

Aus der Universitäts-Frauenklinik Heidelberg  
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und  
Fertilitätsstörungen  
(Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. T. Strowitzki)

**Eignung ausgewählter Substanzen als Biomarker  
des Obst- und Gemüseverzehrs**

**Vom Fachbereich Chemie der Universität Hannover**

**zur Erlangung des Grades einer  
Doktorin der Naturwissenschaften  
Dr. rer. nat.**

**genehmigte Dissertation von**

**Daniela Siekmann  
geboren am 06.06.1972 in Göttingen**

**2003**

**Referent:** Hochschuldozent und Privatdozent Dr. Andreas Hahn, Hannover

**Koreferentin:** Prof. Dr. med. Ingrid Gerhard, Heidelberg

**Tag der Promotion:** 11.07.2003

**Schlagwörter:** Biomarker, Obst, Gemüse

**Key words:** biomarker, fruit, vegetables

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>4</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>5</b>
<b>ALPHABETISCHES VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN / GLOSSAR .....</b>	<b>7</b>
<b>1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG.....</b>	<b>9</b>
<b>2 BIOMARKER - EINE EINFÜHRUNG IN DIE THEMATIK.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Allgemeine Definition des Begriffs „Biomarker“ .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Potenzielle Biomarker des Obst- und Gemüseverzehrs.....</b>	<b>16</b>
2.2.1 Sekundäre Pflanzenstoffe (SPS) .....	17
2.2.2 Vitamine .....	23
2.2.3 Sonstige Substanzen.....	24
<b>2.3 Im Rahmen dieser Arbeit untersuchte potenzielle Biomarker .....</b>	<b>26</b>
2.3.1 Carotinoide .....	26
2.3.2 Ascorbinsäure .....	35
2.3.3 Folsäure.....	40
2.3.4 Homocystein.....	44
<b>2.4 Verwendung von Biomarkern in der Praxis: Anforderungen und Probleme.....</b>	<b>47</b>
2.4.1 Grundsätzliche Erwägungen.....	47
2.4.2 Mögliche Fehlinterpretationen durch Einfluss- und Störgrößen .....	49
<b>3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....</b>	<b>61</b>
<b>3.1 Ziele .....</b>	<b>61</b>
<b>3.2 Studiendesign .....</b>	<b>62</b>
3.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien .....	63
3.2.2 Rekrutierung der Probandinnen .....	63
3.2.3 Studienablauf.....	64
3.2.4 Ethische und rechtliche Grundlagen.....	67
<b>3.3 Material und Methoden .....</b>	<b>67</b>
3.3.1 Untersuchte biochemische Parameter.....	67

---

3.3.2	Blutabnahme und –aufbereitung sowie Wiegen der Probandinnen.....	70
3.3.3	Ermittlung der Lebensmittel- und Nährstoffzufuhr.....	71
3.3.4	Qualitätssicherung.....	71
3.3.5	Erhebungsinstrumente.....	72
3.3.6	Statistische Verfahren .....	73
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>77</b>
<b>4.1</b>	<b>Anthropometrische Daten und Charakteristika des Kollektivs .....</b>	<b>77</b>
4.1.1	Alter, Größe, Gewicht und BMI .....	77
4.1.2	Tabak- und Alkoholkonsum .....	79
4.1.3	Erkrankungen und Einnahme von Medikamenten .....	79
4.1.4	Schulbildung.....	81
4.1.5	Berufliche Situation und Familienstand .....	81
<b>4.2</b>	<b>Zufuhr an Nährstoffen und Lebensmitteln sowie Versorgungsstatus .....</b>	<b>82</b>
4.2.1	Nährstoff- und Energiezufuhr .....	82
4.2.2	Lebensmittelzufuhr .....	85
4.2.3	Versorgungsstatus .....	86
<b>4.3</b>	<b>Spiegel der potenziellen Biomarker in Subkollektiven mit unterschiedlicher Zufuhr von Obst und Gemüse .....</b>	<b>88</b>
4.3.1	alpha-Carotin .....	90
4.3.2	beta-Carotin .....	92
4.3.3	beta-Cryptoxanthin .....	93
4.3.4	Lutein, Zeaxanthin und Lycopin.....	95
4.3.5	Gesamtcarotinoide .....	96
4.3.6	Ascorbinsäure, Folsäure und Homocystein .....	97
<b>4.4</b>	<b>Weitere Untersuchung der potenziellen Biomarker mittels Korrelations- und Regressionsanalyse .....</b>	<b>99</b>
4.4.1	alpha-Carotin .....	99
4.4.2	beta-Carotin .....	102
4.4.3	beta-Cryptoxanthin .....	104
4.4.4	Lutein .....	107
4.4.5	Zeaxanthin.....	109
4.4.6	Lycopin .....	111
4.4.7	Gesamtcarotinoide .....	113
4.4.8	Ascorbinsäure .....	116
4.4.9	Folsäure.....	117
4.4.10	Homocystein.....	119

---

<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>123</b>
<b>6</b>	<b>ABSCHLIEßENDE BEMERKUNGEN UND AUSBLICK .....</b>	<b>150</b>
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>152</b>
<b>8</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>154</b>
<b>9</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>156</b>
<b>10</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>179</b>
<b>10.1</b>	<b>Umrechnungsfaktoren.....</b>	<b>179</b>
<b>10.2</b>	<b>Internetauszüge .....</b>	<b>179</b>
<b>10.3</b>	<b>Analytische Methoden .....</b>	<b>180</b>
<b>10.4</b>	<b>Weitere im Rahmen der BIKEI-Studie untersuchte biochemische Parameter .....</b>	<b>186</b>
<b>10.5</b>	<b>Einteilung der Lebensmittelgruppen.....</b>	<b>187</b>
<b>11</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>189</b>
<b>12</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>190</b>

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abbildung 1: Einteilung der Carotinoide nach ihrem Oxidationsstatus [Watzl und Leitzmann 1999, S. 26].....	28
Abbildung 2: Strukturformel der Ascorbinsäure .....	35
Abbildung 3: Strukturformel von Folsäure .....	41
Abbildung 4: Homocystein-Stoffwechsel [modifiziert nach Brönstrup und Pietrzik 1996 sowie Mayer et al. 1996].....	46
Abbildung 5: Exposition, Störfaktor und Erkrankung [modifiziert nach Schneider 1997, S. 227].....	50
Abbildung 6: Effekte der Lebensmittelmatrix und der Zubereitung auf die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden [nach Papas 1999, S. 143].....	59
<i>Abbildung 7: Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Heidelberger BIKEI-Studie .....</i>	<i>66</i>
Abbildung 8: Altersverteilung des BIKEI-Kollektives (gruppiert).....	78
Abbildung 9: Body Mass Index (BMI) der Probandinnen der BIKEI-Studie (gruppiert).....	78
Abbildung 10: alpha-Carotin-Gehalt im Plasma der „Obst“-Kollektive.....	91
Abbildung 11: beta-Carotin-Gehalt im Plasma der „Obst“-Kollektive .....	93
Abbildung 12: beta-Cryptoxanthin-Gehalt im Plasma der „Obst“-Kollektive .....	94
Abbildung 13: Gesamt-Carotinoid-Gehalt im Plasma der „Obst“-Kollektive .....	97
Abbildung 14: Korrelationen zwischen der $\alpha$ -Carotin-Konzentration im Plasma und dem Obstverzehr.....	100
Abbildung 15: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln an $\beta$ -Carotin und dem Obst- sowie Gemüseverzehr.....	103
Abbildung 16: Korrelationen zwischen den $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmaspiegeln und dem Obstverzehr.....	105
Abbildung 17: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln an Lutein und dem Verzehr von Fleisch.....	108
Abbildung 18: Korrelationen zwischen den Lycopin-Konzentrationen im Plasma und dem Verzehr von Getreide, Nudeln, Reis (Lebensmittelgruppe 2).....	112
Abbildung 19: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln der Gesamt-Carotinoide und dem Obst- sowie Gemüseverzehr .....	114
Abbildung 20: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln an Folsäure und dem Verzehr von Getreide, Nudeln, Reis (Lebensmittelgruppe 2) .....	118
Abbildung 21: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln an Homocystein und dem Verzehr von Fetten, Ölen (Lebensmittelgruppe 19) .....	120

## TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Potenzielle Krankheits-präventive Mechanismen von Obst und Gemüse bzw. ihren Inhaltsstoffen [nach Lampe 1999].....	10
Tabelle 2: Bestandteile von Obst und Gemüse [modifiziert nach Ternes 1995 sowie Watzl und Leitzmann 1999].....	17
Tabelle 3: Sekundäre Pflanzenstoffe [modifiziert nach Watzl und Leitzmann 1999] .....	18
Tabelle 4: Gesundheitsfördernde Wirkungen von sekundären Pflanzenstoffen [nach Watzl und Leitzmann 1999].....	19
Tabelle 5: Carotinoidgehalt ausgewählter Gemüse- und Obstsorten (ohne Zusatzhinweis: rohes, unbehandeltes Gemüse oder Obst) [modifiziert nach Holden et al. 1999] .....	29
Tabelle 6: Einflussfaktoren auf die Carotinoid-Bioverfügbarkeit (nach Castenmiller und West 1998 sowie West und Castenmiller 1998, ergänzt nach Olson 1999).....	31
Tabelle 7: Ascorbinsäuregehalt ausgewählter Gemüse- und Obstsorten [modifiziert nach Souci et al. 1994] .....	36
Tabelle 8: Abnahme des Vitamin C-Gehaltes bei der Lagerung (- 18°C) von blanchiertem, tiefgefrorenem Obst und Gemüse [DGE 2000, S. 245 sowie Spieß 1984 und 1985].....	38
Tabelle 9: Biochemische Funktionen von Ascorbinsäure [nach Papas 1999, S. 163].....	39
Tabelle 10: Folsäuregehalt ausgewählter Gemüse- und Obstsorten [modifiziert nach Souci et al. 1994].....	42
Tabelle 11: Konzentrationen ausgewählter Carotinoide im menschlichen Serum [modifiziert nach Papas 1999, S. 137].....	51
Tabelle 12: Potenzielle Einflussfaktoren auf die Biomarker des Obst- und Gemüsekonsums (Auswahl) .....	51
Tabelle 13: Im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte biochemische Parameter ..	69
Tabelle 14: Von den Probandinnen der BIKEI-Studie angegebene Erkrankungen (Mehrfachantworten möglich).....	80
Tabelle 15: Von den Probandinnen der BIKEI-Studie verwendete Medikamente (Mehrfachantworten möglich).....	81
Tabelle 16: Schulbildung der Probandinnen der BIKEI-Studie.....	81
Tabelle 17: Berufliche Situation des BIKEI-Kollektives .....	82
Tabelle 18: Mittlere tägliche Zufuhr an Energie und Hauptnährstoffen im Gesamtkollektiv der BIKEI-Studie (Mean und Standardabweichung; n = 84) verglichen mit den Richtwerten/ Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung [DGE et al. 2000].....	83
Tabelle 19: Mittlere tägliche Vitaminszufuhr der Probandinnen der BIKEI-Studie (Mean und Standardabweichung; n = 84) verglichen mit den DGE-Empfehlungen [DGE et al. 2000].....	84

---

Tabelle 20: Mittlere tägliche Zufuhr an Mineralstoffen im BIKEI-Kollektiv (Mean und Standardabweichung; n = 84) verglichen mit den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung [DGE et al. 2000] .....	85
Tabelle 21: Durchschnittliche tägliche Zufuhr an Lebensmitteln im Gesamtkollektiv der BIKEI-Studie (Median und 5-95 Perzentile; n = 84); Übersicht über die 25 wesentlichen Lebensmittel-Gruppen .....	86
Tabelle 22: Übersicht über den Versorgungsstatus des Kollektivs (ausgewählte Parameter), Normbereich sowie Prävalenz niedriger Meßwerte <sup>1</sup> .....	88
Tabelle 23: Einteilung des BIKEI-Kollektivs (nach der Verzehrsmenge an Obst und Gemüse) in Subkollektive .....	89
Tabelle 24: Anthropometrische Charakteristika und Gesamtenergiezufuhr der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Mean ± Standardabweichung) .....	90
Tabelle 25: Alpha-Carotin-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5–95 Perzentile; n = 84) .....	91
Tabelle 26: beta-Carotin-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84) .....	92
Tabelle 27: beta-Cryptoxanthin-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84) .....	94
Tabelle 28: Lutein-, Zeaxanthin- und Lycopin-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84) .	95
Tabelle 29: Gesamt-Carotinoid-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84) .....	96
Tabelle 30: Ascorbinsäure-, Folsäure- (Plasma und Erythrozyten) sowie Homocystein-Gehalte im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84) .....	98
Tabelle 31: Alpha-Carotin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse .....	101
Tabelle 32: Beta-Carotin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse .....	104
Tabelle 33: Beta-Cryptoxanthin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse .....	107
Tabelle 34: Lutein: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse .....	109
Tabelle 35: Zeaxanthin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse .....	111
Tabelle 36: Lycopin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse .....	113
Tabelle 37: Gesamtcarotinoide: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse .....	116
Tabelle 38: Ascorbinsäure: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse .....	117
Tabelle 39: Korrelationen zwischen den potenziellen Biomarkern und möglichen Einfluss- und/ oder Störgrößen [signifikante Zusammenhänge (p < 0,05) sind fett gedruckt] .....	121

**ALPHABETISCHES VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN / GLOSSAR**

ALM	Allgemeines Lineares Modell ( <i>general linear model</i> = GLM)
ANOVA	Analysis of Variance (einfaktorielle Varianzanalyse)
arithm.	arithmetisch
B	Regressionskoeffizient
BDSG	Bundesdatenschutzgesetz
Beta	standardisierte Regressionskoeffizient
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse (elektrische Widerstandsmessung zur Erfassung der Körperzusammensetzung)
BHT	2,6-Di-tert.-butyl-4-methyl-phenol
BLS	Bundeslebensmittelschlüssel (Nährwertdatenbank mit Kodiersystem, das als Standardinstrument für Verzehrerhebungen dient)
HRT	Hormone replacement therapie (Hormonersatztherapie)
HWS	Halbwertszeit
bzw.	beziehungsweise
d	Tag
DGKC	Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie
d. h.	das heisst
GCP	Good clinical practices („Leitlinie zur guten klinischen Praxis“)
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
Dife	Deutsches Institut für Ernährungsforschung
GPO	Glutathionperoxidase
einschl.	einschließlich
Ery	Erythrozyten
etc.	et cetera – und so weiter
Fe	Eisen
ggf.	gegebenenfalls
Hb	Hämoglobin
HDL	High density lipoproteins (Lipoproteine hoher Dichte)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
ISTD	Interner Standard
k. A.	keine Angabe
KHK	Koronare Herzkrankheit

---

K-S-Test	Kolmogorov-Smirnov-Test
LDL	Low density lipoproteins (Lipoproteine geringer Dichte)
log	logarithmiert
MeOH	Methanol dest.
Mg	Magnesium
min	Minuten
n	Anzahl
Na	Natrium
n. s.	nicht signifikant
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NVS	Nationale Verzehrsstudie
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
r	Korrelationskoeffizient
R <sup>2</sup>	Bestimmtheitsmaß
RP	reversed phase
SD	standard deviation
SE	Standardfehler
Sig.	Signifikanz
Sig. T	Signifikanz des T-Wertes
SOD	Superoxiddismutase
SPS	Sekundäre Pflanzenstoffe
s. u.	siehe unten
TBME	tert.-Butylmethylether
TCA	Trichloressigsäure
u. a.	unter anderem
v. a.	vor allem
VERA	Verbundstudie Ernährungserhebung und Risikofaktoren-Analytik
vgl.	vergleiche
V. K.	Variationskoeffizient
VLDL	Very low density lipoproteins (Lipoproteine sehr geringer Dichte)
vs	versus

# 1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Nachdem der überwiegende Teil der Menschheitsgeschichte durch ein unterschiedliches Maß an Nahrungsknappheit geprägt war, hat sich die Situation in den Industrieländern innerhalb der letzten fünf Jahrzehnte vollkommen gewandelt. So führte ein bis dahin nie gekannter Überfluss an Lebensmitteln dazu, dass seit den 1950er Jahren klinisch bedeutsame Nährstoffmangelercheinungen in der Praxis kaum noch zu finden sind. An ihre Stelle traten jedoch neue Probleme durch Fehl- und Überernährung. Die Lebenserwartung stieg an und Infektionskrankheiten wurden als Haupttodesursache durch chronisch-degenerative Erkrankungen abgelöst.

Epidemiologische, aber auch klinische Studien konnten in den letzten Jahrzehnten zeigen, dass Ernährung und Gesundheit nicht nur im Sinne einer Mangelvermeidung verbunden sind. Entstehung und Verlauf vieler Erkrankungen erwiesen sich als durch die Ernährung beeinflussbar, so z. B. Diabetes mellitus, Atherosklerose und Krebs. Diese Erkenntnisse führten innerhalb der Ernährungswissenschaft zu einem grundlegenden Paradigmenwechsel: Historisch bedingt wurde die Bedeutung der Ernährung noch bis in die 1980er Jahre primär darin gesehen, ernährungsbedingte Mangelercheinungen und dadurch verursachte Erkrankungen zu vermeiden. Entsprechend waren auch die Forschungsansätze ausgerichtet. So galt es, die notwendigen Nährstoffe nach Art und Menge zu identifizieren, möglicherweise toxische Nahrungsbestandteile zu eliminieren sowie Voraussetzungen für hygienisch-mikrobiologisch unbedenkliche Lebensmittel zu schaffen.

Inzwischen wird der Ernährung ein weitaus größerer Stellenwert zugeschrieben. Sie dient nicht mehr allein der Deckung der nutritiven Grundbedürfnisse, also der Sicherung des Überlebens und der Vermeidung von Mangelsymptomen, sondern auch dazu, die *Gesundheit* des Menschen *langfristig zu erhalten*. Die ersten Hinweise auf eine derartige Bedeutung der Ernährung ergaben sich Ende der 1970er Jahre durch Beobachtungen von Burkitt und Trowell. Sie postulierten, dass „Zivilisationskrankheiten“ wie Übergewicht und Obstipation durch eine zu geringe Aufnahme an unverdaulichen pflanzlichen Faserstoffen begünstigt werden [Burkitt und Trowell 1977 und 1979, Trowell 1978, Biesalski 1999b]. Damit rückten erstmals bis dato als unnötig empfundene Nahrungsbestandteile („Ballaststoffe“) in den Mittelpunkt des Interesses. Zwar sind Ballaststoffe keine Nährstoffe im engeren, althergebrachten Sinne, sie verringern aber - wie inzwischen im Wesentlichen bestätigt werden konnte - das Risiko für verschiedene Erkrankungen [Smith 1987, Mia et al. 2002, Pelucchi et al. 2003].

In den 1980er Jahren erbrachten zahlreiche Studien Hinweise darauf, dass ein verstärkter Konsum von pflanzlichen Lebensmitteln, vor allem Obst und Gemüse, das Risiko für zahlreiche Erkrankungen senkt. Besonders ausgeprägt war der protektive Einfluss bei Krebserkrankungen, er konnte aber beispielsweise auch für Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen belegt werden [Law und Morris 1998, Cummings und Bingham 1998, Lampe 1999, Smith-Warner 2000, Liu et al. 2000, Terry et al. 2001, Sun et al. 2002, Bazzano et al. 2002, John et al. 2002]. Inzwischen liegt eine Vielzahl von Untersuchungen zu den präventiven Eigenschaften von Obst und Gemüse vor. Zunehmend wird auch verstanden, auf welche Mechanismen dies zurückzuführen ist (siehe Tabelle 1).

*Tabelle 1: Potenzielle Krankheits-präventive Mechanismen von Obst und Gemüse bzw. ihren Inhaltsstoffen [nach Lampe 1999]*

- Antioxidative Aktivität
- Modulation von entgiftenden Enzymen
- Stimulation des Immunsystems
- Verminderung der Plättchen-Aggregation
- Einfluss auf den Cholesterol-Metabolismus
- Modulation von Steroidhormon-Konzentration und Hormonmetabolismus
- Reduktion des Blutdrucks
- Antibakterielle und antivirale Aktivität

Im Laufe der Zeit ergab sich, dass hierfür nicht nur die Aufnahme der bis dahin bekannten Nährstoffe (also Vitamine, Mineralstoffe und Ballaststoffe) von Bedeutung ist, sondern dass die protektiven Eigenschaften von Obst und Gemüse auch eine Folge ihres Gehaltes an „Sekundären Pflanzenstoffen“ sind<sup>1</sup>. Unter diesem Begriff wird eine große Zahl (nach heutiger Kenntnis mehr als 30.000) chemisch unterschiedlicher, ausschließlich in Pflanzen vorkommender Verbindungen zusammengefasst, die über verschiedene Mechanismen protektive Wirkungen ausüben. Die quantitativ bedeutsamsten Gruppen von Sekundären Pflanzenstoffen sind die Carotinoide und die Polyphenole.

---

<sup>1</sup> Hinzu kommt, dass Personen, die viel Obst und Gemüse verzehren, häufig eine insgesamt „gesündere“ Lebensweise aufweisen [Nestle 1996], also beispielsweise weniger Alkohol und Tabak konsumieren und vermehrt sportlichen Aktivitäten nachgehen.

Die molekularen Mechanismen der Wirkung von Sekundären Pflanzenstoffen sind erst ansatzweise bekannt. Deshalb ist es bislang auch (noch?) nicht möglich, Empfehlungen zur gezielten Chemoprävention mit isolierten Sekundären Pflanzenstoffen zu geben. Demgegenüber ist aber der protektive Charakter von Obst und Gemüse insgesamt so gut dokumentiert [siehe z. B. Block et al. 1992, Hankinson 1992, Greeberg et al. 1996, World Cancer Research Found und American Institute for Cancer Research 1997, Pelz et al. 1998, Liu et al. 2000, Terry et al. 2001, Gandini et al. 2000], dass mittlerweile in vielen Ländern Kampagnen gestartet wurden, um den Konsum dieser Lebensmittel in der Gesamtbevölkerung zu erhöhen, beispielsweise die „5-a-day for a better health“-Aktion. Als erstrebenswert gilt die Aufnahme von mindestens fünf Portionen Obst und Gemüse täglich, entsprechend rund 600 g. So empfiehlt auch die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), täglich 250 g Obst, 100 g rohes Gemüse, etwa 200 g gegartes Gemüse und 75 g Salat zu konsumieren [DGE et al. 2000]<sup>2</sup>.

Die tatsächliche Situation in Deutschland und anderen Industrieländern ist hiervon aber weit entfernt; es gibt eine deutliche Diskrepanz zwischen „Soll“- und „Ist“-Zustand. So zeigte die in den Jahren 1985 bis 1988 durchgeführte Nationale Verzehrsstudie (NVS), dass Frauen aller Altersgruppen durchschnittlich 207 g/ d und Männer 193 g/ d Obst und Gemüse verzehren [Kübler et al. 1995]. Auch neuere Daten ergeben kein grundsätzlich anderes Bild. Die Empfehlung zum Obst- und Gemüsekonsum wird in den meisten Altersklassen von weniger als 20 % der Personen erreicht. Besonders kritisch stellt sich die Situation bei jungen Männern dar: hier erreichen weniger als 10 % die Empfehlungen der DGE. Addiert man Obst- und Gemüsesäfte zur Aufnahme von Obst und Gemüse, so werden die empfohlenen Mengen in den meisten Altersklassen von maximal 30 – 40 % der Personen erreicht [Mensink et al. 2000].

---

<sup>2</sup> Welche Probleme entstehen können, wenn versucht wird, den Nutzen ganzer Lebensmittel durch die Gabe von Einzelstoffen zu imitieren, demonstrieren eindrucksvoll die Mitte der 1990er Jahre durchgeführten Studien mit  $\beta$ -Carotin. Dabei wurde in klinischen Interventionsstudien versucht, krebsschutzprotektive Effekte durch die Gabe von  $\beta$ -Carotin zu erzielen, nachdem sich in epidemiologischen Erhebungen gezeigt hatte, dass Menschen mit einem hohen Spiegel an diesem Carotinoid seltener an Krebs erkranken. Die Interventionsstudien konnten diesen Effekt allerdings nicht reproduzieren, sondern führten unter bestimmten Bedingungen sogar zu einem Anstieg an Krebserkrankungen. Beta-Carotin ist aus heutiger Sicht deshalb nicht der kausale Faktor der krebsschutzpräventiven Wirkung von Obst und Gemüse, sondern vielmehr ein Marker einer obst- und gemüsebetonten Ernährung, die zahlreiche Schutzstoffe liefert (siehe Hahn 2001, S. 131ff.).

Ein zentrales Problem in Untersuchungen zur Aufnahme von Obst und Gemüse ist die Erfassung des Konsums an diesen Lebensmitteln. Dies ist zum einen in epidemiologischen Untersuchungen notwendig, in denen die Lebensmittelaufnahme untersucht werden soll, zum anderen aber auch in Interventionsstudien, deren Ziel es ist, das Essverhalten zu modifizieren. In beiden Fällen besteht die Schwierigkeit darin, zu *objektiven* Ergebnissen zu gelangen. Die üblichen Methoden zur Erfassung der Lebensmittelaufnahme, z. B. Wiege- oder Schätzprotokolle, sind nicht nur mehr oder minder aufwändig, sondern werden in ihrem Ergebnis durch zahlreiche Faktoren beeinflusst. So neigen viele Versuchspersonen dazu, ihre Ernährungsweise bewusst oder unbewusst zu modifizieren oder aber sie erfassen - ebenfalls bewusst oder unbewusst - den Lebensmittelkonsum falsch.

Zur Beurteilung der tatsächlichen Situation bietet sich der Einsatz von Biomarkern an. Durch die Erfassung von z. B. bestimmten Blutwerten oder Ausscheidungsprodukten im Urin können (objektivere) Rückschlüsse auf das Ernährungs- und Gesundheitsverhalten gezogen und Handlungskonsequenzen abgeleitet werden. Im Bereich der Beurteilung der Nährstoffversorgung ist dieses Vorgehen schon seit langem üblich. So lässt sich die ausreichende Versorgung eines Individuums mit einem Nährstoff nicht durch Ernährungsprotokolle und eine Berechnung der Nährstoffaufnahme ermitteln, sondern nur durch den Gehalt eines spezifischen Nährstoffs, seiner Metaboliten oder von seiner Funktion abhängigen Größen in Blut, Urin oder anderen Geweben. Derartige Parameter sind beispielsweise Plasmaspiegel an bestimmten Vitaminen oder die Messung von nährstoffabhängigen Parametern, z. B. Enzymaktivitäten. Auch im Bereich der klinischen Verlaufskontrolle und zur Überprüfung der Compliance ist es üblich, nicht nur die subjektiven Aussagen des Patienten zu berücksichtigen, sondern objektivierbare Parameter heranzuziehen. So wird bekanntlich die längerfristige Beurteilung der Blutzuckereinstellung von Diabetikern anhand des HBA<sub>1c</sub>-Wertes beurteilt.

Parameter, die einen Rückschluss auf den Konsum von Obst und Gemüse zulassen, sind demgegenüber bislang noch nicht routinemäßig etabliert. Zwar findet sich eine Vielzahl von Studien, in denen qualitative Zusammenhänge zwischen der Aufnahme bestimmter Substanzen (z. B. Vitamine, Carotinoide) und ihren Blutspiegeln untersucht wurden, aber praktisch keine Daten zu den Spiegeln solcher Substanzen als quantitatives Maß für die Aufnahme ganzer Lebensmittel. Derartige Biomarker, die einen Rückschluss auf die Höhe des Konsums von Obst und Gemüse zulassen, wären allerdings wünschenswert. Sie könnten beispielsweise eingesetzt werden, um die Effizienz von Ernährungsberatungsmaßnahmen zu evaluieren, deren Ziel es inzwischen überwiegend

ist, gerade den Konsum dieser Lebensmittel zu steigern. Langfristig gesehen könnten derartige Marker auch zur individuellen Risikobewertung herangezogen werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, verschiedene Substanzen auf ihre potenzielle Eignung als Biomarker des Obst- und Gemüsekonsums zu untersuchen. Dabei soll überprüft werden, ob sich die Aufnahme von Obst und Gemüse in den Blutspiegeln bestimmter Parameter widerspiegelt. Zudem soll der Frage nachgegangen werden, ob sich im Umkehrschluss aus biochemischen Kenndaten die quantitative Obst- und Gemüsezufuhr ermitteln lässt.

Die vorliegende Arbeit ist Teil eines größeren Modellprojektes, der Heidelberger BIKEI-Studie, die von April bis Oktober 2001 an der Universitäts-Frauenklinik Heidelberg durchgeführt wurde. Sie soll die methodischen Grundlagen für eine im Rahmen dieser Untersuchung ebenfalls vorgenommene Evaluierung von Ernährungsberatungsmaßnahmen legen<sup>3</sup>.

---

<sup>3</sup> Die Intervention mittels eines systemischen Beratungsansatzes und die dabei erzielten Ergebnisse sind Gegenstand der Dissertation von Heike Bückle [in Vorbereitung].

## 2 BIOMARKER - EINE EINFÜHRUNG IN DIE THEMATIK

### 2.1 Allgemeine Definition des Begriffs „Biomarker“

Das zentrale Anliegen von klinischen oder epidemiologischen Humanstudien ist die Erfassung von Effekten, die sich z. B. durch eine bestimmte Behandlung, eine Ernährungsform oder eine Schadstoffexposition ergeben. Dabei sollen beispielsweise die Bedeutung von Risikofaktoren abgeschätzt, protektive Mechanismen oder Agenzien (z. B. spezieller Lebensmittelinhaltsstoffe) identifiziert und Risikogruppen charakterisiert werden.

Das Grundproblem derartiger Untersuchungen besteht darin, *wie bzw. woran ein Effekt festzumachen* ist. Eine Möglichkeit besteht darin, derartige Wirkungen anhand klinischer Endpunkte zu bestimmen. Klinische Endpunkte (z. B. Herzinfarktraten, Knochenbrüche, Todesfälle) stellen – wie bereits der Begriff verdeutlicht – das letztendliche manifeste Ereignis dar [Weber 2001], das sich als Folge eines oder mehrerer Einflussfaktoren ergibt. Die Messung klinischer Endpunkte ist in der Praxis sehr aufwändig und erfordert meist lange Beobachtungszeiträume sowie große Stichproben. Biomarker stellen demgegenüber Indikatoren für einen bestimmten Vorgang oder eine Behandlung dar (z. B. Cholesterolspiegel, Blutdruck) und reflektieren damit einen bestimmten Prozess. Mit Biomarkern können somit bereits Veränderungen erfasst werden, die Hinweise auf ein mögliches Erkrankungsrisiko geben, lange bevor eine Krankheit überhaupt ausbricht. Darüber hinaus können Biomarker auch zum Aufdecken kausaler Mechanismen der Krankheitsentstehung beitragen.

In der Literatur finden sich vielfältige – und uneinheitliche - Definitionen des Begriffs „Biomarker“. Eine der geläufigsten Formulierungen stammt von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) aus dem Jahre 1993: *„The term biomarker is used in a broad sense to include almost any measurements reflecting an interaction between a biological system and an environmental agent, which may be chemical, physical or biological“*. Somit können z. B. Hormonspiegel, Enzymkonzentrationen, Stoffwechselmetabolite und DNA-Addukte als Biomarker fungieren. Daneben können beispielsweise auch charakteristische Moleküle der Zellmembran („Oberflächenmarker“) oder des Zellkerns als Markersubstanzen Verwendung finden. Biomarker sind dadurch charakterisiert, dass sie die Beurteilung einer möglichen Belastung, eines induzierten Effektes oder einer spezifischen Empfindlichkeit ermöglichen.

Crews et al. [2001] definieren Biomarker als „*indicators of actual or possible changes of systemic, organ, tissue, cellular, and subcellular structural and functional integrity which can be used, either singly or in batteries, to monitor health and exposure to compounds in populations and individuals*“. Daneben verdeutlicht auch die von Zeger [1999] gegebene Definition die Funktionen von Biomarkern: „*A characteristic that is measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenetic processes, or pharmacologic responses to an intervention (p.e. serum cholesterol levels, blood pressure, bone mineral density)*“.

Zur Einteilung von Biomarkern existieren verschiedene Ansätze; generell unterscheidet man jedoch:

- **molekulare,**
- **biochemische** und
- **physiologische Biomarker.**

Molekulare Markersubstanzen stehen in Verbindung mit der Funktion oder der Aktivität bestimmter Moleküle [Benzie 1999]. Sie umfassen also die *zelluläre Ebene* und haben den Vorteil einer großen Spezifität und Sensitivität. Genetische Biomarker können beispielsweise dazu dienen, Krankheitsstadien zu klassifizieren oder die Wahrscheinlichkeit für zukünftige Erkrankungen vorherzusagen [Groopman und Kensler 1999]. Sie spiegeln z. B. Veränderungen bei der DNA-Mutagenese, bei Zytokinen, Adhäsionsmolekülen und andere Genprodukten wider [Jackson et al. 1998, Reilly et al. 1998]. Die praktische Anwendung von molekularen Markern ist derzeit noch recht begrenzt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass sie in der Regel mit Hilfe von invasiven - und damit mehr oder weniger komplexen - Verfahren gewonnen werden (z. B. Gewinnung von Gewebeproben). Zudem fehlt es oftmals (noch) an geeigneten analytischen Bestimmungsmethoden oder abbildenden Verfahren [Benzie 1999, Groopman und Kensler 1999].

Unter biochemischen Markern versteht man Substanzen, die als (biochemische) Bestandteile von Körperflüssigkeiten (v. a. Blut, Urin) nachgewiesen werden können. Ihre Spiegel können als Resultat molekularer Veränderungen angesehen werden [Benzie 1999]. Ein Beispiel für die Anwendung von biochemischen Markern ist die Bestimmung von Tumormarkern. Dabei handelt es sich um bestimmte Proteine, deren vermehrtes Vorkommen im Blut oder Gewebe den Krankheitszustand von Krebspatienten anzeigen

soll. Die Erfassung von biochemischen Markern ist weniger spezifisch und sensitiv als diejenige von molekularen Markern, dafür jedoch in der Praxis weitaus besser anwendbar.

Physiologische (biologische) Markersubstanzen bzw. Indikatoren repräsentieren homöostatische Prozesse, Organsysteme oder Gewebefunktionen und zeigen physiologische und teilweise auch pathologische Veränderungen an [Benzie 1999]. Einen solchen Marker stellt z. B. der Blutdruck dar. Auswirkungen von physiologischen Biomarkern beruhen zwar häufig auf biochemischen oder physiologischen Veränderungen, ihre Erfassung und Beurteilung ist jedoch dennoch von Interesse, da sie letztendlich deren biologische Konsequenzen darstellen. Eine Nachteil bei der Verwendung von physiologischen Markersubstanzen ist, dass sie durch vielfältige Faktoren beeinflusst werden, so dass insbesondere Einzelmessungen wenig aussagekräftig sind [Benzie 1999].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass jede Messgröße, die eine Veränderung in einem biochemischen Prozess widerspiegelt oder Veränderungen von Strukturen oder Funktionen anzeigt, als Biomarker Verwendung finden kann. Die Veränderung des Markers resultiert wiederum aus einer Interaktion zwischen einem biologischen System und einem Umweltfaktor (einschließlich eines Nahrungsbestandteiles).

## **2.2 Potenzielle Biomarker des Obst- und Gemüseverzehr**

Als Biomarker für die Aufnahme von Obst und Gemüse bieten sich zunächst Substanzen an, die möglichst ubiquitär in Obst und Gemüse vorkommen. Wie in Tabelle 2 ersichtlich, bestehen Obst und Gemüse zum weit überwiegenden Teil aus Wasser. Die Trockenmasse (im Durchschnitt etwa 10 – 20 %) enthält Kohlenhydrate (3 – 20 %), Stickstoffverbindungen (1 - 5 %), Ballaststoffe (ca. 1 %) sowie – mit Ausnahme von Schalenfrüchten und Avocados – geringe Mengen an Fett (0,1 – 0,5 %) [Belitz und Grosch 1992, S. 692 ff.]. Neben diesen Majorbestandteilen enthalten Obst und Gemüse eine Vielzahl weiterer Substanzen, z. B. verschiedene Vitamine, Mineralstoffe und organische Säuren.

*Tabelle 2: Bestandteile von Obst und Gemüse [modifiziert nach Ternes 1995 sowie Watzl und Leitzmann 1999]*

Majorbestandteile	Minorbestandteile
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasser (80 – 97 %)</li> <li>• Kohlenhydrate (0,5 – 10 %)</li> <li>• Proteine (0,1 – 5 %)</li> <li>• Lipide (&lt; 1 %)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vitamine (z. B. Vitamin C und A, B-Vitamine, Folsäure)</li> <li>• Mineralstoffe (z. B. Na, K, Ca, Mg, Fe)</li> <li>• organische Säuren (z. B. Äpfelsäure, Zitronensäure)</li> <li>• Sekundäre Pflanzenstoffe</li> </ul>

Vor dem Hintergrund der Suche nach einem *spezifischen* Marker für den Verzehr von Obst und Gemüse verdienen insbesondere die typischerweise in diesen Produkten vorkommenden Substanzen, d.h. beispielsweise verschiedene Vitamine und sekundäre Pflanzenstoffe, besondere Beachtung. Im Folgenden sollen diese potenziellen Markersubstanzen näher betrachtet werden.

### 2.2.1 Sekundäre Pflanzenstoffe (SPS)

Unter der Bezeichnung „sekundäre Pflanzenstoffe“ (*secondary plant products, phytochemicals*) versteht man im Allgemeinen Verbindungen, die - anders als primäre Pflanzenprodukte wie Kohlenhydrate, Fette und Proteine – im sekundären Stoffwechsel von Pflanzen gebildet werden. Allerdings gibt es bisher weder eine einheitliche Definition des Begriffs noch eindeutig definierte Kriterien für eine Unterscheidung zwischen primären und sekundären Pflanzenstoffen [Mothes 1980, Großklaus 2000].

Es existieren mehr als 30.000 bekannte SPS, die unterschiedlichen chemischen Substanzklassen angehören (siehe Tabelle 3). Sie werden von der Pflanze u. a. als Farb- und Aromastoffe, Abwehrstoffe gegen Schädlinge und Krankheiten sowie Wachstumsregulatoren gebildet [Teuscher 1990, Harborne 1990, Verpoorte et al. 2000, Tsao et al. 2002].

Tabelle 3: Sekundäre Pflanzenstoffe [modifiziert nach Watzl und Leitzmann 1999]

Sekundäre Pflanzenstoffe	Beispiele
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carotinoide</li> <li>• Phytosterine</li> <li>• Saponine</li> <li>• Glucosinolate</li> <li>• Polyphenole</li> <li>• Protease-Inhibitoren</li> <li>• Terpene</li> <li>• Phytoöstrogene</li> <li>• Sulfide</li> <li>• weitere</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\alpha</math>- und <math>\beta</math>-Carotin, Zeaxanthin, Lycopin</li> <li>• <math>\beta</math>-Sitosterin, Campesterin, Sigmasterin</li> <li>• Digitonin, Glycyrrhetinsäure</li> <li>• Glucobrassicin</li> <li>• Flavonoide, Lignane, Phenolsäuren</li> <li>• (Chymo)Trypsin-Inhibitoren</li> <li>• Limonen, Carvon</li> <li>• Genistein, Secoisolariciresinol</li> <li>• Allicin, Alliin, Diallyldisulfid</li> <li>• Phytinsäure, Chlorophyll, Lektine</li> </ul>

Bis vor wenigen Jahren wurden viele SPS als unerwünschte und teilweise sogar schädigende Nahrungsinhaltsstoffe angesehen. Zwar weisen einige dieser Verbindungen (z. B. kropferzeugende Substanzen einiger Kohlarten) tatsächlich unerwünschte Effekte auf, in der Praxis spielt dies jedoch – in Anbetracht der geringen Verzehrsmenge – nur eine untergeordnete Rolle. So müsste man beispielsweise (bei gleichzeitig niedriger Jodzufuhr) über mehrere Monate hinweg täglich mindestens 0,4 kg Weißkohl, 2 kg Chinakohl oder 2,8 kg Rettich verzehren, um durch Kohlgemüse eine Struma zu erzeugen [Leitzmann und Hahn 1996, S. 247].

Heutzutage werden vielen SPS - mit wenigen Ausnahmen, z. B. dem Solanin der Nachtschattengewächse (*Solanaceae*) - vielfältige gesundheitsfördernde Wirkungen zugesprochen (siehe Tabelle 4): sie sind je nach Stoff u. a. anticancerogen, antioxidativ, antimikrobiell und immunmodulierend wirksam [Fröhlich et al. 1997, Watzl und Leitzmann 1999, Morton et al. 2000, Talalay und Fahey 2001, Friedmann 2002, Le Marchand 2002]. Viele Studien konnten zudem protektive Effekte von SPS im Hinblick auf die Entwicklung von Diabetes mellitus, Kardiovaskulären Erkrankungen und Bluthochdruck belegen [beispielsweise Craig 1997, Arai et al. 2000, Kelloff et al. 2000, Kris-Etherton et al. 2002, Park und Pezzuto 2002, Sun et al. 2002].

*Tabelle 4: Gesundheitsfördernde Wirkungen von sekundären Pflanzenstoffen [nach Watzl und Leitzmann 1999]*

• antikanzerogen	• entzündungshemmend
• antioxidativ	• Blutdruck-regulierend
• antimikrobiell	• Cholesterolspiegel-senkend
• antithrombotisch	• Glucosespiegel-regulierend
• immunmodulierend	• verdauungsfördernd

Pflanzen enthalten nur sehr geringe Mengen an SPS. Zudem unterliegt der Gehalt in Abhängigkeit von Anbau- und Wachstumsbedingungen sowie Sorte, Reifegrad, Lagerung, Behandlung und küchentechnischer Verarbeitung starken Schwankungen [Watzl 1996, Butz et al. 1997, Pelz et al. 1998, Watzl und Leitzmann 1999, Großklaus 2000]. Viele SPS (z. B. Flavonoide, Lignane) liegen in der Pflanze in gebundener Form vor, in der Regel als Glycoside. Es gibt bisher nur wenige Daten über das Ausmaß der tatsächlichen Absorption und Metabolisierung von SPS, zumal im Dünndarm nur Aglycone quantitativ absorbiert werden. Es wird vermutet, dass auch die Art des Zuckeranteils einen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit hat, denn im Vergleich zu Quercetin-4'-glucosiden sind beispielsweise Quercetin-3-rutinoside nur zu 20 % bioverfügbar [Großklaus 2000]. Weiterhin wirken sich auch Interaktionen der SPS untereinander, Einflüsse der Darmflora auf die Metabolisierung sowie andere Nahrungsfaktoren auf die Absorption aus [Fugmann et al. 1997, S. 514 ff; Scalbert und Williamson 2000]. Schätzungen zu Folge werden mit einer gemischten Kost täglich insgesamt etwa 1,5 g SPS aufgenommen [Großklaus 2000].

Viele SPS sind spezifisch für bestimmte Pflanzenfamilien; sie kommen deshalb als generelle Marker des Obst- und Gemüseverzehr nicht in Betracht, da ihre Zufuhr stark von den Präferenzen für bestimmte Obst- oder Gemüsesorten determiniert wird. Andere SPS finden sich dagegen weit verbreitet sowohl in Obst als auch in Gemüse, so dass sie sich potenziell als Biomarker für den Konsum dieser Lebensmittel *insgesamt* eignen. Dies gilt in erster Linie für Carotinoide und Polyphenole (z. B. Phenolsäuren, Flavonoide, Lignane), die deshalb nachfolgend näher betrachtet werden sollen.

Einige Studien konnten zeigen, dass **Polyphenole** (gemessen in Plasma oder Urin) als Biomarker für den kurz- bis mittelfristigen Verzehr von Obst und Gemüse in Frage kommen könnten [z. B. Lampe et al. 1999, Noroozi et al. 2000, Radtke et al. 2002, Nielsen et al. 2002]. Polyphenole stellen eine Sammelbezeichnung für aromatische

Verbindungen dar, die mindestens zwei phenolische Hydroxy-Gruppen im Molekül enthalten (Polyole) [Falbe und Regitz 1995]. Sie kommen in allen Pflanzen vor, beispielsweise als Farbstoffe (z. B. Anthocyanidine, Flavone) und Geschmacksstoffe (z. B. Catechine, Tannine). Besonders weit verbreitet finden sich Flavonoide (z. B. Quercetin), Lignane (z. B. Enterolakton) sowie die Hydroxycimtsäuren Kaffee- und Ferulasäure [Watzl und Leitzmann 1995, S. 24, Bourne und Rice-Evans 1998a sowie 1998b].

Aus der Mehrzahl der Studien geht jedoch hervor, dass Polyphenole nicht als Biomarker für den Obst- und Gemüsekonsum geeignet sind. Die Gründe dafür sind vielfältig:

- Schwierigkeiten bei der Einschätzung der Zufuhr/ Aufnahme dieser Substanzen, da die Gehalte in Lebensmitteln nur sehr begrenzt bekannt sind [Hertog und Kromhout 1995, Bravo 1998, Hollman und Katan 1999, Crews et al. 2001, Sun et al. 2002, Sampson et al. 2002].
- Polyphenole, z. B. Flavonoide, liegen in Lebensmitteln häufig glykosidisch gebunden vor, so dass sie nicht oder nur begrenzt absorbiert werden können [Harborne 1994, Heilmann und Merfort 1998a sowie 1998b, Bravo 1998, Hollman und Katan 1999, Sun et al. 2002].
- Stark variierende inter- und intraindividuelle Absorption der einzelnen Verbindungen. Bei Lignanen scheint dafür beispielsweise u. a. die intestinale Mikroflora verantwortlich zu sein [Bravo 1998, Kilkkinen et al. 2001]. Zudem wurden geschlechtsspezifische Unterschiede [Kirkman et al. 1995] sowie Interaktionen mit Plasmaproteinen [Heilmann und Merfort 1998b, Maskarinec et al. 1999] beobachtet.
- Es existieren keine einheitlichen und etablierten analytischen Bestimmungsverfahren, so dass Vergleiche zwischen den Ergebnissen unterschiedlicher Studien kaum möglich sind [Heilmann und Merfort 1998a, Merken und Beecher 2000, Scalbert und Williamson 2000, Peterson und Dwyer 2000, Morton et al. 2000, Crews et al. 2001].
- Polyphenole weisen sehr geringe Halbwertszeiten (HWZ) auf. Diese liegen bei vielen Flavonoiden beispielsweise nur bei 1 – 2 Stunden [Hollman et al. 1997, Bourne und Rice-Evans 1998a, Erlund et al. 2001, Radtke et al. 2002, Manach et al. 2003, Stumpf und Adlercreutz 2003].

