

Ko-Autorschaften Journals

Norman K, Haß U, Pirlich M. *Malnutrition in Older Adults–Recent Advances and Remaining Challenges*. *Nutrients*. 2021;13(8):2764.

Herpich C, Kochlik B, Haß U, Weber D, Grune T, Norman K. *Altered Adiponectin Response in Older Women Following Dextrose and High-Fat Dietary Challenges*. *Mol Nutr Food Res*. 2021;65(17):e2100487.

Herpich C, Haß U, Kochlik B, et al. *Postprandial dynamics and response of fibroblast growth factor 21 in older adults*. *Clin Nutr*. 2021;40(6):3765.

Sealy MJ, Haß U, Ottery FD, van der Schans CP, Roodenburg JLN, Jager-Wittenaar H. *Translation and Cultural Adaptation of the Scored Patient-Generated Subjective Global Assessment: An Interdisciplinary Nutritional Instrument Appropriate for Dutch Cancer Patients*. *Cancer Nurs*. 2018;41(6):450.

Kongressbeiträge

Vorträge

Geschlechterspezifische Assoziationen zwischen Muskelparametern und Inflammation sowie antiinflammatorischen Nährstoffen

Haß U, Herpich C, Kochlik B, Norman K.

Gerontologie und Geriatrie Kongress 2022 (DGG & DGGG), Frankfurt am Main, 12.-15. September 2022

Comparison of anti-inflammatory dietary approaches on inflammation and muscle function in old adults (AIDA Study) – DGEM-Forschungsförderung 2020

Haß U.

Kongress ERNÄHRUNG 2022, Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin e.V. (DGEM), Bremen, 23.-25. Juni 2022

Assoziationen zwischen anti-inflammatorischen Nährstoffen und Inflammation mit Muskelparametern bei gesunden älteren Erwachsenen

Haß U, Herpich C, Kochlik B, Norman K.

Kongress ERNÄHRUNG 2022, Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin e.V. (DGEM), Bremen, 23.-25. Juni 2022

Assoziationen zwischen anti-inflammatorischen Nährstoffen und Appetit im höheren Lebensalter

Haß U, Herpich C, Kochlik B, Norman K.

59. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e. V. (DGE), online, 16.-18. März 2022

Tumorkachexie – kein einfacher Gewichtsverlust

Haß U.

36. Ernährungskongress des Verbandes der Diätologen Österreichs (VDÖ), Wien/Österreich, 28.-29. März 2019

Funktionelle Parameter als Endpunkte in klinischen Ernährungsstudien

Haß U.

20. Dresdner Fachtagung für Ernährungsmedizin und Diätetik, Dresden, 1. Februar 2019

Poster

Sex-specific associations of muscle parameters with inflammation as well as anti-inflammatory nutrients

Haß U, Herpich C, Kochlik B, Norman K.

44. ESPEN Congress, Wien/Österreich, 3.-6. September 2022

Dietary inflammatory index and associations with inflammaging as well as muscle mass and function in healthy old adults

Haß U, Herpich C, Kochlik B, Weber D, Grune T, Norman K.

ESPEN 2021 Virtual Congress, 9.-14. September 2021

Danksagung

An erster Stelle danke ich Prof. Dr. Kristina Norman für die Möglichkeit, dieses spannende Projekt auszuarbeiten und für das dabei in mich gesetzte Vertrauen. Ich möchte mich für ihre konstruktiven Anmerkungen, die lehrreichen Erfahrungen und die offene Tür in allen Dingen während meiner Promotion bedanken. Du hast mir sehr dabei geholfen, mich wissenschaftlich zu entwickeln!

An dieser Stelle möchte ich auch PD Dr. Olga Ramich für die Bereitschaft danken, diese Arbeit mit zu betreuen. Durch die Kooperation wurde es mir außerdem ermöglicht, neue Themenfelder zu bearbeiten und meinen Horizont zu erweitern. Danke, dass du dir immer etwas deiner kostbaren Zeit für mich genommen hast!

Ein großer Dank geht an Basti für die unzähligen Stunden des gemeinsamen Brainstormings, seine Unterstützung bei all meinen Fragen und dem unermüdlichen Korrigieren meiner Arbeiten mit Argusaugen. Und dafür, dass du immer eine Flasche Sekt für feierliche Momente kaltgestellt hast!

Ich möchte mich bei Catrin dafür bedanken, dass sie ihre Erfahrungen, ihr Wissen und ihre Ideen stets mit mir geteilt hat. Danke, für deinen tollen, meinungsstarken Charakter und für die gemeinsamen, wirklich sehr erfrischenden Powernaps!

Danke Andrea, für deine Integrität, deine Verlässlichkeit, dein offenes Ohr in anstrengenden (Corona-)Zeiten und die erholsamen Kaffeepausen! Ich werde die gemeinsamen Schnitzeltage vermissen.

June, ich möchte dir sehr für deine fürsorgliche Ader, deine Geduld und deine stete Hilfsbereitschaft danken! Du hast ein ausgesprochenes Talent dafür, fünf Bälle gleichzeitig in der Luft zu halten.

Ich danke Stefan für sein engagiertes Mitwirken im Projekt, die interessanten Gespräche abseits der Arbeit und seine wertfreie, zugewandte Art – an der ich mir gern ein Beispiel nehmen mag. Danke, dass du nicht aufhörst, zu fragen:

„Woran hat et jelegen?“

Generell geht ein großes Dankeschön an all jene, die mit ihrem Engagement zum erfolgreichen Gelingen dieses Projektes, unter den oftmals sehr herausfordernden Umständen, beigetragen haben. Danke, für eure Unterstützung in der Studienambulanz, im Labor und der technischen Ausführung!

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie und den Eventis für ihre Unterstützung, ihre Motivation und ihr Verständnis danken. Schön, dass es euch gibt!

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig, ohne unzulässige fremde Hilfe und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Diese Arbeit wurde weder in gleicher noch in ähnlicher Form an einer anderen Universität als der Universität Potsdam eingereicht.

Potsdam, den 08.03.2023 _____