- Die Stoffgruppen sind außerordentlich vielfältig und zwischen einzelnen Pflanzen höchst variabel [Scalbert und Williamson 2000, Crews et al. 2001]. Da eine Bestimmung des gesamten, mehrere tausend Stoffe umfassenden Substanzspektrums nicht möglich ist, wären Leitsubstanzen notwendig, die charakteristisch sind und aus denen sich auf die Gesamtmenge an phenolischen Verbindungen rückschließen ließe. Derartige Leitsubstanzen fehlen bislang jedoch weitgehend.

Ein weiteres Problem ist, dass Polyphenole nicht *ausschließlich* in Obst und Gemüse vorkommen. So ist der Plasmaspiegel des Lignans Enterolakton ein guter Marker für die Exposition gegenüber lignan-haltigen Lebensmitteln, z. B. Leinsamen und Roggen. Er ist jedoch nicht als spezifischer Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse geeignet, zumal auch Kaffee, Tee und alkoholische Getränke die Plasmakonzentration signifikant erhöhen [Horner et al. 2002]. Auch die Gehalte der Flavonoide Hesperetin, Naringenin und Quercetin im Plasma erwiesen sich in verschiedenen Studien [z. B. Erlund et al. 2002, Gräfe et al. 2001] nicht als geeignet, um als Biomarker für den Obst- und Gemüsekonsum verwendet zu werden. Ihre Aufnahme und damit ihr Blutspiegel variieren individuell sehr stark und stellen ein schlechtes Maß für den Gehalt der Stoffe in der Nahrung dar.

Besser als Phenolsäuren scheinen **Carotinoide** als Biomarker des Obst- und Gemüseverzehr geeignet. So fanden beispielsweise Martini et al. [1992], Kardinaal et al. [1995] und McEligot et al. [1999a], dass sich Plasma-Carotinoide gut als Biomarker für die alimentäre Zufuhr von Obst und Gemüse eignen. Neben den Carotinoid-Konzentrationen im *Plasma* sollen auch diejenigen im *Fettgewebe* gleichermaßen gute Biomarker für die alimentäre Zufuhr von Carotinoiden sein [Johnson et al. 1995, El-Sohemy et al. 2002]. Allerdings stellen beide Messungen unterschiedliche Ansätze für die Erfassung des Ernährungs-Status dar, so dass sie in epidemiologischen und/ oder Ernährungs-Validierungs-Studien nicht beliebig gegeneinander ausgetauscht werden können [Su et al. 1998].

Insgesamt konnte in einer Vielzahl von epidemiologischen Studien belegt werden, dass ein vermehrter Obst- und Gemüsekonsum in einem statistisch signifikanten Anstieg der Carotinoid-Plasmakonzentrationen resultiert [siehe z. B. Campbell et al. 1994, Le Marchand et al. 1994, Martini et al. 1992 sowie 1995, Yeum et al. 1996, Drewnowski et al. 1997, Zino et al. 1997, Polsinelli et al. 1998, Tucker et al. 1999, Müller et al. 1999, McEligot et al. 1999a, Broekmans et al. 2000, van Kappel et al. 2001b, Irwig et al. 2002, Smith-Warner et al. 2002]. Die Mehrzahl der Autoren erachtet Carotinoide als gut

geeignet, um als Biomarker für den Obst- und Gemüsekonsum verwendet zu werden. Demgegenüber gibt es allerdings auch Autoren, die Carotinoide – auf Grund von lediglich sehr geringen bis moderaten Korrelationen und vielfältigen anderen Einflussfaktoren auf ihre Gehalte im Blut - nur als bedingt geeignet als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse einschätzen [Andersen 1999, van Kappel et al. 2001a], so dass die Diskussion weiterhin offen ist.

Bis heute konnten 34 Carotinoide im menschlichen Serum sowie in Frauenmilch identifiziert werden [Khachik et al. 1997]. Zu den quantitativ wichtigsten zählen dabei  $\beta$ -Carotin, Lycopin und Lutein [Khachik et al. 1995]. Daneben werden  $\alpha$ -Carotin, Zeaxanthin und  $\beta$ -Cryptoxanthin zu den mengenmäßig bedeutenden Carotinoiden im menschlichen Serum gerechnet [Parker 1989]. Viele Autoren, beispielsweise Krinsky et al. [1990] sowie Riso und Porrini [1997], benennen daher  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Zeaxanthin, Lutein und Lycopin als Hauptcarotinoide im menschlichen Plasma. Im Vergleich zu den anderen Carotinoiden (z. B. Lycopin und Lutein) kommt  $\beta$ -Carotin in einer größeren Auswahl von Gemüse und Obst vor [Yong et al. 1994]. Insgesamt soll der Konsum von Obst in erster Linie die Blutspiegel von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie  $\beta$ -Cryptoxanthin beeinflussen, während der Konsum von Gemüse ein Prädiktor für  $\beta$ -Carotin, Lutein, Zeaxanthin und Lycopin ist [van Kappel et al. 2001a].

Die Carotinoid-Gehalte in Lebensmitteln unterliegen starken Schwankungen. So sind sie beispielsweise von der Sorte, dem Anbau und der Jahreszeit abhängig, aber auch von den Lagerungsbedingungen, der Zubereitungsart u. v. m. [Mangels et al. 1993a]. Darüber hinaus sind die Konzentrationen der verschiedenen Carotinoide in Serum und Gewebe sehr variabel und hängen von einer Vielzahl von Faktoren ab. Diese Problematik wird in Kapitel 2.3.1 näher beleuchtet.

Ob die Carotinoidkonzentrationen im Plasma eher die kurzfristige alimentäre Zufuhr von Obst und Gemüse widerspiegeln oder eine Aussage über ein langfristiges Ernährungsmuster erlauben wird derzeit noch diskutiert. So konnten McEligot et al. [1999a] belegen, dass die Carotinoid-Spiegel im Plasma die langfristige Ernährungsweise repräsentieren. Zuvor hatten bereits Tangney et al. [1987] festgestellt, dass der  $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegel zwar sensitiv auf die alimentäre Zufuhr des Provitamins reagiert, im jeweiligen Individuum jedoch relativ konstant bleibt, so dass es die langfristigen Ernährungsgewohnheiten widerspiegelt. Die Mehrzahl der Autoren ist allerdings der Auffassung, dass Plasma-Carotinoide sich eher als Markersubstanzen für die kurz- bis mittelfristige Obst- und Gemüsezufuhr eignen [Rock et al. 1992, Bowen et al. 1993, Yong et al. 1994, Martini et al. 1995, Bates et al. 1997, S. 197, Tyssandier et al. 2002].

## 2.2.2 Vitamine

Als „Vitamine“ werden essenzielle organische Nahrungsbestandteile bezeichnet, die von Mensch und Tier nicht oder zumindest nicht in ausreichenden Mengen synthetisiert werden können. Für die Aufrechterhaltung multipler Funktionen des menschlichen Organismus ist daher eine alimentäre Zufuhr dieser Substanzen notwendig. Im Gegensatz zu den Hauptnährstoffen besitzen Vitamine keine Bedeutung als Energielieferanten oder Baustoffe; sie sind vielmehr an steuernden und katalytischen Aufgaben im Stoffwechsel beteiligt. Vitamine werden im Allgemeinen in fett- und wasserlösliche Verbindungen unterteilt, da sich ihre biologischen Eigenschaften z. T. aus dem Löslichkeitsverhalten erklären lassen. Die fettlöslichen Vitamine (A, D, E, K) können in teilweise erheblichen Mengen in Leber und Fettgewebe gespeichert werden. Für die wasserlöslichen Vitamine gibt es dagegen - mit Ausnahme von Vitamin B<sub>12</sub> - keine echte Speicherung; sie werden bei einer über dem aktuellen Bedarf liegenden Zufuhr überwiegend renal eliminiert.

Zu den in Obst und Gemüse enthaltenen Vitaminen zählen in erster Linie Ascorbinsäure und Vitamin A<sup>4</sup>, Folsäure sowie geringe Mengen anderer B-Vitamine (mit Ausnahme von Vitamin B<sub>12</sub>) [Brockhaus 2001, S. 503]. Im Folgenden sollen daher diese Substanzen hinsichtlich ihrer Eignung als Biomarker für den Verzehr von Obst und Gemüse näher beleuchtet werden<sup>5</sup>.

In vielen Studien fand sich eine enge Beziehung zwischen den Plasmaspiegeln an **Ascorbinsäure** und der Zufuhr von Obst und Gemüse [u. a. Le Marchand et al. 1994, Drewnowski et al. 1997 sowie Ness et al. 1999]. Block et al. [2001a] gingen in einer Studie beispielsweise der Fragestellung nach, welche Plasma-Antioxidanzien die stärkste Korrelation zum Obst- und Gemüseverzehr aufweisen. Dabei wies Ascorbinsäure eine stärkere Assoziation zur Aufnahme von Obst und Gemüse auf ( $r = 0,64$ ) als die Carotinoide  $\beta$ -Cryptoxanthin ( $r = 0,50$ ) und  $\beta$ -Carotin ( $r = 0,44$ ). Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung erachtet die Vitamin C-Konzentration im Blutplasma als geeignet, um den Versorgungszustand mit dem Vitamin anzuzeigen [DGE et al. 2000, S. 139]. Zu einem vergleichbaren Ergebnis kamen auch Sinha et al. [1992] und Bates et al. [1997, S. 209]. Demgegenüber scheint die Messung von Ascorbinsäure im Urin nicht geeignet zu sein,

---

<sup>4</sup> In seiner Provitamin-Form  $\beta$ -Carotin.

<sup>5</sup> Auf Vitamin A in seiner Provitamin-Form  $\beta$ -Carotin wird an dieser Stelle nicht weiter eingegangen, da  $\beta$ -Carotin bereits im Kapitel über sekundäre Pflanzenstoffe besprochen wurde (siehe Kapitel 2.2.1).

um den Körperstatus des Vitamins zu erfassen: sie ist nicht sensitiv genug und zudem sehr unzuverlässig [Benzie 1999].

Zwar steht ein letztendlicher Beleg noch aus, doch verschiedene Untersuchungen deuten darauf hin, dass die Blutspiegel von **Folsäure** ein guter Marker für den Obst- und insbesondere Gemüsekonsum sind. So konnten verschiedene Studien zeigen, dass bei der Zufuhr von Gemüse und Obst die Plasmaspiegel an Folsäure ansteigen [z. B. Herberg et al. 1994, Tucker et al. 1996, Brouwer et al. 1999b, Ward 2001, Broekmans et al. 2000]. Schneider [1997] kommt zu der Schlussfolgerung, dass die alimentäre Versorgung mit Folsäure mit Hilfe von Blutanalysen beurteilt werden kann. Dies spricht dafür, dass über die Versorgung mit Folsäure als vor allem in Gemüse vorkommendem Vitamin letztlich auf die Aufnahme dieser Lebensmittelgruppe geschlossen werden kann. Als zuverlässiger Langzeitindikator der Folsäureversorgung gilt dabei insbesondere die Folsäurekonzentration in den Erythrozyten [Bates et al. 1997, S. 174 und 179], welche die durchschnittliche Versorgung während der letzten 120 Tage widerspiegelt. Demgegenüber scheinen die Serum- oder Plasmakonzentrationen eher die kurzfristige alimentäre Zufuhr des Vitamins zu reflektieren [Bates et al. 1997, S. 207]. Um ein komplexes Bild vom Folsäurestatus zu gewinnen, empfehlen Bates et al. [1997, S. 208], die Gehalte des Vitamins sowohl im Serum/ Plasma als auch in den Erythrozyten zu bestimmen und zudem Vitamin B<sub>12</sub>, das in den Folsäuremetabolismus involviert ist (siehe Kap. 2.3.4), zu berücksichtigen.

### 2.2.3 Sonstige Substanzen

Grundsätzlich finden sich in pflanzlichen Lebensmitteln zahlreiche weitere Inhaltsstoffe, die als Marker ihres Verzehrs in Frage kommen. Viele dieser Substanzen sind jedoch schon aus theoretischen Erwägungen nicht als potenzielle Biomarker des Obst- und Gemüseverzehrs geeignet. Ein Beispiel hierfür sind die **Mineralstoffe**. Diese stellen insgesamt keine potenziellen Biomarker dar, da sie für Pflanzen im Allgemeinen wenig spezifisch sind. Zudem weist der Körper für die meisten Mineralstoffe (z. B. Magnesium) ausgeprägte Homöostase-Mechanismen auf, so dass der Körperbestand die Nahrungszufuhr weniger gut reflektiert als z. B. bei Vitaminen. Hinzu kommt, dass der Mineralstoffgehalt von Lebensmitteln teilweise in erheblichem Maße von der Bodenbeschaffenheit abhängt (z. B. Magnesium, Selen).

Auch andere in pflanzlichen Lebensmitteln vorkommende Substanzen scheinen als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse wenig geeignet [Khachik et al. 1986, Schwartz und Lorenzo 1990, Le Marchand et al. 1994, Gossauer und Engel 1996, Bates

et al. 1997, S. 176 ff, Maskarinec et al. 1999, Crews et al. 2001, Radtke et al. 2002, Stumpf und Adlercreutz 2003], beispielsweise, weil sie:

- nicht ausreichend dokumentierte oder nicht bekannte Bioverfügbarkeiten aufweisen (z. B. Chlorophyll, Terpene),
- auch als Lebensmittel-Farbstoffe verwendet werden (z. B. Chlorophyll),
- nur kurze biologische Halbwertszeiten haben (z. B. Flavonoide, siehe Kapitel 2.2.1),
- eine zu hohe Spezifität für bestimmte Lebensmittel bzw. Lebensmittelgruppen aufweisen (z. B. Glucosinolate, Sulfide),
- überwiegend in fettreichen Pflanzenteilen vorkommen (z. B.  $\beta$ -Sitosterin),
- sich hauptsächlich in der nicht mitverzehrten Schale befinden und deshalb in zu geringen Mengen in verzehrfähigen Lebensmitteln enthalten sind (z. B. Terpene),
- stark mit anderen Lebensmittelbestandteilen interagieren (z. B. Saponine),
- zu viele Polymorphismen aufweisen (z. B. nährstoffabhängige antioxidative Enzyme in den Erythrozyten),
- in starkem Maße von der Zubereitungsart abhängen (z. B. Enzyme),
- im Rahmen der Zubereitung in andere Substanzen konvertiert werden (z. B. Chlorophyll in Pheophytin) oder
- weil sich auf Grund von homöostatischen Kontrollmechanismen die Blutspiegel nicht oder kaum durch die alimentäre Zufuhr beeinflussen lassen (z. B. Vitamin A, Calcium).

Neben den direkt in Obst und Gemüse vorkommenden Substanzen bietet sich die nicht-proteinogene Aminosäure **Homocystein** als indirekte Markersubstanz an (siehe Kap. 2.3.4). So konnten beispielsweise Broekmans et al. [2000] zeigen, dass die Zufuhr verschiedener Früchte und Gemüse mit mäßigen Folsäuregehalten die Plasma-Homocystein-Konzentrationen vermindert. Die Autoren kommen zu der Schlussfolgerung, dass Homocystein – neben Carotinoiden – einen wichtigen Indikator für den Konsum von Obst und Gemüse darstellt. Auch Tucker et al. [1996] und Brouwer et al. [1999] konnten belegen, dass der Konsum von Obst und Gemüse mit den Homocysteinspiegeln korreliert.

## 2.3 Im Rahmen dieser Arbeit untersuchte potenzielle Biomarker

In diesem Kapitel sollen die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten potenziellen Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse näher betrachtet werden. Insgesamt wurden - ausgehend von den vorab dargestellten Literaturdaten - vier Substanzen bzw. Substanzklassen ausgewählt (siehe Kapitel 2.2), die daraufhin untersucht werden sollten, inwieweit sie als Biomarker für den Obst- und Gemüseverzehr geeignet sind:

- **Ascorbinsäure,**
- **Folsäure,**
- die **Carotinoide**  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, Zeaxanthin, Lycopin, Lutein und  $\beta$ -Cryptoxanthin sowie
- **Homocystein.**

Die Unterkapitel sind wie folgt gegliedert: Zunächst werden jeweils kurz einige biochemische Hintergründe der potenziellen Marker erläutert, dann ihr Vorkommen in Lebensmitteln und ihre Bioverfügbarkeit. Im Anschluss daran werden - soweit möglich - die Einflussgrößen (Lagerung, Zubereitung etc.) auf den Gehalt der Substanz(en) in Lebensmitteln dargelegt und ihre physiologischen Funktionen beschrieben. Schließlich folgen Hintergrundinformationen zum Bedarf und der Versorgungssituation sowie die jeweiligen Zufuhr-Empfehlungen der DGE.

Da es sich bei Homocystein nicht um einen Bestandteil von Obst und Gemüse handelt, ist Kapitel 2.3.4 leicht abweichend strukturiert: zunächst werden ebenfalls einige biochemische Hintergründe erläutert, dann folgen physiologische Funktionen der nicht-proteinogenen Aminosäure sowie Erläuterungen zu Wirkungen und Empfehlungen.

### 2.3.1 Carotinoide

#### 2.3.1.1 Struktur und Eigenschaften

Unter der Bezeichnung Carotinoide versteht man fettlösliche hochungesättigte Polylenfarbstoffe mit isoprenoider Grundstruktur. Diese kommen natürlicherweise ausschließlich in Pflanzen vor und dienen dem Schutz vor phototoxischen Prozessen. Carotinoide sind Bestandteil der Chromoplasten und können sowohl reaktive Sauerstoffverbindungen quenchen, als auch Strahlungsenergie über den Triplettzustand direkt absorbieren und deaktivieren [Bässler et al. 2002, S. 271 ff.].

Es gibt mehr als 600 verschiedene Carotinoide, von denen rund 50 eine Provitamin-A-Wirkung besitzen [Papas 1999 S. 133 und Leitzmann et al. 2001, S. 81 ff., Crews et al. 2001]. Voraussetzung hierfür ist das Vorhandensein eines  $\beta$ -Iononringes im Molekül, an den die Isoprenkette angelagert ist. Die größte Provitamin-A-Wirkung weist das  $\beta$ -Carotin auf, da es als einziges Carotinoid zwei  $\beta$ -Iononringe besitzt. So wird  $\beta$ -Carotin in der Darmschleimhaut zu etwa 17 % in Vitamin A gespalten, während man bei einem Gemisch von Carotinoiden nur von ca. 7 % ausgeht. Bei sinkender Vitamin-A-Aufnahme wird  $\beta$ -Carotin vermehrt zu Vitamin A gespalten, während bei guter Versorgung die Spaltungsrate abnimmt.

Carotinoide lassen sich in zwei Gruppen unterteilen: die sauerstofffreien Carotinoide (z. B.  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, Lycopin) sowie die Oxycarotinoide (z. B. Lutein, Zeaxanthin,  $\beta$ -Cryptoxanthin), die auch als Xanthophylle bezeichnet werden [Leitzmann et al. 2001, S. 81] (siehe Abbildung 1). Das quantitativ bedeutsamste natürliche Carotinoid ist  $\beta$ -Carotin. In physiologischer Hinsicht kommt außerdem  $\alpha$ -Carotin, Lycopin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein und Zeaxanthin eine wichtige Bedeutung zu [Hahn 2001, S. 129].

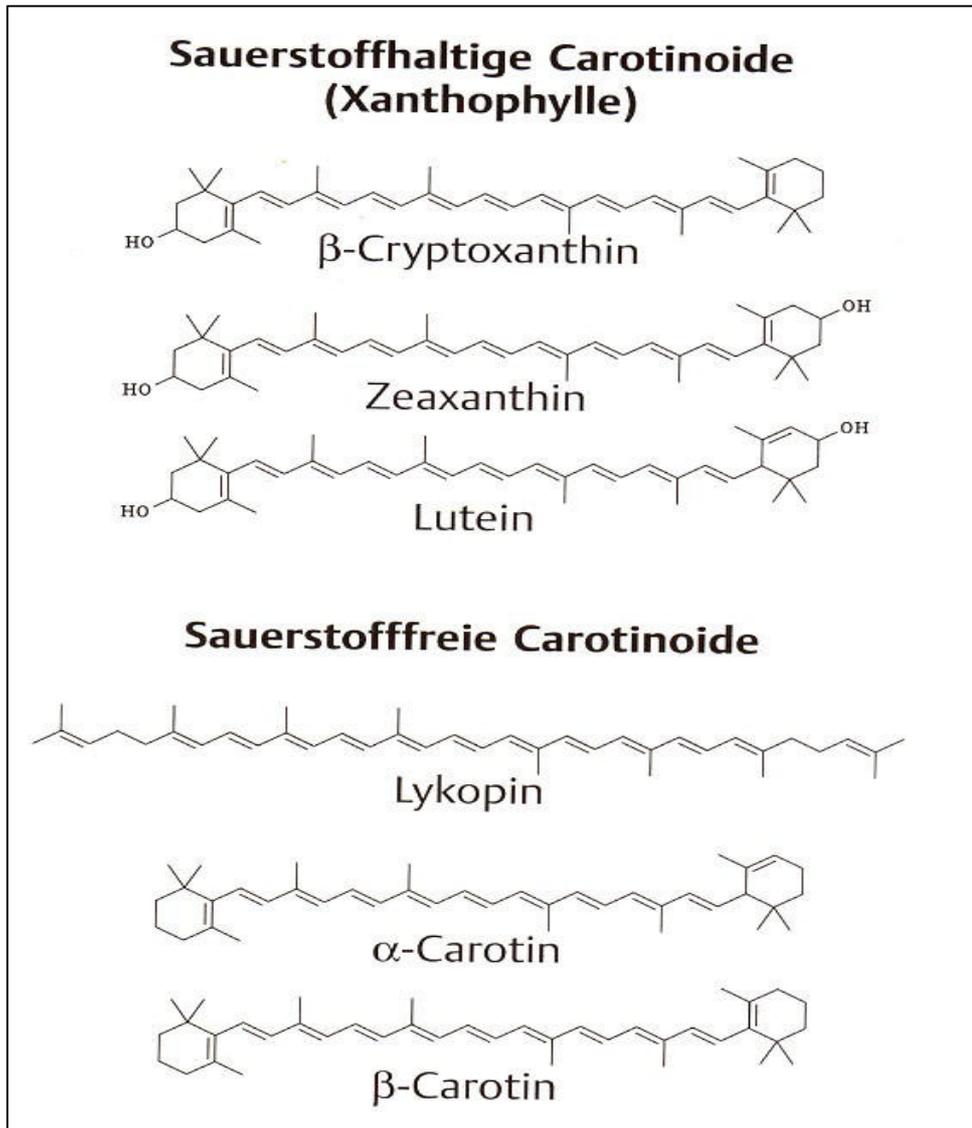


Abbildung 1: Einteilung der Carotinoide nach ihrem Oxidationsstatus [Watzl und Leitzmann 1999, S. 26]

### 2.3.1.2 Vorkommen in Lebensmitteln und Bioverfügbarkeit

Carotinoide sind Bestandteil der Chromoplasten und werden zum Schutz vor photooxidativen Prozessen gebildet. Aus diesem Grund sind sie - neben anderen Pflanzenfarbstoffen - in nahezu allen pflanzlichen Lebensmitteln enthalten. Die sauerstofffreien Carotinoide verleihen Früchten und Gemüse ihre gelbe, orange oder rote Farbe (z. B. Tomaten, Aprikosen, Paprika, Karotten), während Xanthophylle vor allem in dunkelgrünem Gemüse (z. B. Grünkohl, Spinat, Bohnen) vorkommen (siehe Tabelle 5) [Leitzmann et al. 2001, S. 81].

*Tabelle 5: Carotinoidgehalt ausgewählter Gemüse- und Obstarten (ohne Zusatzhinweis: rohes, unbehandeltes Gemüse oder Obst) [modifiziert nach Holden et al. 1999<sup>6</sup>]*

Lebensmittel	$\alpha$ -Carotin ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	$\beta$ -Carotin ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	$\beta$ -Cryptoxanthin ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	Lutein und Zeaxanthin ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	Lycopin ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
Bananen	5	21	0	0	0
Bohnen (gekocht)	92	552	0	700	0
Brokkoli (gekocht)	0	1042	0	2226	0
Brokkoli (roh)	1	779	0	2445	0
Eisberg- salat	2	192	0	352	0
Erbsen (gekocht)	0	320	0	1350	0
Grapefruit	5	603	12	13	1462
Grünkohl (gekocht)	0	6202	0	15.798	0
Karotten (gekocht)	3470	5776	0	0	0
Karotten (roh)	10.650	18.250	0	0	0
Mandarinen	14	71	485	243	0
Mangos	17	445	11	-	-
Maracuja	35	525	46	k.A.	k.A.
Nekatrinen	0	101	59	-	-
Orangen	16	51	122	187	0
Papayas	0	276	761	75	0
Pfirsiche	1	97	24	57	0
Rosenkohl (gekocht)	0	465	0	1290	0
Spinat (gekocht)	0	5242	0	7043	0
Tomaten (gekocht)	0	300	0	150	4400
Tomaten (roh)	112	393	0	130	3025
Wasser- melone	0	295	103	17	4868

<sup>6</sup> In der überwiegenden Mehrzahl der Publikationen zum Carotinoid-Gehalt von Lebensmitteln werden Daten von Mangels et al. [1993] zur Berechnung herangezogen. Da diese jedoch bereits im Jahr 1999 im Rahmen der USDA-NCI Datenbank von Holden et al. überarbeitet und aktualisiert wurden, werden im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit stets diese Daten zum Vergleich herangezogen (siehe <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/car98/car98.html>).

Für den Menschen gelten Obst und Gemüse als wichtigste Carotinoid-Quellen. Allerdings schwanken die Gehalte in Abhängigkeit von Sorte, Jahreszeit, Reifegrad und Wachstumsbedingungen [Mangels et al. 1993a, Bässler et al. 1997]. Zudem spielen auch Ernte- und Lagerungsbedingungen eine Rolle. Ausschlaggebend ist weiterhin der verzehrte Teil der Pflanze, da die Carotinidgehalte in den unterschiedlichen Pflanzenteilen mitunter stark variieren. So enthalten z. B. die äußeren Blätter von Kohl bis zu zweihundert Mal mehr  $\beta$ -Carotin und bis zu einhundertfünfzig Mal mehr Lutein als die inneren [Leitzmann et al. 2001, S. 82].

Das in der Natur am weitesten verbreitete und bekannteste Carotinoid ist das  **$\beta$ -Carotin** [Bässler et al. 1997, S. 270 ]. Früchte enthalten durchschnittlich etwa 2-10 mg  $\beta$ -Carotin/ kg, Gemüse rund 20-60 mg/ kg [Biesalski et al. 1999a, S. 121]. Geht man davon aus, dass der jährliche Pro-Kopf-Verbrauch an Obst und Gemüse in Deutschland im Durchschnitt bei rund 75 kg Gemüse und 85 kg Obst liegt, errechnet sich daraus - ohne Berücksichtigung von Zubereitungsverlusten - eine tägliche Zufuhr von etwa 1 mg  $\beta$ -Carotin aus Gemüse und maximal 0,5 mg durch Obst [Biesalski 1999, S. 121].

Die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden unterliegt großen Schwankungen, die auf unterschiedliche Ursachen zurückzuführen sind [van het Hof et al. 2000a]. Castenmiller und West [1998] haben in diesem Zusammenhang die Abkürzung „SLAMENGI“ geprägt, die in Tabelle 6 auf der nächsten Seite erläutert wird.

*Tabelle 6: Einflussfaktoren auf die Carotinoid-Bioverfügbarkeit (nach Castenmiller und West 1998 sowie West und Castenmiller 1998, ergänzt nach Olson 1999)*

<p><b>„SLAMENGI“:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>S</b>pecies of carotenoids</li> <li>• <b>L</b>inkages at molecular level / carotenoid structure</li> <li>• <b>A</b>mount of carotenoids ingested</li> <li>• <b>M</b>atrix</li> <li>• <b>E</b>ffectors (dietary fat, fiber, food preparation etc.)</li> <li>• <b>N</b>utrient status</li> <li>• <b>G</b>enetic factors</li> <li>• <b>H</b>ost-related factors (BMI, stomach activity, infections, lipid malabsorption etc.)</li> <li>• <b>I</b>nteractions among these variables / <b>C</b>ompetition among carotenoids</li> </ul>
---------------------------	---

Die variierende Bioverfügbarkeit der Carotinoide läßt sich u. a. auf die Art der Carotinoide und ihre schwankenden Gehalte im Lebensmittel zurückführen. Darüber hinaus spielen beispielsweise auch der Ernährungsstatus, genetische Faktoren, Interaktionen der Carotinoide untereinander und die Lebensmittel(matrix) eine Rolle, mit denen die Carotinoide aufgenommen werden [van het Hof et al. 2000a]. Im Folgenden sollen einige der „alimentären“ Einflussfaktoren auf die Carotinoid-Bioverfügbarkeit näher erläutert werden.

Die äußerst variable Bioverfügbarkeit der Carotinoide ist u. a. auf individuelle Unterschiede in der Fettabsorption zurückzuführen. Die Notwendigkeit der Anwesenheit von **Fett** zur Absorption scheint – nach neueren Erkenntnissen - eine weniger wichtige Rolle zu spielen, auch wenn eine geringe Menge Fett die Aufnahme zweifellos begünstigt [Böhm und Bitsch 1999]. Studienergebnissen von Jayarajan et al. [1980], Jalal et al. [1998], van het Hof et al. [2000a] und Roodenburg et al. [2000] zufolge reichen bereits 3-5 g Fett in der Nahrung aus, um eine optimale Aufnahme der Carotinoide zu gewährleisten. Allerdings beeinflusst auch die Art des aufgenommenen Fettes die Bioverfügbarkeit der Carotinoide. So scheinen langkettige Fettsäuren positivere Auswirkungen auf die Bioverfügbarkeit auszuüben als mittelkettige Fettsäuren [Borel et al. 1998].

Die intestinale Absorption der Carotinoide aus Gemüse hängt zudem in hohem Maße von der Art der **Zubereitung** ab [Khachik et al. 1992, van het Hof et al. 2000a]. Dabei beeinflusst ein mechanischer und/ oder thermischer Aufschluss der Pflanzenzellen (z. B.

durch Entsaften, Blanchieren, Kochen) die Bioverfügbarkeit der Carotinoide in unterschiedlichem Ausmaß. So wird Lycopin aus verarbeiteten Tomatenprodukten (z. B. Tomatensaft, Tomatenmark) beispielsweise in wesentlich höheren Mengen aufgenommen als aus rohen Tomaten [Gärtner et al. 1997, Clinton 1998 und Porrini et al. 1998]. Die Ursache dafür ist, dass beim Erhitzen eine Isomerisation der all-trans Isomere des Lycopins in die besser bioverfügbaren cis-Isomere erfolgt, wobei der Gehalt an cis-Isomeren mit der Temperatur und der Zubereitungszeit ansteigt [Shi und Le Maguer 2000]. Lutein wird aus zerkleinertem Spinat deutlich besser resorbiert als aus ganzen Spinatblättern [van het Hof et al. 1999b].  $\beta$ -Carotin wird aus roh verzehrten Karotten praktisch nicht resorbiert (nur zu etwa 1 %), da es in der Zelle kristallin vorliegt und von einer festen Cellulosematrix umgeben ist [Rock et al. 1998]. Aus gekochten, aber auch aus rohen pürierten Karotten wird das Provitamin dagegen in weit höheren Mengen absorbiert [Dietz et al. 1988].

Die Carotinoid-Aufnahme wird darüber hinaus durch die in Obst und Gemüse enthaltenen **Ballaststoffe** (z. B. Pektin) eingeschränkt [Rock und Swendseid 1992 sowie Riedl et al. 1999]. Weiterhin spielen auch **Interaktionen** zwischen den Carotinoiden eine Rolle bei der Absorption [van den Berg 1999]. Dies ist u. a. darauf zurückzuführen, dass sie bei der Absorption vom Darmlumen in die Chylomikronen den selben Transportmechanismus benutzen [EVI 1999, S. 26]. So werden aus einem natürlichen Carotinoidgemisch mit einem hohem  $\beta$ -Carotin-Anteil bevorzugt Lutein und Zeaxanthin in die Chylomikronen aufgenommen [Gärtner et al. 1996]. Andere Autoren berichten von einer wechselseitigen Beeinflussung von  $\beta$ -Carotin und Lutein [Kostic et al. 1995]. Verschiedene Studien haben weiterhin ergeben, dass die mittlere Bioverfügbarkeit von Lutein aus Gemüse deutlich größer ist als diejenige von  $\beta$ -Carotin (van het Hof et al. 1999a nennen z. B. Werte von 67 % für Lutein und 14 % für  $\beta$ -Carotin). Die resorbierte Gesamtmenge an Carotinoiden beträgt bei einer gemischten Kost Schätzungen zufolge etwa 25-30 % der aufgenommenen Menge.

Um den Beitrag der Provitamine mit ihren unterschiedlichen Ausnutzungsgraden zur Bedarfsdeckung an Vitamin A zu ermitteln, werden sie in Form von Retinol-Äquivalenten (RÄ) angegeben. Dabei entspricht 1 mg Retinol-Äquivalent = 1 mg Retinol = 6 mg all-trans- $\beta$ -Carotin = 12 mg andere Provitamin-A-Carotinoide = 1,15 mg all-trans-Retinylacetat = 1,83 mg all-trans-Retinylpalmitat [DGE et al. 2000].

### 2.3.1.3 Einflussgrößen auf den Gehalt in Lebensmitteln

Von vielen Carotinoiden ist derzeit (noch) nicht bekannt, wie und in welchem Ausmaß sie durch Lagerung und Verarbeitung beeinflusst werden. Wie in Kapitel 2.3.1.2 gezeigt, kann sich die Bioverfügbarkeit einzelner Carotinoide im Rahmen der Verarbeitungsprozesse erhöhen (z. B. bei  $\beta$ -Carotin). Bei einer längerfristigen Einwirkung von Hitze und Licht in Gegenwart von Sauerstoff kommt es jedoch zu Carotinoid-Verlusten. Dabei haben sich die sauerstoffhaltigen Xanthophylle wie Lutein und Zeaxanthin als besonders hitzeempfindlich erwiesen, während die sauerstofffreien Carotinoide (z. B. Lycopin,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin) weniger hitzelabil sind [Watzl und Leitzmann 1999, S. 18]. Eine milde Hitzebehandlung bei der Nahrungszubereitung führt daher lediglich zu geringen Aktivitätsverlusten; erst bei längerer Hitzeeinwirkung oder Hitzesterilisation treten Verluste (u.a. durch Isomerisierung, Oxidation und Cyclisierung) von mehr als 30 % auf [Khachik et al. 1992]. Die Vitamin-A-Aktivität der Provitamine wird in Abwesenheit von Sauerstoff durch Licht und Hitze infolge der Bildung von cis-Isomeren vermindert [DGE et al. 2000]. Der Mittelwert für die Carotinoidverluste im Rahmen der Zubereitung beträgt bei der in Deutschland üblichen Ernährung und schonender Zubereitung rund 20 % [Bognà r 1995].

Im Gegensatz zu anderen Carotinoiden finden sich in der Literatur relativ detaillierte Angaben über Zubereitungsverluste bei  $\beta$ -Carotin. So haben Studien ergeben, dass es bei Trocknungsprozessen (z. B. bei der Herstellung von Trockenobst oder warmluftgetrockneten Karotten) zu  $\beta$ -Carotin-Verlusten von 15 - 25 % kommt [DGE 2000, S. 242], wobei das fettlösliche Carotinoid im Wesentlichen durch Oxidationsprozesse zerstört wird. Beim Tiefgefrieren belaufen sich die  $\beta$ -Carotin-Verluste je nach Lagerungstemperatur und -zeit auf etwa 20 - 30 % [DGE 2000, S. 246]. Bei hitzesterilisierten Gemüse bzw. Gemüseprodukten wurden  $\beta$ -Carotin-Verluste von bis zu 20 % in grünem Gemüse und bis zu 35 % in gelbem Gemüse gefunden [DGE 2000, S. 240].

### 2.3.1.4 Physiologische Funktionen

Carotinoide reichern sich in Blutplasma und Gewebe des Menschen an [zu Absorption, Metabolismus und Transport im Blut siehe z. B. Erdmann et al. 1993, Olsen et al. 1994 und Parker 1996]. Unabhängig von ihrer Eigenschaft als Provitamin-A-Verbindungen weisen sie verschiedene physiologische Funktionen auf. Dazu zählen beispielsweise ihre stimulierenden Effekte auf die Zellkommunikation sowie ihre antioxidativen Eigenschaften in lipophilen Systemen bei niedrigem Sauerstoff-Partialdruck [Krinsky 1989]. So sind Carotinoide – wie erstmals im Jahre 1968 gezeigt werden konnte - in der Lage, reaktive

Sauerstoffverbindungen (z. B. Singulett-Sauerstoff) zu inaktivieren (quenchen) und somit die Bildung freier Radikale zu hemmen [Foote und Denny 1968 sowie DiMascio et al. 1989]. Diese Quenching-Eigenschaften sind abhängig von der Zahl der Doppelbindungen. Aus diesem Grund weist  $\beta$ -Carotin mit seinen 11 konjugierten Doppelbindungen gemeinsam mit Lycopin die stärkste Aktivität auf [Bässler et al. 1997].

In vielfältigen Untersuchungen bzw. epidemiologischen Studien konnten spezielle Schutzeffekte durch einzelne Carotinoide nachgewiesen werden. So erwies sich beispielsweise Lycopin als protektiv gegenüber verschiedenen Tumorarten, z. B. Prostatakrebs und Tumoren des Verdauungstraktes [Clinton 1998, Giovannucci 1999]. Dabei hatten Männer, die wöchentlich mindestens 7 Portionen Tomaten aßen, ein geringeres Prostatakrebs-Risiko als solche mit einem vergleichsweise geringen Tomatenverzehr. Die gleiche Assoziation ergab sich auch für Tomatenprodukte (z. B. Tomatensauce) und Pizza [Giovannucci et al. 1995]. Von 72 Studien, die Beziehungen zwischen den Lycopinspiegeln bzw. dem Tomatenverzehr und dem Krebsrisiko untersuchten, fand sich in 57 Untersuchungen eine inverse Assoziation, die in 35 Fällen statistisch signifikant war [Giovannucci 1999].

$\beta$ -Carotin trägt durch die Bindung von Peroxidradikalen zur Hemmung der Lipidperoxidation bei [Biesalski 1999, S. 120]. Dabei ist es – im Gegensatz zu Vitamin E – vor allem bei niedrigem Sauerstoff-Partialdruck wirksam [Bässler et al. 1997, S. 273]. Außerdem zeigt  $\beta$ -Carotin immunstimulierende Wirkungen, indem es z. B. die B- und T-Zell-Antwort steigert [Bendich 1991 und Watson et al. 1991, Watzl et al. 1999]. Weiterhin ergänzt  $\beta$ -Carotin die Wirkungsweise anderer, endogener (z. B. Superoxiddismutase) oder exogener (z. B. Tocopherol, Selen) Antioxidanzien [Biesalski et al. 1999a, S. 120]. Ähnlich wie Vitamin A (jedoch unabhängig von seiner Provitaminwirkung) ist es zudem in der Lage, mittels der Synthese von *gap junctions* die Kommunikation zwischen normalen und karzinogen initiierten Zellen zu verbessern und so die Weiterentwicklung entarteter Zellen zu unterdrücken [Hossain et al. 1989 und Zhang et al. 1992].

### **2.3.1.5 Bedarf, Versorgungssituation und Empfehlungen**

Es existieren bis dato keine Angaben zum exakten Bedarf an Carotinoiden. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) gibt lediglich einen Schätzwert für die tägliche Mindestzufuhr von  $\beta$ -Carotin an. Dem zufolge sollten 2-4 mg  $\beta$ -Carotin pro Tag zugeführt werden. Dieser Wert wird jedoch von einem Großteil der Bevölkerung in Deutschland nicht erreicht [DGE et al. 2000].

Die mittleren Plasmaspiegel für  $\beta$ -Carotin liegen in Deutschland bei durchschnittlich 0,3-0,6  $\mu\text{mol/L}$ . Bei einer durchschnittlichen täglichen Aufnahme von 2-5 mg  $\beta$ -Carotin werden Plasmaspiegel um 0,5  $\mu\text{mol/L}$  erreicht. Sinkt die Aufnahme deutlich unter 0,5 mg/Tag, kommt es zu einer Reduzierung der Plasmaspiegel auf Werte zwischen 0,2-0,3  $\mu\text{mol/L}$ . Obgleich ein  $\beta$ -Carotin-Mangel nicht definiert ist, kann man davon ausgehen, dass Plasmawerte unter 0,3  $\mu\text{mol/l}$  als  $\beta$ -Carotin-Defizit zu interpretieren sind [Biesalski 1999].

## 2.3.2 Ascorbinsäure

### 2.3.2.1 Struktur und Eigenschaften

Unter der Bezeichnung Ascorbinsäure (Vitamin C) versteht man die Endiolform des 3-Keto-1-Gulofuranolactons (siehe Abbildung 2). Die Endiolgruppe am zweiten und dritten C-Atom ist oxidationsempfindlich, so dass leicht Dehydroascorbinsäure entsteht, welche die gleiche Vitaminwirkung wie Ascorbinsäure besitzt [Leitzmann et al. 2001], weil sie im Organismus wieder in die reduzierte, eigentlich wirksame Form überführt werden kann. Die biologisch aktive Form stellt L-Ascorbinsäure dar, während die Stereoisomere D-Ascorbinsäure, L-Isoascorbinsäure und D-Isoascorbinsäure (Erythrobinsäure) biologisch inaktiv sind [Bässler et al. 1997].

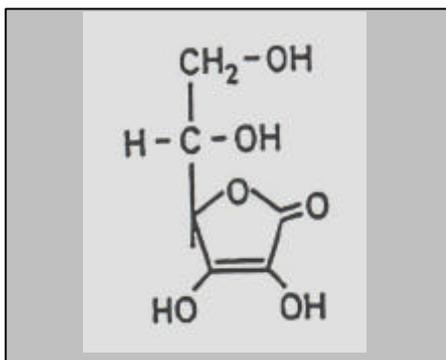


Abbildung 2: Strukturformel der Ascorbinsäure

Vitamin C wird von höheren Pflanzen und den meisten Tieren - ausgehend von D-Glucose - selbst synthetisiert [Benzie 1999]. Für Menschen, Primaten, Meerschweinchen sowie einige Vögel und Fische stellt die Substanz (auf Grund fehlender Enzyme für die Biosynthese) jedoch ein Vitamin dar, weil ihnen im Verlauf der Evolution die Fähigkeit zur Biosynthese des Vitamins verloren ging [Hahn 2001].

### 2.3.2.2 Vorkommen in Lebensmitteln und Bioverfügbarkeit

Ascorbinsäure kommt weit verbreitet sowohl in Produkten pflanzlicher als auch tierischer Herkunft vor. Allerdings ist der Gehalt in Lebensmitteln tierischer Herkunft meist weitaus geringer als in Pflanzen; lediglich Leber und Nieren sind relativ ascorbinsäurereich (10-40 mg/ 100 g). Gute Vitamin C-Quellen sind Frischobst (z. B. Zitrusfrüchte, schwarze Johannisbeeren, Stachelbeeren) und Frischgemüse (z. B. Broccoli, Paprika, verschiedene Kohlsorten, Kartoffeln, Spinat, Tomaten) (siehe Tabelle 7) sowie daraus hergestellte Säfte (v. a. Sanddornbeerensaft). In Abhängigkeit von Sorte, Jahreszeit und Reife können sich allerdings erhebliche Schwankungen im Ascorbinsäure-Gehalt ergeben.

*Tabelle 7: Ascorbinsäuregehalt ausgewählter Gemüse- und Obstarten [modifiziert nach Souci et al. 1994]*

Lebensmittel	Ascorbinsäure (mg / 100 g)
Ananas	19,0
Apfel	12,0
Banane	12,0
Birne	4,60
Blumenkohl	73,0
Brokkoli	115,0
Feldsalat	35,0
Grapefruit	43,7
Grüne Erbsen	25,0
Grünkohl	105,0
Karotte	7,00
Kohlrabi	63,3
Mandarine	30,0
Orange	49,4
Paprikafrüchte	138,0
Pfirsich	9,50
Rosenkohl	112,0
Spargel	19,9
Spinat	52,0
Tomate	24,5
Weisse Bohnen	2,50

Die Angaben über die Bioverfügbarkeit von Vitamin C sind kontrovers. So kam Papas [1999, S. 166] zu dem Ergebnis, dass die Bioverfügbarkeit von Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure auf Grund vielfältiger Faktoren (z. B. intraindividuelle Schwankungen der Pharmakokinetik in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Stress etc.) nicht bekannt ist. Levine et al. [1996] berichteten dagegen bei einer gemischten Kost von einer durchschnittlichen Bioverfügbarkeit von mindestens 80 %. Andere Autoren konstatierten, dass Vitamin C in Dosierungen bis zu 200 mg im Nüchternzustand nahezu vollständig absorbiert wird, während bei höheren Dosierungen die Bioverfügbarkeit rapide abnimmt und es zu einer vermehrten renalen Ausscheidung kommt [Benzie und Strain 1997, Hahn 2001]. Auch Haller [1995, siehe EVI 1999, S. 74] stellte fest, dass die Bioverfügbarkeit von Vitamin C dosisabhängig ist und durchschnittlich etwa 80 – 90 % beträgt, wobei die Plasmaeliminations-Halbwertszeit bei rund 3,4 Stunden und die Depletion bei 2 - 6 Wochen liegt. Graumlich et al. [1997] kamen zu vergleichbaren Ergebnissen. So wurden bei einer Zufuhr von  $\leq 200$  mg Ascorbinsäure mehr als 90 % resorbiert, während es bei einer Aufnahme von 500 mg durchschnittlich nur noch etwa 73 % und bei 1250 mg lediglich noch ca. 49 % waren.

Der Mensch verfügt nur über sehr geringe Reserven an Ascorbinsäure (max. 3 g); jede übermäßige Zufuhr wird rasch renal eliminiert. Die biologische Halbwertszeit von Ascorbinsäure variiert beim Menschen je nach Zufuhr zwischen 10 - 30 Tagen [Bässler et al. 2002].

### **2.3.2.3 Einflussgrößen auf den Gehalt in Lebensmitteln**

Im Verlauf von Lagerung und küchentechnischer Zubereitung von Obst und Gemüse kann es zu erheblichen Vitamin C-Verlusten kommen, die in äußerst ungünstigen Fällen bis zu 100 % betragen können (z. B. durch großzügiges Schälen, lange Koch- und Warmhaltezeiten) [Bässler et al. 1997, S. 213, DGE et al. 2000, S. 143]. Das Vitamin ist licht- und sauerstoffempfindlich sowie im neutralen und alkalischen Bereich außerordentlich hitzeempfindlich [Leitzmann et al. 2001, S. 53]. Der Mittelwert für die Zubereitungsverluste beträgt bei landesüblicher Ernährung und schonender Zubereitung rund 30 % [Bognà r 1995]. Hauptursache dafür sind reine, durch Metallionen katalysierte oder enzymatisch gesteuerte Oxidationsvorgänge. Durch Inaktivierung der beteiligten Enzyme, beispielsweise durch Blanchieren von Gemüse, kann den enzymatischen Vitamin C-Verlusten vorgebeugt werden [DGE et al. 2000, S. 143]. Weiterhin sind zum Erhalt des Vitamins der Ausschluss von Sauerstoff und Metallionen (v.a. Kupfer- und Eisenionen) sowie niedrige Temperaturen und pH-Werte ( $< \text{pH } 6$ ) anzustreben.

Industrielle Fertigungsprozesse berücksichtigen heutzutage die hohe Labilität der Ascorbinsäure und verwenden Techniken, mit denen es gelingt, die Vitamin C-Verluste beim Einfrieren bzw. Eindosen relativ gering zu halten, so dass derartig verarbeitete Produkte oftmals mehr Vitamin C enthalten als Obst und Gemüse, das bereits einige Tage gelagert wurde [Bässler et al. 2002]. So betragen die Vitamin C-Verluste in den meisten sterilisierten Produkten nur etwa 10 - 20 % des Ausgangswertes. Beim Blanchieren von Obst und Gemüse kommt es (u.a. durch vorheriges Waschen, Schälen und Zerkleinern) zu durchschnittlichen Verlusten von 20 – 50 % (siehe Tabelle 8). Im Rahmen der sich z. T. anschließenden Gefrierlagerung können je nach Lagertemperatur und -dauer nochmalige Ascorbinsäureverluste von 10 – 30 % hinzukommen [DGE 2000].

*Tabelle 8: Abnahme des Vitamin C-Gehaltes bei der Lagerung (- 18°C) von blanchiertem, tiefgefrorenem Obst und Gemüse [DGE 2000, S. 245 sowie Spieß 1984 und 1985]*

Lebensmittel	Ausgangsgehalt (mg/ 100 g)	Lagerzeit (Monate)	Verluste (%)
Blumenkohl	42 - 78	12	50 - 70
Bohnen	6 - 22	12	10 - 52
Brokkoli	54 - 90	12	20 - 30
Erbsen	15 - 23	12	5 - 60
Spargel	40	12	0 - 10
Spinat	31 - 35	12	10 - 70
Erdbeeren	38 - 75	12	15 - 30
Himbeeren	10 - 38	12	10 – 30
Pfirsiche	6 - 32	8	12 – 40
Zwetschgen	2 - 14	9	30 - 35

Neben den natürlichen Gehalten in Produkten pflanzlicher und tierischer Herkunft wird Ascorbinsäure in der Lebensmittelindustrie häufig aus technologischen Gründen bei der Lebensmittelverarbeitung eingesetzt, vor allem als Antioxidanz zu Stabilisierungszwecken. Auf diese Weise ergibt sich oftmals ein Ausgleich der Verarbeitungsverluste [Bässler et al. 2002].

#### **2.3.2.4 Physiologische Funktionen**

Ascorbinsäure wird überwiegend in den proximalen Dünndarmabschnitten resorbiert und über das Blut in die Gewebe verteilt. Die physiologischen Funktionen des Vitamins sind äußerst vielfältig und beruhen alle auf den Eigenschaften der Substanz als

Reduktionsmittel; biologisch aktiv ist allerdings ausschließlich die L-Form. So ist das Vitamin als Cofaktor verschiedener Enzyme an zahlreichen Biosynthesen (z. B. Bildung von Kollagen, Carnitin, Catecholaminen und verschiedenen Peptidhormonen) [Padh 1990, Hahn 2001] sowie über mikrosomale Hydroxylierungsreaktionen an der Inaktivierung diverser Pharmaka und anderer Fremdstoffe in der Leber beteiligt [Bässler et al. 1997, S. 216, EVI 1999, S. 33]. Ferner wirkt Ascorbinsäure als Neuromodulator und reguliert die dopaminerge und glutaminerge Transmission [Rebec und Pierce 1994]. Zudem ist sie an der Regeneration von Vitamin E beteiligt [Frei et al. 1989, Padh 1990, Hahn 2001]. Darüber hinaus verbessert Vitamin C die intestinale Eisenresorption [Weber et al. 1996, Sandstrom 2001], unterstützt den Abbau von Cholesterol zu Gallensäuren [EVI 1999, S. 33] und hemmt die Nitrosaminbildung aus Nitrit und sekundären Aminen [Byers und Perry 1992, Mirvish 1994]. Auch ein positiver Einfluss auf die körpereigene Abwehr [Pauling 1976, Siegel 1993, Weber et al. [1996], Hemila 1997, Calder und Kew 2002] sowie auf den Blutdruck [Block et al. 2001b, John et al. 2002] werden diskutiert. In Tabelle 9 sind die wichtigsten physiologischen Funktionen von Ascorbinsäure zusammenfassend dargestellt.

*Tabelle 9: Biochemische Funktionen von Ascorbinsäure [nach Papas 1999, S. 163]*

#### **Beteiligung an enzymatischen Reaktionen**

- Prolin-hydroxylase (EC 1.14.11.2)
- Prokollagen-prolin 2-oxoglutarat-3-dioxygenase (EC 1.14.11.7)
- Lysin-hydroxylase (EC 1.14.11.4)
- Gamma-butyrobetain 2-oxoglutarat 4-dioxygenase (EC 1.14.11.1)
- Trimethyllysin-2-oxoglutarat dioxygenase (EC 1.14.11.8)
- Dopamin beta-monooxygenase (EC 1.14.17.1)
- Peptidylglycin alpha-amidierende-monooxygenase (EC 1.14.17.3)
- 4-Hydroxyphenylpyruvat-dioxygenase (EC 1.13.11.27)

#### **Beteiligung an nicht-enzymatischen Reaktionen**

##### **Intrazelluläre Reaktionen**

- Quenching von reaktiven Oxidanzien
- Eisen-Ferritin-Interaktionen

##### **Extrazelluläre Reaktionen**

- Quenching von reaktiven Oxidanzien
- Elektronentransfer zu oxidiertem Tocopherol
- Prävention der LDL-Oxidation
- Eisenabsorption in den Gastrointestinaltrakt

### **2.3.2.5 Bedarf, Versorgungssituation und Empfehlungen**

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) empfiehlt für gesunde Erwachsene eine tägliche Vitamin C-Zufuhr von 100 mg. Es gibt jedoch zahlreiche Personengruppen, die einen erhöhten Ascorbinsäurebedarf aufweisen. Dazu zählen beispielsweise Raucher, Personen mit Erkrankungen (z. B. fieberhafte Infekte, Diabetes mellitus), Alkoholiker, Schwangere und Stillende sowie Personen, die kontinuierlich Medikamente (z. B. orale Kontrazeptiva, acetylsäurehaltige Analgetika) verwenden, unter starkem Stress oder körperlicher Belastung stehen [Schorah 1992, Smirnoff und Pallanca 1996, Bates 1997, Halliwell 1997, Hubel et al. 1997, Marangon et al. 1998]. Zu einer ungenügenden Vitamin C-Zufuhr kann es zudem leicht bei älteren Menschen kommen, die sich auf Grund von Kauschwierigkeiten oder anderer eingeschränkter Lebensbedingungen nur einseitig oder nicht ausreichend ernähren und ständig Medikamente einnehmen. Wie hoch der jeweilige Mehrbedarf ist, kann derzeit noch nicht beziffert werden. Die DGE empfiehlt Rauchern beispielsweise jedoch eine Zufuhr von 150 mg Ascorbinsäure/ Tag [DGE et al. 2000].

## **2.3.3 Folsäure**

### **2.3.3.1 Struktur und Eigenschaften**

Unter dem Begriff Folsäure oder Folate werden rund 100 verschiedene Substanzen mit gleichartiger Vitaminwirkung verstanden. Die Grundsubstanz aller Folsäure-wirksamen Verbindungen ist Pteroylmonoglutamat (PGA), das aus einem Pteridinringsystem und para-Aminobenzoessäure besteht, an deren Carboxylende ein Glutaminsäuremolekül gebunden ist (siehe Abbildung 3) [Leitzmann et al. 2001, S. 49]. Pteroylmonoglutaminsäure kommt in dieser Form nicht in der Natur vor, wird aber als synthetische Verbindung in großem Umfang in der Lebensmittelindustrie verwendet und ist biologisch voll wirksam [Hahn 2001]. Die natürlich vorkommenden Folsäurederivate unterscheiden sich im Redoxstatus des Pteridinkernes, der Anzahl der in der Seitenkette über eine gamma-Peptidbindung verknüpften Glutamatreste (bis zu neun) sowie im Vorliegen verschiedener C1-Substituenten an den n-Atomen 5 und 10 [Bässler et al. 1997].

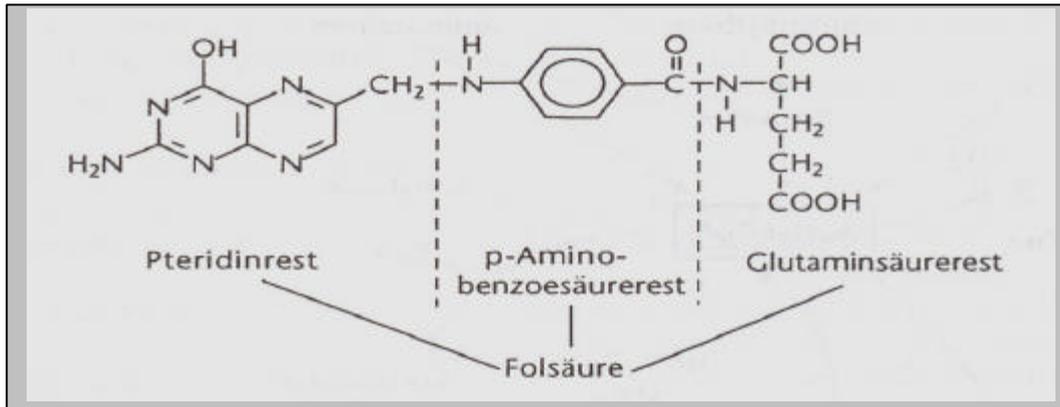


Abbildung 3: Strukturformel von Folsäure

### 2.3.3.2 Vorkommen in Lebensmitteln und Bioverfügbarkeit

Folate kommen sowohl in Lebensmitteln pflanzlicher als auch tierischer Herkunft vor. Besonders hohe Gehalte finden sich in dunkelgrünem Blattgemüse (z. B. Spinat, Salat), worauf auch die Bezeichnung des Vitamins zurückzuführen ist (*folium* = lat. Blatt). Nennenswerte Mengen des Vitamins sind darüber hinaus - wie in Tabelle 10 ersichtlich - in bestimmten Gemüsearten (z. B. Tomaten, Kohlrarten, Spinat, Erbsen) enthalten, ebenso in Weizenkeimen, Eigelb, Sojabohnen, Leber, Niere, Getreide und Hefe. Demgegenüber sind Rindfleisch, Fisch und Obst relativ folsäurearm.

*Tabelle 10: Folsäuregehalt ausgewählter Gemüse- und Obstsorten [modifiziert nach Souci et al. 1994]*

<b>Lebensmittel</b>	<b>Folsäure-Äquivalente (µg / 100g)</b>
Ananas	4,00
Apfel	12,0
Banane	17,0
Birne	14,0
Blumenkohl	125,0
Brokkoli	111,0
Feldsalat	145,0
Grapefruit	11,0
Grüne Erbsen	159,0
Grünkohl	187,0
Karotte	55,0
Kohlrabi	70,0
Mandarine	7,00
Orange	42,0
Paprikafrüchte	60,0
Pfirsich	2,70
Rosenkohl	182,0
Spargel	108,0
Spinat	145,0
Tomate	44,5
Weisse Bohnen	187,0

Die Bioverfügbarkeit von Nahrungsfolaten ist keine konstante Größe, sondern variiert in Abhängigkeit vom Mono-/Polyglutamatverhältnis der Lebensmittel, das im Mittel bei 40 : 60 liegt. Folsäuremonoglutamate sind dabei nahezu quantitativ resorbierbar (> 90 %), während die überwiegend in der Nahrung vorkommenden Polyglutamate nur zu rund 20 % verfügbar sind [Hahn 2001], weil sie vor der Absorption durch eine intestinale Konjugase zu Monoglutamat-Verbindungen hydrolysiert werden müssen [Seyoum und Selhub 1998, Crews et al. 2001]. Verschiedene Lebensmittelinhaltsstoffe (z. B. Enzyminhibitoren, welche die Abspaltung der Polyglutamate verhindern), aber auch Arzneimittel, können darüber hinaus die Ausnutzung von Folat aus einer gemischten Kost vermindern. Aus diesem Grund kann man die mittlere Bioverfügbarkeit von Nahrungsfolat aus gemischter Kost nur bei maximal 50 % ansetzen [Leitzmann et al. 2001].

Grundsätzlich werden Folate aus Nahrungsmitteln tierischer Herkunft besser resorbiert als solche aus pflanzlichen [Biesalski 1999].

Um der unterschiedlichen Resorption der folsäure-wirksamen Verbindungen Rechnung zu tragen, wurde der Begriff „Folsäure-Äquivalente“ eingeführt. Dabei entspricht 1 µg Folsäure-Äquivalent = 1 µg Nahrungsfolat bzw. 0,5 µg synthetischer Folsäure (Pteroylmonoglutaminsäure) [DGE et al. 2000].

### **2.3.3.3 Einflussgrößen auf den Gehalt in Lebensmitteln**

Zu der relativ geringen Folsäure-Bioverfügbarkeit kommen noch erhebliche Verluste durch Lagerung und Zubereitung hinzu, die im Extremfall bis zu 100 % betragen können [Friedrich 1987]. So sind Folsäureverbindungen wasserlöslich, licht- und oxidationsempfindlich sowie hitzelabil [Seyoum und Selhub 1998, Leitzmann et al. 2001]. Dadurch kann eine lange Lagerung oder Erhitzung von Lebensmitteln sowie ein Aufwärmen von Mahlzeiten wesentliche Verluste verursachen: die Zubereitungsverluste können bei Monoglutamaten bis zu 70 % betragen, bei Polyglutamaten wird von rund 50 % ausgegangen [Leitzmann et al. 2001]. Allerdings stammen über 60 % der Folsäurezufuhr aus Lebensmitteln, die ohne weitere Zubereitung - also roh - verzehrt werden. Aus diesem Grund wurde der Mittelwert für die Zubereitungsverluste auf 35 - 50 % herabgesetzt [Bognà r 1995 und DGE et al. 2000].

### **2.3.3.4 Physiologische Funktionen**

Die biologisch aktive Form der Folsäure ist die Tetrahydrofolsäure (THF). Sie fungiert in Form eines Coenzym als Übertäger von aktiven Einkohlenstoffverbindungen (z. B. Methyl-, Hydroxymethyl- oder Formylgruppen), besonders im Protein- und Nucleinsäurestoffwechsel. Auf diese Weise ist Tetrahydrofolsäure beispielsweise an der Purin- und Pyrimidinsynthese sowie an der DNA-Synthese beteiligt. Darüber hinaus ist Folsäure in den Auf- und Abbau verschiedener Aminosäuren involviert und nimmt an der Vitamin B<sub>12</sub>-abhängigen Methylierung von Homocystein zu Methionin teil (vgl. Kap. 2.3.47), wodurch der Stoffwechsel der beiden Vitamine eng miteinander verknüpft ist. Bei einer unzureichenden Folsäureversorgung steigt der Homocysteinspiegel im Blut signifikant an [Ward et al. 1997, Lucock et al. 1999].

Neben den coenzymatischen besitzt Folsäure auch nicht-coenzymatische Funktionen, wie beispielsweise die Beeinflussung des Stoffwechsels von Neurotransmittern und die Beteiligung an der Biosynthese von Hämoglobin, Phospholipiden sowie dem Hormon

Melatonin. Weiterhin spielt sie eine Rolle bei der Prävention von Neuralrohrdefekten (Spina bifida) [Scott et al. 1994, Cuskelly et al. 1996, McNulty et al. 2000].

### **2.3.3.5 Bedarf, Versorgungssituation und Empfehlungen**

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) empfiehlt eine tägliche Folsäurezufuhr von 400 µg. Frauen, die schwanger werden wollen oder könnten, wird zur sicheren Vorbeugung von Neuralrohrdefekten darüber hinaus eine zusätzliche präkonzeptionelle Supplementierung von 400 µg/ Tag Pteroylmonoglutamat angeraten. Die Supplementierung sollte mindestens vier Wochen vor Beginn der Schwangerschaft erfolgen und während des ersten Trimenons beibehalten werden [Quaas 1999, DGE et al. 2000].

Folsäuremangel ist weltweit – auch in den Industrieländern – die am weitesten verbreitete Vitaminmangelerscheinung. Die Ursachen dafür können vielfältiger Natur sein. Dazu zählen eine ungenügende Folatzufuhr (z. B. durch ungünstige Lebensmittelauswahl, Zubereitungs- oder Lagerverluste, Malabsorption), ein erhöhter Bedarf (z. B. in der Schwangerschaft, bei Infekten) oder Pharmakainterventionen (z. B. mit Antazida oder Pharmaka, welche die Resorption / Verfügbarkeit des Vitamins beeinflussen wie orale Kontrazeptiva).

In Deutschland ist die Folsäureversorgung - in erster Linie auf Grund der zu geringen Aufnahme über die Nahrung - in allen Altersgruppen kritisch. So beträgt die durchschnittliche Zufuhr an Folsäure-Äquivalenten nur 235,4 µg/ d [DGE 2000]. Besorgniserregend ist die Situation insbesondere bei Schwangeren und Säuglingen, Senioren, Alkoholikern und Personen mit chronischer Medikamenten-Einnahme.

## **2.3.4 Homocystein**

### **2.3.4.1 Struktur und Eigenschaften**

Die nicht-proteinogene und schwefelhaltige Aminosäure Homocystein wird dem Körper nicht mit der Nahrung zugeführt, sondern im Stoffwechsel als kurzlebiges Intermediärprodukt aus der essenziellen Aminosäure Methionin gebildet. In der Regel wird Homocystein entweder zu Methionin remethyliert oder enzymatisch in Cystein umgewandelt. Durch die rasche Verstoffwechslung bleibt die Konzentration der Aminosäure normalerweise niedrig und in engen Grenzen konstant [Bayer et al. 1997,

Löffler und Petrides 1997]. Das Gesamthomocystein im Plasma stellt die Summe aus proteingebundenem und freiem Homocystein dar.

Methionin wird vorwiegend über proteinreiche Lebensmittel - wie Fleisch und Fleischprodukte, Fisch, Eier, Käse und Milch aber auch Gemüse (z. B. Brokkoli, Erbsen, Rosenkohl, Spinat) - aufgenommen [Selhub et al. 1996]. Es liefert dem Körper Sulfide sowie Methylgruppen. Da Personen mit hohem Fleisch- bzw. Wurstkonsum in der Regel weniger Obst und Gemüse zu sich nehmen, könnte Homocystein als *indirekter* Parameter für den Obst- und Gemüsekonsum geeignet sein. Eine hohe Methioninaufnahme bei gleichzeitig niedriger Folsäurezufuhr ist gleichbedeutend mit einem Anstieg des Homocysteinspiegels.

#### **2.3.4.2 Physiologische Funktionen**

Die Stoffwechselwege von Homocystein stehen unter dem Einfluss der Vitamine B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> und Folsäure [Wouters et al. 1995, Duell und Malinow 1997, Pietrzik und Brönstrup 1998, Ward 2001]. So liefert Folsäure die Methylgruppe zur Remethylierung zu Methionin, während Vitamin B<sub>12</sub> als Coenzym an dieser Reaktion mitwirkt. Pyridoxin ist am Umbau von Homocystein zu Cystein beteiligt [Brönstrup und Pietrzik 1996] (siehe Abbildung 4). Daher resultiert ein Anstieg des Homocystein-Spiegels häufig aus einer suboptimalen Versorgung mit einem der drei genannten Vitamine (z. B. auf Grund von Erkrankungen, Malabsorptionssyndromen oder Arzneimitteltherapien) [Selhub et al. 1993, Kang 1996, Graham et al. 1997], wobei Folsäure die wichtigste Bedeutung zuzukommen scheint [Ward 2001].

Darüber hinaus sind die Serumspiegel allerdings auch von der genetischen Disposition [Geisel et al. 2001, Ward 2001 sowie Cortese und Motti 2001], dem Alter [Tucker et al. 1996, Lievers et al. 2003], verschiedenen Erkrankungen [Fowler 1997, Leibovitch et al. 2003] sowie bestimmten Lebensstilfaktoren [Nygard et al. 1998, Lievers et al. 2003] abhängig. Und auch die Geschlechtszugehörigkeit spielt eine Rolle: Frauen, insbesondere prämenopausale, haben im Allgemeinen einen niedrigeren Homocysteinspiegel als Männer [Wouters et al. 1995, Tucker et al. 1996, Rauh et al. 2001].

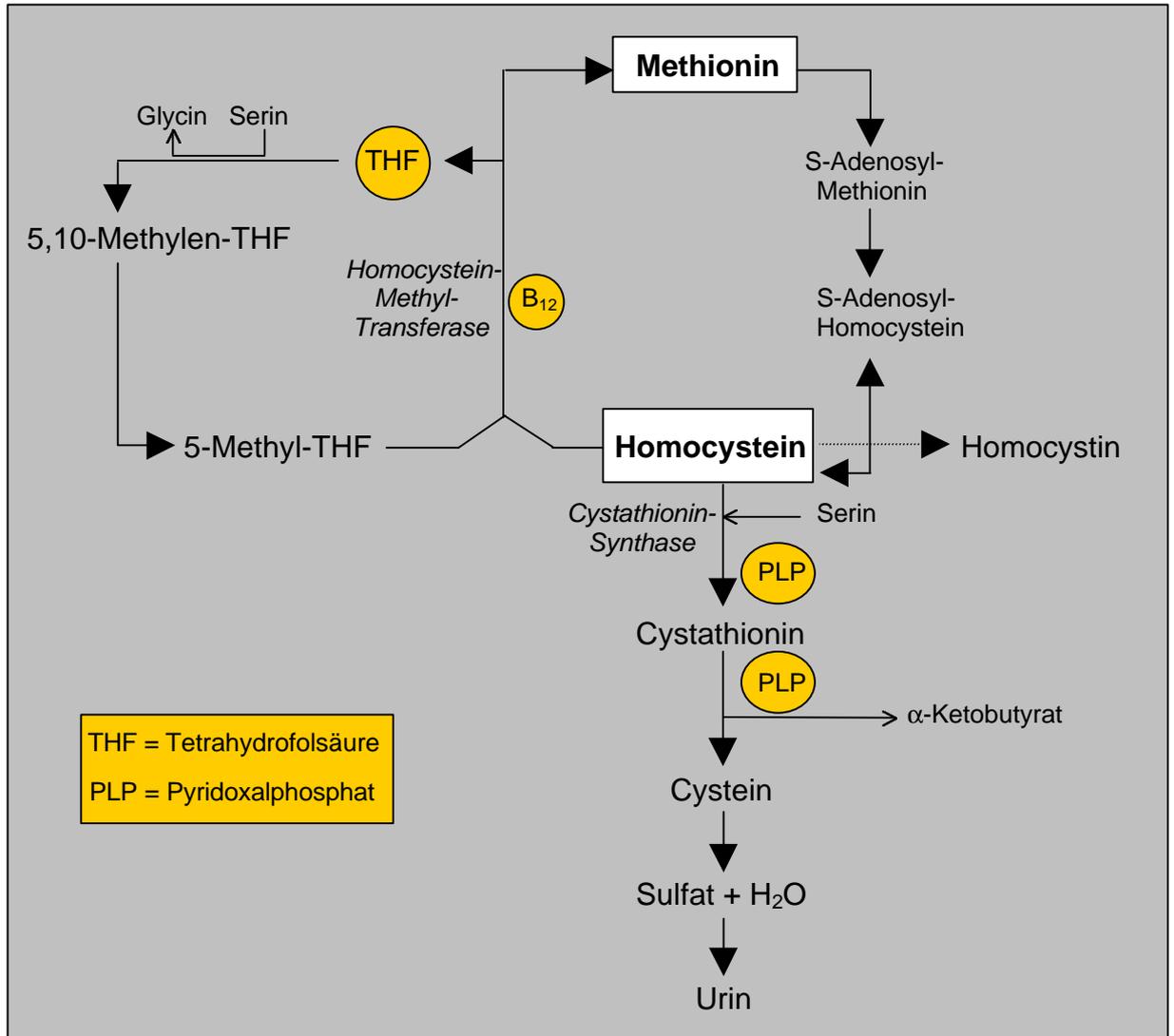


Abbildung 4: Homocystein-Stoffwechsel [modifiziert nach Brönstrup und Pietrzik 1996 sowie Mayer et al. 1996]

### 2.3.4.3 Wirkungen und Empfehlungen

Eine eigenständige physiologische Funktion von Homocystein ist nicht bekannt [Selhub und Miller 1992]. Die Aminosäure erhöht vielmehr -unabhängig von anderen Einflussfaktoren wie Rauchen oder Hypertonie – das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen [Boushey et al. 1995, Brönstrup und Pietrzik 1996, Scott und Weir 1996, Hankey und Eikelboom 1999]. So haben unbehandelte Störungen im Homocystein-Stoffwechsel neben anderen Komplikationen frühzeitige arteriosklerotische Veränderungen der Gefäßwand zur Folge [Amessen et al. 1995, Boushey et al. 1995, Malinow 1996, Matthias et al. 1996, Welch und Loscalzo 1998, Ward 2001]. Verschiedenen Untersuchungen zufolge steigt das Risiko für Arteriosklerose und koronare Herzerkrankungen (KHK) bereits bei leicht erhöhten Homocysteinspiegeln [Boushey et al.

1995, Pietrzik 2001]. Allerdings existieren derzeit noch keine genauen Erkenntnisse über die exakten proarteriosklerotischen Wirkmechanismen des Homocysteins. Nach aktueller Ansicht scheint es auf mehreren Ebenen in die primären Prozesse der Atherogenese einzugreifen. So wirkt es zytotoxisch auf Endothelzellen, trägt zu deren Dysfunktion bei und induziert arteriosklerotische Zellproliferationen [Brönstrup und Pietrzik 1996]. Zudem kann Homocystein über seine endständige Thiolgruppe (SH-Gruppe) mit einigen Metallionen (z. B. Eisen, Kupfer) innerhalb der Arterienwand freie Thiol- oder Sauerstoffradikale bilden. Diese führen zu einer oxidativen Modifizierung der LDL-Lipoproteine sowie zu deren vermehrter Aufnahme in Makrophagen im subendothelialen Raum [Brönstrup und Pietrzik 1996]. Als weitere Folge eines hohen Homocystein-Spiegels wird eine verstärkte Thromboseneigung diskutiert [den Heijer et al. 1995 und 1996, Wahrburg und Assmann 1999b].

Personen mit einem Homocysteinspiegel über  $12 \mu\text{mol/L}$ <sup>7</sup> wird von nationalen Ernährungsgremien eine vermehrte Zufuhr von folsäurereichem Gemüse und Obst empfohlen. So führt eine Folsäurezufuhr von  $400 \mu\text{g}$  pro Tag - die im Rahmen einer vollwertigen Kost mit viel Gemüse, Obst und Vollkornprodukten durchaus erreichbar ist - zu einem deutlichen Absinken des Homocystein-Spiegels [Wahrburg und Assmann 1999].

## **2.4 Verwendung von Biomarkern in der Praxis: Anforderungen und Probleme**

Der Einsatz von Biomarkern in epidemiologischen Studien ist mit vielen Vorteilen verbunden (z. B. geringer Kostenaufwand, Zeitersparnis). Allerdings ergeben sich aus ihrer Verwendung bestimmte Anforderungen und diverse Schwierigkeiten, die im Folgenden näher beleuchtet werden sollen.

### **2.4.1 Grundsätzliche Erwägungen**

Ein Grundproblem beim Arbeiten mit Biomarkern betrifft deren Bestimmung. So muss zunächst geklärt werden, in welchem Medium der ausgewählte Marker mit welcher

---

<sup>7</sup> Einige Autoren diskutieren derzeit, ob im Rahmen der Prävention von KHK nicht eher Homocysteinspiegel unter  $10 \mu\text{mol/L}$  [Gerhard und Duell 1999] bzw. sogar unter  $8 \mu\text{mol/L}$  [Bayer et al. 1997] anzustreben sind.

analytischen Methode und unter welchen Bedingungen gemessen werden kann. Aus Praktikabilitäts- und Kostengründen sollte er durch nicht- oder nur minimal-invasive Methoden aus leicht zugänglichem Probenmaterial (z. B. Blut oder Urin) zu gewinnen und außerdem kostengünstig zu messen sein [Oltersdorf 1995, S. 199; Bates et al. 1997, S. 171]. Darüber hinaus muss klar definiert und standardisiert sein, wie die Proben weiter zu verarbeiten bzw. ob und wie sie ggf. zu stabilisieren sind. Wichtig ist zudem das Timing und die Technik der Blutabnahmen, die Aufbewahrung, der Transport sowie die Qualität der Laboranalysen [Oltersdorf 1995, S. 200 ff., González 1997, Wild et al. 2001].

Um Nutzen und Risiken - beispielsweise von bestimmten Nahrungsmitteln bzw. Nährstoffen - beurteilen oder Aussagen über ein bestimmtes Ernährungsmuster treffen zu können, sind Markersubstanzen erforderlich, die eine sensitive und spezifische Messung erlauben [Nelson 1998, Crews et al. 2001]. Sie müssen allerdings nicht nur analytisch gut erfassbar, sondern darüber hinaus auch zuverlässig, valide und reproduzierbar sein [Benzie 1999, Greenhalgh 2000]. Substanzen, die als Biomarker Verwendung finden, sollen zudem „robust“ und chemisch stabil sein [Burri et al. 2000]. Das Ideal würde ein sich selbst entwickelnder Teststreifen („*dip and read*“) darstellen, wie er beispielsweise vom Diabetes-Screening nach Harnzucker bekannt ist [Oltersdorf 1995, S. 199].

Wichtig ist es zu berücksichtigen, dass die verschiedenen Parameter eine unterschiedliche Aussagekraft aufweisen. So repräsentieren einige Meßgrößen (z. B. Folsäuregehalt im Plasma) eher die unmittelbar vorangegangene Nährstoffaufnahme, während andere die langfristige Nährstoffversorgung widerspiegeln (z. B. Folsäuregehalt der Erythrozyten). Beides kann je nach Fragestellung erwünscht oder unerwünscht sein. Soll ein Biomarker zur Validierung einer kurzfristigen Ernährungserhebungsmethode eingesetzt werden, ist es günstig, wenn er die unmittelbar vorangegangene Nährstoffzufuhr charakterisiert. Soll dagegen eine Aussage über die langfristige Nährstoffversorgung getroffen werden, ist die direkte Abhängigkeit von der vorangegangenen Nährstoffzufuhr ungünstig [Schneider 1997, Bates et al. 1997, S. 171]. Zudem muss eine „Dosis-Wirkungs-Beziehung“, d. h. ein quantitativer Zusammenhang zwischen dem Spiegel eines Markers und der ihn beeinflussenden Ursache bestehen [Benzie 1999]. Selbst wenn eine derartige Beziehung grundsätzlich gegeben ist, sind in der Praxis Schwierigkeiten zu erwarten. Viele Einflussgrößen weisen (bei scheinbar konstanter „Dosis“) eine hohe biologische Variabilität auf und führen schon dadurch zu stark schwankenden „Wirkungen“. So ist bei der Ermittlung von Beziehungen zwischen dem Lebensmittelkonsum und einem potenziellen Biomarker zu beachten, dass kein Inhaltsstoff in gleichbleibenden Konzentrationen in Lebensmitteln vorkommt und die Gehalte in Abhängigkeit von z. B. Sorte, Bodenverhältnissen, Klima, Anbaubedingungen,

Erntezeitpunkt, Nachreifeverhalten, Lagerung, Verarbeitung und Zubereitung schwanken. Alleine hierdurch kann die Aufnahme möglicher Markersubstanzen oder von Faktoren, welche die Konzentration von Markern beeinflussen, variieren. Schwankungen ergeben sich darüber hinaus beispielsweise je nach Tageszeit sowie an unterschiedlichen Wochentagen und Jahreszeiten [Bates et al. 1997, S. 182].

Außerdem müssen Messvarianz und biologische Varianz bekannt sein, da der potenzielle Marker sonst in der Praxis nicht einsetzbar ist. Nicht als Marker geeignet sind zudem Substanzen, deren Konzentration ausgeprägten Homöostasemechanismen unterliegt und die deshalb in einem engen Bereich konstant gehalten werden. Dies trifft beispielsweise auf Plasmakonzentrationen von bestimmten Mineralstoffen (z. B. Natrium, Magnesium, Calcium) und einigen Vitaminen (z. B. Retinol) zu.

#### 2.4.2 Mögliche Fehlinterpretationen durch Einfluss- und Störgrößen

Der Einsatz von Biomarkern kann zu vielfältigen Fehlinterpretationen führen. So soll ein Biomarker im Idealfall ausschließlich in direkter Beziehung zu *einem* Expositionsfaktor stehen. Im Fall von Biomarkern des Obst- und Gemüsekonsums hieße dies, dass die potenzielle Markersubstanz ausschließlich in Beziehung zum Konsum dieser Lebensmittel steht. Allerdings findet sich in nahezu allen Untersuchungen und Studienansätzen keine solche unmittelbare und ausschließliche kausale Beziehung. Werden Exposition (z. B. das Ernährungsmuster) und Zielgröße (= *Outcome*) betrachtet (z. B. Blutspiegel einer Markersubstanz), so sind die dabei beobachteten Zusammenhänge nicht per se kausal. Sie können vielmehr durch unbekannte Einflussfaktoren (Störgrößen) überlagert und dadurch verfälscht werden (siehe Abbildung 5). Dabei ist es möglich, dass tatsächlich vorhandene Zusammenhänge nicht wahrgenommen werden [Schneider 1997, S. 226].

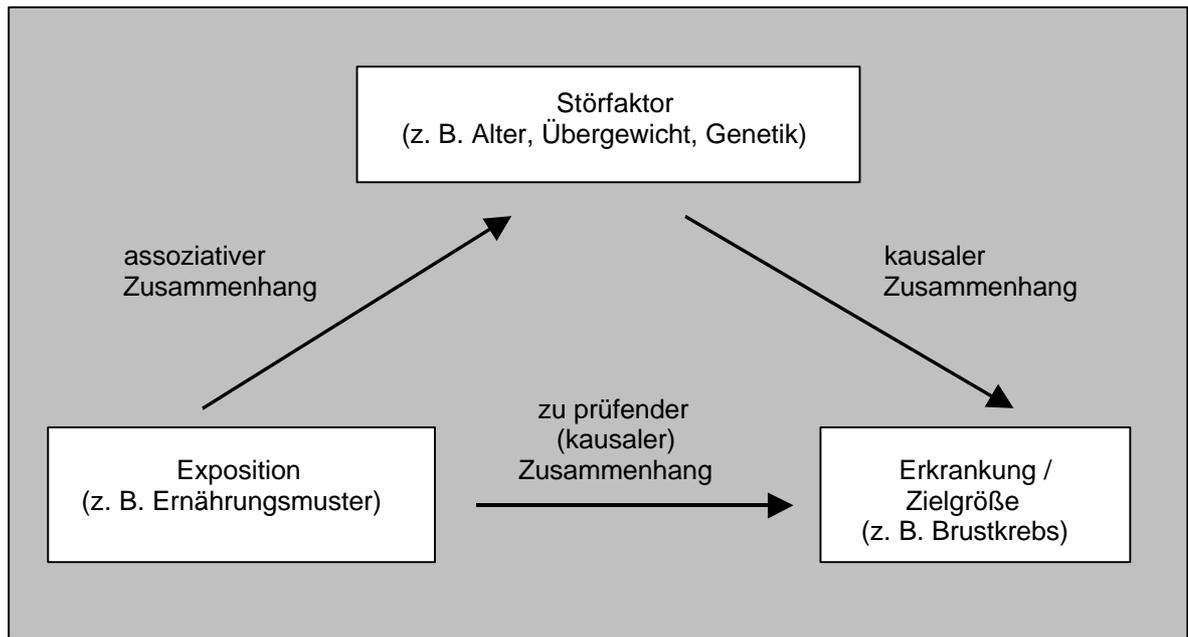


Abbildung 5: Exposition, Störfaktor und Erkrankung [modifiziert nach Schneider 1997, S. 227]

Mögliche Einfluss- und Störgrößen können vielfältiger Natur sein; sie sind in ihrer Gesamtheit nicht erfassbar. Bei konstanter Ernährung sind beispielsweise nicht nur die Reaktionen verschiedener Individuen auf einen bestimmten Expositionsfaktor unterschiedlich (interindividuelle Schwankungen, *between-subjects variations*), sondern selbst innerhalb derselben Personen sind Variationen zu verzeichnen (intraindividuelle Schwankungen, *within-subjects variations*)<sup>8</sup> [Dimitrov et al. 1986, Zeng et al. 1992, Yong et al. 1994, Rock et al. 1997]. Ursachen für solche Unterschiede sind u. a. in physiologischen Faktoren (wie z. B. die individuelle Absorptionsgeschwindigkeit, Gewebeverteilung und –sättigung, Turnover, Absorption, Exkretion) und im Vorliegen von Erkrankungen zu suchen [Bates et al. 1997, S. 183]. Auch Lebensstil-Faktoren (z. B. der Konsum von Alkohol, Tabak) stellen eine Ursache für Variationen dar [Brady et al. 1996]. Hinzu kommt, dass die Nährstoffe sowohl untereinander als auch mit Enzymen, Bindungsproteinen und anderen Substanzen interagieren [Micozzi 1993, Bates et al. 1997, S. 183]. Weiterhin beeinflussen viele Substanzen, v. a. Xenobiotika, Absorption, Verteilung und/ oder Metabolismus von Nährstoffen auf unterschiedliche Weise [Bates

<sup>8</sup> Erschwert werden derartige Untersuchungen zudem durch die Anwesenheit von Non-Respondern. So beobachteten Johnson und Rusell [1992] nach Verabreichung einer einzelnen Beta-Carotin-Dosis von 120 mg, dass nur bei vier von 11 Probanden überhaupt veränderte Plasmaspiegel an dieser Substanz zu finden waren.

et al. 1997, S. 183]. Daneben haben Alter, physiologischer Status (z. B. Schwangerschaft, Stillzeit), BMI und Geschlecht nicht nur einen Einfluss auf den Nährstoffbedarf, sondern auch Auswirkungen auf die Verteilung in den Körperkompartimenten. Hieraus resultieren stark schwankende Spiegel an biochemischen Parametern, wie Tabelle 11 am Beispiel der extrem variierenden Plasmaspiegel ausgewählter Carotinoide zeigt.

*Tabelle 11: Konzentrationen ausgewählter Carotinoide im menschlichen Serum  
[modifiziert nach Papas 1999, S. 137]*

Carotinoid	Serumgehalt ( $\mu\text{mol/L}$ )
Lycopin	0,13 – 0,82
$\beta$ -Carotin	0,09 – 0,91
Lutein	0,16 – 0,72
$\beta$ -Cryptoxanthin	0,05 – 0,38
$\alpha$ -Carotin	0,02 – 0,22

Im Hinblick auf die Zusammenhänge zwischen dem Obst- bzw. Gemüseverzehr und den Blutspiegeln der Biomarker finden sich zahlreiche weitere Einflussfaktoren, die als Confounder wirken können. Eine Auswahl der *bekannt* Einflussgrößen ist in Tabelle 12 zusammengefasst. Viele davon sind allerdings nicht quantifizierbar, so beispielsweise Effekte durch genetische Einflüsse oder Umwelt-Faktoren.

*Tabelle 12: Potenzielle Einflussfaktoren auf die Biomarker des Obst- und Gemüsekonsums (Auswahl)*

• Genetik	• Umweltfaktoren
• intraindividuelle Schwankungen	• saisonale Schwankungen
• Nahrungsergänzungsmittel	• Interaktionen der Marker
• Geschlechtszugehörigkeit	• Alter
• Alkoholkonsum	• Tabakkonsum
• Gesamtenergiezufuhr	• BMI / Körpergewicht
• Blutlipide/ Cholesterolspiegel	• Fettzufuhr
• Erkrankungen	• Medikamente
• Schulbildung	• sportliche Aktivität
• Lebensmittel-Zubereitung	• Ballaststoff-Aufnahme

Im Folgenden sollen die wichtigsten „erfassbaren“ Faktoren kurz erläutert werden. Eine detaillierte Darstellung aller Aspekte würde den Rahmen dieser Arbeit bei weitem sprengen.

#### **2.4.2.1 Alter**

In vielen Studien [beispielsweise Brady et al. 1996, Neuhouser et al. 2001, El-Soheemy et al. 2002, Yeum und Russell 2002] konnten Zusammenhänge zwischen dem Alter und den Blutspiegeln von Markersubstanzen nachgewiesen werden. Dabei fanden sich je nach Substanz sowohl positive als auch inverse Korrelationen gefunden. So konnten Joosten et al. [1993], Brattström et al. [1994], Brattström et al. [1994], Selhub et al. [1995] und Christodoulakos et al. [2001] z. B. einen positiven Zusammenhang zwischen dem Alter und den Homocystein-Blutwerten nachweisen, während Tucker et al. [1996] eine negative Korrelation zwischen dem Alter und den Folsäurespiegeln fanden. Untersuchungen von Herberg et al. [1994] und Winklhofer-Roob et al. [1997] ergaben, dass das Alter auch einen signifikanten Einfluss auf die Plasmakonzentration der Carotinoide hat. Sie fanden - mit Ausnahme von  $\alpha$ -Carotin - einen linearen Anstieg der Carotinoide mit zunehmendem Alter (z. B. Anstieg von  $\beta$ -Carotin um 1,3 % pro Jahr). Demgegenüber war höheres Lebensalter in Studien von Brady et al. [1996] und Grolier et al. [2000] mit einem geringeren Lycopin-Plasmaspiegel assoziiert.

Darüber hinaus gibt es auch Studien, die keine Korrelationen zwischen dem Alter und den Blutspiegeln der betrachteten Markersubstanzen finden konnten. Dazu zählen beispielsweise Untersuchungen von Lussier-Cacan et al. [1996], die keine Korrelationen zwischen dem Alter und den Homocysteinwerten ergaben. Hesecker et al. [1994b, S. 80 und 94] konnten auch für Folsäure keine altersspezifischen Unterschiede ermitteln. Sie fanden lediglich bei den Vitamin C-Spiegeln von Männern einen inversen Zusammenhang mit dem Alter, der jedoch von Benzie et al. [1998] nicht bestätigt werden konnte.

#### **2.4.2.2 Geschlecht und Rasse**

Verschiedene Studien konnten einen Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und den Blutspiegeln der ausgewählten Markersubstanzen nachweisen. So beobachteten Olmedilla et al. [1994], Brady et al. [1996] und El-Soheemy et al. [2002] bei Frauen höhere Blutspiegel an Provitamin A-Carotinoiden ( $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin) als bei Männern. In vielfältigen Untersuchungen konnten bei Männern zudem signifikant höhere Homocystein-Plasmaspiegel als bei Frauen beobachtet werden [beispielsweise bei Rauh et al. 2001]. Auch für Vitamin C ergaben sich z. T. geschlechtsspezifische Unterschiede

[z. B. bei Itoh et al. 1998, Palli et al. 1999 und Bingham et al. 2001]. So fanden Hesecker et al. [1994b] bei Frauen um durchschnittlich 20 % höhere Vitamin C-Plasmakonzentrationen [S. 94] und um 40 % höhere  $\beta$ -Carotin-Spiegel [S. 26] als bei Männern. Für Folsäure konnten die Autoren dagegen keinen Geschlechtsunterschied nachweisen [Hesecker et al. 1994b, S. 80]. Andere Untersuchungen, beispielsweise von Winklhofer-Roob et al. [1997], konnten ebenfalls keine geschlechtsspezifischen Unterschiede zwischen den Plasmakonzentrationen der ausgewählten Markersubstanzen beobachten.

Einige Studien zeigten, dass auch die Rasse einen Einfluss auf den Gehalt der Markersubstanzen im Blut hat. So berichteten z. B. Gerhard et al. [1999] von höheren Plasma-Homocysteinspiegel und geringeren Plasma-Folsäurekonzentrationen bei farbigen im Vergleich zu weißen Frauen. Ungeklärt ist allerdings, ob diese Unterschiede auf die Rasse oder abweichende Ernährungs- und Lebensweisen zurückzuführen sind. Auch bei Carotinoiden, insbesondere bei  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, wurden je nach Rassen-Zugehörigkeit unterschiedliche Plasmaspiegel beobachtet [Adams-Campbell et al. 1992, Slatterly et al. 1995, Neuhouser et al. 2001].

#### **2.4.2.3 Body Mass Index (BMI)**

Vielfach ergaben sich Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen den Blutspiegeln der ausgewählten Markersubstanzen und dem Körpergewicht sowie insbesondere dem BMI<sup>9</sup>. So fanden Brady et al. [1996], Yeum et al. [1998], Neuhouser et al. [2001], Reitman et al. [2002] und Ford et al. [2002] inverse Korrelationen zwischen den Serumkonzentrationen verschiedener Carotinoide (v. a.  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Zeaxanthin) und dem BMI. Insbesondere  $\beta$ -Carotin war in vielen Untersuchungen negativ mit dem BMI assoziiert [Scott et al. 1996, Drewnowski et al. 1997, Palli et al. 1999, Wallstrom et al. 2001]. Sinha et al. [1992] und Block et al. [1999] berichteten zudem über signifikant inverse Korrelationen zwischen dem Körpergewicht und den Plasmakonzentrationen an Vitamin C. Dieser Sachverhalt konnte in einer Studie von Lee et al. [2001] mit Dialyse-Patienten allerdings nicht bestätigt werden.

---

<sup>9</sup> Der BMI ergibt sich als Quotient der Körpermasse [kg] und der Körpergröße [m<sup>2</sup>] und korreliert gut mit dem Körperfettanteil. Nach der Definition von Wirth [1998] spricht man bei einem BMI < 20,0 von Untergewicht, bei einem Wert von 20,0-24,9 von Normalgewicht, bei einem BMI von 25,0-29,9 von Übergewicht, bei Werten > 30,0 von Adipositas und bei einem BMI > 40,0 von morbidem Adipositas.

#### **2.4.2.4 Cholesterolspiegel**

Korrelationen zwischen bestimmten Markersubstanzen und dem Cholesterolspiegel wurden wiederholt gefunden. Beispielsweise konnten signifikant positive Zusammenhänge zwischen der Höhe des Cholesterolspiegels und den Konzentrationen der Carotinoide im Blut [Winklhofer-Roob et al. 1997, Gross et al. 2003] bzw. dem  $\beta$ -Carotin-Spiegel [Slattery et al. 1995, Wallstrom et al. 2001] beobachtet werden. Weiterhin fanden Itoh et al. [1990], Jacques et al. [1994], Slattery et al. [1995] und Hallfrisch et al. [1994] eine positive Assoziation zwischen den Vitamin C-Spiegeln im Plasma und den Blutspiegeln an HDL- sowie HDL<sub>2</sub>-Cholesterol. Demgegenüber zeigten Untersuchungsergebnisse von Ness et al. [1996], dass der Vitamin C-Spiegel im Plasma von Männern und Frauen weder mit dem Gesamt-Cholesterolspiegel noch mit dem LDL-Spiegel im Serum korreliert.

#### **2.4.2.5 Alkoholkonsum**

Auch ein Zusammenhang zwischen dem Konsum von Alkohol mit den Blutspiegeln der ausgewählten Markersubstanzen wurde beobachtet. So war ein medianer Alkoholkonsum von mehr als 12,9 g Alkohol pro Tag in einer Studie des amerikanischen National Cancer Institute mit um 10 – 38 % verminderten Carotinoidspiegeln (besonders  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie  $\beta$ -Cryptoxanthin) verbunden [Albanes et al. 1997]. Auch andere Autoren fanden inverse Zusammenhänge zwischen den Serumkonzentrationen einzelner Carotinoide, v. a.  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein sowie Zeaxanthin, und dem Konsum von Alkohol [Heseker et al. 1994b, S. 33, Brady et al. 1996, Tsubono et al. 1996, Drewnowski et al. 1997, Kitamura et al. 1997 und Palli et al. 1999]. Darüber hinaus scheint Alkohol auch den Homocystein-Spiegel zu beeinflussen. So fanden de Bree et al. [2001] eine inverse Korrelation zwischen dem Konsum von alkoholischen Getränken und dem Homocystein-Plasmaspiegel. Auf die Blutspiegel an Folsäure und Vitamin C scheint Alkohol dagegen keinen nennenswerten Einfluss zu haben [Heseker et al. 1994b, S. 80 und 95].

Ob die Zusammenhänge zum Alkoholkonsum kausaler Natur sind oder ob vermehrter Alkoholkonsum nicht vielmehr als ein Indikator einer z. B. obst- und gemüsearmen Ernährung anzusehen ist, bleibt offen.

#### **2.4.2.6 Tabakkonsum**

In vielen Studien ergaben sich inverse Korrelation zwischen dem Konsum von Tabak und den Konzentrationen der ausgewählten Marker im Blut, insbesondere  $\beta$ -Carotin

[Bolton-Smith 1991, Heseke et al. 1994b; S. 33, Saintot et al. 1995, Drewnowski et al. 1997, Chopra et al. 2000, Wallstrom et al. 2001, Kelly 2002 sowie Dietrich et al. 2003]. Beispielsweise verzeichneten Ross et al. [1995], Brady et al. [1996] und Wei et al. [2001] bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern signifikant geringere Plasmakonzentrationen (16 – 40 %) an  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin sowie Lutein und Zeaxanthin. Ähnliche Ergebnisse fanden sich für Folsäure; hier stieg die Prävalenz niedriger Plasmaspiegel ebenfalls mit steigendem Zigarettenkonsum [Heseke et al. 1994b, S. 80]. Andere Autoren ermittelten zudem einen dosisabhängigen Zusammenhang zwischen Rauchen und dem Ascorbinsäurestatus [Faruque et al. 1995, Weber et al. 1996, Zondervan et al. 1996, Drewnowski et al. 1997, Wei et al. 2001, Hijova et al. 2002]. Eine Übersichtsarbeit von Alberg [2002] ergab beispielsweise, dass Tabakkonsum mit verminderten Vitamin C-Spiegeln und geringeren Plasmakonzentrationen an Provitamin A-Carotinoiden assoziiert ist. Dabei wiesen Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern durchschnittlich etwa 25 % niedrigere Konzentrationen an Vitamin C,  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin und  $\beta$ -Cryptoxanthin auf. Auch Heseke et al. [1994b, S. 95] verzeichneten bei Tabakkonsum deutlich verminderte Vitamin C-Plasma-Konzentrationen und ermittelten für Raucher einen um 40 % erhöhten Bedarf an dem Vitamin.

Neben den „aktiven Rauchern“ ergaben sich außerdem auch Hinweise für verminderte Ascorbinsäure- und Carotinoid-Spiegel bei „Passivrauchern“ [Farchi et al. 2001, Preston et al. 2003, Dietrich et al. 2003].

Wie beim Alkohol ist auch beim Tabakkonsum die Kausalität des Zusammenhangs nicht eindeutig. Eine erhöhte Bildung freier Radikale und damit ein gesteigerter Antioxidanzienbedarf ist dokumentiert; gleichzeitig ist aber auch bekannt, dass Rauchen als Indiz eines insgesamt ungünstigen Lebensstiles anzusehen ist.

#### **2.4.2.7 Jahreszeiten**

Die Blutspiegel der ausgewählten Markersubstanzen unterliegen auch jahreszeitlichen Effekten. So konnten beispielsweise für Ascorbinsäure saisonale Schwankungen verzeichnet werden, wenn auch nicht mehr so ausgeprägt wie in früheren Jahrzehnten [Heseke et al. 1994b; S. 94, Palli et al. 1999]. Olmedilla et al. [1994] beobachteten zudem jahreszeitliche Veränderungen bei einigen Carotinoiden. Dabei ergaben sich im Sommer die höchsten Plasmaspiegel an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, während der  $\beta$ -Cryptoxanthinspiegel sein Maximum im Winter hatte; für Zeaxanthin und Lycopin konnte kein Einfluss der Jahreszeiten erfasst werden. Andere Autoren berichteten, dass die Carotinoid-Plasma-Konzentrationen in Sommer und Herbst höher als in Winter und Frühling waren

[Rautalahti et al. 1993, Scott et al. 1996]. Während Cooney et al. [1995] und Forman et al. [1999] ebenfalls saisonale Schwankungen bei den Blutspiegeln ermittelten, konnten Winklhofer-Roob et al. [1997] keine derartigen Effekte verzeichnen. Auch Cantilena et al. [1992] fanden bei Plasmacarotinoiden - ebenso wie Heseke et al. [1994b, S. 80] bei Folsäure - keine jahreszeitlichen Schwankungen. Darüber hinaus konnten keine saisonalen Effekte auf den Homocystein-Spiegel nachgewiesen werden [McKinley et al. 2001].

#### **2.4.2.8 Interaktionen zwischen den Biomarkern**

Die Blutspiegel von Biomarkern werden auch durch Interaktionen untereinander beeinflusst [Castenmiller und West 1998, Crews et al. 2001, Yeum et al. 2002]. So konkurrieren beispielsweise die Carotinoide während der intestinalen Absorption untereinander; zudem beeinflussen sich ihr Metabolismus und ihre Clearance gegenseitig [Kostic et al. 1995]. Ein Beispiel für die Interaktionen im Rahmen der intestinalen Absorption ist die bei van den Berg [1998] beschriebene wechselseitige Konkurrenz zwischen  $\beta$ -Carotin und Lutein. Zudem konnten Johnson et al. [1997] zeigen, dass die kombinierte Aufnahme von  $\beta$ -Carotin und Lycopin in einer erhöhten Lycopin-Absorption resultiert, während andere Autoren synergistische Effekte zwischen  $\beta$ -Carotin und Vitamin C ermittelten [Böhm et al. 1998]. Darüber hinaus ergaben sich vielfach auch Beziehungen zwischen den Homocystein- und den Folsäurespiegeln. So fanden Silberberg et al. [1997] einen inversen Zusammenhang zwischen den Homocystein-Konzentrationen im Plasma und den Serum- sowie Erythrozytenspiegeln an Folsäure. Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen auch Selhub et al. [1996], Tucker et al. [1996], Pietrzik und Bronstrup [1998] und Rauh et al. [2001]. Dies erklärt sich biochemisch aus der in Kapitel 2.3.4.2 dargestellten Bedeutung von Folsäure für den Abbau von Homocystein.

#### **2.4.2.9 Erkrankungen und Medikamente**

Auch Erkrankungen (z. B. Diabetes mellitus, Infektionen, Krebs) und die Einnahme von Medikamenten haben einen Einfluss auf die Blutspiegel der ausgewählten Marker. Die Ursachen dafür sind vielfältiger Natur, beispielsweise ein gesteigerter Bedarf (z. B. durch einen insgesamt gesteigerten Nährstoffumsatz, vermehrten oxidativen Stress, erhöhte Ausscheidung oder verringerte Ausnutzung), Durchfall, Erbrechen, eine verminderte Nahrungsaufnahme auf Grund von Appetitlosigkeit und Aversionen gegen bestimmte Lebensmittel sowie eine verminderte Absorption. Auch Krankheitsprozesse, die den Intestinaltrakt, die Nieren oder die Leber betreffen, haben Auswirkungen auf die

Absorption, den Metabolismus und die Ausscheidung von Nährstoffen [Bates et al. 1997, S. 185].

Auf Grund der Vielzahl möglicher Erkrankungs- und Pharmaka-Einflüsse werden im Folgenden nur einige Beispiele herausgegriffen. So konnte in vielen Studien nachgewiesen werden, dass bei Morbus Crohn die Plasmakonzentrationen an Vitamin C, Folsäure und Carotinoiden vermindert sowie die Homocystein-Spiegel erhöht sind [Rumi et al. 2000, Chowers et al. 2000, Wendland et al. 2001, D’Odorico et al. 2001]. Auch bei Brustkrebs-Patientinnen wurden verminderte Vitamin C- und Carotinoid-Konzentrationen im Plasma beobachtet [Ramaswamy und Krishnamoorthy 1996, Ito et al. 1999]. Bei Medikamenten konnte u. a. nachgewiesen werden, dass lipidsenkende Arzneistoffe die Serumkonzentrationen der Carotinoide vermindern [Elinder et al. 1995]. Weiterhin wurde ein inverser Zusammenhang zwischen der Einnahme von Oralen Kontrazeptiva und dem Ascorbinsäure-,  $\beta$ -Carotin- sowie Folsäure-Spiegel im Blut festgestellt [Steegers-Theunissen et al. 1993, Hercberg et al. 1994, McCully 1996, Berg et al. 1997, Green et al. 1998, Kuo et al. 2002]. In einer Übersichtsarbeit von Hahn [1994] zur Wirkung von Pharmaka auf Nährstoffe werden weitere Arzneistoffe mit einem Einfluss auf den Folsäurespiegel beschrieben (z. B. Antazida, Antikonvulsiva, Salicylate und Methotrexat).

#### **2.4.2.10 Sport , Menstruationszyklus und Menopausenstatus**

Zum Einfluss von sportlicher Aktivität, Menstruationszyklus und Menopausenstatus auf die Blutspiegel der ausgewählten Markersubstanzen liegen zum Teil widersprüchliche Ergebnisse vor. So fanden De Cree et al. [1999] nach sportlicher Aktivität beispielsweise signifikant erhöhte Homocystein-Spiegel, während Nygard et al. [1995] bei den Teilnehmern der „*Hordaland Homocystein Study*“ eine inverse Beziehung zwischen den Homocystein-Plasma-Konzentrationen und der Schwere der körperlichen Anstrengung beobachteten. Evelson et al. [2002] berichteten bei Rugby-Spielern von erhöhten Ascorbinsäure-Plasma-Konzentrationen und auch Brites et al. [1999] verzeichneten bei Fußball-Spielern signifikant erhöhte Blutwerte des Vitamins<sup>10</sup>. Demgegenüber ermittelten Koz et al. [1992] bei Schwimmern verminderte Ascorbinsäure-Plasma-Spiegel und in Studien von Liu et al. [1999] sowie Frank et al. [2000] blieben die Blutwerte des Vitamins bei starker sportlicher Betätigung (Marathonlauf) auf unverändertem Niveau.

---

<sup>10</sup> Jeweils im Vergleich zu Kontrollgruppen.

Einige Untersuchungen zeigten zudem einen Zusammenhang zwischen dem Menstruationszyklus und dem Homocysteinspiegel. So berichten Tallova et al. [1999] und De Cree et al. [1999] von einem signifikanten Anstieg des Homocystein-Spiegels von der Luteal- zur Follikel-Phase. Viele Studienergebnisse sprechen zudem für eine signifikante Korrelation zwischen dem Menopausenstatus und den Homocystein-Plasma-Konzentrationen. So fanden Wouters et al. [1995], Hak et al. [2000], Christodoulakos et al. [2001] und Fernandez-Miranda et al. [2001] bei postmenopausalen Frauen signifikant höhere Plasma-Homocystein-Konzentrationen als bei premenopausalen Frauen.

#### **2.4.2.11 Lebensmittelmatrix und -zubereitung**

In vielen Untersuchungen konnte ein Zusammenhang zwischen der Lebensmittelmatrix bzw. -zubereitung und den Blutspiegeln von Markersubstanzen festgestellt werden (siehe Abbildung 6) [Boileau et al. 1999]. Die Ergebnisse waren allerdings uneinheitlich. So beobachteten van het Hof et al. [1999c], dass sich die Bioverfügbarkeit von Folsäure und Lutein aus Spinat mit zunehmendem Zerkleinerungsgrad erhöht, während sich für  $\beta$ -Carotin kein Einfluss ergab. Andere Autoren ermittelten demgegenüber eine erhöhte Bioverfügbarkeit von  $\beta$ -Carotin und Folsäure aus zerkleinertem Spinat, fanden jedoch keine Auswirkungen auf die Bioverfügbarkeit von Lutein [Castenmiller et al. 1999 und 2000].

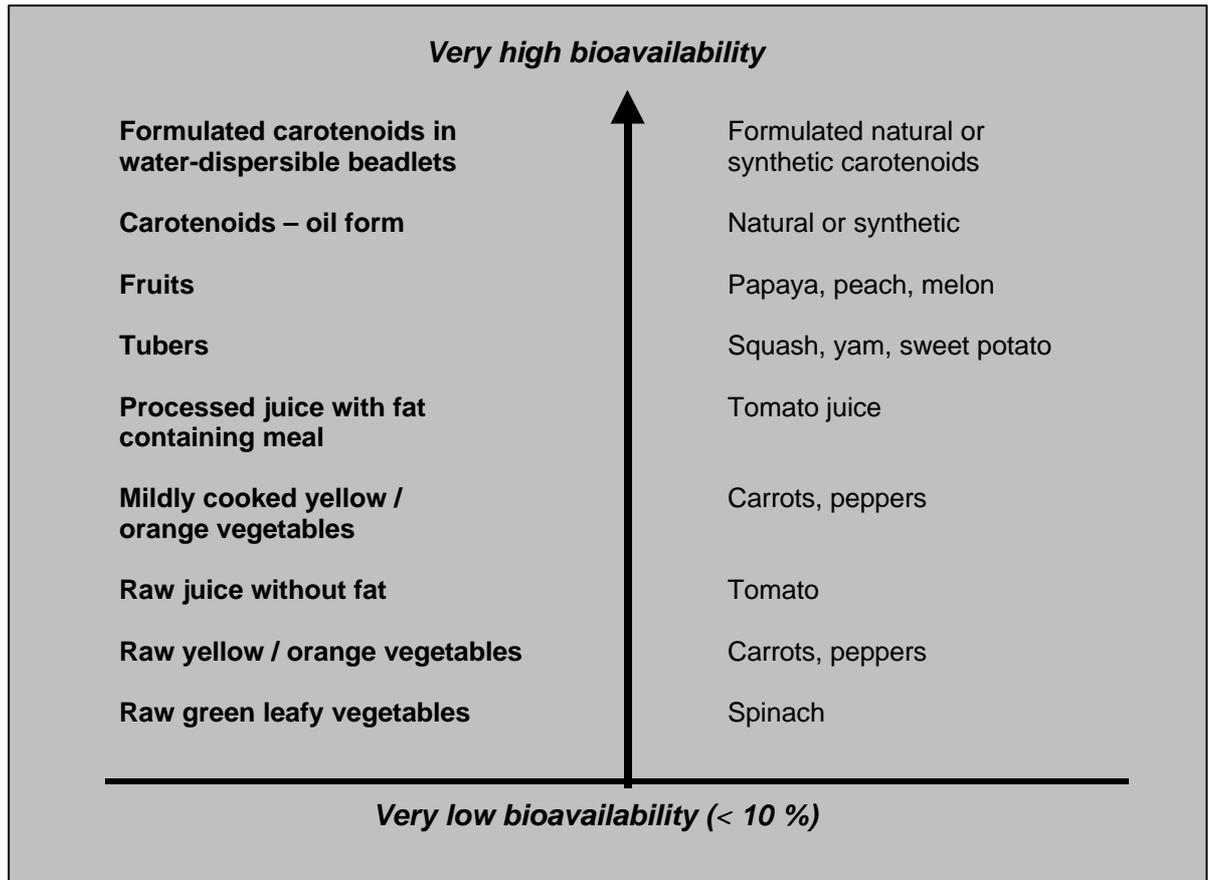


Abbildung 6: Effekte der Lebensmittelmatrix und der Zubereitung auf die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden [nach Papas 1999, S. 143]

Nach Studien von Gärtner et al. [1997], van het Hof et al. [2000a und 2000b] und Hedren et al. [2002] kann die Lebensmittelverarbeitung und -zubereitung, beispielsweise durch mechanisches Homogenisieren oder Hitzebehandlung, zu einer Erhöhung der Bioverfügbarkeit von Carotinoiden aus Gemüse führen. So war u. a. die Bioverfügbarkeit von Lycopin aus erhitztem Tomatensaft höher als aus unerhitztem [Stahl und Sies 1992, Shi und Le Maguer 2000, van het Hof et al. 2000b]. Auch andere Carotinoide (v. a.  $\beta$ -Carotin) wurden durch kurzes Dünsten oder Kochen besser verfügbar, beispielsweise aus Spinat oder Karotten [van Zeben und Hendriks 1948, Dietz et al. 1988, Törrönen et al. 1996, Rock et al. 1998, Edwards et al. 2002]. Daneben war Ascorbinsäure ebenfalls besser aus gekochtem Brokkoli als aus rohem verfügbar [Mangels et al. [1993b] und  $\alpha$ -Carotin sowie Lutein besser aus Säften als aus rohem oder gekochtem Gemüse [McEligot et al. 1999b].

Bei der Zubereitung kann der Gehalt potenzieller Markersubstanzen allerdings nicht nur erhöht, sondern auch deutlich vermindert werden (insbesondere durch lange Kochzeiten und hohe Temperaturen). So ergab eine Studie von Yadav und Sehgal [1995], dass beim

Kochen von Spinat der Vitamin C-Gehalt um 90 % und der  $\beta$ -Carotin-Gehalt um 50 % vermindert wird. Andere Autoren fanden beim Kochen von Spinat Folsäureverluste von 51 % und beim Kochen von Broccoli Verluste von 56 % [McKillop et al. 2002].

#### **2.4.2.12 Andere alimentäre Faktoren**

Eine Vielzahl anderer Nahrungsinhaltsstoffe kann einen Einfluss auf die Blutspiegel der ausgewählten Markersubstanzen haben. Dies wurde in Kapitel 2.3.1.2 bereits für die Bioverfügbarkeit der Carotinoide in Abhängigkeit von der alimentären Fettzufuhr dargestellt. Weitere derartige Beziehungen sind in großer Zahl denkbar und im Einzelfall erst ansatzweise bekannt. Häufiger wurde z. B. von einem Zusammenhang zwischen der Ballaststoffzufuhr und der Carotinoid-Bioverfügbarkeit berichtet, wenn auch teilweise uneinheitlich. So ermittelten Wallstrom et al. [2001] eine positive Assoziation zwischen dem  $\beta$ -Carotinspiegel im Plasma und der Ballaststoffaufnahme, während andere Autoren zu dem Ergebnis kamen, dass die  $\beta$ -Carotin-Plasmakonzentrationen durch verschiedene wasserlösliche Ballaststoffe (Pektin, Guar und Alginat) signifikant gesenkt werden [Rock und Swendseid 1992, Riedl et al. 1999, van het Hof et al. 2000a].

### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Untersuchungen stellen einen methodischen Teilaspekt der Heidelberger BIKEI-Studie (Biomarker-kontrollierte Ernährungs-Interventions-Studie) dar. Diese wurde vom April bis Oktober 2001 an der Universitäts-Frauenklinik Heidelberg, Abt. 4.2 Ambulanz für Naturheilkunde, unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Ingrid Gerhard durchgeführt. Im diesem Kapitel soll das Gesamtkonzept der Studie (Ziele, Studiendesign, Studienablauf, Material und Methoden) kurz erläutert werden.

#### 3.1 Ziele

Im Rahmen der BIKEI-Studie wurde der Fragestellung nachgegangen, ob anamnestisch gesunde Frauen durch eine intensive individuelle Ernährungsberatung (systemischer Beratungsansatz) ihren Gemüse- und Obstkonsum meßbar erhöhen. Angestrebt wurden dabei die im Rahmen der "5-a-day-Kampagne" von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE), dem Bundesministerium für Gesundheit sowie verschiedenen Krebsgesellschaften und Krankenkassen ausgesprochene Empfehlung von 5 Portionen Obst und Gemüse pro Tag<sup>11</sup>.

Ziel der hier vorliegenden eigenen Untersuchungen war es, zu prüfen, ob ausgewählte Substanzen aus Obst und Gemüse geeignet sind, um als im Blut messbare Biomarker eine Aussage über die Höhe des Obst- und Gemüsekonsums bzw. den Ernährungsstatus von anamnestisch gesunden Frauen zu treffen. Dazu wurden in erster Linie solche Substanzen untersucht, die entsprechend ihrer botanischen Familienzugehörigkeit in bestimmten Obst- und Gemüsearten vorkommen, während sie in Produkten tierischer Herkunft nicht oder nur marginal enthalten sind.

Das langfristige Ziel bestand in dem Versuch, funktionelle Markersubstanzen für eine „gesunde“ Ernährungsweise zu evaluieren, die im Rahmen von ärztlichen Routineuntersuchungen – analog der Bestimmung von z. B. glycosyliertem Hämoglobin (HbA<sub>1c</sub>) bei Typ II Diabetikern – zum Einsatz kommen können. Dies ist insofern von Interesse, als spezielle Faktoren in Körperflüssigkeiten und -geweben objektivere und

---

<sup>11</sup> Die Intervention mittels eines systemischen Beratungsansatzes und die dabei erzielten Ergebnisse sind Gegenstand der Dissertation von Heike Bückle [Bückle 2003, in Vorbereitung].

damit relevantere Aussagen zum Verzehr von Obst und Gemüse liefern können als subjektive Einschätzungen im Rahmen von Befragungen. Gleichzeitig wird durch die Messung der (potenziellen) Markersubstanzen die tatsächliche interne Exposition, z. B. von aufgenommenen Antioxidantien, erfasst und nicht nur die zugeführte Menge.

### 3.2 Studiendesign

Die Untersuchung wurde als monozentrische, randomisierte und prospektive Studie im Wartegruppendesign nach den in den „*Good clinical practices*“ (GCP) festgelegten Qualitätskriterien für klinische Studien konzipiert und durchgeführt („Leitlinie zur guten klinischen Praxis“: CPMP/ICH/135/95) [RiliBÄK 1988].

Die Studiendauer betrug für jede Probandin sechs Monate. Dabei wurden mit Hilfe von selbst auszufüllenden Fragebögen neben anthropometrischen und sozio-ökonomischen Angaben vor allem Daten zum Lebensmittelverzehr, zu den Ernährungsgewohnheiten sowie zum Gesundheitsstatus erhoben (siehe Kapitel 3.3.5). Während der gesamten Studiendauer bestand die Möglichkeit, bei Problemen/ Fragen telefonisch oder persönlich die für die Beratung zuständige Dipl.-Ökotrophologin zu kontaktieren.

Die hier vorliegende Arbeit beschäftigt sich nicht mit der Effizienz der Ernährungsberatungs-Maßnahmen, d. h. der Intervention, sondern geht einer grundlegenden methodischen Fragestellung nach. Um die Effektivität von Ernährungsberatungs-Maßnahmen in der Praxis zu evaluieren, scheinen Biomarker aus den in Kapitel 5 (siehe S. 123ff.) dargestellten Gründen besser geeignet als Ernährungsprotokolle. Diese Arbeit sollte somit die Voraussetzungen für die Verwendung von Biomarkern in einer Interventionsstudie schaffen. Aus diesem Grund wurden ausschließlich die Basisdaten vor der Intervention (Zeitpunkt T0) zur Auswertung herangezogen. Mit der Hintergründen und Abläufen der Ernährungsberatung nach dem systemischen Beratungsansatz sowie den Ergebnissen der Intervention befassen sich die Dissertationen von Heike Bückle und Ulrike Knust [in Vorbereitung].

### 3.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Um an der Studie teilnehmen zu können, mussten die Probandinnen folgende Einschlusskriterien erfüllen:

- Alter zwischen 25 und 55 Jahren,
- anamnestisch gesund,
- Wohnort im Rhein-Neckar-Kreis und Umgebung,
- ausreichende deutsche Sprachkenntnisse und
- schriftliche Zustimmung zur Studienteilnahme.

Dementsprechend gab es auch verschiedene Ausschlusskriterien, nach denen Frauen nicht an der Studie teilnehmen konnten:

- Einnahme von Nährstoffsupplementen (Vitamine und/ oder Mineralstoffe) in den letzten 8 Wochen vor Studienbeginn oder im Verlauf der Studie (mit Ausnahme von Magnesium- und Calciumpräparaten),
- Einnahme von Medikamenten, die den Vitamin- und Mineralstoffstatus gravierend beeinflussen können (z. B. Diuretika, Antikonvulsiva),
- Schwangerschaft,
- Stillzeit,
- schwerwiegende neurologische, psychiatrische oder internistische Erkrankungen (z. B. chronische gastrointestinale Erkrankungen, Diabetes mellitus, chronisch entzündliche bzw. kardiovaskuläre oder maligne Erkrankungen),
- diagnostizierte Essstörung (Anorexia nervosa, Bulimie) und/ oder
- bekannter Drogen- oder Alkoholabusus.

Unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien konnten von den insgesamt rund 180 Interessentinnen letztlich 85 in die Untersuchung einbezogen werden.

### 3.2.2 Rekrutierung der Probandinnen

Um geschlechtsspezifische Einflüsse auszuschließen und eine möglichst homogene Gruppe zu erhalten, wurden ausschließlich Frauen in die Untersuchung einbezogen. Die freiwilligen Probandinnen aus Heidelberg und dem Rhein-Neckar-Kreis wurden überwiegend mit Hilfe der Medien rekrutiert. So erschienen rund zwei Monate vor Studienbeginn diverse Anzeigen, Interviews und redaktionelle Berichte in regionalen Zeitungen, u.a. dem „Mannheimer Morgen“, der „Rhein-Neckar-Zeitung“, dem

„Odenwaldkurier“ und dem „Wochenkurier“. Darüber hinaus wurde die Studie mit Hilfe von Hörfunk und Regionalfernsehen bekannt gemacht sowie Aushänge und Flyer entworfen, die in der Volkshochschule, diversen Apotheken und Reformhäusern sowie in der Universitäts-Frauenklinik Heidelberg ausgehängt bzw. ausgelegt wurden.

Nach der telefonischen Kontaktaufnahme von interessierten Frauen sowie einer ersten Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Kapitel 3.2.1) wurden die Frauen zu einer Informationsveranstaltung in die Universitäts-Frauenklinik Heidelberg eingeladen. Im Rahmen dieser Veranstaltung, die am 13.04.2001 im Hörsaal der Frauenklinik stattfand, stellte die Studienleitung unter Vorsitz von Frau Prof. Dr. Ingrid Gerhard das Anliegen der Studie näher vor. Die interessierten Frauen wurden über das „5-a-day“-Programm der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) und über den geplanten Studienablauf informiert. Die Frauen hatten während und nach der Veranstaltung die Möglichkeit, sich in Listen einzutragen und so schriftlich ihr Interesse an einer Studienteilnahme zu bekunden. Die interessierten Frauen wurden daraufhin umgehend telefonisch kontaktiert und zu einem persönlichen Erstgespräch eingeladen. Im Rahmen dieses Gespräches wurden noch bestehende Fragen geklärt, die schriftlichen Einverständniserklärungen zur Studienteilnahme eingeholt sowie Termine für die erste Blutabnahme (16.-27. April 2001) festgelegt. Den Frauen wurden Fragebögen mitgegeben, welche sie zu diesem Termin mitbringen sollten; ebenso ein Becher für den Spot-Urin des Blutabnahme-Tages.

### 3.2.3 Studienablauf

Die Pilotphase zur Fragebogentestung und Überprüfung der technischen Durchführbarkeit umfasste den Zeitraum von März – April 2001. In dieser Zeit wurden die organisatorischen Schritte unter Einbeziehung der logistischen Infrastruktur (Zahl der Blutentnahmen pro Tag, Aufarbeitung, Tiefgefrieren, Beratungen pro Tag, Telefonservice etc.) praktisch erprobt.

Das Ablaufprogramm während des Blutabnahmetermins umfasste für die Studienteilnehmerinnen folgende Punkte:

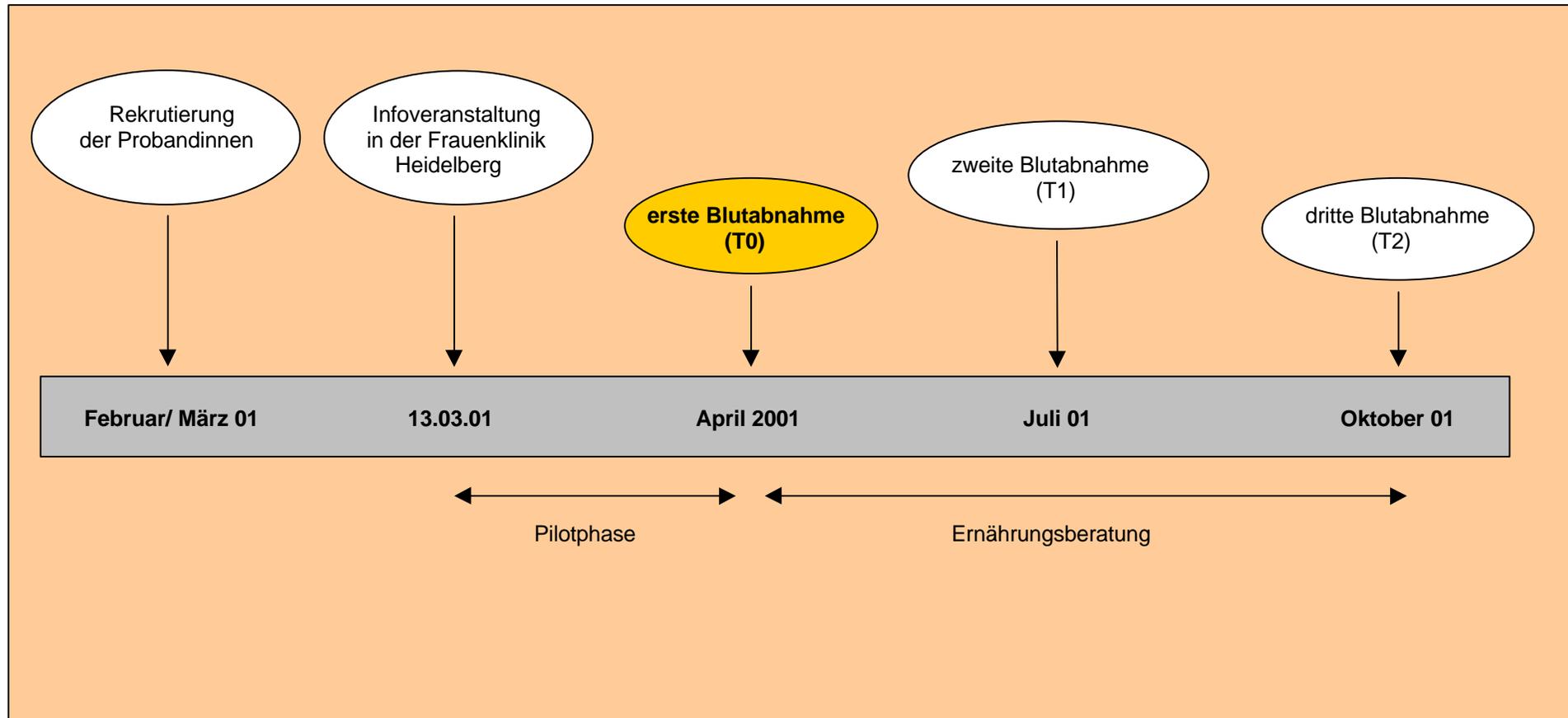
- Abgabe der am Vortag ausgefüllten Fragebögen und des morgendlichen Spot-Urins,
- Messung von Körpergröße und Körpergewicht,
- Messung der Körperzusammensetzung mittels bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA),
- Blutentnahme sowie
- Terminabsprache für die erste Ernährungsberatung.

Im Verlauf der nachfolgenden Intervention erhielten die Probandinnen eine intensive individuelle Ernährungsberatung. Zudem hatten sie die Möglichkeit, an einem für ihre Bedürfnisse zugeschnittenem Kochkurs teilzunehmen. Es folgten zwei weitere Blutabnahmen im Juli und Oktober 2001.

Die Dokumentation der Daten erfolgte in der Universitäts-Frauenklinik Heidelberg, Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie/ Ambulanz für Naturheilkunde. Als Datenbank- und Datenverwaltungssystem wurde zunächst SAS 6.12 verwendet; die spätere Auswertung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS für Windows (*Statistics Package for the Social Sciences*, Version 11.0; Chicago, Illinois, USA).

In Abbildung 7 auf der folgenden Seite ist der Ablauf der gesamten Studie schematisch dargestellt. Wie bereits zuvor ausgeführt, werden im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Basisdaten vor der Intervention (T0) betrachtet.

Abbildung 7: Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Heidelberger BIKEI-Studie



### 3.2.4 Ethische und rechtliche Grundlagen

Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der "*Declaration of Helsinki*" von 1964 in der aktuellen Fassung aus dem Jahre 1996 durchgeführt. Zudem wurde der Untersuchungsplan vor Studienbeginn der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Heidelberg zur Begutachtung vorgelegt.

Die Probandinnen wurden vor Studienbeginn schriftlich und mündlich über Wesen und Tragweite der geplanten Untersuchung, insbesondere über den möglichen Nutzen für ihre Gesundheit und eventuelle Risiken, aufgeklärt. Ihre Zustimmung wurde durch Unterschrift auf der Einwilligungserklärung dokumentiert.

Die Teilnahme der Probandinnen an der Studie war freiwillig. Ihre Zustimmung konnte jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile für ihre weitere medizinische Versorgung zurückgezogen werden. Bei Rücktritt von der Studie wurde das bereits gewonnene Material vernichtet oder bei der jeweiligen Probandin nachgefragt, ob sie mit einer Auswertung des Materials einverstanden sei.

Die Namen der Studienteilnehmerinnen sowie alle anderen persönlichen Daten unterliegen der Schweigepflicht und den Bestimmungen des Bundesdatenschutzgesetzes (BDSG). Eine Weitergabe der Probandendaten (z. B. an kooperierende Labore) erfolgte ausschließlich in anonymisierter Form. Dritte erhielten keinen Einblick in die Originalunterlagen.

## 3.3 Material und Methoden

### 3.3.1 Untersuchte biochemische Parameter

Wie in Kapitel 2.2 dargestellt, erschienen in erster Linie die sechs Hauptcarotinoide des Plasmas ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryproxanthin, Lutein, Zeaxanthin und Lycopin) sowie Ascorbinsäure und Folsäure als Biomarker des Obst- und Gemüseverzehrs geeignet. Darüber hinaus wurde Homocystein als indirekter Parameter mit in die Untersuchungen einbezogen.

Zudem wurden Standardlaborparameter (z. B. Kontrolle der Leber- und Nierenwerte) erfasst, um den allgemeinen Gesundheitszustand der Probandinnen beurteilen und Funktionsstörungen bzw. schwerwiegende Erkrankungen ausschließen zu können. Zusätzlich wurden auch demographische und anthropometrische Daten wie Alter, Grösse

und Gewicht erhoben. Außerdem wurde mittels Bioelektrischer-Impedanzanalyse (BIA) die Körperzusammensetzung gemessen sowie gesundheitsorientierte Daten wie Rauch- und Trinkgewohnheiten, Einkaufs-, Koch- und Essgewohnheiten, Erfahrungen aus bisherigen Ernährungsberatungen, Unterstützung im sozialen Umfeld und subjektive Gesundheitseinstellungen erfasst.

Die überwiegende Mehrzahl der Messungen wurde mittels validierter Routinemethoden im Zentrallabor der Universitätsklinik Heidelberg durchgeführt. Die Plasmaspiegel von Ascorbinsäure wurden im Zentrallabor der Universität Gießen ermittelt, die Plasma-Carotinoid-Spiegel im Institut für Lebensmittelchemie der Universität Hohenheim. Die Analysen zum Gehalt an 8-iso-prostaglandin-F2 $\alpha$  im Spot-Urin wurden in einem Speziallabor in München (Labor Dr. Bieger) vorgenommen<sup>12</sup>. Alle Untersuchungen wurden nach den Standardverfahren der Deutschen Gesellschaft für klinische Chemie (DGKC) bzw. dem Methodenhandbuch der VERA-Studie [Speitling et al. 1992] durchgeführt.

Zur besseren Übersicht werden alle im Rahmen der vorliegenden Arbeit betrachteten biochemischen Parameter sowie Probenart und analytische Methoden in Tabelle 13 dargestellt. Alle weiteren erhobenen Parameter der BIKEI-Studie sind der tabellarischen Übersicht in Kapitel 10.4 im Anhang zu entnehmen.

---

<sup>12</sup> Mit diesem Teilaspekt der Studie beschäftigt sich die Dissertation von Frau Ulrike Knust [in Vorbereitung].

Tabelle 13: Im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte biochemische Parameter

Parameter	Probenart	Labor	Methodik
<b>Carotinoide</b> ( $\alpha$ - und $\beta$ -Carotin, Lutein, Zeaxanthin, Lycopin, $\beta$ -Cryptoxanthin)	Plasma	Institut für Lebensmittelchemie der Uni Stuttgart-Hohenheim	RP-HPLC mit UV-Detektion
<b>Ascorbinsäure</b>	Plasma	Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie der Uni Gießen	Photometrisch mit Dinitrophenylhydrazin und Kupfer als Katalysator
<b>Folsäure</b>	Plasma und Erythrozyten	Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie der Uni Gießen	Kompetitiver Immunoassay mit Chemolumineszenz-Messung
<b>Homocystein</b>	Serum	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	HPLC, Methode nach Vester und Rasmussen [1991]
<b>Triglyceride</b>	Blutplasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	homogener enzymatischer Farbtest
<b>HDL-Cholesterol</b>	Blutplasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	homogener enzymatischer Farbtest
<b>LDL-Cholesterol</b>	Blutplasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Berechnung nach Friedewald aus Cholesterol, Triglyceriden und HDL bei Werten bis zu 250 mg/dl für Cholesterol und Triglyceride – bei höheren Werten: Ultrazentrifugation und Präzipitation der LDL-Fraktion im UZ-Unterstand (Kohlmeier 1984)
<b>Gesamtcholesterol</b>	Blutplasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	gekoppelter enzymatischer Test mit Farbreaktion

### 3.3.2 Blutabnahme und –aufbereitung sowie Wiegen der Probandinnen

Die Blutentnahmen erfolgten in der Universitäts-Frauenklinik, Abt. 4.2 Ambulanz für Naturheilkunde in Heidelberg. Sie wurden von einer Arzthelferin bzw. einem approbierten Arzt vorgenommen. Mit Hilfe von Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) wurde - inklusive Rückstellproben - eine Gesamtmenge von rund 65 ml Blut entnommen.

Das entnommene venöse Nüchternblut wurde zu einem überwiegenden Teil direkt nach der Blutabnahme in das Zentrallabor der Uniklinik Heidelberg überführt und dort sofort analysiert. Ein anderer Teil der Blutproben wurde im Labor der Frauenklinik für weitere Analysen aufbereitet. So wurde für die Bestimmung der Carotinoide (EDTA als Antikoagulans) das nach 30 minütiger Ruhe durch Zentrifugation (5 Minuten bei 2000 G) gewonnene Plasma eingesetzt. Zur Bestimmung von Vitamin C im Plasma wurde Blut mit Heparin als Antikoagulans zunächst zentrifugiert (5 Minuten bei 2000 G) und die Proteine dann sofort mit Trichloressigsäure ausgefällt. Um die Folsäuregehalte in den Erythrozyten zu ermitteln, wurde Heparin-Blut durch Invertieren gemischt, mit Ascorbinsäure versetzt und anschließend 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dabei wurde lichtgeschützt gearbeitet. Alle Proben wurden zunächst in Eppendorfgläsern oder Spitzröhrchen tiefgefroren (-20°C) und dunkel gelagert. Zudem wurden Rückstellproben (Serum, Heparin-Plasma und EDTA-Plasma) eingefroren. Am Ende der jeweiligen Blutabnahmeperiode wurden die so vorbereiteten Proben - unter Wahrung des gefrorenen Zustandes (Transport/Versand auf Trockeneis) - in die kooperierenden Labore (Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie der Justus-Liebig-Universität Gießen, Institut für Lebensmittelchemie der Universität Stuttgart-Hohenheim) transportiert, wo sie analysiert wurden. Der morgentliche Spot-Urin der Probandinnen wurde umgehend tiefgefroren (-20°C) und ebenfalls am Ende der jeweiligen Blutabnahmeperiode an das kooperierende Labor in München versandt. Auch hier wurden Rückstellproben tiefgefroren aufbewahrt.

Die detaillierten Methoden der im Rahmen dieser Arbeit betrachteten biochemischen Parameter einschließlich Durchführung und Reagenzien finden sich im Anhang (siehe Kapitel 10.3).

Das Wiegen der Probandinnen erfolgte auf einer geeichten Waage, bekleidet, aber ohne Schuhe. Auf einen Korrekturfaktor im Hinblick auf die getragene Kleidung wurde verzichtet, da die gegebene Genauigkeit für die Ziele der BIKEI-Studie als ausreichend zu erachten war. Die Körpergröße der Frauen wurde mit Hilfe einer Meßlatte erfaßt (aufrecht stehend, ohne Schuhe).

### 3.3.3 Ermittlung der Lebensmittel- und Nährstoffzufuhr

Die durchschnittliche tägliche Lebensmittel- und Nährstoffzufuhr des BIKEI-Kollektivs konnte auf Basis eines Nahrungsfrequenz-Fragebogens (FFQ, siehe Kapitel 3.3.5) mit Hilfe des Bundeslebensmittelschlüssels (BLS) berechnet werden. Für die Carotinoide war dies - mit Ausnahme von  $\beta$ -Carotin - allerdings nicht möglich, da bislang keine vollständigen Daten über den Gehalt verschiedener Carotinoide in Lebensmitteln vorliegen. Aus diesem Grund enthält der BLS (noch) keine entsprechenden Werte.

Zur näheren Charakterisierung des Kollektivs wurden die ermittelten Parameter den Empfehlungen / Richtwerten der Deutschen Gesellschaft für Ernährung [DGE et al. 2000] gegenübergestellt.

Um zu zeigen, aus welchen Lebensmitteln die verschiedenen Nährstoffe im Wesentlichen bezogen wurden, waren alle im FFQ erfassten Lebensmittel 25 Lebensmittelgruppen zugeordnet (siehe Kapitel 10.5 im Anhang). Da die Werte für die Lebensmittelfuhr häufig von der Gauß'schen Normalverteilung abwichen, also überwiegend „schief“ verteilt vorlagen, wurden die einzelnen Lebensmittelgruppen mit Hilfe des Medians charakterisiert.

Zur Verdeutlichung des unterschiedlichen Verzehrs von Obst sowie Gemüse und der damit einhergehenden Blutspiegel an Biomarkern wurde das Kollektiv der BIKEI-Studie in die Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ unterteilt. Für Obst erfolgte eine Kategorisierung in die Gruppen „wenig“, „mittel“ und „viel“; die gleiche Einteilung wurde auch für Gemüse gewählt. Für die gemeinsame Aufnahme von Obst und Gemüse wurden die Kategorien „sehr wenig“, „wenig“, „mittel“, „viel“ und „sehr viel“ gewählt.

### 3.3.4 Qualitätssicherung

Gemäß den „Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Studien“ (RiliBÄK) und den harmonisierten ICH-Leitlinien für die Europäische Union, Japan und die USA („Leitlinie zur guten klinischen Praxis“: CPMP/ICH/135/95) wurden die Untersuchungsergebnisse der BIKEI-Studie auf Zuverlässigkeit geprüft [RiliBÄK 1988]. Zur Qualitätssicherung wurden von den jeweiligen Untersuchungslabors Verfahrenskontrollen mit einem Kontrollprobensystem durchgeführt; zudem nahmen die Labore an Ringversuchen teil. Von allen Laboren wurden die Zuverlässigkeitskriterien (Präzision, Richtigkeit, Spezifität der Methode, Nachweisgrenze) beachtet und die entsprechend festgelegten Grenzwerte eingehalten. Die *Präzision* kennzeichnet das Ausmaß der Übereinstimmung der Ergebnisse wiederholter Messungen und wird

beschrieben durch die Standardabweichung oder den Variationskoeffizienten (V.K.) der Ergebnisse von Wiederholungsmessungen. Als *Richtigkeit* wird das Ausmaß der Übereinstimmung zwischen dem wahren Wert einer Meßgröße und dem gemessenen Näherungswert bezeichnet. Sie wird durch die Differenz zwischen dem Meßergebnis (Mittelwert von Wiederholungsmessungen) und dem richtigen Wert beschrieben. Die *Spezifität der Methode* kennzeichnet die Eignung einer Analysemethode zur Bestimmung der jeweiligen Meßgröße. Bei der *Nachweisgrenze* handelt es sich um das kleinste sich vom Leerwert unterscheidende Meßergebnis [RiliBÄK 1988]. Das empfohlene Basisprogramm für die Qualitätssicherung wurde bei der BIKEI-Studie erfolgreich durchgeführt.

### 3.3.5 Erhebungsinstrumente

Die Studienteilnehmerinnen erhielten zu den Blutabnahme-Terminen jeweils drei unterschiedliche Fragebögen, die von ihnen selbst auszufüllen waren: einen Fragebogen zu den allgemeinen Verzehrsgewohnheiten, einen Fragebogen zu ausgewählten medizinischen, gesundheitsbezogenen und ernährungspsychologischen Aspekten sowie einen Fragebogen zum Essverhalten nach Pudel und Westenhöfer [1989]. Für die vorliegende Arbeit wurden nur die ersten beiden Fragebögen verwendet; sie sollen im Folgenden kurz dargestellt werden.

Bei dem Fragebogen zu den allgemeinen Verzehrsgewohnheiten handelte es sich um einen validierten und strukturierten Nahrungsfrequenz-Fragebogen („*food frequency questionnaire*“, FFQ). Er wurde vom Deutschen Institut für Ernährungsforschung (Dife), Potsdam, bezogen und kam bereits im Rahmen der EPIC-Studie (*European Prospective Investigation into Cancer*) zum Einsatz<sup>13</sup>. Der computerlesbare Fragebogen erfasste die Verzehrsgewohnheiten der vergangenen 12 Monate, wobei neben den allgemeinen Verzehrsgewohnheiten u.a. auch der Alkoholkonsum, Veränderung der Ernährungsgewohnheiten innerhalb der letzten 10 Jahre und die Einnahme von Supplementen berücksichtigt wurden. Für einige Gerichte / Lebensmittel enthielt der FFQ zur besseren Abschätzung der jeweiligen Portionsgrößen Farbfotos. Der Fragebogen umfasste 25 Lebensmittelgruppen mit insgesamt 158 einzelnen Lebensmitteln und ermöglichte damit einen Einblick in die Verzehrsgewohnheiten sowie die durchschnittliche Nährstoffzufuhr des BIKEI-Kollektivs. Für die Fragestellung dieser Arbeit wurde der bei

---

<sup>13</sup> Detaillierte Informationen zur Validierung und Reproduzierbarkeit des Fragebogens finden sich bei Bohlscheid-Thomas et al. [1997a und b] sowie Boeing et al. [1997].

der ersten Blutabnahme (T0) erhobene Fragebogen herangezogen. Die zu den anderen Zeitpunkten gewonnenen Daten sollten dazu dienen, den Effekt der Ernährungsintervention zu beurteilen<sup>14</sup>. Die Nährwertberechnungen erfolgten auf der Grundlage des Bundeslebensmittelschlüssels (BLS<sup>15</sup>) am Deutschen Institut für Ernährungsforschung (Dife) in Potsdam.

Im selbst entwickelten Fragebogen zu ausgewählten medizinischen, gesundheitsbezogenen und ernährungspsychologischen Aspekten („Studienfragebogen“)<sup>16</sup> wurden von den Probandinnen Informationen über sozio-demographische (z. B. Beruf, Schulbildung, Lebensstil) und anthropometrische Daten (z. B. Größe, Gewicht) erfragt. Darüber hinaus beinhaltete der Fragebogen folgende Themen: Erkrankungen, bisherige Informationen / Beratungen zum Thema Ernährung, Gesundheitsverhalten (z. B. Nikotin- und Alkoholkonsum, sportliche Aktivität), Ernährungsgewohnheiten (z. B. Einkaufsverhalten, Mahlzeiten-Frequenz, Außer-Haus-Essen) und Gesundheitskognitionen sowie ernährungsbezogene Einstellungen. Strukturelle und psychologische Gesichtspunkte zum Aufbau von Fragebögen [Atteslander, 1995] wurden bei der Entwicklung des Fragebogens berücksichtigt. Die Fragen zu Gesundheitseinstellungen und zu ernährungsbezogenen Einstellungen wurden in Form von Skalen (z. B. subjektives Gesundheitsbewußtsein) oder Einzelitems (z. B. Intention gesund zu essen) erhoben.

### 3.3.6 Statistische Verfahren

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS für Windows (*Statistics Package for the Social Sciences*, Version 11.0; Chicago, Illinois, USA). Die Überprüfung der Normalverteilung wurde anhand des **Kolmogorov-Smirnov-Tests** (K-S-Test) vorgenommen. Als statistische Kenndaten wurden bei normalverteilten Daten der Mittelwert und die Standardabweichung angegeben. Bei schief verteilten Daten wurde der Median und als Streuungsmaß der 90 %-Wertebereich (5-95er Perzentile) angeführt.

---

<sup>14</sup> Die Intervention mittels eines systemischen Beratungsansatzes und die dabei erzielten Ergebnisse sind Gegenstand der Dissertation von Heike Bückle [in Vorbereitung].

<sup>15</sup> Informationen zum Bundeslebensmittelschlüssel finden sich u.a. bei BGVV: Der Bundeslebensmittelschlüssel (BLS II.3) – Konzeption, Aufbau und Dokumentation der Datenbank blsd. Hefte 08, 1999.

<sup>16</sup> Der umfangreiche Studienfragebogen ist der Arbeit nicht beigelegt; für die hier bearbeitete Fragestellung waren nur einige wenige Fragen relevant.

Zur Überprüfung von Hypothesen (Mittelwertsvergleich) kam bei gegebener Normalverteilung der **t-Test für unabhängige Stichproben** zur Anwendung. Lag keine Normalverteilung vor, wurde der nichtparametrische **U-Test nach Mann-Whitney** für zwei unabhängige Stichproben verwendet. Von einer Normalverteilung wurde in diesem Fall ausgegangen, wenn die Differenzen der beiden Variablen normalverteilt waren. Eine Schiefe von bis zu  $|\gamma| \leq 0,4$  wurde noch als Normalverteilung angesehen [Hecker 1997]. Die Nullhypothese wurde für die Testverfahren nur dann zurückgewiesen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p \leq 0,05$  war.

Zur graphischen Darstellung von Sachverhalten wurden überwiegend **Balkendiagramme** (Stabdiagramme) und **Streudiagramme** gewählt. Zur Veranschaulichung von Mittelwertsunterschieden wurden **Box-and-Whisker-Plots** (Boxplots) verwendet. Bei ihnen werden die Kenndaten Median, Spannweite (Minimal- und Maximalwert) und Quartilsabstand graphisch zusammengefasst. So stellt der Querstrich im Kasten des Boxplots den Median, d. h. den 50-Prozentwert oder das 50. Perzentil dar. Der obere Rand des Kastens entspricht dem 75. und der untere Rand dem 25. Perzentil. Aus diesem Grund liegen innerhalb des Kastens 50 % der Fälle. Die restlichen Werte werden durch die von der oberen und unteren Kantenkante gezogenen senkrechten Linien mit Querbalken (Whisker) dargestellt. Ausreißer (Fälle, die 1,5 - 3 Kastenlängen vom unteren oder oberen Kastenrand entfernt liegen) und Extremwerte (Fälle, die mehr als drei Kastenlängen vom unteren oder oberen Kastenrand entfernt liegen) wurden herausgenommen.

Zur Prüfung von Mittelwerts-Unterschieden bei drei oder mehr Gruppen wurden die **ANOVA** (einfaktorielle Varianzanalyse, *analysis of variance*) und der **H-Test nach Kruskal und Wallis** angewendet. So kam bei gegebener Normalverteilung und Varianzhomogenität zwischen den Gruppen die ANOVA zum Einsatz; als Post-Hoc-Verfahren wurde dabei die Scheffé-Prozedur verwendet. Bei nicht gegebener Normalverteilung oder Varianzheterogenität zwischen den Gruppen wurde der H-Test nach Kruskal und Wallis angewandt. Da das Statistikpaket SPSS für Windows in diesem Fall keine Post-Hoc-Verfahren zur Verfügung stellt, wurde der **U-Test nach Mann-Whitney** zur paarweisen Überprüfung der Gruppen genutzt.

Um zu prüfen, in welchem Ausmaß Zusammenhänge zwischen zwei Parametern bestehen, wurde die **bivariate Korrelation** angewendet. Die Stärke des Zusammenhangs wird dabei durch den **Korrelationskoeffizienten (r)** beschrieben, der stets zwischen den Grenzen von  $-1$  bis  $+1$  liegt. Für die Stärke des Zusammenhangs ist allein der Betrag des Korrelationskoeffizienten maßgebend; das Vorzeichen gibt an, ob der

Zusammenhang gleich- oder gegenläufig ist. Dabei ist folgende Einstufung üblich [Zöfel 2001, S. 120]:

Korrelationskoeffizient	Einstufung
$r \leq 0,2$	sehr geringe Korrelation
$0,2 <  r  \leq 0,5$	geringe Korrelation
$0,5 <  r  \leq 0,7$	mittlere Korrelation
$0,7 <  r  \leq 0,9$	hohe Korrelation
$0,9 <  r  \leq 1$	sehr hohe Korrelation

Im Falle einer Normalverteilung wurde der **Pearson-Korrelationskoeffizient** und im Falle von nicht normalverteilten Daten der **Spearman-Korrelationskoeffizient** verwendet. Um Scheinkorrelationen auszuschließen, kam die **partielle Korrelation** zum Einsatz. Mit ihrer Hilfe wurde geprüft, ob ein zuvor ermittelter signifikanter Korrelationskoeffizient Ausdruck eines unmittelbaren kausalen Zusammenhangs zwischen zwei Parametern ist oder von einer anderen Variablen entscheidend mitbestimmt wird. Voraussetzung für die partielle Korrelation war eine Normalverteilung der Daten. Um diese für alle geprüften Parameter zu gewährleisten, wurden die Daten logarithmiert.

Mit Hilfe der **multiplen linearen Regression** wurde untersucht, welche Art des Zusammenhangs zwischen einer abhängigen (z. B.  $\beta$ -Carotin) und mehreren unabhängigen Variablen (z. B. Obstzufuhr, Cholesterolspiegel, Alter) besteht. Auf diese Weise sollte ermittelt werden, welche unabhängigen Variablen die abhängige am besten vorhersagen. So geht es bei der multiplen Regressionsanalyse darum, die Koeffizienten der Gleichung

$$y = b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n + a$$

zu schätzen [Bühl und Zöfel 2000, S. 344], wobei „y“ die abhängige Variable, „x“ die unabhängige Variable und „n“ die Anzahl der unabhängigen Variablen ist, die mit  $x_1$  bis  $x_n$  bezeichnet sind; bei „a“ handelt es sich um die Konstante der Regressionsgleichung. Die Regressionskoeffizienten  $b_1, \dots, b_n$  geben an, um wieviel Einheiten sich die abhängige Variable verändert, wenn die unabhängige Variable um eine Einheit steigt [Kipnis et al. 1993]. Für die Interpretation wurden nur solche Regressionskoeffizienten berücksichtigt, bei denen der t-Test signifikant war. Dabei galt zu berücksichtigen, dass eine Variable in Verbindung mit einer bestimmten Auswahl an Prädiktoren (unabhängigen Variablen)

signifikant sein kann, während es bei einer anderen Zusammensetzung des Modells nicht mehr der Fall ist [Backhaus et al. 1989, S. 27].

Das **Bestimmtheitsmaß ( $R^2$ )** beschreibt das Verhältnis der nicht erklärten Streuung zur Gesamtstreuung und stellt eine Maßzahl zur Beurteilung der „Güte“ der Schätzung dar. Es sagt aus, wieviel Prozent der Varianz der Zielvariablen durch die betreffenden Einflussvariablen erklärt wird [Zöfel 2001, S. 219]. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  ist umso höher, je höher der Anteil der erklärten Streuung an der Gesamtstreuung ist, wobei die Werte zwischen 0 und 1 liegen. Die Berücksichtigung von Stichprobenumfang und Anzahl der unabhängigen Variablen führt zum „**korrigierten  $R^2$** “, das immer kleiner als das unkorrigierte Maß ist [Bühl und Zöfel 2000, S. 336]. In Abhängigkeit vom verwendeten Modell wird für jede berücksichtigte Variable ein Regressionskoeffizient (**B**) und der Standardfehler (**SE**) ermittelt. Zur besseren Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Regressionskoeffizienten, die von der Anzahl der Fälle und der Dimension der Variablen abhängen, dient der standardisierte Regressionskoeffizient (**Beta**). Ist die Signifikanz des T-Wertes (**Sig. T**) von  $\text{Beta} < 0,05$ , so liegt ein statistisch signifikanter Einfluss dieses Faktors vor. Um die Erklärungskraft der Regressionsfunktion zu prüfen, wurde der **F-Test** angewendet. Er dient der Überprüfung des Verhältnisses zwischen erklärter Streuung und Reststreuung [Backhaus et al. 1989, S. 26]. Signifikante F-Werte besagen, dass das Bestimmtheitsmaß mit hoher Wahrscheinlichkeit von 0 verschieden ist und damit ein Zusammenhang zwischen der abhängigen und der / den unabhängigen Variablen besteht [Brosius 1988, S. 318].

In Tabellen und Abbildungen wurden signifikante Unterschiede innerhalb einer Gruppe und zwischen den Gruppen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % und 1 % wie folgt gekennzeichnet:

\* =  $p < 0,05$  (signifikant)

\*\* =  $p < 0,01$  (hoch signifikant)

n.s. = nicht signifikant

## 4 ERGEBNISSE

Unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Kapitel 3.2.1) konnten 85 Probandinnen in die Auswertung einbezogen werden. Auf Grund von Schwierigkeiten bei der Blutabnahme oder der Erfassung des Körpergewichtes sowie durch unvollständig ausgefüllte Ernährungsprotokolle und Fragebögen waren allerdings nicht alle Datensätze der Probandinnen komplett. Aus diesem Grund findet sich in der Auswertung teilweise eine unterschiedliche Anzahl an Datensätzen; so konnten bei der Nährstoffzufuhr beispielsweise nur 84 Fragebögen ausgewertet werden.

### 4.1 Anthropometrische Daten und Charakteristika des Kollektivs

#### 4.1.1 Alter, Größe, Gewicht und BMI

Die Probandinnen des BIKEI-Kollektivs hatten ein mittleres Alter von  $39,8 \pm 6,57$  Jahren. Die prozentuale Altersverteilung der Studienteilnehmerinnen ist Abbildung 8 auf der folgenden Seite zu entnehmen.

Vor der Blutabnahme wurden Körpergröße und -gewicht der Probandinnen ermittelt. Die Frauen waren im Mittel  $1,68 \pm 0,70$  m groß und  $70,8 \pm 14,1$  kg schwer. Der BMI des Gesamtkollektivs lag im Mittel bei  $25,2 \pm 4,42$  kg/m<sup>2</sup> und somit in einem grenzwertigen Bereich zwischen Normal- und Übergewicht. Die überwiegende Mehrzahl der Probandinnen (48 Frauen, 56,5 %) wies allerdings einen BMI im Bereich von 20-25 kg/m<sup>2</sup> auf und lag damit im Normalbereich (siehe Abbildung 9). Rund 24,7 % der Teilnehmerinnen (21 Frauen) waren aufgrund eines BMI zwischen 25-29,99 kg/m<sup>2</sup> als „übergewichtig“ einzustufen. Ein BMI zwischen 30-40 kg/m<sup>2</sup> („adipös“) wurde bei 9 Probandinnen (10,6 %) ermittelt und 2 Frauen (2,4 %) wiesen Werte über 40 kg/m<sup>2</sup> auf. Nur drei Frauen (3,5 %) hatten einen BMI unter 20 kg/m<sup>2</sup> und waren folglich als untergewichtig einzustufen. Von zwei Frauen (2,4 %) konnte aufgrund fehlender Angaben kein BMI ermittelt werden.

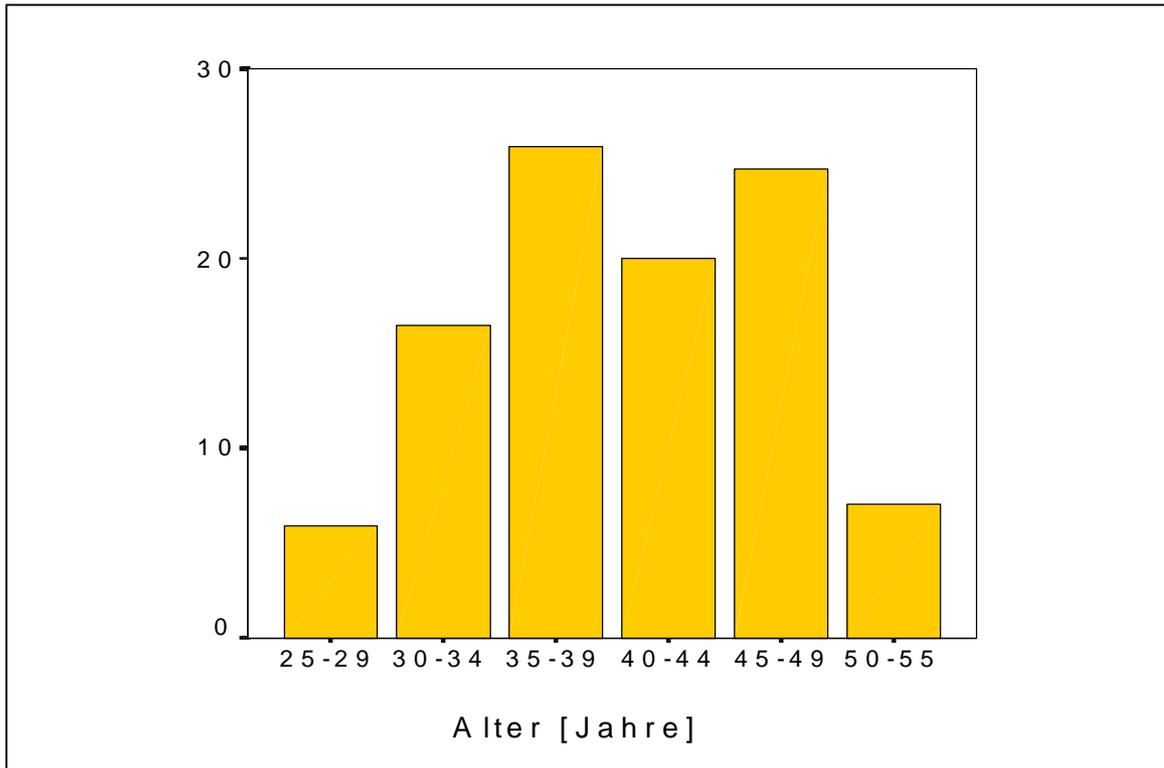


Abbildung 8: Altersverteilung des BIKEI-Kollektives (gruppiert)

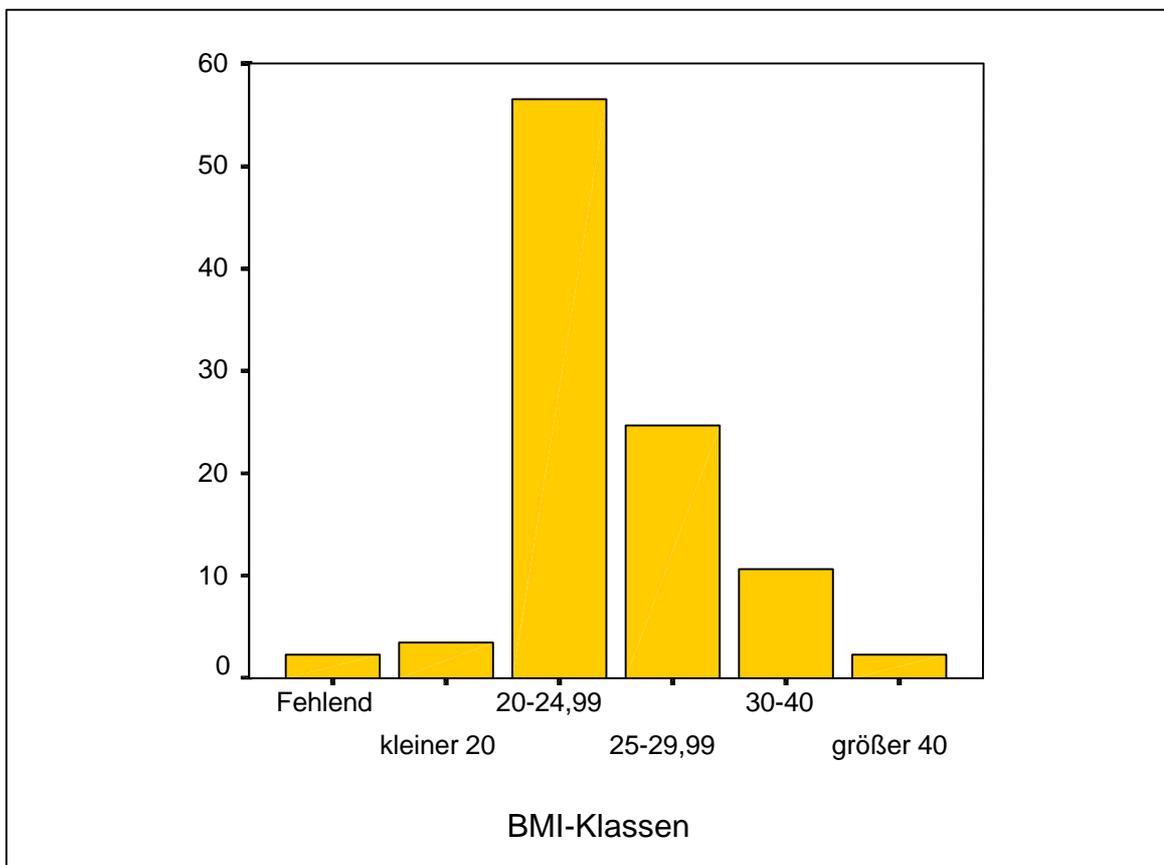


Abbildung 9: Body Mass Index (BMI) der Probandinnen der BIKEI-Studie (gruppiert)

### 4.1.2 Tabak- und Alkoholkonsum

Der Tabakkonsum im Studienkollektiv war verglichen mit dem Bevölkerungsdurchschnitt gering. So war die überwiegende Mehrzahl der Frauen (57 = 67,1 %) Nichtraucherinnen, nur 9 Frauen (10,6 %) bezeichneten sich als regelmäßige Raucherinnen. Daneben fanden sich unter den Probandinnen 15 Exraucherinnen (17,6 %) und drei gelegentliche Raucherinnen (3,5 %); eine Frau (1,2 %) ließ die Frage nach ihren Rauchgewohnheiten unbeantwortet. Die Anzahl der konsumierten Zigaretten variierte zwischen 3 und 25 pro Tag; keine der Probandinnen rauchte Zigarre oder Pfeife. Da sich die Raucherinnen weder in der Nährstoffaufnahme noch in den Spiegeln der verschiedenen Blutparameter signifikant von den Nichtraucherinnen unterschieden, wurden sie in die Gesamtauswertung einbezogen und nicht separat betrachtet.

Der Alkoholkonsum des Gesamtkollektivs lag im Mittel bei 8,58 g Alkohol/ Tag ( $\pm 10,64$ ) und damit im Rahmen der Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE et al. 2001; < 10 g/ Tag).

### 4.1.3 Erkrankungen und Einnahme von Medikamenten

Insgesamt litten 32 Probandinnen (37,6 %) an einer bzw. multiplen Erkrankungen, wie beispielsweise Heuschnupfen, Hypertonie, Hämorrhoidalleiden und Neurodermitis. Eine Übersicht über alle von den Studienteilnehmerinnen angegebenen Erkrankungen ist Tabelle 14 zu entnehmen. Da sich die Frauen mit den genannten Erkrankungen weder in der Nährstoffaufnahme noch in den Spiegeln der verschiedenen Blutparameter signifikant von den gesunden Frauen unterschieden, wurden sie in die Gesamtauswertung einbezogen und nicht separat betrachtet.

*Tabelle 14: Von den Probandinnen der BIKEI-Studie angegebene Erkrankungen  
(Mehrfachantworten möglich)*

<b>Art der Erkrankung</b>	<b>Probandinnen (absolute Werte)</b>	<b>Probandinnen (Angaben in %)</b>
Heuschnupfen	9	10,6
Nahrungsmittelallergie	4	4,7
Hypertonie	4	4,7
Neurodermitis	3	3,5
Magen-Darm-Erkrankung	3	3,5
Kopfschmerzen, Migräne	2	2,4
Tinnitus	2	2,4
erhöhte Infektanfälligkeit	1	1,2
Verstopfung	1	1,2
Chrom-Nickel-Allergie	1	1,2
Psoriasis	1	1,2
Hypotonie	1	1,2
Karpaltunnel-Syndrom	1	1,2
Struma	1	1,2
Hormonschwankungen	1	1,2
Gallensteine	1	1,2
Leber-Erkrankung	1	1,2
Nieren-Erkrankung	1	1,2
<b>Gesamt</b>	<b>38</b>	<b>45</b>

Die Studienteilnehmerinnen nahmen während der Studie diverse Medikamente ein. Dazu zählten neben Analgetika und Hormonen (jeweils 7,1 % bzw. 6 Frauen) in erster Linie Orale Kontrazeptiva (9,4 % bzw. 8 Frauen). Alle von den Probandinnen verwendeten Medikamente sind Tabelle 15 auf der folgenden Seite zu entnehmen. Da sich die Frauen, die Medikamente verwendeten, weder in der Nährstoffaufnahme noch in den Spiegeln der verschiedenen Blutparameter signifikant von den übrigen Probandinnen unterschieden, wurden sie in die Gesamtauswertung einbezogen und nicht separat betrachtet.

*Tabelle 15: Von den Probandinnen der BIKEI-Studie verwendete Medikamente  
(Mehrfachantworten möglich)*

<b>Verwendete Medikamente</b>	<b>Probandinnen (absolute Werte)</b>	<b>Probandinnen (Angaben in %)</b>
Analgetika	9	10,6
Orale Kontrazeptiva	8	9,4
Jodtabletten	7	8,2
andere Hormone	6	7,1
Antihypertonika	4	4,7
Antiallergika	3	3,5
Antihypotonika	1	1,2

#### 4.1.4 Schulbildung

Auf die Aufrufe zur Studienteilnahme meldeten sich überwiegend Probandinnen mit überdurchschnittlich hoher Schulbildung. So hatte beispielsweise fast die Hälfte der Probandinnen (45,9 %) Abitur und 22 Frauen (25,9 %) zudem einen Hoch- bzw. Fachhochschulabschluss. Der Tabelle 16 ist die Schulbildung der Probandinnen der Heidelberger BIKEI-Studie zu entnehmen.

*Tabelle 16: Schulbildung der Probandinnen der BIKEI-Studie*

<b>Schulabschluss</b>	<b>Absolute Werte</b>	<b>Prozent [%]</b>
Haupt- / Volksschule	12	14,1
Mittlere Reife	30	35,3
Fachoberschule	4	4,7
Abitur	39	45,9
<b>Gesamt</b>	<b>85</b>	<b>100</b>
Besuch einer Hoch-/ Fachhochschule	22	25,9

#### 4.1.5 Berufliche Situation und Familienstand

Die berufliche Situation der Probandinnen ist Tabelle 17 zu entnehmen. Die überwiegende Mehrzahl der Frauen (55,3 % bzw. 47 Frauen) war teilweise berufstätig; 24 Studienteilnehmerinnen gaben an, voll berufstätig zu sein. Die wöchentliche Arbeitszeit der Frauen lag insgesamt zwischen 5 und 50 Stunden, im Mittel bei 26,7 Stunden.

Tabelle 17: Berufliche Situation des BIKEI-Kollektives

Beruf	Probandinnen (absolute Werte)	Probandinnen (Anteil in %)
voll berufstätig	24	28,2
teilweise berufstätig	47	55,3
ausschließlich Hausfrau	8	9,4
Studentin	3	3,5
z. Z. arbeitslos	2	2,4
fehlend	1	1,2
<b>Gesamt</b>	<b>85</b>	<b>100</b>

Von den 85 Probandinnen hatten 74 (87,1 %) einen festen Partner; 69 Frauen (81,2 %) lebten mit diesem zusammen. Die überwiegende Mehrzahl der Frauen (70,6 %) hatte Kinder (ein bis drei), 25 Studienteilnehmerinnen (29,4 %) waren kinderlos.

## 4.2 Zufuhr an Nährstoffen und Lebensmitteln sowie Versorgungsstatus

### 4.2.1 Nährstoff- und Energiezufuhr

#### 4.2.1.1 Zufuhr an Energie und Hauptnährstoffen

Die aus den Ernährungsprotokollen errechnete Gesamtenergiezufuhr des BIKEI-Kollektivs lag im Mittel mit rund 8.400 kJ/ Tag ( $\pm 3.282$ ) unterhalb der Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (9.500 kJ/ Tag). Die Probandinnen erreichten - wie in Tabelle 18 ersichtlich - nicht die DGE-Empfehlungen hinsichtlich der Verteilung der Hauptnährstoffe. So lag der Anteil an Fett (35,0 %) über dem wünschenswerten Maximalwert von 30 %, aber immer noch günstiger als im Bevölkerungsdurchschnitt. 13,8 % der Energie wurde in Form von Proteinen verzehrt, entsprechend einer absoluten Menge von 73 g pro Tag. Die Kohlenhydrataufnahme war mit 46,6 % zu gering, aber ebenfalls günstiger als im Bundesdurchschnitt. Der Anteil der zugeführten Ballaststoffe war mit rund 22,6 g/ Tag im Vergleich zur DGE-Empfehlung von mindestens 30 g/ Tag deutlich zu gering.

*Tabelle 18: Mittlere tägliche Zufuhr an Energie und Hauptnährstoffen im Gesamtkollektiv der BIKEI-Studie (Mean und Standardabweichung; n = 84) verglichen mit den Richtwerten/ Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung [DGE et al. 2000]*

	DGE-Empfehlung <sup>1</sup>	BIKEI-Kollektiv	
		Mean	SD
Gesamtenergie (kJ/Tag)	9.500	8.412	3.282
Fett (Prozent der Gesamtenergiezufuhr)	30	35,0	6,04
Fett (g/ Tag)	k.A.	80,1	43,1
Protein (Prozent der Gesamtenergiezufuhr)	8-10	13,8	2,15
Protein (g/ Tag)	47	68,6	25,1
Kohlenhydrate (Prozent der Gesamtenergiezufuhr)	> 50	46,6	6,45
Kohlenhydrate (g/ Tag)	k.A.	232,3	84,9
Ballaststoffe (g/ Tag)	mind. 30	22,6	7,37
Alkohol (g/ Tag)	bis 10	8,58	10,6

<sup>1</sup> Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung für Frauen im Alter von 25 - 51 Jahren [DGE et al. 2000].

#### 4.2.1.2 Zufuhr an Vitaminen

Wie in Tabelle 19 ersichtlich, lagen die Mittelwerte der aus den Ernährungsprotokollen errechneten Vitaminzufuhren des BIKEI-Kollektivs bei der Mehrzahl der untersuchten Vitaminparameter im Bereich der Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung, teilweise sogar beträchtlich darüber (z. B. bei Vitamin C und K). Lediglich bei der Zufuhr von Pantothenensäure, Folsäure und Vitamin D ergab sich auf den ersten Blick eine ungünstige Situation. Hier lagen die Mittelwerte deutlich unter der aktuellen Empfehlung der DGE [DGE et al. 2000].

*Tabelle 19: Mittlere tägliche Vitaminzufuhr der Probandinnen der BIKEI-Studie (Mean und Standardabweichung; n = 84) verglichen mit den DGE-Empfehlungen [DGE et al. 2000]*

	DGE-Empfehlung <sup>1</sup>	BIKEI-Kollektiv	
		Mean	SD
Vitamin A (Retinoläquivalent) (mg/ Tag)	0,80	1,17	0,39
Vitamin A (beta-Carotin) (mg/ Tag)	2 – 4 <sup>2</sup>	3,04	1,26
Vitamin B1/ Thiamin (mg/ Tag)	1,00	1,07	0,46
Vitamin B2/ Riboflavin (mg/ Tag)	1,20	1,41	0,51
Vitamin B3/ Niacinäquivalent (mg/ Tag)	13,00	24,41	8,31
Vitamin B5/ Pantothersäure (mg/ Tag)	6,00 <sup>2</sup>	4,49	1,30
Vitamin B6/ Pyridoxin (mg/ Tag)	1,20	1,42	0,43
Vitamin B7 / Biotin (µg/Tag)	30 – 60 <sup>2</sup>	42,31	13,65
Vitamin B9/ gesamte Folsäure (µg/ Tag)	400	219,0	60,0
Vitamin B12 / Cobalamin (µg/Tag)	3,00	4,41	1,93
Vitamin C/ Ascorbinsäure (mg/ Tag)	100,00	128,8	56,9
Vitamin D / Calciferole (µg/Tag)	5,00	3,45	1,72
Vitamin E/ Tocopheroläquivalente (mg/ Tag)	12,00 <sup>2</sup>	12,86	5,09
Vitamin K/ Phyllochinon (µg/ Tag)	60 <sup>2</sup>	282,0	82,0

<sup>1</sup> Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung für Frauen im Alter von 25 - 51 Jahren [DGE et al. 2000]

<sup>2</sup> Schätzwert für eine angemessene Zufuhr bei Erwachsenen [DGE et al. 2000]

#### 4.2.1.3 Zufuhr an Mineralstoffen

Die Mineralstoffzufuhr des BIKEI-Kollektives lag überwiegend im Bereich der Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung. Einige wenige Mineralstoffe wurden in deutlich darüber liegenden Mengen zugeführt, beispielsweise Phosphor, Chlorid und Zink. Nennenswert unterhalb der Empfehlungen lag die Zufuhr von Fluorid, Eisen und Jod (siehe Tabelle 20).

*Tabelle 20: Mittlere tägliche Zufuhr an Mineralstoffen im BIKEI-Kollektiv (Mean und Standardabweichung; n = 84) verglichen mit den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung [DGE et al. 2000]*

	DGE-Empfehlung <sup>1</sup>	BIKEI-Kollektiv	
		Mean	SD
Calcium (mg/ Tag)	1000	930	360,0
Chlorid (mg/ Tag)	830 <sup>2</sup>	3.580	1.510
Kupfer (mg/ Tag)	1-1,5 <sup>2</sup>	2,20	0,63
Fluorid (mg/ Tag)	3,10 <sup>3</sup>	1,14	0,67
Eisen (mg/ Tag)	15,00	12,30	3,68
Jod (µg/ Tag)	200	130	34,0
Kalium (g/ Tag)	2,00 <sup>2</sup>	2,81	0,80
Magnesium (mg/ Tag)	300	330	96,0
Mangan (mg/ Tag)	2-5 <sup>2</sup>	5,84	2,95
Natrium (g/ Tag)	2,0 <sup>2</sup>	2,08	0,99
Phosphor (mg/ Tag)	700	1.300	440,0
Schwefel (mg/ Tag)	k.A.	750	245,0
Zink (mg/ Tag)	7,00	11,09	3,44

<sup>1</sup> Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung für Frauen im Alter von 25 - 51 Jahren [DGE et al. 2000]

<sup>2</sup> Schätzwert für eine minimale Zufuhr bei Erwachsenen [DGE et al. 2000]

<sup>3</sup> Richtwert für die Fluoridgeamtzufuhr (Nahrung, Trinkwasser und Supplemente) bei Erwachsenen [DGE et al. 2000]

#### 4.2.2 Lebensmittelzufuhr

Die Probandinnen der BIKEI-Studie nahmen im Median täglich 107 g Gemüse und 134 g Obst zu sich (siehe Tabelle 21). Hinzu kamen noch 8,55 g Hülsenfrüchte und 65,7 g Kartoffeln bzw. Kartoffelprodukte pro Tag. Zur Deckung des Kohlenhydratbedarfs der Probandinnen trugen vorwiegend Brot/ Brötchen (129 g/ Tag) sowie Kuchen und Gebäck (55,8 g/ Tag) bei, weiterhin auch Getreide, Nudeln und Reis (55,5 g/ Tag). Proteine wurden in erster Linie über Milch und Milchprodukte (102,4 g/ Tag) sowie Käse (22,8 g/ Tag) zugeführt, des weiteren über Fleisch (35,8 g/ Tag), Wurst (21,4 g/ Tag) und Fisch (16,4 g/ Tag). Das BIKEI-Kollektiv nahm im Median ca. 18 g/ Tag an isolierten Fetten und Ölen zu sich sowie täglich rund 1 Liter Erfrischungsgetränke, 650 ml Kaffee und Tee sowie rund 60 ml an alkoholischen Getränken.

*Tabelle 21: Durchschnittliche tägliche Zufuhr an Lebensmitteln im Gesamtkollektiv der BIKEI-Studie (Median und 5-95 Perzentile; n = 84); Übersicht über die 25 wesentlichen Lebensmittel-Gruppen*

Lebensmittelgruppen (alle Angaben in g / Tag)		Median	Perzentile	
			5	95
1	Brot, Brötchen	129,00	31,50	293,35
2	Getreide, Nudeln, Reis	55,45	15,08	103,83
3	Pizza, Zwiebelkuchen	24,95	4,43	84,20
4	Kuchen, Gebäck	55,80	5,58	223,70
5	Süßigkeiten	21,65	0,90	121,38
6	süße Brotaufstriche	10,00	0,00	31,83
7	Ei, Eigericht	13,60	1,33	30,73
8	Obst	133,85	32,03	315,15
9	Gemüse, Kräuter, Pilze	107,35	48,93	267,40
10	Hülsenfrüchte	8,55	2,15	56,70
11	Kartoffeln, K.-produkte	65,70	25,80	163,93
12	Nüsse	0,80	0,00	32,95
13	Erfrischungsgetränke	1.002,40	401,95	2.009,1
14	Milch, M.-produkte	102,35	8,23	658,38
15	Käse	22,80	4,65	80,00
17	Kaffee, Tee	650,35	232,20	2.317,8
18	Alkoholische Getränke	60,30	2,43	373,33
19	Fette, Öle	18,05	4,18	47,13
20	Saucen, Sahne, Mayo	14,55	2,43	49,23
21	Pudding, Quark, Eis	18,55	0,00	144,30
22	Fisch	16,40	2,50	43,80
23	Fleisch	35,80	2,80	102,70
24	Wurst	21,40	0,00	108,38
25	Suppen	28,40	5,02	125,62

### 4.2.3 Versorgungsstatus

Nachfolgend wird der Versorgungsstatus der Probandinnen dargestellt. Tabelle 22 am Ende des Kapitels gibt einen Überblick über die Blutspiegel des BIKEI-Kollektivs im Hinblick auf die ausgewählten Blutparameter.

#### Carotinoide

Der Blutspiegel der Gesamt-Carotinoide lag im Median des BIKEI-Kollektivs bei 2,27  $\mu\text{mol/L}$  (5-95 Perzentile 1,02 – 5,30). Die medianen Plasma-Konzentrationen der

einzelnen Carotinoide sind Tabelle 22 zu entnehmen. Vom Labor konnte lediglich für  $\beta$ -Carotin ein Referenzwert angegeben werden. Für die anderen Carotinoide sowie für die Gesamt-Carotinoide existieren (bisher) auch in der Literatur keine „Normwerte“, so dass keine Aussage über den Versorgungsstatus der Probandinnen getroffen werden kann. Bei  $\beta$ -Carotin lag der Median des Kollektivs mit  $1,14 \mu\text{mol/ L}$  (5-95 Perzentile  $0,29 - 3,09$ ) deutlich oberhalb des vom Labor angegebenen Grenzwertes ( $> 0,75 \mu\text{mol/ L}$ ). Dennoch wurde der Wert von 31,8 % der Probandinnen (27 Frauen) unterschritten. Legt man den von Biesalski et al. [1995] angegebenen Minimalwert für  $\beta$ -Carotin von  $0,39 \mu\text{mol/ L}$  ( $21 \mu\text{g/dl}$ ) zu Grunde, so unterschritten noch immer 7,1 % der Probandinnen diesen Wert (6 Frauen).

### Ascorbinsäure

Die Ascorbinsäurespiegel der Probandinnen lagen im Median bei  $105,1 \mu\text{mol/ L}$  (5-95 Perzentile  $63,6 - 180,1$ ) und damit weit oberhalb des vom Labor angegebenen Normwertes von  $> 28,4 \mu\text{mol/ L}$ . Der von Biesalski et al. [1995] sowie Stähelin et al. [1998] genannte Grenzwert von  $0,39 \mu\text{mol/ L}$  ( $0,88 \text{ mg/ dl}$ ) wurde ebenfalls von keiner der Probandinnen unterschritten. Auch wenn der in einem Konsensuspapier aus epidemiologischen Untersuchungen abgeleitete wünschenswerte Plasmaspiegel von  $\geq 50 \mu\text{mol/ L}$  zur Verringerung des Risikos, auf Grund eines suboptimalen Antioxidanzienstatus an Krebs oder Arteriosklerose zu erkranken, zu Grunde gelegt wird, waren alle Probandinnen sehr gut mit Ascorbinsäure versorgt [DGE et al. 2000, S. 139].

### Folsäure

Die medianen Folsäurewerte im Plasma des BIKEI-Kollektivs lagen bei  $19,9 \text{ nmol/ L}$  (5-95 Perzentile  $9,73 - 31,9$ ) und damit in dem vom Labor angegebenen Referenzbereich von  $6,8 - 45,0 \text{ nmol/ L}$ . In den Erythrozyten lagen die Folsäuregehalte im Median bei  $668,3 \text{ nmol/ L}$ ; auch dieser Wert fällt in den vom Labor angegebenen Normbereich ( $340 - 1020 \text{ nmol/ L}$ ). Bei allen Probandinnen zeigte sich gemessen an den Referenzwerten sowohl im Plasma als auch in den Erythrozyten eine gute bis sehr gute Folsäureversorgung. Lediglich bei einer Probandin lagen die Folsäurewerte in den Erythrozyten mit  $128,6 \text{ nmol/ L}$  unterhalb des Referenzbereichs.

### Homocystein

Die Homocysteinwerte im Serum der Probandinnen lagen im Median bei  $8,00 \mu\text{mol/ L}$  (5-95 Perzentile  $5,18 - 15,0$ ). 18,8 % der Probandinnen des BIKEI-Kollektivs wiesen erhöhte Homocysteinspiegel auf, d. h., sie überschritten den vom Labor angegebenen Grenzwert von  $12 \mu\text{mol/ L}$ .

*Tabelle 22: Übersicht über den Versorgungsstatus des Kollektivs (ausgewählte Parameter), Normbereich sowie Prävalenz niedriger Meßwerte<sup>1</sup>*

Parameter	Gesamtkollektiv (Median, 5-95 Perzentile, n = 85)	Referenz- wert	Probandinnen mit niedrigem Versorgungs- status <sup>1</sup> (%)
Ascorbinsäure [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	105,1 (63,6 – 180,1)	> 28,4	keine
Folsäure [ $\text{nmol/ L}$ ] (Plasma)	19,92 (9,73 - 31,9)	6,8 - 45,0	keine
Folsäure [ $\text{nmol/ L}$ ] (Ery)	668,3 (437,6 - 1081,7)	340 - 1120	1,2
Homocystein [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	8,00 (5,18 - 15,0)	< 12,0	18,8
Gesamt-Carotinoide [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	2,27 (1,02 – 5,30)	k. A.	-
$\alpha$ -Carotin [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	0,25 (0,06 – 1,17)	k. A.	-
$\beta$ -Carotin [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	1,14 (0,29 – 3,09)	> 0,75	31,8
$\beta$ -Cryptoxanthin [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	0,16 (0,04 – 0,51)	k. A.	-
Lutein [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	0,26 (0,15 – 0,53)	k. A.	-
Zeaxanthin [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	0,05 (0,03 – 46,2)	k. A.	-
Lycopin [ $\mu\text{mol/ L}$ ]	0,31 (0,14 – 0,67)	k. A.	-

- <sup>1</sup> Im Falle von Homocystein ist der Anteil der Probandinnen mit einem Plasmaspiegel oberhalb des kritischen Grenzwertes von 12,0  $\mu\text{mol/ L}$  angegeben.  
 - Kein Referenzwert vorhanden.

### 4.3 Spiegel der potenziellen Biomarker in Subkollektiven mit unterschiedlicher Zufuhr von Obst und Gemüse

Ein Blick auf Tabelle 24 verdeutlicht, dass der überwiegende Teil der BIKEI-Probandinnen eine geringe bis mittlere Zufuhr an Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse aufwies. Nur 10 Frauen (11,9 %) konsumierten sehr viel Obst und Gemüse (> 400 g/ Tag); die wünschenswerte Aufnahme von mindestens 600 g Obst und Gemüse/ Tag wurde lediglich von einer Probandin realisiert.

*Tabelle 23: Einteilung des BIKEI-Kollektivs (nach der Verzehrsmenge an Obst und Gemüse) in Subkollektive*

<b>Subkollektive</b>	<b>Gruppe</b>	<b>Kategorisierung</b>	<b>Menge an Obst und/ oder Gemüse [g/ Tag]</b>
Obst	1 (n = 37)	wenig	≤ 100
	2 (n = 28)	mittel	100 - 200
	3 (n = 19)	viel	> 200
Gemüse	1 (n = 36)	wenig	≤ 100
	2 (n = 37)	mittel	100 - 200
	3 (n = 11)	viel	> 200
Obst und Gemüse	1 (n = 5)	sehr wenig	≤ 100
	2 (n = 24)	wenig	100 - 200
	3 (n = 21)	mittel	200 - 300
	4 (n = 24)	viel	300 - 400
	5 (n = 10)	sehr viel	> 400

Die anthropometrischen Charakteristika der verschiedenen Subkollektive sind Tabelle 24 auf der nachfolgenden Seite zu entnehmen. Zwischen den Subkollektiven ergaben sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Alter, Größe, Gewicht, BMI und Gesamtenergiezufuhr.

*Tabelle 24: Anthropometrische Charakteristika und Gesamtenergiezufuhr der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Mean  $\pm$  Standardabweichung)*

	<b>Subkollektive</b>	<b>Alter [Jahre]</b>	<b>Größe [m]</b>	<b>Gewicht [kg]</b>	<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	<b>Energiezufuhr [kJ/d]</b>
1	Wenig Obst (n = 37)	38,6 $\pm$ 7,20	1,67 $\pm$ 0,07	74,9 $\pm$ 18,3	26,6 $\pm$ 5,68	7.986 $\pm$ 2.190
2	Mittel Obst (n = 28)	40,0 $\pm$ 5,31	1,67 $\pm$ 0,07	67,3 $\pm$ 9,00	24,1 $\pm$ 3,16	9.393 $\pm$ 4.640
3	Viel Obst (n = 19)	41,3 $\pm$ 6,48	1,68 $\pm$ 0,08	68,5 $\pm$ 9,90	24,3 $\pm$ 2,54	7.798 $\pm$ 2.347
1	Wenig Gemüse (n = 36)	39,4 $\pm$ 6,12	1,67 $\pm$ 0,07	69,7 $\pm$ 11,1	24,9 $\pm$ 3,97	8.498 $\pm$ 2.517
2	Mittel Gemüse (n = 37)	39,9 $\pm$ 6,89	1,67 $\pm$ 0,07	71,9 $\pm$ 17,4	25,6 $\pm$ 5,22	8.229 $\pm$ 4.143
3	Viel Gemüse (n = 11)	41,5 $\pm$ 6,56	1,69 $\pm$ 0,06	70,9 $\pm$ 11,6	24,8 $\pm$ 3,19	8.748 $\pm$ 2.268
1	Sehr wenig Obst und Gemüse (n = 5)	42,4 $\pm$ 7,50	1,66 $\pm$ 0,08	76,8 $\pm$ 10,99	27,9 $\pm$ 5,12	7.452 $\pm$ 2.922
2	Wenig Obst und Gemüse (n = 24)	37,7 $\pm$ 6,84	1,67 $\pm$ 0,08	71,8 $\pm$ 17,6	25,6 $\pm$ 5,31	8.398 $\pm$ 2.431
3	Mittel Obst und Gemüse (n = 21)	39,1 $\pm$ 5,81	1,67 $\pm$ 0,07	71,1 $\pm$ 17,2	25,7 $\pm$ 5,46	8.153 $\pm$ 2.034
4	Viel Obst und Gemüse (n = 24)	40,4 $\pm$ 6,44	1,68 $\pm$ 0,06	67,1 $\pm$ 8,20	23,9 $\pm$ 2,45	8.936 $\pm$ 4.946
5	Sehr viel Obst und Gemüse (n = 10)	42,7 $\pm$ 5,93	1,70 $\pm$ 0,09	72,7 $\pm$ 11,38	25,3 $\pm$ 3,01	8.213 $\pm$ 2.694

### 4.3.1 alpha-Carotin

Die  $\alpha$ -Carotin-Konzentrationen im Plasma des Gesamtkollektivs betragen im Mittel 1,11  $\mu\text{mol/L}$  ( $\pm 7,13$ ). Für die Subkollektive „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den jeweiligen  $\alpha$ -Carotin-Plasmaspiegeln (siehe Tabelle 25). Für die „Obstkollektive“ fanden sich jedoch signifikante Unterschiede (Kruskal und Wallis,  $p = 0,030$ ). Der dem H-Test nach Kruskal und Wallis nachgeschaltete U-Test nach Mann-Whitney ergab für die Plasmaspiegel von  $\alpha$ -Carotin statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 ( $\leq 100$  g Obst/ Tag) und 2 (100 – 200 g Obst/ Tag) sowie 1 ( $\leq 100$  g Obst/ Tag) und 3 ( $> 200$  g Obst/ Tag) ( $p = 0,020$  bzw.  $p = 0,039$ ). Abbildung 10 veranschaulicht diesen Sachverhalt.

Tabelle 25: Alpha-Carotin-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5–95 Perzentile; n = 84)

	Subkollektive	$\alpha$ -Carotin [ $\mu\text{mol/L}$ ]
1	Wenig Obst (n = 37)	0,19 (0,04 – 7,84)
2	Mittel Obst (n = 28)	0,28 (0,10 – 1,17)
3	Viel Obst (n = 19)	0,39 (0,08 – 1,25)
1	Wenig Gemüse (n = 36)	0,20 (0,04 – 0,79)
2	Mittel Gemüse (n = 37)	0,31 (0,05 – 7,50)
3	Viel Gemüse (n = 11)	0,39 (0,10 – 1,31)
1	Sehr wenig Obst und Gemüse (n = 5)	0,12 (0,04 – 0,25)
2	Wenig Obst und Gemüse (n = 24)	0,18 (0,04 – 1,85)
3	Mittel Obst und Gemüse (n = 21)	0,30 (0,06 – 0,99)
4	Viel Obst und Gemüse (n = 24)	0,33 (0,09 – 1,18)
5	Sehr viel Obst und Gemüse (n = 10)	0,42 (0,10 – 1,25)

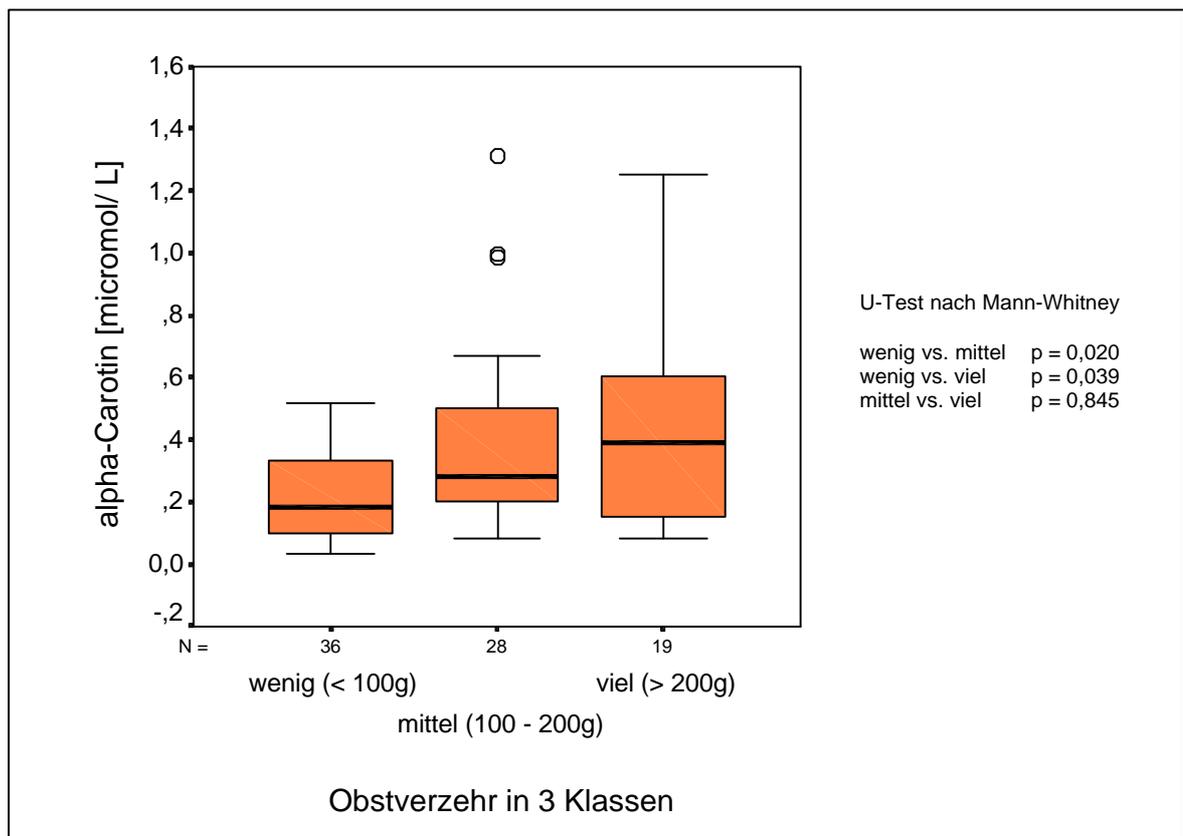


Abbildung 10: alpha-Carotin-Gehalt im Plasma der „Obst“-Kollektive

### 4.3.2 beta-Carotin

Die  $\beta$ -Carotin-Konzentrationen im Plasma des Gesamtkollektivs betragen im Mittel  $1,35 \mu\text{mol/L}$  ( $\pm 0,94$ ). Für die Subkollektive „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bei den  $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegeln (siehe Tabelle 26), dafür jedoch auch hier für die „Obstkollektive“ (ANOVA,  $p = 0,028$ ). Die der ANOVA nachgeschaltete Scheffé-Prozedur konnte allerdings zeigen, dass dabei lediglich der Unterschied zwischen der Gruppe 1 ( $\leq 100 \text{ g Obst/ Tag}$ ) und 3 ( $> 200 \text{ g Obst/ Tag}$ ) statistisch signifikant war ( $p = 0,029$ ); siehe Abbildung 11.

*Tabelle 26: beta-Carotin-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84)*

	<b>Subkollektive</b>	<b><math>\beta</math>-Carotin [<math>\mu\text{mol/L}</math>]</b>
1	Wenig Obst (n = 37)	0,91 (0,22 – 2,85)
2	Mittel Obst (n = 28)	1,21 (0,50 – 3,03)
3	Viel Obst (n = 19)	1,46 (0,46 – 5,64)
1	Wenig Gemüse (n = 36)	1,10 (0,21 – 3,41)
2	Mittel Gemüse (n = 37)	1,14 (0,27 – 3,44)
3	Viel Gemüse (n = 11)	1,13 (0,58 – 2,84)
1	Sehr wenig Obst und Gemüse (n = 5)	0,57 (0,13 – 1,61)
2	Wenig Obst und Gemüse (n = 24)	0,96 (0,23 – 3,17)
3	Mittel Obst und Gemüse (n = 21)	1,05 (0,34 – 2,70)
4	Viel Obst und Gemüse (n = 24)	1,33 (0,48 – 5,03)
5	Sehr viel Obst und Gemüse (n = 10)	1,54 (0,58 – 4,12)

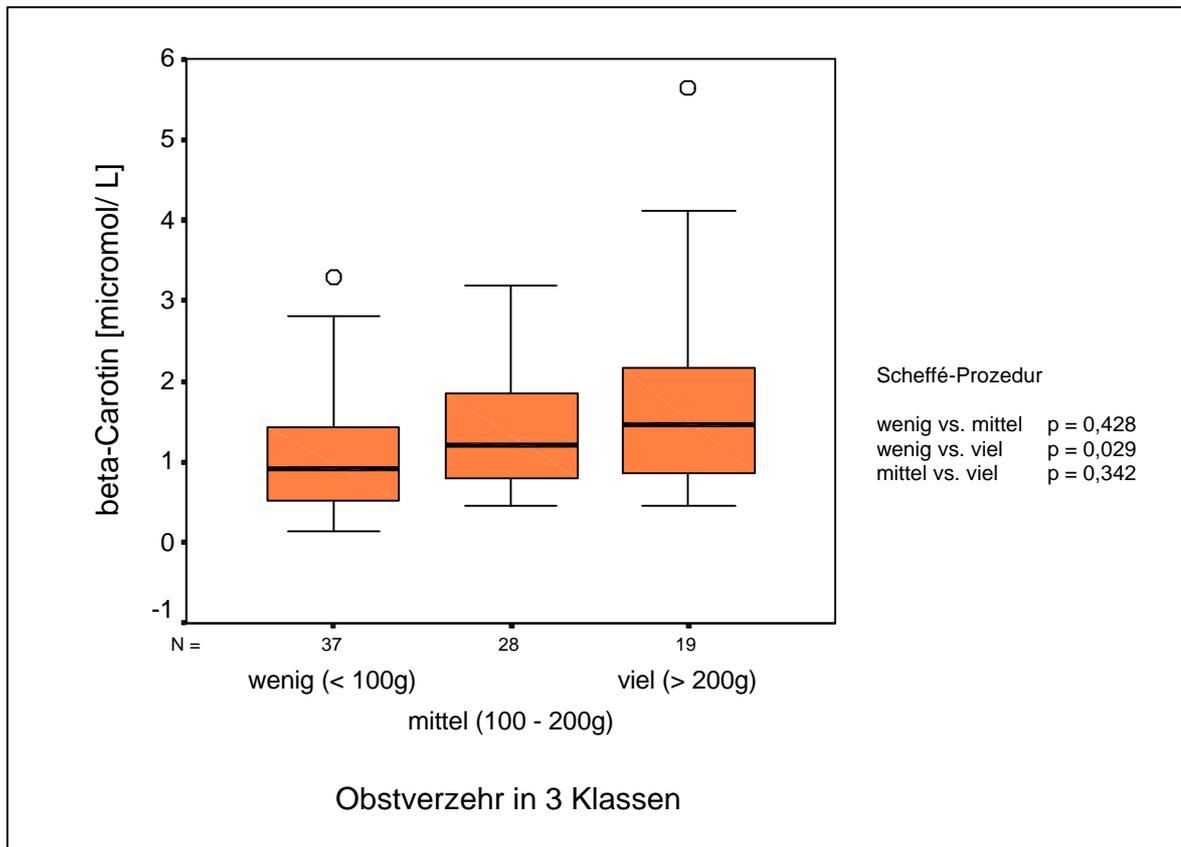


Abbildung 11: beta-Carotin-Gehalt im Plasma der „Obst“-Kollektive

#### 4.3.3 beta-Cryptoxanthin

Die  $\beta$ -Cryptoxanthin-Konzentrationen im Plasma des Gesamtkollektivs lagen im Mittel bei  $0,20 \mu\text{mol/L}$  ( $\pm 0,15$ ). Bei den Subkollektiven „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ waren keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellbar (siehe Tabelle 27), dafür jedoch auch hier (wie bei  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin) bei den „Obstkollektiven“ (Kruskal und Wallis,  $p = 0,010$ ). Der dem H-Test nach Kruskal und Wallis nachgeschaltete U-Test nach Mann-Whitney konnte zeigen, dass zwischen der Gruppe 1 ( $\leq 100 \text{ g Obst/ Tag}$ ) und 2 ( $100 - 200 \text{ g Obst/ Tag}$ ) ein statistisch signifikanter Unterschied bestand ( $p = 0,003$ ). Zwischen Gruppe 1 ( $\leq 100 \text{ g Obst/ Tag}$ ) und 3 ( $> 200 \text{ g Obst/ Tag}$ ) ließ sich zudem ein Trend zu einem signifikanten Unterschied ermitteln ( $p = 0,061$ ) (siehe Abbildung 12).

Tabelle 27: beta-Cryptoxanthin-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84)

	Subkollektive	β-Cryptoxanthin [μmol/ L]
1	Wenig Obst (n = 37)	0,14 (0,03 – 0,32)
2	Mittel Obst (n = 28)	0,20 (0,04 – 0,85)
3	Viel Obst (n = 19)	0,16 (0,06 – 0,60)
1	Wenig Gemüse (n = 36)	0,15 (0,05 – 0,38)
2	Mittel Gemüse (n = 37)	0,17 (0,03 – 0,82)
3	Viel Gemüse (n = 11)	0,16 (0,06 – 0,29)
1	Sehr wenig Obst und Gemüse (n = 5)	0,10 (0,06 – 0,14)
2	Wenig Obst und Gemüse (n = 24)	0,15 (0,03 – 0,32)
3	Mittel Obst und Gemüse (n = 21)	0,15 (0,03 – 0,87)
4	Viel Obst und Gemüse (n = 24)	0,20 (0,07 – 0,51)
5	Sehr viel Obst und Gemüse (n = 10)	0,15 (0,06 – 0,45)

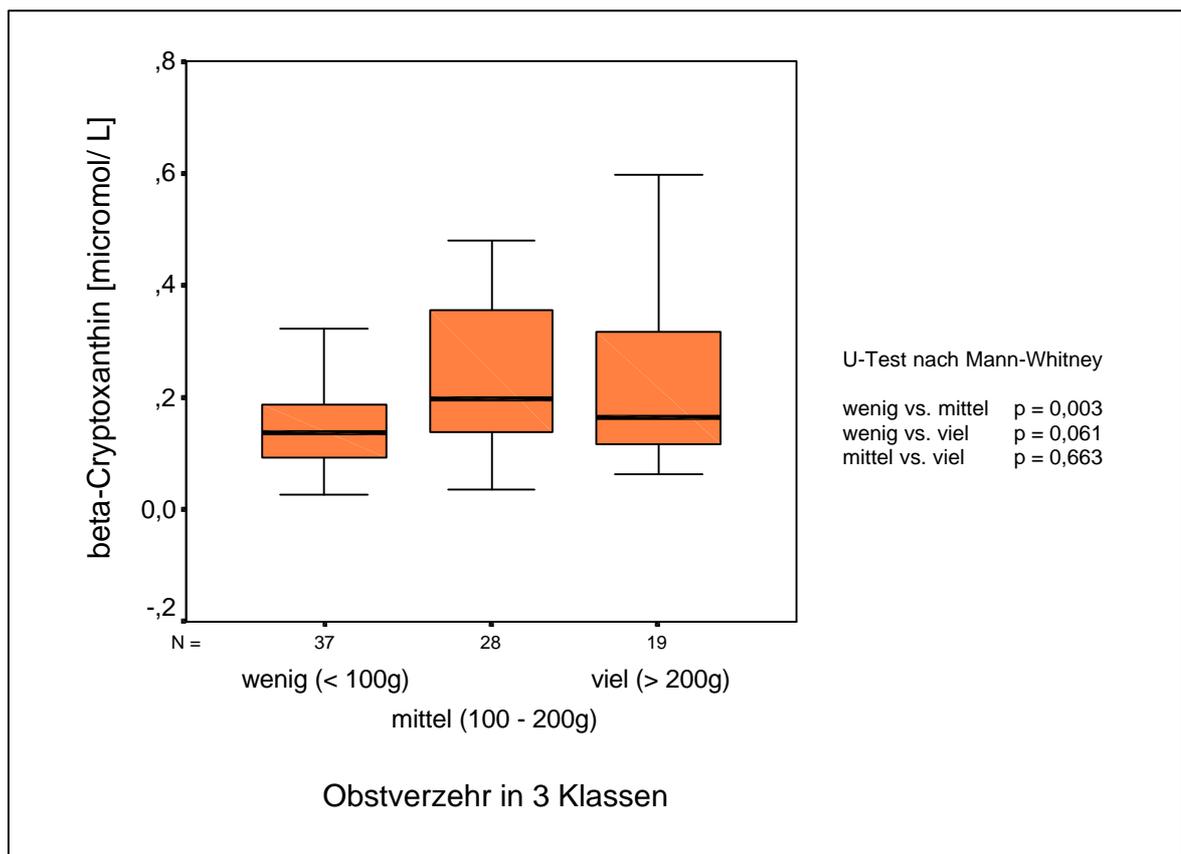


Abbildung 12: beta-Cryptoxanthin-Gehalt im Plasma der „Obst“-Kollektive

#### 4.3.4 Lutein, Zeaxanthin und Lycopin

Die Lutein-Konzentrationen im Plasma des Gesamtkollektivs lagen im Mittel bei  $0,28 \pm 0,12 \mu\text{mol/ L}$ . Für die Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bei den Lutein-Plasmaspiegeln. Die Zeaxanthin-Konzentrationen im Plasma des Gesamtkollektivs betragen im Mittel  $0,06 \pm 0,14 \mu\text{mol/ L}$ . Auch hier fanden sich für die drei Subkollektive keine signifikanten Unterschiede bei den Plasmaspiegeln. Die Lycopin-Konzentrationen im Plasma des Gesamtkollektivs lagen im Mittel bei  $0,35 \pm 0,16 \mu\text{mol/ L}$ . Erneut ließen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Subkollektiven ermitteln (siehe Tabelle 28).

*Tabelle 28: Lutein-, Zeaxanthin- und Lycopin-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84)*

	<b>Subkollektive</b>	<b>Lutein (<math>\mu\text{mol/ L}</math>)</b>	<b>Zeaxanthin (<math>\mu\text{mol/ L}</math>)</b>	<b>Lycopin (<math>\mu\text{mol/ L}</math>)</b>
1	Wenig Obst (n = 37)	0,25 (0,13 – 0,47)	0,05 (0,03 – 0,16)	0,31 (0,13 – 0,78)
2	Mittel Obst (n = 28)	0,27 (0,15 – 0,62)	0,06 (0,03 – 0,12)	0,29 (0,12 – 0,64)
3	Viel Obst (n = 19)	0,26 (0,16 – 0,55)	0,05 (0,03 – 0,19)	0,35 (0,16 – 0,58)
1	Wenig Gemüse (n = 36)	0,24 (0,14 – 0,55)	0,05 (0,03 – 0,22)	0,33 (0,13 – 0,72)
2	Mittel Gemüse (n = 37)	0,28 (0,14 – 0,54)	0,06 (0,03 – 0,18)	0,29 (0,12 – 0,67)
3	Viel Gemüse (n = 11)	0,24 (0,15 – 0,37)	0,05 (0,03 – 0,26)	0,28 (0,16 – 0,64)
1	Sehr wenig Obst und Gemüse (n = 5)	0,19 (0,13 – 0,36)	0,04 (0,03 – 0,07)	0,28 (0,13 – 0,51)
2	Wenig Obst und Gemüse (n = 24)	0,25 (0,10 – 0,51)	0,05 (0,03 – 0,23)	0,32 (0,11 – 0,77)
3	Mittel Obst und Gemüse (n = 21)	0,26 (0,15 – 0,67)	0,05 (0,03 – 0,11)	0,29 (0,17 – 0,75)
4	Viel Obst und Gemüse (n = 24)	0,27 (0,17 – 0,55)	0,06 (0,04 – 0,18)	0,35 (0,11 – 0,63)
5	Sehr viel Obst und Gemüse (n = 10)	0,24 (0,15 – 0,40)	0,04 (0,03 – 0,08)	0,31 (0,18 – 0,58)

### 4.3.5 Gesamtcarotinoide

Im Mittel des Gesamtkollektivs betrug die Gesamt-Carotinoid-Konzentration im Plasma 2,58  $\mu\text{mol/L}$  ( $\pm 1,35$ ). Ein statistisch signifikanter Unterschied bei den Plasmaspiegeln war für die am Anfang des Kapitels beschriebenen Subkollektive mit Ausnahme der „Obstkollektive“ (ANOVA,  $p = 0,026$ ) nicht messbar (siehe Tabelle 29). Die der ANOVA nachgeschaltete Scheffé-Prozedur konnte zeigen, dass der Unterschied lediglich zwischen Gruppe 1 ( $\leq 100$  g Obst/ Tag) und Gruppe 3 ( $> 200$  g Obst/ Tag) statistisch signifikant war ( $p = 0,038$ ). Abbildung 13 veranschaulicht dies.

*Tabelle 29: Gesamt-Carotinoid-Gehalt im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile;  $n = 84$ )*

	<b>Subkollektive</b>	<b>Gesamt-Carotinoide [<math>\mu\text{mol/L}</math>]</b>
1	Wenig Obst ( $n = 37$ )	2,02 (0,54 – 3,73)
2	Mittel Obst ( $n = 28$ )	2,34 (0,69 – 3,88)
3	Viel Obst ( $n = 19$ )	3,16 (0,90 – 7,81)
1	Wenig Gemüse ( $n = 36$ )	2,11 (0,76 – 4,56)
2	Mittel Gemüse ( $n = 37$ )	2,16 (0,89 – 4,43)
3	Viel Gemüse ( $n = 11$ )	2,42 (0,83 – 5,57)
1	Sehr wenig Obst und Gemüse ( $n = 5$ )	1,82 (0,58 – 3,85)
2	Wenig Obst und Gemüse ( $n = 24$ )	2,03 (1,41 – 3,59)
3	Mittel Obst und Gemüse ( $n = 21$ )	2,20 (1,32 – 5,32)
4	Viel Obst und Gemüse ( $n = 24$ )	2,12 (1,07 – 6,13)
5	Sehr viel Obst und Gemüse ( $n = 10$ )	2,55 (1,34 – 7,68)

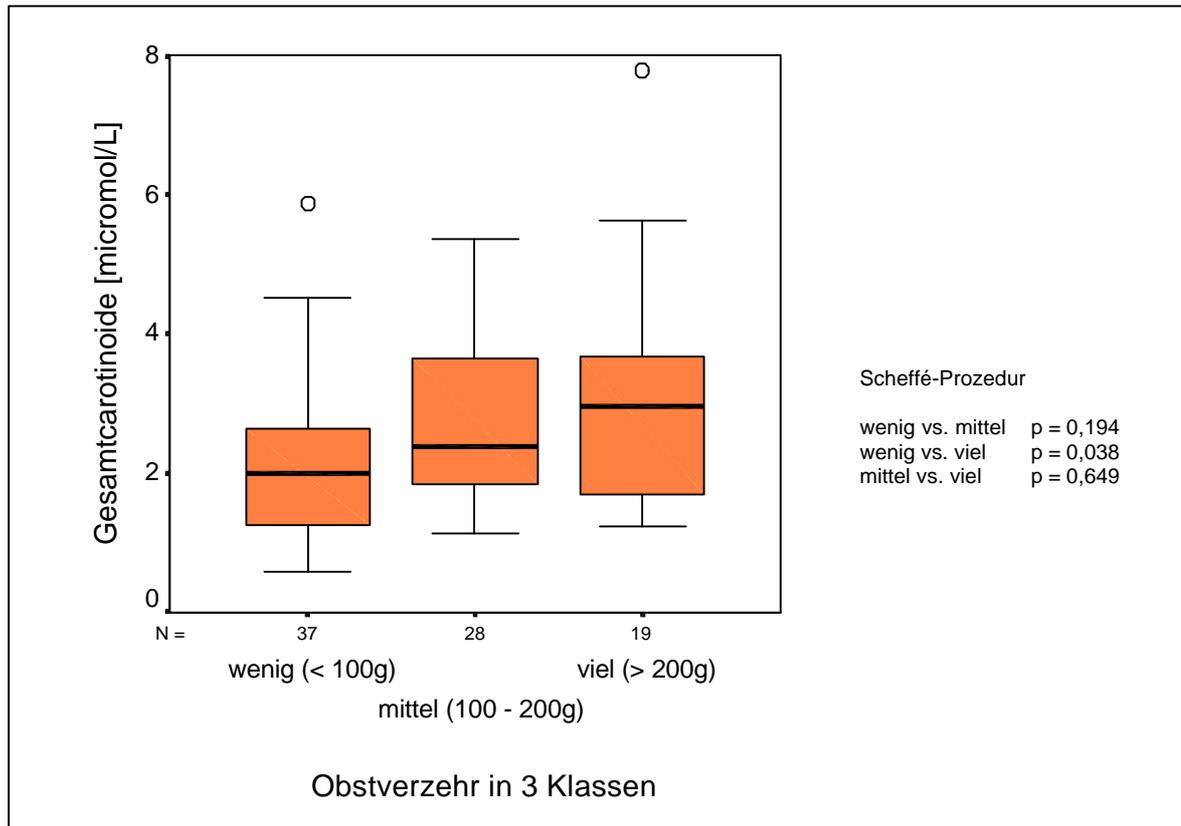


Abbildung 13: Gesamt-Carotinoid-Gehalt im Plasma der „Obst“-Kollektive

#### 4.3.6 Ascorbinsäure, Folsäure und Homocystein

Die Ascorbinsäure-Konzentration im Plasma des Gesamtkollektivs der BIKEI-Studie betrug im Mittel 1,97 mg/dl ( $\pm 0,71$ ) bzw. 111,9  $\mu\text{mol/L}$  ( $\pm 40,3$ ). Für die Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bei den Plasmaspiegeln des Vitamins. Die mittleren Folsäure-Plasmaspiegel der Probandinnen lagen bei 20,3 nmol/L ( $\pm 6,64$ ), diejenigen in den Erythrozyten bei 698,5 nmol/L ( $\pm 201,3$ ). Wieder ergaben sich für die Subkollektive keine signifikanten Unterschiede. Gleiches galt für die Homocystein-Plasmaspiegel; sie lagen im Mittel bei 8,89  $\mu\text{mol/L}$  ( $\pm 2,91$ ) (siehe Tabelle 30).

Tabelle 30: Ascorbinsäure-, Folsäure- (Plasma und Erythrozyten) sowie Homocystein-Gehalte im Plasma der Subkollektive „Obst“, „Gemüse“ sowie „Obst und Gemüse“ (Median und 5-95 Perzentile; n = 84)

	Subkollektive	Ascorbinsäure (mg/ dl)	Folsäure im Plasma (nmol/ L)	Folsäure in den Erythrozyten (nmol/ L)	Homocystein ( $\mu$ mol/ L)
1	Wenig Obst (n = 37)	1,77 (1,06 – 3,21)	19,3 (9,98 – 29,9)	282,8 (209,2 – 493,1)	7,70 (4,33 – 14,9)
2	Mittel Obst (n = 28)	1,92 (1,23 – 5,06)	16,1 (8,72 – 35,6)	290,3 (106,7 – 551,9)	8,66 (5,74 – 16,0)
3	Viel Obst (n = 19)	1,90 (1,32 – 2,44)	23,8 (12,4 – 33,2)	337,3 (190,5 – 478,3)	7,80 (6,00 – 15,0)
1	Wenig Gemüse (n = 36)	1,77 (1,05 – 3,61)	20,9 (8,09 – 31,9)	295,0 (156,7 – 471,8)	7,65 (4,30 – 15,2)
2	Mittel Gemüse (n = 37)	1,91 (1,41 – 3,39)	19,7 (11,2 – 32,8)	285,8 (197,9 – 573,4)	8,00 (5,79 – 14,2)
3	Viel Gemüse (n = 11)	1,75 (1,05 – 2,17)	17,5 (9,50 – 32,5)	381,3 (248,7 – 403,4)	9,30 (5,00 – 16,0)
1	Sehr wenig Obst und Gemüse (n = 5)	1,56 (1,02 – 2,50)	23,4 (18,1 – 28,4)	265,0 (220,8 – 480,0)	8,00 (3,70 – 13,5)
2	Wenig Obst und Gemüse (n = 24)	1,80 (1,11 – 5,65)	19,8 (7,54 – 36,1)	310,8 (93,76 – 543,1)	7,35 (4,70 – 14,95)
3	Mittel Obst und Gemüse (n = 21)	1,89 (1,50 – 4,04)	16,6 (10,3 – 26,1)	268,6 (183,3 – 417,4)	9,00 (4,91 – 16,0)
4	Viel Obst und Gemüse (n = 24)	1,80 (1,39 – 3,08)	23,3 (10,9 – 33,1)	288,8 (190,8 – 587,4)	8,10 (5,23 – 15,6)
5	Sehr viel Obst und Gemüse (n = 10)	1,98 (1,95 – 2,44)	19,7 (9,50 – 32,5)	337,3 (204,8 – 403,4)	8,35 (6,00 – 15,0)

## 4.4 Weitere Untersuchung der potenziellen Biomarker mittels Korrelations- und Regressionsanalyse

Bei der Daten-Auswertung wurden folgende Parameter als potenzielle Einfluss- und/ oder Störgrößen berücksichtigt:

- |                       |                          |
|-----------------------|--------------------------|
| • Alter               | • BMI                    |
| • Körperfettgehalt    | • Alkoholzufuhr          |
| • Ballaststoffzufuhr  | • Cholesterolspiegel     |
| • Triglyceridspiegel  | • Harnsäurespiegel       |
| • Gesamtenergiezufuhr | • Fettzufuhr             |
| • Rauchen             | • Obstkonsum             |
| • Gemüsekonsum        | • Obst- und Gemüsekonsum |

Alle ermittelten Korrelationen zwischen den potenziellen Biomarkern und möglichen Einfluss- und/ oder Störgrößen sind Tabelle 39 am Ende von Kapitel 4 (S. 121) zu entnehmen.

### 4.4.1 alpha-Carotin

#### 4.4.1.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Es konnte ein statistisch hoch signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den  $\alpha$ -Carotin-Konzentrationen im Plasma und denen von  **$\beta$ -Carotin** [ $r = 0,711$  ( $p = 0,000$ )],  **$\beta$ -Cryptoxanthin** [ $r = 0,463$  ( $p = 0,000$ )], **Lutein** [ $r = 0,522$  ( $p = 0,000$ )] und **Zeaxanthin** [ $r = 0,368$  ( $p = 0,001$ )] ermittelt werden. Darüber hinaus fand sich auch eine hoch signifikante Korrelation zu den **Gesamtcarotinoiden** [ $r = 0,763$  ( $p = 0,000$ )]. Beide Sachverhalte sind nicht verwunderlich, da 1) die verschiedenen Carotinoide teilweise in den selben Lebensmitteln vorkommen und 2) die Gesamt-Carotinoide sich ohnehin als Summe der einzelnen betrachteten Carotinoide ergeben. Die Korrelation zwischen  $\alpha$ -Carotin und den Gesamtcarotinoiden stellte nach derjenigen zwischen  $\beta$ -Carotin und den Gesamtcarotinoiden (siehe Kapitel 4.3.2) den stärksten Zusammenhang dar.

#### 4.4.1.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Im Gesamtkollektiv ergab sich ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang [ $r = 0,393$  ( $p = 0,000$ )] zwischen den  $\alpha$ -Carotin-Plasmaspiegeln und der Zufuhr an **Obst**

(**Lebensmittelgruppe 8<sup>17</sup>**) (siehe Abbildung 14). Auch zur Aufnahme von **Gemüse (9)** [ $r = 0,241$  ( $p = 0,028$ )] sowie zu **Obst und Gemüse (8+9)** [ $r = 0,410$  ( $p = 0,000$ )] konnte eine statistisch signifikante Korrelation ermittelt werden. Darüber hinaus wurden inverse Korrelationen zu den Lebensmittelgruppen **Pizza, Zwiebelkuchen (3)** [ $r = -0,277$  ( $p = 0,011$ )], **Saucen, Sahne, Mayonnaise (20)** [ $r = -0,256$  ( $p = 0,019$ )] und **Fleisch (23)** [ $r = -0,268$  ( $p = 0,014$ )] gefunden, die ebenfalls statistisch signifikant waren.

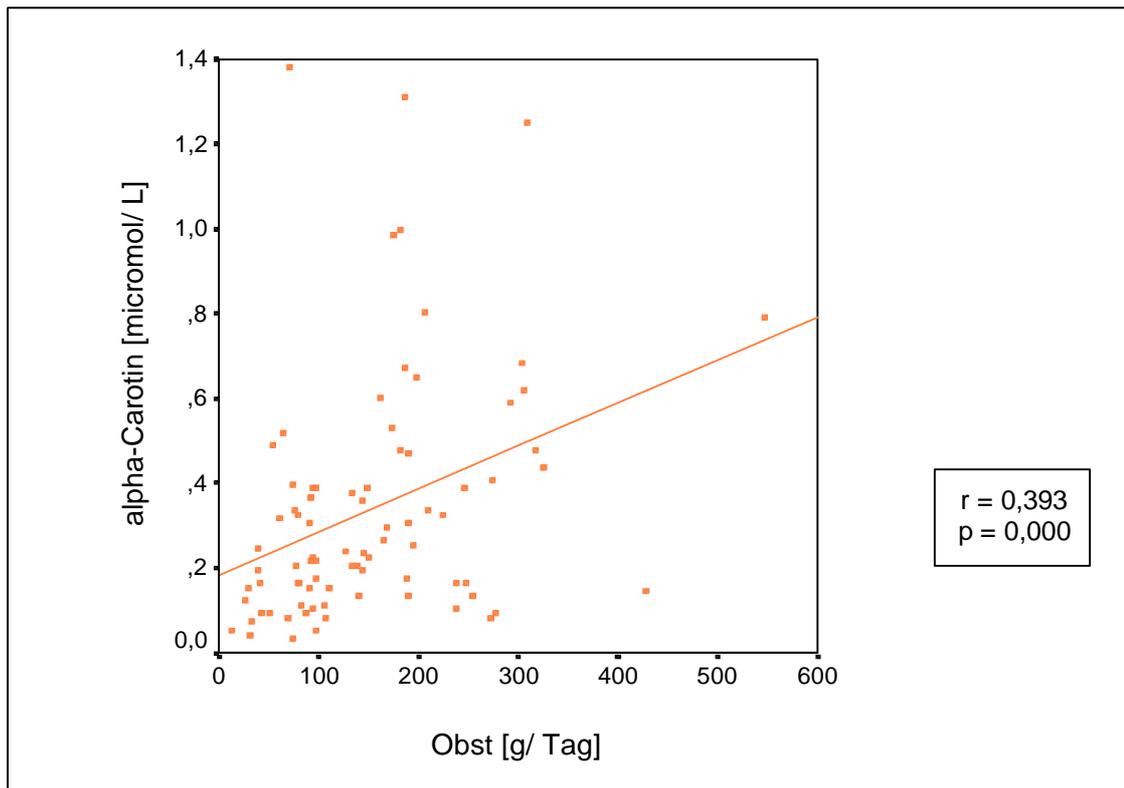


Abbildung 14: Korrelationen zwischen der  $\alpha$ -Carotin-Konzentration im Plasma und dem Obstverzehr

Von den geprüften potenziellen Confoundern (siehe Kapitel 2.4.2) fand sich ein statistisch signifikanter Einfluss der **Ballaststoff**-Zufuhr auf die Plasmaspiegel an  $\alpha$ -Carotin [ $r = 0,260$  ( $p = 0,018$ )]. Zudem konnten signifikant inverse Korrelationen zwischen dem Carotinoid und dem **Körperfettgehalt** [ $r = -0,315$  ( $p = 0,004$ )] sowie dem **Harnsäurespiegel** [ $r = -0,280$  ( $p = 0,010$ )] im Blut ermittelt werden. Außerdem fand sich ein Trend zu einer statistisch signifikanten, inversen Korrelation von  $\alpha$ -Carotin mit dem **BMI** [ $r = -0,202$  ( $p = 0,069$ )].

<sup>17</sup> Die in den jeweiligen Lebensmittelgruppen enthaltenen Lebensmittel sind Kapitel 10.5 im Anhang zu entnehmen.

Bei der Überprüfung der mittels bivariater Korrelationen gefundenen statistisch signifikanten Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnte keiner der ermittelten Zusammenhänge bestätigt werden. So fanden sich nunmehr weder Korrelationen zwischen  $\alpha$ -Carotin und dem Obst-, Gemüse- bzw. dem summierten Obst- und Gemüseverzehr, noch Zusammenhänge mit den Lebensmittelgruppen 3, 20 und 23 (siehe Kapitel 10.5). Gleiches galt auch für die Aufnahme von Ballaststoffen, den Körperfettgehalt, den Harnsäurespiegel und den BMI.

#### 4.4.1.3 Regressionsanalyse

Die weitergehende Analyse der Daten mit Hilfe der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss zeigte lediglich einen statistisch signifikanten Einfluss des **Obst**verzehr sowie des prozentualen **Körperfett**-Anteils der Probandinnen auf die  $\alpha$ -Carotin-Plasmakonzentrationen. Für alle anderen potenziellen Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4), so auch den Verzehr von Gemüse bzw. von Obst und Gemüse, konnte kein Einfluss ermittelt werden. Die standardisierten (korrigierten) Korrelationskoeffizienten waren mit  $R^2 = 0,103$  für die Zufuhr von Obst sowie  $R^2 = 0,157$  für Obst und den Körperfett-Gehalt zudem sehr gering. So konnten lediglich 15,7 % der Varianz der  $\alpha$ -Carotin-Plasmaspiegel durch die Zufuhr von Obst und den Körperfettgehalt der Probandinnen erklärt werden. Weitere Werte sind der nachfolgenden Tabelle 31 zu entnehmen.

*Tabelle 31: Alpha-Carotin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse*

	Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		B	SE	Beta		
1	(Konstante)	0,188	0,056		3,349	0,001
	Obst [g/ Tag]	0,001	0,000	0,338	3,188	0,002
2	(Konstante)	0,595	0,174		3,421	0,001
	Obst [g/ Tag]	0,008	0,000	0,284	2,704	0,008
	Körperfett-Gehalt [%]	- 0,017	0,005	- 0,258	- 2,461	0,016

## 4.4.2 beta-Carotin

### 4.4.2.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Zwischen den Konzentrationen von  $\beta$ -Carotin im Plasma und denjenigen von  **$\alpha$ -Carotin** [ $r = 0,711$  ( $p = 0,000$ )],  **$\beta$ -Cryptoxanthin** [ $r = 0,622$  ( $p = 0,000$ )], **Lutein** [ $r = 0,357$  ( $p = 0,001$ )], **Zeaxanthin** [ $r = 0,352$  ( $p = 0,001$ )] und **Lycopin** [ $r = 0,242$  ( $p = 0,025$ )] fanden sich statistisch signifikante Korrelationen. Außerdem konnte ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen  $\beta$ -Carotin und den **Gesamtcarotinoiden** [ $r = 0,959$  ( $p = 0,000$ )] sowie den Plasmaspiegeln an **Folsäure** [ $r = 0,350$  ( $p = 0,001$ )] ermittelt werden. Die Korrelation mit den Gesamtcarotinoiden war bei  $\beta$ -Carotin höher als bei allen anderen betrachteten Carotinoiden.

### 4.4.2.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Bei den Probandinnen der BIKEI-Studie ergab sich eine statistisch signifikante Korrelation mit  $r = 0,365$  ( $p = 0,001$ ) zwischen den Plasmaspiegeln an  $\beta$ -Carotin und der Zufuhr von **Obst (8)**. Des Weiteren wurde ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit der Aufnahme von **Obst und Gemüse (8+9)** [ $r = 0,322$  ( $p = 0,002$ )] ermittelt (siehe Abbildung 15 auf der folgenden Seite), eine Korrelation zum Gemüseverzehr alleine war hingegen nicht nachweisbar. Außerdem fand sich eine inverse Korrelation zwischen  $\beta$ -Carotin und dem Konsum von **Fleisch (23)**, die ebenfalls statistisch signifikant war [ $r = -0,280$  ( $p = 0,010$ )].

Von den geprüften potenziellen Confoundern (siehe Kapitel 2.4.2) konnten statistisch hoch signifikante, inverse Einflüsse des **BMI** [ $r = -0,349$  ( $p = 0,001$ )] sowie des **Körperfettgehalts** [ $r = -0,335$  ( $p = 0,001$ )] auf den  $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegel ermittelt werden. Weiterhin fand sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Carotinoid und dem **Cholesterolspiegel** [ $r = 0,166$  ( $p = 0,014$ )]. Zudem konnte mit  $r = -0,229$  ( $p = 0,018$ ) ein statistisch signifikanter, inverser Zusammenhang zwischen  $\beta$ -Carotin und dem **Triglyceridspiegel** und ein Trend zu einer signifikant inversen Korrelation mit dem **Harnsäuregehalt im Blut** [ $r = -0,158$  ( $p = 0,074$ )] ermittelt werden.

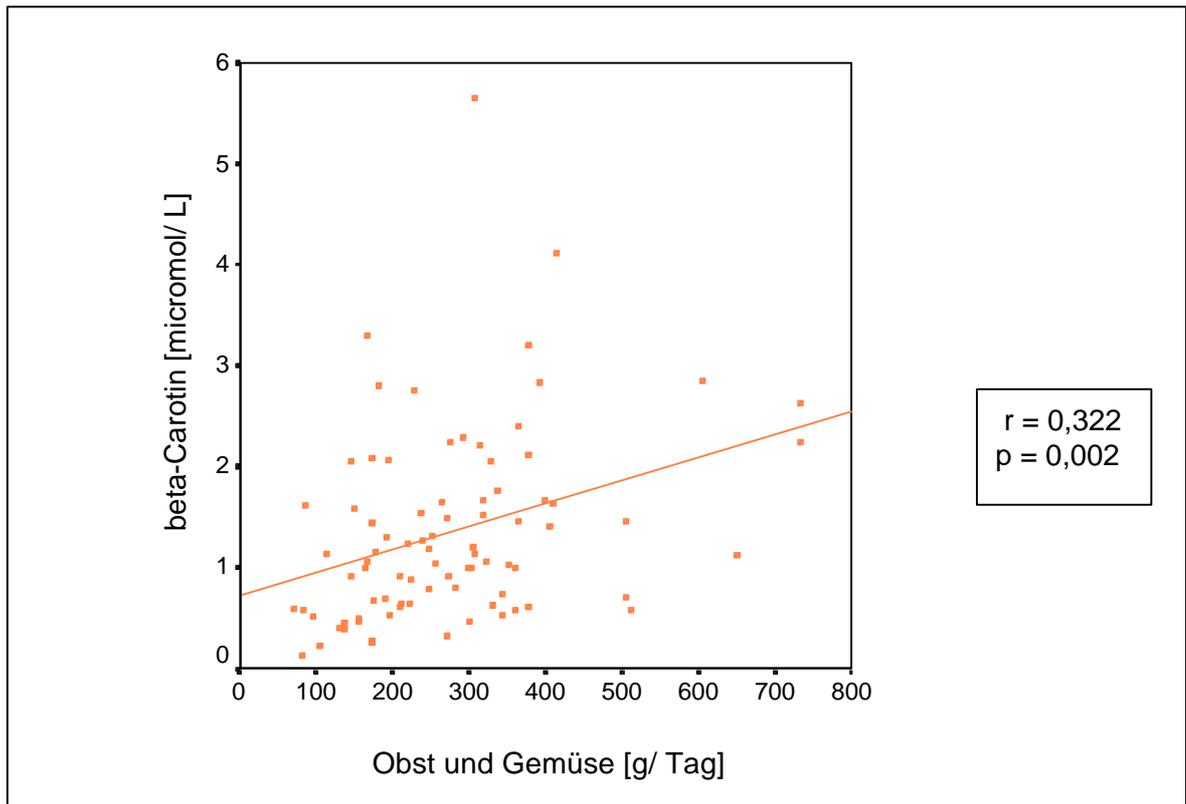


Abbildung 15: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln an  $\beta$ -Carotin und dem Obst- sowie Gemüseverzehr

Bei der Überprüfung der mittels bivariaten Korrelationen gefundenen statistisch signifikanten Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnte nur derjenige zwischen  $\beta$ -Carotin und dem **Cholesterolspiegel** [ $r = 0,219$  ( $p = 0,000$ )] eindeutig bestätigt werden. Zwischen dem Carotinoid und dem **BMI** [ $r = -0,210$  ( $p = 0,081$ )] sowie dem **Triglycerid-Spiegel** [ $r = -0,225$  ( $p = 0,061$ )] ergaben sich lediglich Trends zu statistisch signifikanten, inversen Korrelationen. Auch zwischen dem **Obstverzehr** und  $\beta$ -Carotin konnte mit  $r = 0,233$  ( $p = 0,053$ ) nur ein Trend zu einem statistisch signifikanten Zusammenhang ermittelt werden, der zudem sehr gering ausfiel. Die Korrelationen zwischen  $\beta$ -Carotin und dem summierten Obst- und Gemüseverzehr konnten nicht bestätigt werden; gleiches galt für Zusammenhänge mit dem Körperfett-Gehalt sowie dem Harnsäure-Spiegel.

#### 4.4.2.3 Regressionsanalyse

Die weitergehende Untersuchung der Daten mit Hilfe der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss ergab einen statistisch signifikanten Einfluss des **Obstverzehr**s, des **Cholesterolspegels** und des prozentualen **Körperfett**-Anteils der

Probandinnen auf die  $\beta$ -Carotin-Plasmakonzentrationen. Für alle anderen potenziellen Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2), beispielsweise den Verzehr von Gemüse bzw. von Obst und Gemüse summiert, konnte kein Einfluss ermittelt werden. Die standardisierten (korrigierten) Korrelationskoeffizienten betragen zudem lediglich  $R^2 = 0,113$  für den Konsum von Obst (vergleichbar niedrig wie bei  $\alpha$ -Carotin; siehe Kapitel 4.4.1.3),  $R^2 = 0,178$  für Obst-Verzehr und Cholesterol-Spiegel sowie  $R^2 = 0,269$  für Obst-Verzehr, Cholesterol-Spiegel und Körperfett-Gehalt. Somit konnten nur 26,9 % der Varianz des  $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegels durch den Verzehr von Obst sowie den Cholesterolspiegel und den Körperfett-Anteil der Probandinnen erklärt werden. Weitere Werte sind Tabelle 32 zu entnehmen.

*Tabelle 32: Beta-Carotin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse*

	Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		B	SE	Beta		
1	(Konstante)	0,849	0,182		4,661	0,000
	Obst [g/ Tag]	0,003	0,001	0,352	3,364	0,001
2	Konstante)	- 0,713	0,604		- 1,180	0,242
	Obst [g/ Tag]	0,004	0,001	0,364	3,606	0,001
	Cholesterol [mmol/ L]	0,304	0,112	0,272	2,700	0,008
3	(Konstante)	0,678	0,708		0,957	0,342
	Obst [g/ Tag]	0,003	0,001	0,297	3,061	0,003
	Cholesterol [ $\mu$ mol/ L]	0,362	0,107	0,325	3,372	0,001
	Körperfett-Gehalt [%]	- 0,048	0,015	- 0,325	- 3,303	0,001

### 4.4.3 beta-Cryptoxanthin

#### 4.4.3.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Wie zu erwarten (siehe Kapitel 4.4.1.1) ergaben sich Zusammenhänge zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und anderen einzelnen Carotinoiden sowie den Gesamtcarotinoiden. So konnte eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Plasma-Konzentrationen des Carotinoids und denen von  **$\alpha$ -Carotin** [ $r = 0,463$  ( $p = 0,000$ )],  **$\beta$ -Carotin** [ $r = 0,622$  ( $p = 0,000$ )], **Lutein** [ $r = 0,295$  ( $p = 0,006$ )] und **Zeaxanthin** [ $r = 0,353$  ( $p = 0,001$ )] ermittelt werden. Darüber hinaus fand sich ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und den **Gesamtcarotinoiden** [ $r = 0,668$  ( $p = 0,000$ )] sowie eine Korrelation mit **Folsäure** [ $r = 0,215$  ( $p = 0,048$ )] im Plasma. Zudem zeigte sich zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und **Lycopin** mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,193$

( $p = 0,078$ ) ein Trend zu einer statistisch signifikanten Korrelation. Der Zusammenhang zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und den Gesamtcarotinoiden war vergleichbar mit demjenigen zwischen  $\alpha$ -Carotin und den Gesamtcarotinoiden (siehe Kapitel 4.3.1).

#### 4.4.3.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Im Kollektiv der BIKEI-Studie ergab sich eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Höhe des  $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmaspiegels und der Zufuhr an **Obst (8)** [ $r = 0,346$  ( $p = 0,001$ )] (siehe Abbildung 16) sowie **Obst und Gemüse (8+9)** [ $r = 0,313$  ( $p = 0,004$ )]. Darüber hinaus fand sich ein signifikanter Zusammenhang mit dem Konsum von **alkoholischen Getränken (18)** [ $r = 0,237$  ( $p = 0,030$ )] und ein Trend zu einer inversen, statistisch signifikanten Korrelation mit der Zufuhr an **Fleisch (23)** [ $r = - 0,196$  ( $p = 0,074$ )]. Zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und dem Gemüseverzehr konnte kein signifikanter Zusammenhang ermittelt werden.

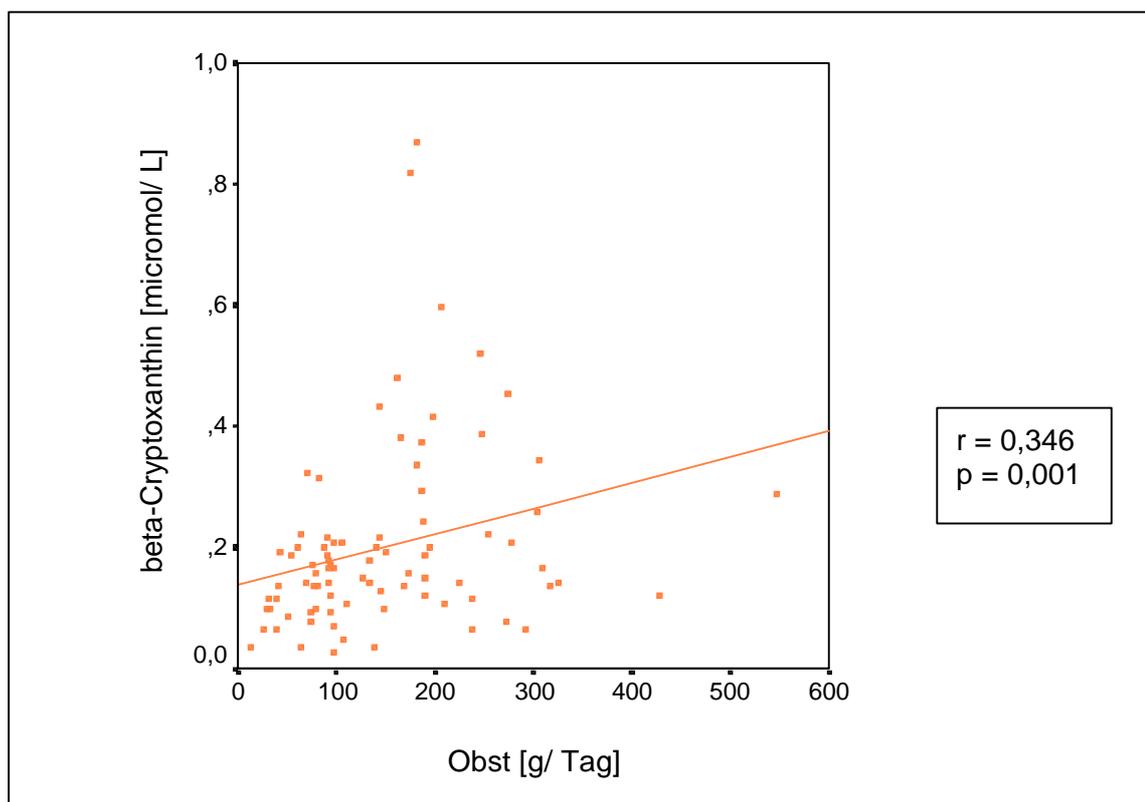


Abbildung 16: Korrelationen zwischen den  $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmaspiegeln und dem Obstverzehr

Von den in Kapitel 2.4.2 aufgeführten potenziellen Confoundern ergaben sich für den **BMI** [ $r = - 0,347$  ( $p = 0,001$ )] sowie den **Körperfettgehalt** [ $r = - 0,346$  ( $p = 0,001$ )] statistisch

hoch signifikante, inverse Einflüsse auf den  $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmaspiegel. Auch signifikante Korrelationen zwischen dem Carotinoid und dem **Alter** [ $r = 0,230$  ( $p = 0,034$ )] sowie dem Konsum von **Alkohol** [ $r = 0,245$  ( $p = 0,025$ )] konnten ermittelt werden. Zudem fand sich ein statistisch signifikanter, inverser Zusammenhang mit dem Plasmaspiegel an **Harnsäure** [ $r = -0,279$  ( $p = 0,010$ )] und ein Trend zu einer signifikanten Korrelation mit dem **Cholesterolspiegel** [ $r = 0,199$  ( $p = 0,067$ )].

Bei der Überprüfung der mittels bivariaten Korrelationen gefundenen Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnten nur wenige der zuvor ermittelten Zusammenhänge bestätigt werden. So ergab sich lediglich zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und dem **Alkoholkonsum** [ $r = 0,274$  ( $p = 0,022$ )] eine statistisch signifikante Korrelation. Daneben konnte mit  $r = -0,307$  ( $p = 0,010$ ) ein signifikant inverser Zusammenhang zwischen dem Carotinoid und dem **Harnsäurespiegel** bestätigt werden. Zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und dem **Obstverzehr** fand sich lediglich ein Trend zu einer statistisch signifikanten Korrelation [ $r = 0,207$  ( $p = 0,086$ )], während ein Zusammenhang mit dem summierten Obst- und Gemüsekonsum nicht bestätigt werden konnte. Auch für den Fleischverzehr, den BMI, den Körperfettgehalt, das Alter und den Cholesterolspiegel fanden sich keine statistisch signifikanten Korrelationen mit dem Carotinoid.

#### 4.4.3.3 Regressionsanalyse

Bei der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss ergab sich ein statistisch signifikanter Einfluss des prozentualen **Körperfett**-Anteils der Probandinnen sowie des **Cholesterols**- und des **Harnsäure**-Spiegels auf die Plasmakonzentrationen an  $\beta$ -Cryptoxanthin. Es konnten keine Einflüsse des Verzehrs von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse sowie anderer potenzieller Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) ermittelt werden. Der standardisierte (korrigierte) Korrelationskoeffizient betrug  $R^2 = 0,108$  für den Körperfett-Gehalt,  $R^2 = 0,211$  für Körperfett-Gehalt und Cholesterolspiegel sowie  $R^2 = 0,269$  für Körperfett-Anteil, Cholesterolspiegel und Harnsäurespiegel. Wie schon bei  $\beta$ -Carotin konnten somit 26,9 % der Varianz des  $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmaspiegels erklärt werden, wenn auch mit anderen erklärenden Variablen). Weitere Werte sind in Tabelle 33 ersichtlich.

Tabelle 33: Beta-Cryptoxanthin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse

	Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		B	SE	Beta		
1	(Konstante)	0,482	0,086		5,167	0,000
	Körperfett-Gehalt [%]	- 0,008	0,003	- 0,344	- 3,282	0,002
2	(Konstante)	0,213	0,113		1,878	0,064
	Körperfett-Gehalt [%]	- 0,010	0,002	- 0,402	- 4,016	0,000
	Cholesterol [mmol/ L]	0,062	0,018	0,339	3,385	0,001
3	(Konstante)	0,280	0,112		2,500	0,014
	Körperfett-Gehalt [%]	- 0,007	0,003	- 0,289	- 2,740	0,008
	Cholesterol [mmol/ L]	0,074	0,018	0,406	4,073	0,000
	Harnsäure [mg/ dl]	- 0,052	0,019	- 0,292	- 2,689	0,009

#### 4.4.4 Lutein

##### 4.4.4.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Zwischen den Gehalten an Lutein und denen von **Folsäure** im Plasma konnte eine statistisch signifikante Korrelation mit  $r = 0,216$  ( $p = 0,047$ ) ermittelt werden. Des weiteren zeigte sich auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen Lutein und den Blutspiegeln von  **$\alpha$ -Carotin** [ $r = 0,522$  ( $p = 0,000$ )],  **$\beta$ -Carotin** [ $r = 0,357$  ( $p = 0,001$ )],  **$\beta$ -Cryptoxanthin** [ $r = 0,295$  ( $p = 0,006$ )] und **Zeaxanthin** [ $r = 0,527$  ( $p = 0,000$ )]. Zu den **Gesamtcarotinoiden** fand sich eine hoch signifikante Korrelation [ $r = 0,516$  ( $p = 0,000$ )], allerdings war diese deutlich geringer als z. B. diejenige zwischen  $\beta$ -Carotin und den Gesamtcarotinoiden (siehe Kapitel 4.3.2). Darüber hinaus ergab sich zwischen Lutein und **Lycopin** mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,209$  ( $p = 0,055$ ) ein Trend zu einem signifikanten Zusammenhang.

##### 4.4.4.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Im Kollektiv der BIKEI-Studie ergab sich zwischen den Plasmaspiegeln an Lutein und der Zufuhr an **Getreide, Nudeln, Reis (2)** ein Trend zu einer statistisch signifikanten Korrelation [ $r = 0,202$  ( $p = 0,066$ )]. Daneben wurden signifikant inverse Korrelationen zum Konsum von **Fleisch (23)** [ $r = - 0,266$  ( $p = 0,014$ )] (siehe Abbildung 17) sowie **Pudding, Quark, Eis (21)** [ $r = - 0,238$  ( $p = 0,029$ )] ermittelt. Des weiteren fand sich ein Trend zu einem inversen, statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen Lutein im Plasma und

der Aufnahme von **Wurst (24)** [ $r = -0,204$  ( $p = 0,063$ )] und **Kuchen, Gebäck (4)** [ $r = -0,190$  ( $p = 0,084$ )]. Zwischen dem Carotinoid und dem Verzehr von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse ergaben sich dagegen keine signifikanten Korrelation.

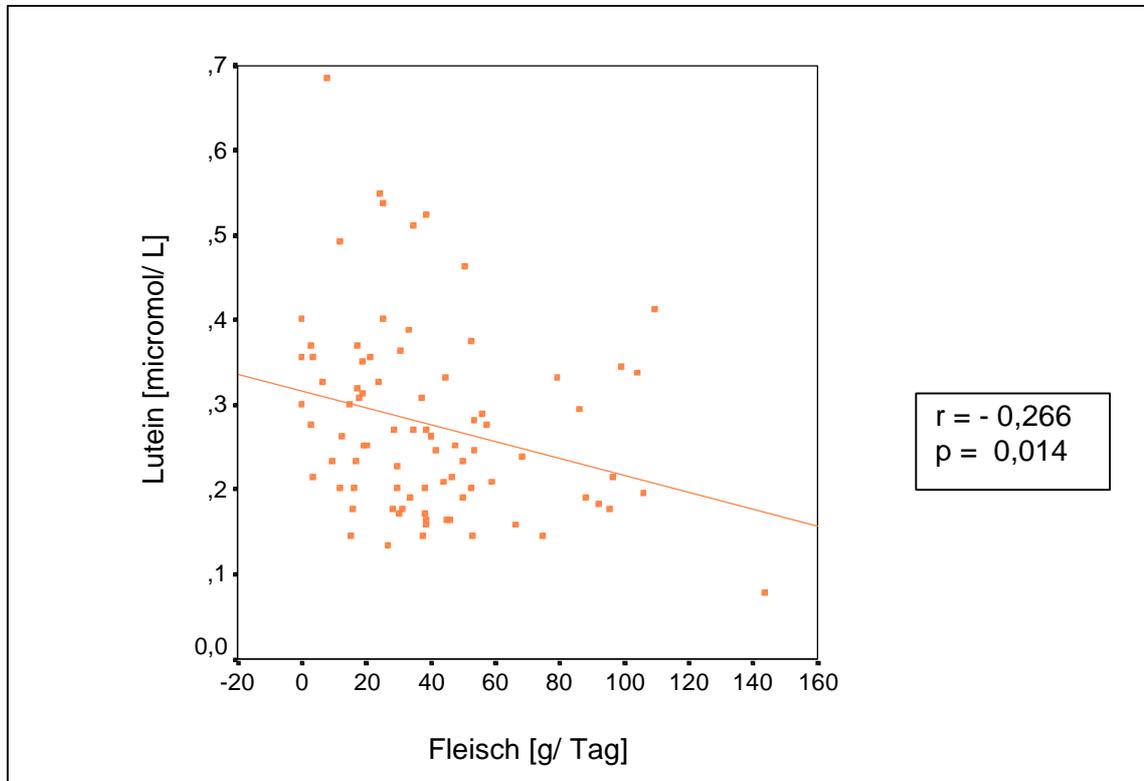


Abbildung 17: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln an Lutein und dem Verzehr von Fleisch

Von den geprüften potenziellen Confoundern (siehe Kapitel 2.4.2) konnten statistisch signifikante Einflüsse des **Alters** [ $r = 0,225$  ( $p = 0,039$ )] sowie des **Cholesterolspiegels** [ $r = 0,111$  ( $p = 0,004$ )] auf den Plasmaspiegel an Lutein ermittelt werden. Darüber hinaus fanden sich statistisch signifikante, inverse Korrelationen zwischen dem Carotinoid und dem **Körperfettgehalt** [ $r = -0,251$  ( $p = 0,022$ )] sowie der **Gesamtenergie-** [ $r = -0,240$  ( $p = 0,028$ )] und der **Fett-Zufuhr** [ $r = -0,274$  ( $p = 0,012$ )]. Zudem ergaben sich Trends zu signifikanten, inversen Zusammenhängen zwischen Lutein und dem **BMI** [ $r = -0,192$  ( $p = 0,082$ )] sowie dem **Harnsäure-Spiegel** [ $r = -0,199$  ( $p = 0,068$ )].

Bei der Überprüfung der mittels bivariater Korrelationen gefundenen Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnte keiner der zuvor festgestellten Zusammenhänge bestätigt werden. So ergaben sich weder für die Lebensmittelgruppen 2 (Getreide, Nudeln, Reis), 4 (Kuchen, Gebäck), 21 (Pudding, Quark, Eis), 23 (Fleisch) und 24 (Wurst) noch für Alter, Cholesterolspiegel, Körperfettgehalt, Gesamtenergie- und Fett-Zufuhr, BMI

sowie Harnsäurespiegel statistisch signifikante Korrelationen mit dem Lutein-Plasmaspiegel.

#### 4.4.4.3 Regressionsanalyse

Die weitergehende Untersuchung der Daten mit Hilfe der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss ergab lediglich einen statistisch signifikanten Einfluss des **Cholesterol**-Spiegels und des **BMI** auf die Plasmakonzentrationen an Lutein. Für den Verzehr von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse sowie andere potenzielle Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) konnten dagegen keine Einflüsse ermittelt werden. Der standardisierte (korrigierte) Korrelationskoeffizient betrug  $R^2 = 0,075$  für den Cholesterol-Spiegel bzw.  $R^2 = 0,173$  für den Cholesterol-Spiegel und den BMI. Es konnten also 17,3 % der Varianz der Lutein-Plasmakonzentration durch den Cholesterolspiegel und den BMI erklärt werden. Weitere Werte sind der nachfolgenden Tabelle 34 zu entnehmen.

Tabelle 34: Lutein: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse

	Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		B	SE	Beta		
1	(Konstante)	0,079	0,073		1,095	0,277
	Cholesterol [mmol/ L]	0,039	0,014	0,293	2,745	0,007
2	(Konstante)	0,244	0,085		2,851	0,006
	Cholesterol [mmol/ L]	0,048	0,014	0,366	3,534	0,001
	BMI [kg/ m <sup>2</sup> ]	- 0,008	0,003	- 0,335	- 3,242	0,002

#### 4.4.5 Zeaxanthin

##### 4.4.5.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Auch zwischen den Spiegeln von Zeaxanthin und anderen Carotinoiden (mit Ausnahme von Lycopin) sowie den Gesamtcarotinoiden ergaben sich Zusammenhänge. So konnten zwischen den Plasma-Spiegeln an Zeaxanthin und den Konzentrationen an **α-Carotin** [ $r = 0,368$  ( $p = 0,001$ )], **β-Carotin** [ $r = 0,352$  ( $p = 0,001$ )], **β-Cryptoxanthin** [ $r = 0,353$  ( $p = 0,001$ )] und **Lutein** [ $r = 0,527$  ( $p = 0,000$ )] hoch signifikante Korrelationen ermittelt werden. Darüber hinaus fand sich ein hoch signifikanter statistischer Zusammenhang zwischen dem Carotinoid und den **Gesamtcarotinoiden** [ $r = 0,426$  ( $p = 0,000$ )]. Dieser war deutlich schwächer ausgeprägt als z. B. derjenige zwischen α-Carotin und den

Gesamtcarotinoiden (siehe Kapitel 4.3.1), jedoch mit der Korrelation zwischen Lutein und den Gesamtcarotinoiden vergleichbar.

#### 4.4.5.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Es konnte lediglich eine inverse, statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Zeaxanthin-Plasmaspiegel und dem Konsum von **Pizza, Zwiebelkuchen (3)** ermittelt werden [ $r = -0,288$  ( $p = 0,008$ )]. Zu Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse sowie allen anderen Lebensmittelgruppen ergaben sich keine statistisch signifikanten Zusammenhänge.

Von den in Kapitel 2.4.2 aufgeführten potenziellen Confoundern fand sich lediglich für den **Cholesterol**-Plasmaspiegel [ $r = 0,436$  ( $p = 0,000$ )] ein statistisch hoch signifikanter Einfluss auf die Zeaxanthin-Konzentration im Blut. Zudem konnte für die **Gesamtenergie**aufnahme ein Trend zu einer statistisch signifikanten, inversen Korrelation mit dem Carotinoid ermittelt werden [ $r = -0,187$  ( $p = 0,089$ )]. Für alle anderen potenziellen Einfluss- oder Störgrößen konnte kein signifikanter Einfluss auf den Zeaxanthin-Plasmaspiegel nachgewiesen werden.

Bei der Überprüfung der mittels bivariater Korrelationen gefundenen Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnte lediglich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Zeaxanthin und dem **Cholesterol**spiegel [ $r = 0,265$  ( $p = 0,027$ )] bestätigt werden. Für die Lebensmittelgruppe 3 (Pizza, Zwiebelkuchen) und die Gesamtenergieaufnahme ergaben sich keine signifikanten Korrelationen mit dem Carotinoid.

#### 4.4.5.3 Regressionsanalyse

Im Rahmen der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss ergab sich ausschließlich ein statistisch signifikanter Einfluss des **Cholesterol**spiegels auf die Zeaxanthin-Plasmaspiegel. Dabei betrug der standardisierte (korrigierte) Korrelationskoeffizient zudem nur  $R^2 = 0,054$ , d. h., lediglich 5,4 % der Varianz des Zeaxanthin-Plasmaspiegels konnten durch den Cholesterolspiegel erklärt werden. Für den Verzehr von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse sowie andere potenzielle Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) konnten keine Einflüsse ermittelt werden. Weitere Werte sind in Tabelle 35 ersichtlich.

Tabelle 35: Zeaxanthin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse

	Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		B	SE	Beta		
1	(Konstante)	- 18,62	9,441		- 1,972	0,052
	Cholesterol [mmol/ L]	4,304	1,831	0,254	2,359	0,021

#### 4.4.6 Lycopin

##### 4.4.6.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Zwischen den Blutspiegeln an Lycopin und denjenigen von  **$\beta$ -Carotin** [ $r = 0,242$  ( $p = 0,025$ )] sowie den **Gesamtcarotinoiden** [ $r = 0,333$  ( $p = 0,002$ )] ergaben sich statistisch signifikante Zusammenhänge. Dabei war die Korrelation mit den Gesamtcarotinoiden bei Lycopin geringer als bei allen anderen betrachteten Carotinoiden. Darüber hinaus fand sich zwischen dem Carotinoid und **Lutein** [ $r = 0,209$  ( $p = 0,055$ )] sowie  **$\beta$ -Cryptoxanthin** [ $r = 0,193$  ( $p = 0,078$ )] ein Trend zu einem signifikanten Zusammenhang.

##### 4.4.6.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Für die Plasmaspiegel an Lycopin konnte lediglich eine statistisch hoch signifikante Korrelation mit der Zufuhr von **Getreide, Nudeln, Reis (2)** ermittelt werden [ $r = 0,385$  ( $p = 0,000$ )] (siehe Abbildung 18). Zu Obst, Gemüse sowie Obst und Gemüse sowie allen anderen Lebensmittelgruppen ergaben sich keine statistisch signifikanten Zusammenhänge.

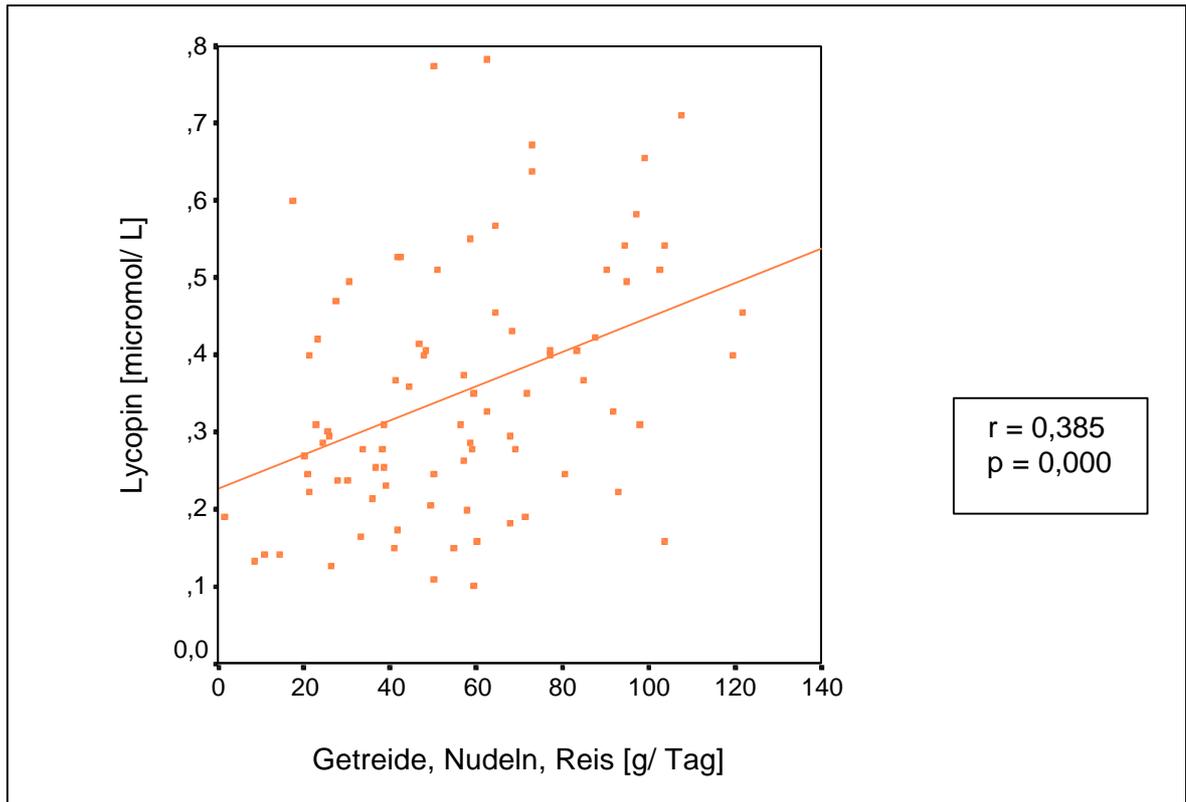


Abbildung 18: Korrelationen zwischen den Lycopin-Konzentrationen im Plasma und dem Verzehr von Getreide, Nudeln, Reis (Lebensmittelgruppe 2)

Von den geprüften potenziellen Confoundern (siehe Kapitel 2.4.2) fand sich für den **Körperfettgehalt** [ $r = -0,192$  ( $p = 0,082$ )], den **BMI** [ $r = -0,191$  ( $p = 0,084$ )] sowie das **Alter** [ $r = -0,185$  ( $p = 0,089$ )] ein Trend zu einem statistisch signifikanten, inversen Einfluss auf den Lycopin-Plasmaspiegel. Außerdem ergab sich ein Trend zu einer signifikant positiven Korrelation zwischen dem Carotinoid und dem Konsum von **Alkohol** [ $r = 0,188$  ( $p = 0,087$ )].

Bei der Überprüfung der mittels bivariater Korrelationen gefundenen Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Lycopin und dem Konsum von **Alkohol** [ $r = 0,272$  ( $p = 0,022$ )] sowie eine signifikant inverse Korrelation zwischen dem Carotinoid und dem **Alter** [ $r = -0,305$  ( $p = 0,010$ )] bestätigt werden. Für die Lebensmittelgruppe 2 (Getreide, Nudeln, Reis) sowie den BMI und den Körperfettgehalt konnten die zuvor ermittelten Korrelationen mit dem Lycopin-Plasmaspiegel nicht bestätigt werden.

### 4.4.6.3 Regressionsanalyse

Bei der weiteren Datenanalyse mittels multipler linearer Regression mit schrittweisem Ausschluss konnte ausschließlich ein statistisch signifikanter (inverser) Einfluss des **Alters** der Probandinnen auf die Plasmaspiegel an Lycopin ermittelt werden. Der standardisierte (korrigierte) Korrelationskoeffizient betrug zudem nur  $R^2 = 0,039$ , so dass nicht mehr als 3,9 % der Varianz des Lycopin-Plasmaspiegels durch das Alter erklärt werden konnten. Für den Verzehr von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse sowie andere potenzielle Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) ergaben sich keine signifikanten Einflüsse. Weitere Werte sind der nachfolgenden Tabelle 36 zu entnehmen.

Tabelle 36: Lycopin: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse

	Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		B	SE	Beta		
1	(Konstante)	0,580	0,110		5,253	0,000
	Alter [Jahren]	- 0,006	0,003	- 0,226	- 2,079	0,041

### 4.4.7 Gesamtcarotinoide

Im Folgenden sollen die Plasmaspiegel der sechs untersuchten Carotinoide ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Zeaxanthin und Lycopin) zusammengefasst als Gesamtcarotinoid-Plasma-Konzentration betrachtet werden.

#### 4.4.7.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Es ergab sich eine statistisch signifikante Korrelation mit  $r = 0,294$  ( $p = 0,006$ ) zwischen der Gesamtcarotinoid-Konzentration und dem **Folsäure**-Spiegel im Plasma. Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln geschildert, bestanden zwischen den Gesamtcarotinoid-Konzentrationen im Plasma und den einzelnen Carotinoiden ebenfalls statistisch signifikante Zusammenhänge<sup>18</sup>.

<sup>18</sup> So konnten signifikante Korrelationen zwischen den Gesamtcarotinoiden im Plasma und  $\alpha$ -Carotin [ $r = 0,763$  ( $p = 0,000$ )],  $\beta$ -Carotin [ $r = 0,959$  ( $p = 0,000$ )],  $\beta$ -Cryptoxanthin [ $r = 0,668$  ( $p = 0,000$ )], Lutein [ $r = 0,516$  ( $p = 0,000$ )], Zeaxanthin [ $r = 0,426$  ( $p = 0,000$ )] sowie Lycopin [ $r = 0,333$  ( $p = 0,002$ )] ermittelt werden.

#### 4.4.7.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Es konnte eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Höhe der Gesamtcarotinoid-Konzentration im Plasma und dem Verzehr von **Obst (8)** [ $r = 0,367$  ( $p = 0,001$ )] sowie von **Obst und Gemüse (8+9)** [ $r = 0,328$  ( $p = 0,002$ )] (siehe Abbildung 19) ermittelt werden. Zwischen den Plasmaspiegeln der Gesamtcarotinoide und dem Gemüseverzehr fand sich dagegen kein signifikanter Zusammenhang. Weiterhin ergab sich eine inverse, statistisch signifikante Korrelation [ $r = -0,292$  ( $p = 0,007$ )] mit der Höhe des Verzehrs von **Fleisch (23)** sowie ein positiver Zusammenhang mit der Aufnahme von **Nüssen (12)** [ $r = 0,216$  ( $p = 0,049$ )].

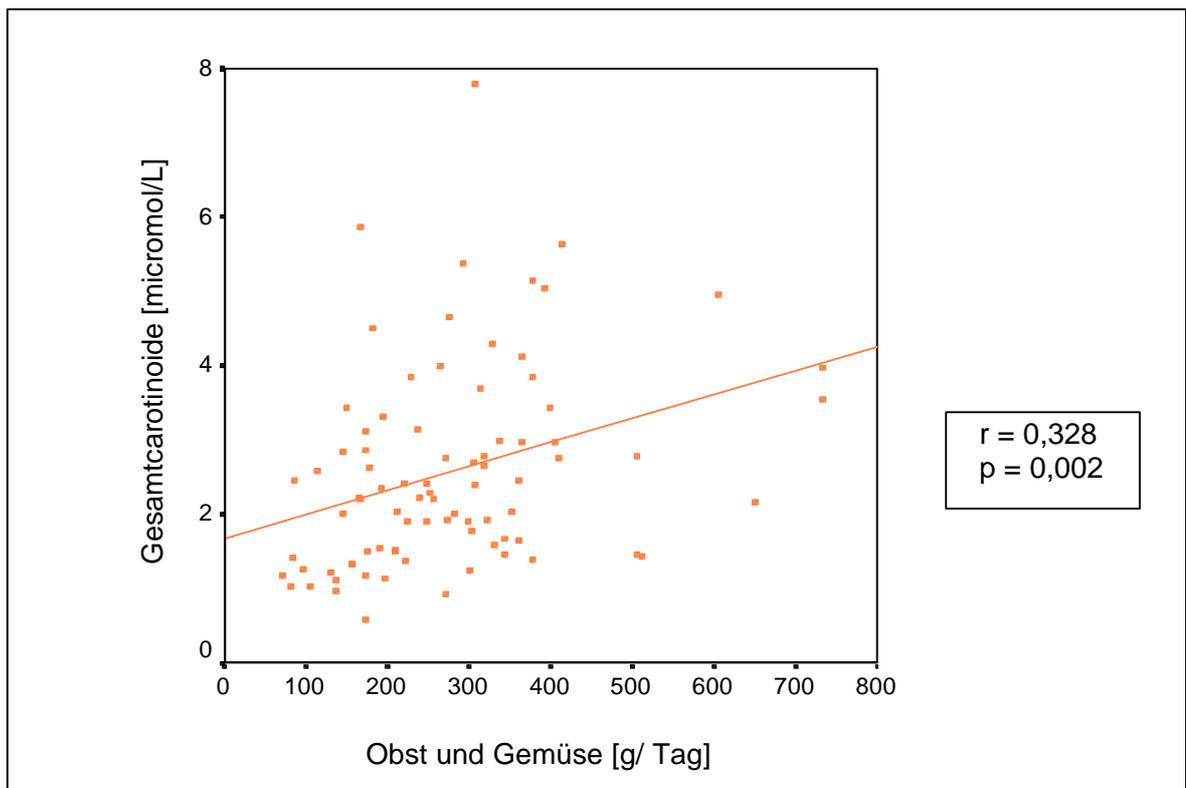


Abbildung 19: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln der Gesamt-Carotinoide und dem Obst- sowie Gemüseverzehr

Von den in Kapitel 2.4.2 aufgeführten potenziellen Confoundern konnten statistisch hoch signifikante, inverse Einflüsse des **BMI** [ $r = -0,377$  ( $p = 0,000$ )] und des **Körperfettgehalts** [ $r = -0,390$  ( $p = 0,000$ )] auf den Plasmaspiegel der Gesamtcarotinoide ermittelt werden. Des weiteren fanden sich statistisch signifikante Korrelationen zwischen den Gesamtcarotinoiden und dem **Cholesterol**-Spiegel [ $r = 0,203$  ( $p = 0,007$ )] sowie

signifikant inverse Einflüsse der **Triglycerid-** [ $r = -0,213$  ( $p = 0,050$ )] und **Harnsäure-** Konzentrationen im Blut [ $r = -0,235$  ( $p = 0,030$ )].

Bei der Überprüfung der mittels bivariater Korrelationen gefundenen Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den Gesamt-Carotinoiden und dem **Cholesterolspiegel** [ $r = 0,237$  ( $p = 0,020$ )] sowie der Zufuhr von **Obst** [ $r = 0,305$  ( $p = 0,010$ )] bestätigt werden. Darüber hinaus fand sich ein Trend zu einer signifikanten Korrelation mit der Zufuhr an **Obst und Gemüse** [ $r = 0,223$  ( $p = 0,063$ )]. Für die Lebensmittelgruppen 12 und 23 (siehe Kapitel 10.5) sowie für BMI, Körperfettgehalt, Triglycerid- und Harnsäure-Spiegel konnten keine signifikanten Zusammenhänge mit den Plasmakonzentrationen der Gesamtcarotinoide ermittelt werden.

#### 4.4.7.3 Regressionsanalyse

Die weitergehende Untersuchung der Daten mit Hilfe der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss ergab einen statistisch signifikanten (inversen) Einfluss des prozentualen **Körperfett**-Anteils der Probandinnen sowie einen positiven Einfluss des **Cholesterolspiegels** und des **Obstverzehrs** auf die Plasmakonzentrationen der Gesamtcarotinoide. Dabei betrug der standardisierte (korrigierte) Korrelationskoeffizient für den Körperfett-Gehalt  $R^2 = 0,139$ , für Körperfett-Anteil und Cholesterol-Spiegel  $R^2 = 0,255$  sowie für Körperfett-Gehalt, Cholesterol-Spiegel und Obst-Verzehr  $R^2 = 0,327$ . Die Varianz der Plasmaspiegel der Gesamtcarotinoide ließ sich somit zu 32,7 % durch die genannten Einflussvariablen erklären. Für den Verzehr von Gemüse bzw. Obst und Gemüse sowie andere potenzielle Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) konnten keine Einflüsse ermittelt werden. Weitere Werte sind der nachfolgenden Tabelle 37 zu entnehmen.

Tabelle 37: Gesamtcarotinoide: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse

	Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		B	SE	Beta		
1	(Konstante)	5,300	0,735		7,211	0,000
	Körperfett-Gehalt [%]	- 0,083	0,022	- 0,387	- 3,752	0,000
2	(Konstante)	2,833	0,960		2,950	0,004
	Körperfett-Gehalt [%]	- 0,096	0,021	- 0,448	- 4,598	0,000
	Cholesterol [mmol/ L]	0,569	0,155	0,356	3,661	0,000
3	(Konstante)	1,791	0,972		1,842	0,069
	Körperfett-Gehalt [%]	- 0,083	0,020	- 0,387	- 4,099	0,000
	Cholesterol [ $\mu$ mol/ L]	0,572	0,148	0,358	3,875	0,000
	Obst [g/ Tag]	0,004	0,001	0,288	3,088	0,003

#### 4.4.8 Ascorbinsäure

##### 4.4.8.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Im Gesamtkollektiv ergaben sich keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen der Höhe der Ascorbinsäure-Konzentration im Plasma und allen anderen untersuchten Parametern.

##### 4.4.8.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Es fand sich keine Korrelation zwischen Vitamin C und dem Verzehr von Obst, Gemüse oder Obst und Gemüse. Lediglich ein Trend zu einem inversen, statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen den Vitamin C-Plasmaspiegeln und dem Konsum von **Kartoffeln, Kartoffelprodukten (11)** [ $r = - 0,200$  ( $p = 0,068$ )] konnte ermittelt werden. Bei der Überprüfung mittels partieller Korrelation konnte dieser allerdings nicht bestätigt werden. Zu allen anderen Lebensmittelgruppen sowie den geprüften potenziellen Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) ergaben sich keine statistisch signifikanten Zusammenhänge.

##### 4.4.8.3 Regressionsanalyse

Bei der Datenanalyse mittels multipler linearer Regression mit schrittweisem Ausschluss ergab sich ausschließlich ein statistisch signifikanter (inverser) Einfluss des **BMI** auf die Plasmaspiegel an Ascorbinsäure. Der dabei ermittelte standardisierte (korrigierte)

Korrelationskoeffizient betrug zudem nur  $R^2 = 0,051$ , so dass lediglich 5,1 % der Varianz der Ascorbinsäure-Plasmaspiegel durch den BMI erklärt werden können. Für den Verzehr von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse sowie andere potenzielle Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) konnten keine Einflüsse ermittelt werden. Weitere Werte sind Tabelle 38 zu entnehmen.

Tabelle 38: Ascorbinsäure: Weitere Ergebnisse der Regressionsanalyse

	Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		B	SE	Beta		
1	(Konstante)	2,888	0,417		6,932	0,000
	BMI [kg/ m <sup>2</sup> ]	- 0,038	0,016	- 0,251	- 2,315	0,023

#### 4.4.9 Folsäure

##### 4.4.9.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Im Gesamtkollektiv ergab sich zwischen der Folsäurekonzentration im Plasma und der in den Erythrozyten ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang mit  $r = 0,644$  ( $p = 0,000$ ). Außerdem konnte eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Plasma-Folsäure-Konzentration und den Spiegeln an  **$\beta$ -Carotin** [ $r = 0,350$  ( $p = 0,001$ )],  **$\beta$ -Cryptoxanthin** [ $r = 0,215$  ( $p = 0,048$ )] und **Lutein** [ $r = 0,216$  ( $p = 0,047$ )] ermittelt werden. Darüber hinaus ergab sich hier auch ein statistisch signifikanter Zusammenhang zum **Gesamt-Carotinoid-Spiegel** im Plasma mit  $r = 0,294$  ( $p = 0,006$ ). Im Gesamtkollektiv wurde zudem eine inverse, statistisch hoch signifikante Korrelation [ $r = - 0,353$  ( $p = 0,001$ )] zwischen den Folsäuregehalten im Erythrozyten und dem **Homocysteinspiegel** gefunden.

##### 4.4.9.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Im Kollektiv der BIKEI-Studie konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den Plasma-Gehalten an Folsäure und der Aufnahme von **Getreide, Nudeln, Reis (2)** [ $r = 0,257$  ( $p = 0,018$ )] sowie **Fisch (22)** [ $r = 0,244$  ( $p = 0,025$ )] ermittelt werden. Daneben ergab sich ein Trend zu einer signifikant inversen Korrelation mit dem Konsum von **Kaffee, Tee (17)** [ $r = - 0,187$  ( $p = 0,059$ )] und **Hülsenfrüchten (10)** [ $r = - 0,193$  ( $p = 0,079$ )]. Weiterhin fand sich ein Trend zu einem statistisch signifikanten

Zusammenhang zwischen den Folsäuregehalten in den Erythrozyten und der Zufuhr von **alkoholischen Getränken (18)** [ $r = 0,192$  ( $p = 0,088$ )]. Zwischen dem Verzehr von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse und dem Folsäurespiegel in Plasma oder Erythrozyten konnten keine signifikanten Korrelationen ermittelt werden. Auch die in Kapitel 2.4.2 aufgeführten potenziellen Einfluss- und/ oder Störgrößen hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Plasma- oder Erythrozyten-Spiegel an Folsäure.

Bei der Überprüfung der mittels bivariater Korrelationen gefundenen statistisch signifikanten Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnten lediglich diejenigen zwischen Plasma-Folsäure und den Lebensmittelgruppen 2 (**Getreide, Nudeln, Reis**; siehe Abbildung 20) [ $r = 0,264$  ( $p = 0,028$ )] sowie 22 (**Fisch**) [ $r = 0,239$  ( $p = 0,049$ )] bestätigt werden. Die zuvor ermittelten Trends zu signifikanten Zusammenhängen zwischen Plasma-Folsäure und den Lebensmittelgruppen 17 (Kaffee, Tee) und 10 (Hülsenfrüchte) sowie zwischen Erythrozyten-Folsäure und der Lebensmittelgruppe 18 (alkoholische Getränke) fanden dagegen keine Bestätigung.

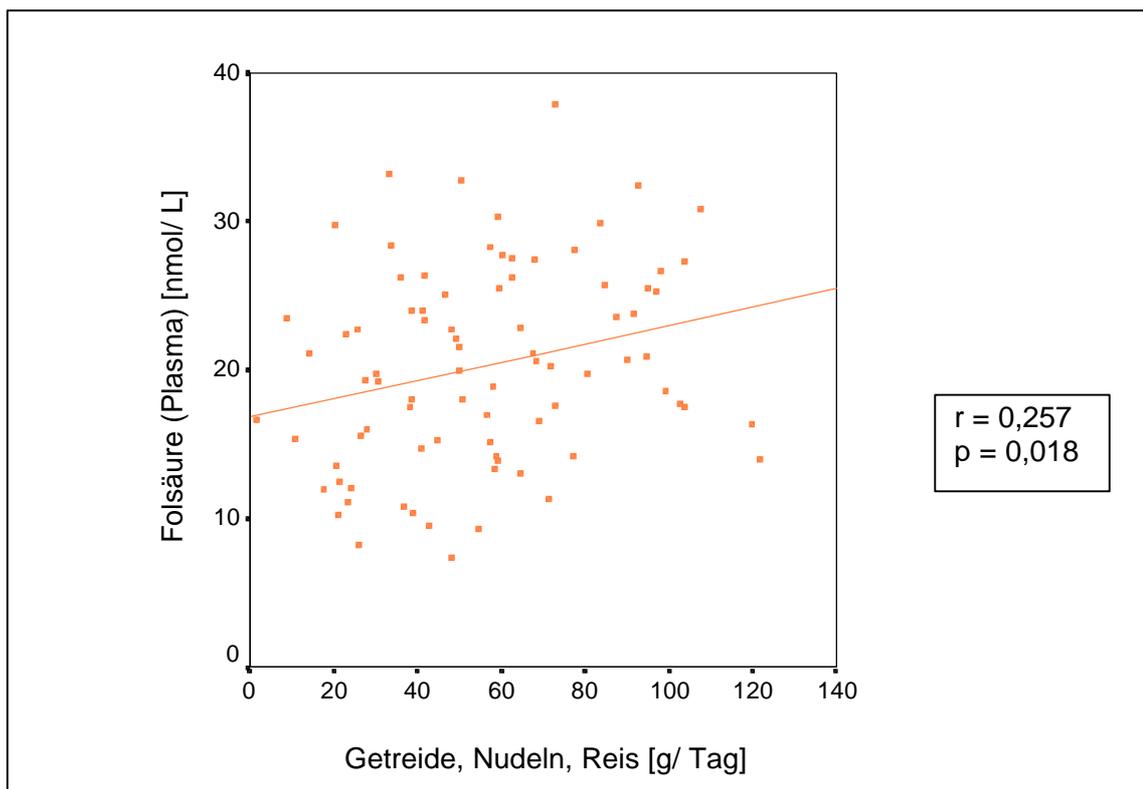


Abbildung 20: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln an Folsäure und dem Verzehr von Getreide, Nudeln, Reis (Lebensmittelgruppe 2)

### 4.4.9.3 Regressionsanalyse

Bei der weiteren Datenanalyse mit Hilfe der multiplen linearen Regression konnten weder für Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse noch für andere Lebensmittelgruppen oder potenzielle Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) statistisch signifikante Einflüsse auf die Folsäure-Konzentrationen in Plasma / Erythrozyten ermittelt werden.

## 4.4.10 Homocystein

### 4.4.10.1 Korrelationen zu anderen potenziellen Markern

Im Gesamtkollektiv ergab sich zwischen der Höhe des Homocystein-Spiegels im Plasma und der **Folsäure**-Konzentration im Erythrozyten ein inverser, statistisch hoch signifikanter Zusammenhang mit  $r = -0,353$  ( $p = 0,001$ ). Zu Plasma-Folsäure und allen anderen potenziellen Markern konnten keine Korrelationen ermittelt werden.

### 4.4.10.2 Korrelationen mit der Aufnahme von Lebensmitteln sowie potenziellen Einfluss- und Störgrößen

Im BIKEI-Kollektiv konnte mit  $r = -0,202$  ( $p = 0,066$ ) ein Trend zu einem statistisch signifikanten, inversen Zusammenhang zwischen dem Plasma-Homocystein-Spiegel und der Zufuhr von **Wurst (24)** ermittelt werden. Ein weiterer Trend ergab sich zu einer statistisch signifikanten Korrelation zur Aufnahme von **Fetten, Ölen (19)** [ $r = 0,203$  ( $p = 0,064$ )] (siehe Abbildung 21). Darüber hinaus fand sich eine signifikant negative Korrelation mit der Aufnahme von **Ei, Eigerichten (7)** [ $r = -0,227$  ( $p = 0,038$ )]. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Homocystein und dem Verzehr von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse konnte nicht ermittelt werden. Auch die in Kapitel 2.4.2 aufgeführten Einfluss- und/ oder Störgrößen hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Aminosäure.

Im Rahmen der Überprüfung der mittels bivariater Korrelationen gefundenen statistisch signifikanten Zusammenhänge mit Hilfe der partiellen Korrelation konnte der zuvor ermittelte Trend zu einem inversen Zusammenhang zwischen dem Homocystein-Spiegel und der Zufuhr von Lebensmittelgruppe 24 (**Wurst**) bestätigt werden [ $r = -0,241$  ( $p = 0,055$ )]. Der Trend zu einer signifikanten Korrelation zwischen Homocystein und Lebensmittelgruppe 19 (Fette, Öle) sowie der signifikante Zusammenhang mit der Lebensmittelgruppe 7 (Ei, Eigerichte) fanden dagegen keine Bestätigung.

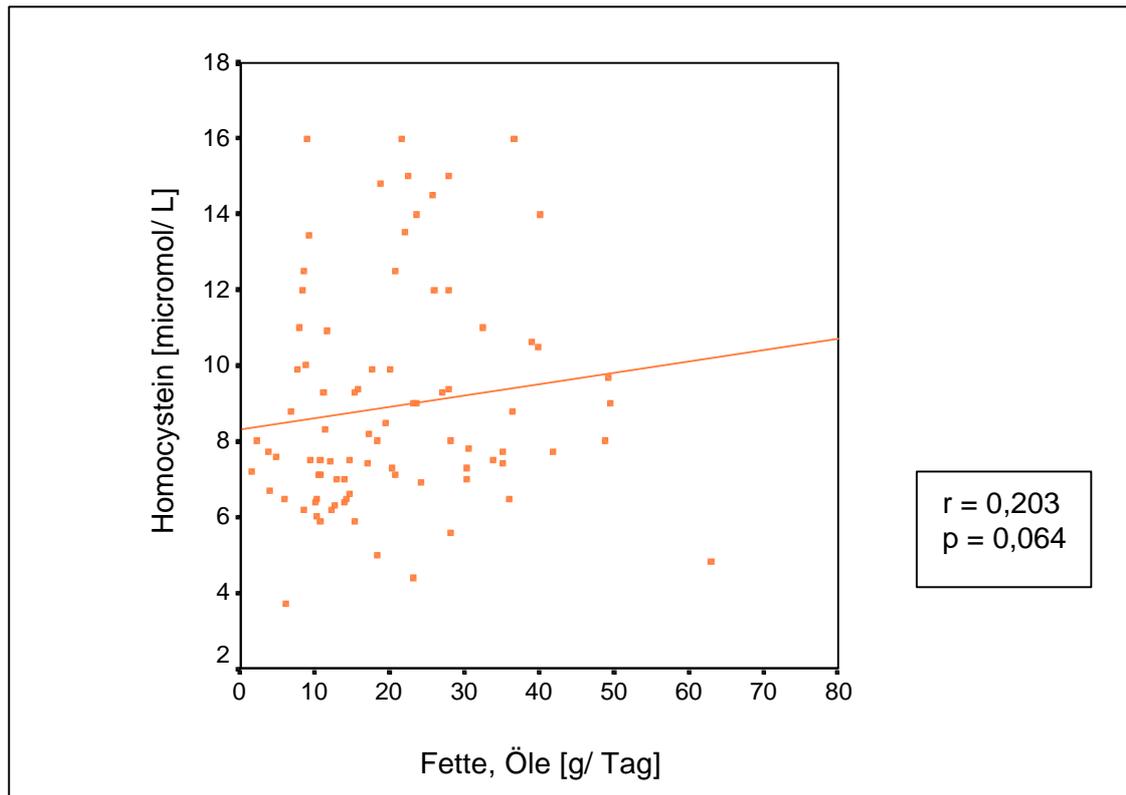


Abbildung 21: Korrelationen zwischen den Plasmaspiegeln an Homocystein und dem Verzehr von Fetten, Ölen (Lebensmittelgruppe 19)

#### 4.4.10.3 Regressionsanalyse

Im Rahmen der Datenanalyse mittels multipler linearer Regression konnten weder für Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse noch für andere Lebensmittelgruppen oder potenzielle Einfluss- und/ oder Störgrößen (siehe Kapitel 2.4.2) statistisch signifikante Einflüsse auf die Homocystein-Konzentration im Plasma ermittelt werden.

Tabelle 39: Korrelationen zwischen den potenziellen Biomarkern und möglichen Einfluss- und/ oder Störgrößen [signifikante Zusammenhänge ( $p < 0,05$ ) sind fett gedruckt]

Biomarker Potenzielle Einfluss- und Störgrößen	$\alpha$ -Carotin [ $\mu\text{mol/L}$ ]	$\beta$ -Carotin [ $\mu\text{mol/L}$ ]	$\beta$ -Cryptoxanthin [ $\mu\text{mol/L}$ ]	Lutein [ $\mu\text{mol/L}$ ]	Zeaxanthin [ $\mu\text{mol/L}$ ]	Lycopin [ $\mu\text{mol/L}$ ]
Alter [Jahren]	$r = 0,149$ ( $p = 0,175$ )	$r = 0,090$ ( $p = 0,208$ )	<b><math>r = 0,230</math> (<math>p = 0,034</math>)</b>	<b><math>r = 0,225</math> (<math>p = 0,039</math>)</b>	$r = 0,001$ ( $p = 0,990$ )	$r = -0,185$ ( $p = 0,089$ )
BMI [ $\text{kg/m}^2$ ]	$r = -0,202$ ( $p = 0,069$ )	<b><math>r = -0,349</math> (<math>p = 0,001</math>)</b>	<b><math>r = -0,347</math> (<math>p = 0,001</math>)</b>	$r = -0,192$ ( $p = 0,082$ )	$r = -0,002$ ( $p = 0,989$ )	$r = -0,191$ ( $p = 0,084$ )
Körperfettgehalt [%]	<b><math>r = -0,315</math> (<math>p = 0,004</math>)</b>	<b><math>r = -0,335</math> (<math>p = 0,001</math>)</b>	<b><math>r = -0,346</math> (<math>p = 0,001</math>)</b>	<b><math>r = -0,251</math> (<math>p = 0,022</math>)</b>	$r = -0,063$ ( $p = 0,573$ )	$r = -0,192$ ( $p = 0,082$ )
Alkohol [g/ Tag]	$r = -0,032$ ( $p = 0,772$ )	$r = 0,098$ ( $p = 0,187$ )	<b><math>r = 0,245</math> (<math>p = 0,025</math>)</b>	$r = 0,145$ ( $p = 0,187$ )	$r = 0,102$ ( $p = 0,357$ )	$r = 0,188$ ( $p = 0,087$ )
Ballaststoffe [g/ Tag]	<b><math>r = 0,260</math> (<math>p = 0,018</math>)</b>	$r = 0,047$ ( $p = 0,334$ )	$r = 0,114$ ( $p = 0,300$ )	$r = -0,027$ ( $p = 0,810$ )	$r = -0,157$ ( $p = 0,153$ )	$r = -0,100$ ( $p = 0,364$ )
Cholesterol [mmol/ L]	$r = 0,143$ ( $p = 0,193$ )	<b><math>r = 0,166</math> (<math>p = 0,014</math>)</b>	$r = 0,199$ ( $p = 0,067$ )	<b><math>r = 0,111</math> (<math>p = 0,004</math>)</b>	<b><math>r = 0,436</math> (<math>p = 0,000</math>)</b>	$r = 0,173$ ( $p = 0,112$ )
Triglyceride [mg/ dl]	$r = -0,110$ ( $p = 0,320$ )	<b><math>r = -0,229</math> (<math>p = 0,018</math>)</b>	$r = -0,155$ ( $p = 0,156$ )	$r = -0,100$ ( $p = 0,365$ )	$r = -0,086$ ( $p = 0,432$ )	$r = -0,120$ ( $p = 0,272$ )
Harnsäure [mg/ dl]	<b><math>r = -0,280</math> (<math>p = 0,010</math>)</b>	$r = -0,158$ ( $p = 0,074$ )	<b><math>r = -0,279</math> (<math>p = 0,010</math>)</b>	$r = -0,199$ ( $p = 0,068$ )	$r = -0,096$ ( $p = 0,380$ )	$r = -0,084$ ( $p = 0,445$ )
Gesamtenergie [kJ/ Tag]	$r = -0,075$ ( $p = 0,503$ )	$r = -0,092$ ( $p = 0,203$ )	$r = -0,024$ ( $p = 0,829$ )	<b><math>r = -0,240</math> (<math>p = 0,028</math>)</b>	$r = -0,187$ ( $p = 0,089$ )	$r = -0,084$ ( $p = 0,449$ )
Fett [g/ Tag]	$r = -0,086$ ( $p = 0,441$ )	$r = -0,046$ ( $p = 0,339$ )	$r = -0,038$ ( $p = 0,734$ )	<b><math>r = -0,274</math> (<math>p = 0,012</math>)</b>	$r = -0,139$ ( $p = 0,209$ )	$r = -0,020$ ( $p = 0,855$ )
Rauchen [Zigaretten/ Tag]	$r = -0,146$ ( $p = 0,184$ )	$r = -0,166$ ( $p = 0,129$ )	$r = -0,167$ ( $p = 0,127$ )	$r = -0,038$ ( $p = 0,729$ )	$r = 0,046$ ( $p = 0,678$ )	$r = -0,063$ ( $p = 0,565$ )
Obst [g/ Tag]	<b><math>r = 0,393</math> (<math>p = 0,000</math>)</b>	<b><math>r = 0,365</math> (<math>p = 0,000</math>)</b>	<b><math>r = 0,346</math> (<math>p = 0,001</math>)</b>	$r = 0,169$ ( $p = 0,125$ )	$r = 0,056$ ( $p = 0,615$ )	$r = -0,060$ ( $p = 0,588$ )
Gemüse [g/ Tag]	<b><math>r = 0,241</math> (<math>p = 0,028</math>)</b>	$r = 0,145$ ( $p = 0,094$ )	$r = 0,127$ ( $p = 0,251$ )	$r = 0,032$ ( $p = 0,774$ )	$r = 0,100$ ( $p = 0,366$ )	$r = -0,003$ ( $p = 0,979$ )
Obst-, Gemüse [g/ Tag]	<b><math>r = 0,410</math> (<math>p = 0,000</math>)</b>	<b><math>r = 0,332</math> (<math>p = 0,001</math>)</b>	<b><math>r = 0,313</math> (<math>p = 0,004</math>)</b>	$r = 0,135$ ( $p = 0,220$ )	$r = 0,103$ ( $p = 0,352$ )	$r = -0,044$ ( $p = 0,692$ )

Tabelle 39: Fortsetzung

<b>Biomarker</b> <b>Potenzielle</b> <b>Einfluss- und Störgrößen</b>	<b>Gesamtcarioinoide</b> <b>[μmol/L]</b>	<b>Ascorbinsäure</b> <b>[μmol/L]</b>	<b>Folsäure (Plasma)</b> <b>[μmol/L]</b>	<b>Folsäure (Ery)</b> <b>[μmol/L]</b>	<b>Homocystein</b> <b>[μmol/L]</b>
Alter [Jahren]	r = 0,134 (p = 0,223)	r = 0,043 (p = 0,695)	r = 0,031 (p = 0,777)	r = 0,129 (p = 0,251)	r = 0,182 (p = 0,095)
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	<b>r = - 0,377 (p = 0,000)</b>	r = - 0,046 (p = 0,683)	r = - 0,045 (p = 0,686)	r = 0,098 (p = 0,389)	r = 0,062 (p = 0,577)
Körperfettgehalt [%]	<b>r = - 0,390 (p = 0,000)</b>	r = - 0,012 (p = 0,914)	r = - 0,096 (p = 0,390)	r = 0,048 (p = 0,675)	r = 0,005 (p = 0,965)
Alkohol [g/ Tag]	r = 0,126 (p = 0,255)	r = 0,165 (p = 0,135)	r = 0,159 (p = 0,150)	r = 0,100 (p = 0,379)	r = 0,124 (p = 0,260)
Ballaststoffe [g/ Tag]	r = 0,047 (p = 0,671)	r = 0,091 (p = 0,408)	r = - 0,001 (p = 0,996)	r = - 0,055 (p = 0,629)	r = 0,035 (p = 0,753)
Cholesterol [mmol/ L]	<b>r = 0,203 (p = 0,007)</b>	r = - 0,134 (p = 0,221)	r = - 0,067 (p = 0,541)	r = - 0,111 (p = 0,325)	r = 0,011 (p = 0,920)
Triglyceride [mg/ dl]	r = - 0,213 (p = 0,050)	r = - 0,118 (p = 0,283)	r = - 0,015 (p = 0,890)	r = 0,041 (p = 0,714)	r = 0,057 (p = 0,603)
Harnsäure [mg/ dl]	<b>r = - 0,235 (p = 0,030)</b>	r = - 0,025 (p = 0,823)	r = 0,062 (p = 0,575)	r = 0,088 (p = 0,432)	r = 0,084 (p = 0,446)
Gesamtenergie [kJ/ Tag]	r = - 0,133 (p = 0,227)	r = - 0,047 (p = 0,669)	r = 0,024 (p = 0,829)	r = - 0,036 (p = 0,749)	r = - 0,038 (p = 0,733)
Fett [g/ Tag]	r = - 0,095 (p = 0,391)	r = - 0,165 (p = 0,135)	r = 0,038 (p = 0,730)	r = - 0,040 (p = 0,726)	r = - 0,058 (p = 0,599)
Rauchen [Zigaretten/ Tag]	r = - 0,151 (p = 0,166)	r = - 0,178 (p = 0,104)	r = 0,016 (p = 0,884)	r = - 0,101 (p = 0,369)	r = 0,010 (p = 0,928)
Obst [g/ Tag]	<b>r = 0,367 (p = 0,001)</b>	r = 0,149 (p = 0,177)	r = 0,174 (p = 0,113)	r = 0,064 (p = 0,574)	r = 0,063 (p = 0,571)
Gemüse [g/ Tag]	r = 0,134 (p = 0,225)	r = 0,080 (p = 0,471)	r = - 0,078 (p = 0,482)	r = 0,047 (p = 0,680)	r = 0,089 (p = 0,422)
Obst-, Gemüse [g/ Tag]	<b>r = 0,328 (p = 0,002)</b>	r = 0,077 (p = 0,488)	r = 0,083 (p = 0,453)	r = 0,069 (p = 0,542)	r = 0,104 (p = 0,347)

## 5 DISKUSSION

Aus vielfältigen epidemiologischen Studien ist bekannt, dass Obst und Gemüse im Hinblick auf verschiedene Erkrankungen (z. B. Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes mellitus, Krebs) protektiv wirken [Smith-Warner 2000, Sun et al. 2002, Bazzano et al. 2002]. Dies ist einerseits dadurch zu erklären, dass im Rahmen einer obst- und gemüsebetonten Ernährung im Allgemeinen weniger vom Tier stammende Lebensmittel und damit z. B. weniger Fett aufgenommen wird. Außerdem sind Obst und Gemüse bekanntermaßen reich an Vitaminen, Mineral- und Ballaststoffen sowie sekundären Pflanzenstoffen. Gerade die letztgenannte Substanzgruppe trägt wesentlich zu den protektiven Eigenschaften dieser Lebensmittel-Gruppe bei, beispielsweise durch ihre antioxidative und antibakterielle Aktivität, die Stimulierung des Immunsystems, die Reduktion des Blutdrucks und die Modulation von entgiftenden Enzymen [Lampe 1999].

Vor dem Hintergrund der krankheitspräventiven Wirkungen von Obst und Gemüse empfehlen verschiedene nationale und internationale Gremien, z. B. im „5-a-day“-Programm, täglich mindestens fünf Portionen Obst und Gemüse (etwa 600 g/ Tag in Form von 3 Portionen Gemüse und 2 Portionen Obst) zu verzehren. Dabei kann zwischen frisch geerntetem oder tiefgefrorenem Obst und Gemüse, sowie solchem aus dem Glas bzw. aus der Dose und Trockenfrüchten, Frucht- und Gemüsesäften gewählt werden. In der Praxis werden diese Empfehlungen jedoch von der überwiegenden Mehrzahl der Menschen nicht erreicht, wobei sich die Situation bei jungen Männern am kritischsten darstellt [DGE et al. 2000].

### Fragebögen versus Biomarker

Um beispielsweise im Rahmen von Studien, in der Ernährungsberatung oder in der ärztlichen Praxis festzustellen, wieviel Obst und Gemüse eine Person zu sich nimmt, wird mit verschiedenen Ernährungserhebungsmethoden gearbeitet. In der Regel kommen Ernährungstagebücher zum Einsatz, die über einen definierten Zeitraum von meist wenigen Tagen das Protokollieren der verzehrten Lebensmittel, z. B. in Form einer Strichliste, ermöglichen [Willett 1998]. Darüber hinaus werden vereinzelt auch noch andere Methoden angewendet; beispielsweise Wiege- und Schätzprotokolle [Oltersdorf 1995, S. 170] sowie Erinnerungsprotokolle und Verzehrshäufigkeitsfragebögen, mit deren Hilfe retrospektiv versucht wird, den Lebensmittelkonsum zu erfassen [Schneider und Hesecker 2003, S. 369]. Problematisch bei der Erfassung des Ernährungsmusters mit Hilfe von Fragebögen ist, dass die Bögen oftmals unterschiedlich konzipiert sind. In der

Mehrzahl der Fälle sind sie nicht „genormt“ und validiert; viele Untersucher verwenden eigene, selbst entwickelte Fragebögen ohne Überprüfung, ob die ermittelten Werte den tatsächlichen Gegebenheiten nahe kommen. Hinzu kommt, dass verschiedene Erhebungsinstrumente unterschiedliche Portionsgrößen verwenden und die Auswertung bzw. die Auswertesoftware meist differiert. So liegen den Computerprogrammen zur Nährwertberechnung verschiedene Lebensmitteldatenbanken zu Grunde, die sich beispielsweise in der Anzahl der Lebensmittel und Inhaltsstoffe unterscheiden<sup>19</sup> (die Anzahl der Daten kann je nach Datenbank zwischen 30 und 300 Nähr- und Inhaltsstoffen für jedes enthaltene Lebensmittel variieren) [Faustin und Ellrott 2003, S. 380]. Die Lebensmitteldatenbanken basieren wiederum auf unterschiedlichen Quellen; in Deutschland ist dies meist der Bundeslebensmittelschlüssel (BLS). Dieser besteht aus etwa 12.000 Lebensmitteleinträgen mit Angaben zu ca. 160 Lebensmittelinhaltsstoffen [Faustin und Ellrott 2003, S. 380]. Einige Nährstoffe, wie z. B. Selen, sind nicht im BLS enthalten, sie werden in manchen Softwareprogrammen durch andere Datenbanken (z. B. Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank, SFK) ergänzt [Souci et al. 2000].

Ein weiteres grundsätzliches Problem besteht darin, dass Ernährungsfragebögen oftmals mehr oder minder grob strukturiert sind. So wird beispielsweise häufig nicht zwischen rohen und gekochten Lebensmitteln unterschieden. Fragebögen können zudem auf Grund der im Allgemeinen nur kurzen Erhebungszeiträume lediglich ein momentanes Bild der Situation wiedergeben, sowohl saisonale (z. B. Sommer - Winter) als auch tagesspezifische Unterschiede (z. B. Werktag – Wochenende, Feiertag) können kaum oder gar nicht berücksichtigt werden [Schneider und Hesecker 2003, S. 368]. Beim Einsatz von Fragebögen/ Ernährungsprotokollen kommt es außerdem häufig zu einer Unterschätzung der Lebensmittel- und damit der Energie- und Nährstoffaufnahme [Sahyoun 1992, Pao und Cypel 1990, Witschi 1990]. So gehen Pudal und Westenhöfer [1998, S. 290] von einer Unterschätzung der Energie- und Nährstoffzufuhr um mindestens 20 % aus. Die Ursache hierfür ist zum einen in veränderten Ernährungsgewohnheiten auf Grund der Protokollführung (reaktives Verfahren) zu sehen. Bereits durch Beobachtung bzw. Selbstbeobachtung verändert sich die Ernährungsweise und zwar umso stärker, je aufwendiger die eingesetzte Methode für den Teilnehmer ist [Schneider und Hesecker 2003, S. 368, Faustin und Ellrott 2003, S. 379]. Weiterhin erfolgt die Protokollführung teilweise unvollständig oder die verzehrten Mengen werden nicht richtig eingeschätzt (*information bias*) [Hesecker et al. 1994a, S. 9]. In der Literatur wird dieses Phänomen als

---

<sup>19</sup> Beispielsweise sind in deutschen Lebensmitteldatenbanken und Nährwerttabellen außer  $\beta$ -Carotin keine weiteren Carotinoidgehalte ausgewiesen [Pelz et al. 1998].

„*underreporting*“ oder auch „*underestimating*“ bezeichnet [Lichtman et al. 1992, Prentice et al. 1989]. Daneben besteht beim Einsatz von Fragebögen umgekehrt auch die Gefahr eines „*overreporting*“. So konnten vielfältige Untersuchungen zeigen, dass Probanden ihren Lebensmittelverzehr umso höher einschätzten, je länger beispielsweise die zur Auswahl stehende Liste mit Nahrungsmitteln einer Lebensmittelgruppe (z. B. viele verschiedene Gemüsearten) war<sup>20</sup> [Kaaks et al. 1997]. Problematisch ist auch die Erfassung des Außer-Haus-Verzehrs (z. B. Gastronomie, Kantinen) mittels Fragebögen, da hier weder die genauen Portionsgrößen bekannt sind, noch die eingesetzten Zutaten. Auch die mangelnde Compliance der Probanden/ Patienten, die nach einiger Zeit des Protokollierens „ermüden“ und nicht mehr alles, was sie tatsächlich und insbesondere „spontan“ essen, notieren, stellt oftmals ein Problem dar [Schneider 1997]. Im schlimmsten Fall wird die Erfassung durch den Probanden/ Patienten abgebrochen. Um die Schwierigkeiten zumindest teilweise zu umgehen, werden häufig retrospektive Ernährungsfragebögen eingesetzt. Sie haben den Vorteil, dass sie nach dem vergangenen Verzehr fragen, der nicht mehr verändert werden kann. Der Nachteil hierbei ist jedoch, dass sich die Patienten/ Probanden häufig nicht mehr an alles erinnern können, was sie gestern, vorgestern oder letzte Woche gegessen haben: die Erfassung wird also ungenauer [Sichert et al. 1984, Schneider 1997].

Um die geschilderten Probleme bei der Verwendung von Ernährungsfragebögen zu vermeiden, wäre der Einsatz von Biomarkern zur Bestimmung des individuellen Obst- und Gemüseverzehrs sinnvoll. Sie könnten in leicht zugänglichen Körperflüssigkeiten (z. B. Blut, Urin) gemessen werden und objektivere, zuverlässigere sowie präzisere Angaben über den tatsächlichen Konsum bestimmter Lebensmittel wie Obst und Gemüse liefern als Ernährungsfragebögen [Kaaks 1997, Wild et al. 2001], da weder ein Interviewer noch der Proband selbst die Ergebnisse beeinflussen können. Der Einsatz von Biomarkern im Rahmen von epidemiologischen Studien hat anderen Methoden gegenüber zudem klare Vorteile im Hinblick auf Genauigkeit und Geschwindigkeit sowie z. T. auch hinsichtlich der Wirtschaftlichkeit.

Eine wesentliche Voraussetzung für die Verwendung von Biomarkern ist allerdings zunächst die Identifizierung potenzieller Markersubstanzen sowie die Überprüfung ihrer

---

<sup>20</sup> Um dieses Problem zu umgehen, wurde in dem im Rahmen der BIKEI-Studie verwendeten FFQ (siehe Kapitel 3.3.5) zunächst immer nach der Verzehrshäufigkeit der verschiedenen Lebensmittel gefragt (z. B. „esse ich gar nicht“, „nicht den den letzten 4 Wochen“, „1 Mal im Monat“, „2 Mal am Tag“ etc.) und im Anschluss daran nach der jeweiligen Portionsgröße.

Eignung. Dazu ist es notwendig, zu evaluieren, ob aus theoretischen Erwägungen geeignete Substanzen unter Praxisbedingungen tatsächlich den Konsum von Obst und Gemüse repräsentieren. Hierbei bieten sich grundsätzlich unterschiedliche Vorgehensweisen an. Zum einen wäre es denkbar, in Form einer klinischen Interventions-Studie unter abgeschlossenen Bedingungen eine definierte Menge an Obst und Gemüse an Probanden zu verabreichen und die Auswirkungen dieser „Behandlung“ auf die denkbaren Biomarker zu überprüfen. Da solche Marker aber den langfristigen Konsum von Obst und Gemüse widerspiegeln sollen, würde dies einen langen, mehrmonatigen Interventionszeitraum erfordern. Während dieser Zeit müsste außerdem sichergestellt werden, dass die Probanden tatsächlich immer die jeweiligen Obst- und Gemüsemengen verzehren. Eine derartige Evaluation von Biomarkern ist aus praktischen Erwägungen nicht möglich. Alternativ bietet sich das in dieser Arbeit herangezogenen Verfahren an, den Obst- und Gemüsekonsum von „freilebenden“ Probanden zu erfassen und parallel die potenziellen Biomarker zu bestimmen. Auf Grund der eingangs geschilderten Probleme bei der Ermittlung des Lebensmittel-Verzehrs erfordert dies aber die Verwendung eines Instrumentes, das eine langfristige Erfassung ermöglicht, valide ist und mit vertretbarem Aufwand vom Probanden geführt werden kann. Diese Bedingungen werden von dem in unserer Studie herangezogenen Nahrungsfrequenz-Fragebogen (FFQ; siehe Kapitel 3.3.5) erfüllt. Das Erhebungsinstrument wurde bereits in verschiedenen Studien eingesetzt und vom Deutschen Institut für Ernährungsforschung (Dife), Potsdam, validiert<sup>21</sup>.

### **Die Probandinnen der BIKEI-Studie**

Bei dem in dieser Arbeit untersuchten Kollektiv handelte es sich um Frauen, die eine überdurchschnittlich hohe Schulbildung aufwiesen. Dies ist nicht überraschend, denn auch aus anderen Untersuchungen ist bekannt, dass die Bereitschaft zu einer freiwilligen Studienteilnahme sowie zu Befragungen positiv mit dem Bildungsstand korreliert [Gritschneider et al. 1998].

Dennoch war die für die Fragestellung in erster Linie relevante Aufnahme von Obst und Gemüse mit durchschnittlich 134 g bzw. 107 g pro Tag niedriger als im aktuellen Bundes-

---

<sup>21</sup> Detaillierte Informationen zur Validierung und Reproduzierbarkeit des Fragebogens finden sich bei Bohlscheid-Thomas et al. [1997a und b] sowie Boeing et al. [1997].

Ernährungssurvey (166 g Obst und 148 g Gemüse/ Tag in der vergleichbaren Altersgruppe). Die Daten dieser nationalen Untersuchung wurden von Oktober 1997 bis März 1999 im Rahmen des Bundes-Gesundheitssurveys erhoben und stellen gegenwärtig die aktuellste Informationsquelle zur Lebensmittel- und Nährstoffaufnahme der erwachsenen Bevölkerung in Deutschland dar<sup>22</sup>. Insgesamt war die Lebensmittel- und Nährstoffzufuhr des BIKEI-Kollektivs aber im großen und ganzen mit den Ergebnissen des Bundes-Ernährungssurveys vergleichbar.

### **Biomarker des Obst- und Gemüsekonsums**

Als mögliche Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse kommen potenziell verschiedene Substanzen in Frage, während andere schon aus theoretischen Erwägungen wenig geeignet erscheinen. So boten sich für die BIKEI-Studie auf Grund ihres relativ ubiquitären Vorkommens in Pflanzen bzw. Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft insbesondere die Vitamine Ascorbinsäure und Folsäure sowie Carotinoide an. Neben diesen direkt in Obst und Gemüse vorkommenden Substanzen schien außerdem die nicht-proteinogene Aminosäure Homocystein als mögliche indirekte Markersubstanz geeignet. Bislang ist allerdings keine eindeutige Aussage dazu möglich, ob sich aus den Blutspiegeln dieser Substanzen auf den Konsum von Obst und Gemüse rückschließen lässt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte daher der Fragestellung nachgegangen werden, ob die ausgewählten Substanzen als Biomarker des Obst- und Gemüsekonsums geeignet sind.

Wie bereits in Kapitel 3 geschildert, sind die hier präsentierten Daten Teil einer größeren Studie: der Heidelberger BIKEI-Studie. Insgesamt 85 anamnestisch gesunde Frauen nahmen an der randomisierten, prospektiven Untersuchung im Wartegruppen-Design teil. Dabei fanden sich zum einen statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen den einzelnen potenziellen Biomarkern, so beispielsweise zwischen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin [ $r = 0,711$  ( $p = 0,000$ )] sowie zwischen dem Folsäuregehalt in den Erythrozyten und dem Homocysteinspiegel [ $r = -0,353$  ( $p = 0,001$ )]. Darüber hinaus korrelierten  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin sowie die Gesamt-Carotinoide signifikant mit der Aufnahme von Obst und Gemüse (geschätzt mit Hilfe eines validierten FFQ), wobei der Korrelationskoeffizient mit  $r = 0,410$  [ $p = 0,000$ ] bei  $\alpha$ -Carotin am höchsten ausgeprägt

---

<sup>22</sup> Weiterführende Hintergrundinformationen zum Bundes-Gesundheits- und Ernährungssurvey finden sich bei Bellach et al. [1998], Mensink et al. [1998] sowie Robert Koch Institut [2002].

war. Für die anderen Carotinoide (Lutein, Zeaxanthin, Lycopin) sowie für Ascorbinsäure, Folsäure und Homocystein ergaben sich keine Zusammenhänge mit dem Obst- und/ oder Gemüseverzehr.

Die gefundenen bivariaten Korrelationen alleine erlauben allerdings nur eine eingeschränkte Aussage, weil die dabei ermittelten Zusammenhänge keine kausalen Beziehungen widerspiegeln müssen, sondern durch zahlreiche andere Faktoren („*Confounder*“) beeinflusst werden können. Aus diesem Grund wurden die gefundenen Korrelationen in der vorliegenden Arbeit weitergehend analysiert, um Scheinkorrelationen ausschließen zu können, was in anderen Studien in der Vergangenheit überwiegend nicht der Fall war.

Um den Einfluss möglicher Confounder – zumindest weitgehend - auszuschließen, können verschiedene Methoden angewendet werden [Hoffmann 1994, Schneider 1997, S. 230 ff.]:

- **Restriktion** (beispielsweise Ausschluss bestimmter Erkrankungen)
- **Interpretation** (Schätzung des Effekts eines Confounders)
- **Stratifizierung** (Analyse definierter Teilkollektive)
- **Multivariate Analysen** (multiple Regressionsanalysen)
- **Matchen** (identische Verteilung der Störgrößen in allen Teilkollektiven)
- **Adjustierung** (Elimination des Einflusses der Störgröße auf die Zielvariable mit Hilfe mathematischer Verfahren).

Im Rahmen der BIKEI-Studie erfolgte über die Festlegung der Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Kapitel 3.2.1) zunächst eine Restriktion. So wurden beispielsweise von vornherein Frauen mit bestimmten Erkrankungen, die einen Einfluss auf die Spiegel der Markersubstanzen nehmen könnten (z. B. chronische gastrointestinale, entzündliche, kardiovaskuläre oder maligne Erkrankungen), von einer Studienteilnahme ausgeschlossen. Die Methoden Matchen und Stratifizieren wurden nicht angewandt, da sie nur möglich sind, wenn zwei oder mehr Gruppen - beispielsweise im Rahmen von Interventionen oder klinischen Studien - miteinander verglichen werden sollen. Dies war bei der vorliegenden Studie nicht der Fall, da das Gesamtkollektiv betrachtet wurde. Die Interpretation der Effekte von Confoundern und damit deren „Herausrechnen“ bot sich ebenfalls nicht an, da nicht alle möglichen Confounder bekannt sind und aus der Literatur vor allem keine quantitativen Aussagen zu deren Einfluss zu ermitteln waren. Eine Adjustierung, beispielsweise der Carotinoid-Spiegel an den BMI

oder die Fettzufuhr, erfolgte nicht. Zwar finden sich in der Literatur teilweise Studienergebnisse, in denen die Plasma-Carotinoid-Konzentrationen an die Cholesterol- oder auch an die Triglyceridwerte adjustiert wurden, da Lipoproteine als Carrier der Carotinoide im Blut dienen [Clevidence und Bieri 1993] und ein Anstieg des Lipoproteinspiegels sich deshalb auch in erhöhten Carotinoidkonzentrationen niederschlagen könnte [siehe z. B. Weststrate und van het Hof 1995, Noakes et al. 2002]. Im Rahmen der BIKEI-Studie wurde jedoch auf eine Lipidadjustierung verzichtet, da bei der Mehrzahl der Carotinoide keine oder nur sehr schwache und damit wenig aussagekräftige Korrelationen zu Cholesterol gefunden wurden. Eine Ausnahme stellte Zeaxanthin dar, dessen Spiegel hoch signifikant mit dem Cholesterol-Spiegel assoziiert war [ $r = 0,436$  ( $p = 0,000$ )]. Da es jedoch nur in marginalen Dosen aufgenommen wird, wurde eine Adjustierung als wenig sinnvoll erachtet. Auch auf eine Adjustierung an die Triglyceride wurde verzichtet. Hier ergaben sich nur vereinzelt schwache, und in der Richtung uneinheitliche Korrelationen.

Die Einflüsse möglicher Confounder auf die gefundenen Zusammenhänge zwischen den potenziellen Biomarkern und der Aufnahme von Obst und Gemüse wurden in der vorliegenden Arbeit mittels multipler Regressionsanalysen näher untersucht.

### **Studien zu Zusammenhängen zwischen der Aufnahme von Obst und/ oder Gemüse und den potenziellen Biomarkern**

Insgesamt gibt es nur eine geringe Anzahl an Studien, in denen überhaupt Beziehungen zwischen potenziellen Biomarkern und dem Konsum von Obst und/ oder Gemüse untersucht wurden. Dabei sind im Wesentlichen vier (Schwach-)Punkte festzustellen:

- Die Studien dienten überwiegend dazu, einen Anstieg des Obst- und Gemüsekonsums qualitativ zu dokumentieren, nicht aber der im Sinne der vorliegenden Arbeit formulierten Fragestellung, quantitative Rückschlüsse zu ziehen.
- Es wurden meist Zusammenhänge mit der Aufnahme der jeweiligen Substanz (Nährstoffebene) untersucht, nicht mit derjenigen von Obst und Gemüse (Lebensmittelebene).
- In den wenigen Studien, die sich mit Beziehungen zwischen potenziellen Biomarkern und dem Konsum von Obst und/ oder Gemüse beschäftigten, wurden fast ausnahmslos einfache Korrelations-Analysen durchgeführt. Eine weitergehende Analyse der Daten zur Ermittlung von Scheinkorrelationen erfolgte in der Regel nicht.

- Potenzielle Confounder wurden auch sonst nicht oder nur unzureichend berücksichtigt.

So hatten bisherige Untersuchungen zu den in dieser Arbeit betrachteten Substanzen meist andere Zielsetzungen: Es finden sich vor allem Interventions-Studien, in deren Verlauf der Konsum von Obst und Gemüse aus den unterschiedlichsten Intentionen (z. B. Therapie der Adipositas, Prävention von Erkrankungen) erhöht werden sollte. Dabei galt es beispielsweise, den erhöhten Obst- und Gemüseverzehr durch einen Anstieg von Carotinoid-Werten oder anderen Markern zu „beweisen“ [u. a. Le Marchand et al. 1994, Yeum et al. 1996, Zino et al. 1997, Broekmans et al. 2000, Rock et al. 2001, Bernstein et al. 2002]. Ein vergleichbares Vorgehen wurde auch in der BIKEI-Studie gewählt, in der belegt werden sollte, dass Ernährungsberatungsmaßnahmen zu einem verstärkten Konsum dieser Lebensmittel führen. Dabei war beabsichtigt, die Aufnahme von Obst und Gemüse nicht alleine durch (subjektive) Befragungen der Studienteilnehmerinnen zu erfassen, sondern eine (objektive) Überprüfung anhand von Biomarkern vorzunehmen. Hierfür war es allerdings notwendig, den Einsatz der Biomarker zunächst zu validieren, das heisst zu überprüfen, ob diese Marker tatsächlich im Wesentlichen durch den Konsum von Obst und Gemüse bestimmt oder vielmehr durch andere Faktoren determiniert werden. Eine solche Validierung ist in den bisher durchgeführten Studien praktisch nicht geschehen. Aus diesem Grund sind Aussagen zur Steigerung des Obst- und Gemüsekonsums nur bedingt möglich, vor allem können keine *quantitativen* Beziehungen ermittelt werden.

Daneben hatten die bisher publizierten Studien nur sehr vereinzelt das Ziel, Zusammenhänge zwischen (potenziellen) Biomarkern und der Zufuhr von Obst und/ oder Gemüse zu untersuchen. Sofern Beziehungen zu Blutspiegeln an bestimmten Stoffen ermittelt wurden, dann praktisch immer in Abhängigkeit von der geschätzten<sup>23</sup> Aufnahme der jeweiligen Substanz, nicht der Lebensmittel an sich [beispielsweise Sinha et al. 1992, Enger et al. 1995, Michaud et al. 1998, Palli et al. 1999, McEligot et al. 1999a, Neuhouser et al. 2001].

---

<sup>23</sup> Wie vorab erwähnt (siehe S. 123ff.), bereitet schon die Erfassung des Lebensmittelkonsums zahlreiche Probleme und ist nur mit validierten Methoden (wie dem in dieser Arbeit verwendeten FFQ) sinnvoll möglich. Berücksichtigt man die geringe Zahl und die Unterschiedlichkeit der bislang vorliegenden Daten zum Gehalt von z. B. Carotinoiden in Obst und Gemüse, so lässt sich ermesen, dass diese Art der Korrelation, also zur *Aufnahme* der jeweiligen Substanz, zwangsweise zu noch grösseren Fehlern führt.

Insgesamt liegt das Problem der bisherigen Studien also darin, dass es nicht möglich ist, aus den in Blut gemessenen Biomarkern auf die Höhe des Verzehrs von Obst und Gemüse zu schließen. An dieser Stelle setzt die vorliegende Arbeit an. Nachfolgend sollen die in Kapitel 4.4 dargestellten Ergebnisse für die einzelnen Biomarker diskutiert werden, um zu klären, inwieweit diese geeignet sind, um quantitative Aussagen zum Obst- und Gemüsekonsum zu machen.

### **$\alpha$ -Carotin**

Erwartungsgemäß ergaben sich statistisch signifikante Korrelationen zwischen dem Spiegel an  $\alpha$ -Carotin und dem der anderen Carotinoide<sup>24</sup>. Die gefundenen Zusammenhänge sind nicht überraschend, da Carotinoide weitgehend in den gleichen Lebensmitteln vorkommen. Lediglich zu Lycopin, das überwiegend in Tomaten und Tomatenprodukten enthalten ist, fand sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

Wie in Kapitel 4.4.1 dargestellt, ergaben sich zudem signifikante Korrelationen zwischen den  $\alpha$ -Carotin-Plasmaspiegeln und der Zufuhr an **Obst** [ $r = 0,393$  ( $p = 0,000$ )] sowie **Gemüse** [ $r = 0,241$  ( $p = 0,028$ )]. Darüber hinaus fand sich von allen untersuchten Substanzen für  $\alpha$ -Carotin mit  $r = 0,410$  ( $p = 0,000$ ) die höchste statistisch signifikante Korrelation mit der summierten Aufnahme von **Obst und Gemüse**<sup>25</sup>. Dies steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Studien, beispielsweise von Andersen [1999], der zu der Schlussfolgerung kommt, dass Plasma- $\alpha$ -Carotin (neben den Gesamt-Carotinoiden) besser als andere Carotinoide als biologischer Marker für die Aufnahme von Obst und Gemüse geeignet ist. Allerdings müssen gemäß dem Autor viele Einflussfaktoren berücksichtigt werden, wenn Carotinoide als Biomarker verwendet werden sollen. Zudem scheinen gemittelte Werte von verschiedenen Messungen besser als Marker für den Langzeit-Status geeignet als einzelne Messungen. Auch McEligot et al. [1996b] konnten zeigen, dass die  $\alpha$ -Carotin-Serumkonzentrationen signifikant mit der Aufnahme von Obst und Gemüse korrelierten. Die Autoren untersuchten 63 Frauen im Alter von 31-70 Jahren aus der WHEL-Studie (*Women's Healthy Eating and Living*), die im Zeitraum von 4 Jahren vor Studienbeginn eine Brustkrebs-Diagnose hatten. Bei Tucker

---

<sup>24</sup>  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Zeaxanthin und Gesamt-Carotinoide.

<sup>25</sup> Wie in Kapitel 4.4 dargestellt, ergaben sich für die verschiedenen potenziellen Biomarker vereinzelt weitere Korrelationen zu anderen Lebensmittelgruppen. Diese sind jedoch im Hinblick auf die Fragestellung der Arbeit nicht von Bedeutung, so dass sie nicht näher beleuchtet werden sollen.

et al. [1999], die im Rahmen der *Framingham Heart Study* 346 Frauen im Alter von 67-93 Jahren untersuchten, ergab sich ebenfalls ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen  $\alpha$ -Carotin und der Obst- sowie Gemüsezufuhr, allerdings war der Korrelationskoeffizient niedriger als bei uns ( $r = 0,33$ ). Demgegenüber fanden Campbell et al. [1994] in einer Studie mit 50 männlichen und 49 weiblichen Probanden im Alter von 18-37 Jahren signifikante Zusammenhänge zwischen  $\alpha$ -Carotin und dem Obst- sowie Gemüseverzehr, die deutlich stärker als bei uns ausfielen ( $r = 0,58$  für Obst bzw.  $r = 0,50$  für Gemüse). Auch hier wies  $\alpha$ -Carotin von allen Carotinoiden die höchsten Korrelationen auf.

Die im Rahmen der bivariaten Korrelation gefundenen Zusammenhänge erlauben allerdings noch keinen Rückschluss, ob sich  $\alpha$ -Carotin wirklich als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse eignet. Um potenzielle Scheinkorrelationen ausschließen zu können, wurde daher nachfolgend für alle im Rahmen der BIKEI-Studie gefundenen signifikanten Zusammenhänge eine partielle Korrelation durchgeführt. Dabei konnte keine der zuvor gefundenen signifikanten Korrelationen zwischen  $\alpha$ -Carotin und Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse bestätigt werden<sup>26</sup>. Dies deutet darauf hin, dass es sich bei allen im Fall von  $\alpha$ -Carotin zuvor ermittelten signifikanten Zusammenhängen, so auch bei denjenigen zwischen  $\alpha$ -Carotin und der summierten Obst- und Gemüsezufuhr, lediglich um Scheinkorrelationen handelt und  $\alpha$ -Carotin – trotz der zunächst vielversprechenden Ergebnisse – in unserem Studienkollektiv nicht als Biomarker für den Konsum von Obst und/ oder Gemüse geeignet ist.

Im Rahmen der multiplen Regressionsanalyse mit schrittweisem Ausschluss wurde ein signifikanter Einfluss des Obstverzehrs sowie des prozentualen Körperfettanteils auf den  $\alpha$ -Carotin-Plasmaspiegel ermittelt. Allerdings waren die dabei ermittelten standardisierten Korrelationskoeffizienten nur sehr gering. So konnte die Varianz der  $\alpha$ -Carotinspiegel im Plasma lediglich zu 10,3 % durch den alleinigen Konsum von Obst und zu 15,7 % durch Obstverzehr und den prozentualen Körperfettanteil erklärt werden. Das bedeutet, dass die „black box“ sehr groß ist und viele andere, unbekannte Faktoren einen Einfluss auf den  $\alpha$ -Carotinspiegel haben. Auch vor diesem Hintergrund erwies sich das Carotinoid in unserer Studie nicht als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse geeignet.

---

<sup>26</sup> Auch alle anderen zuvor ermittelten signifikanten Zusammenhänge, z. B. zu anderen Lebensmittelgruppen oder der Ballaststoff-Zufuhr (siehe Fußnote 25), konnten nicht bestätigt werden.

## **β-Carotin**

Wie bei α-Carotin ergaben sich erwartungsgemäß auch für β-Carotin statistisch signifikante Korrelationen zu den anderen untersuchten Carotinoiden, auch (anders als bei α-Carotin) zwischen β-Carotin und Lycopin. Darüber hinaus fand sich ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen β-Carotin und den Plasmaspiegeln an Folsäure. Beide Sachverhalte sind nicht überraschend, da Carotinoide und Folsäure teilweise in den gleichen Lebensmitteln vorkommen.

Wie in Kapitel 4.4.2 dargestellt, konnten Korrelationen zwischen den β-Carotin-Plasmaspiegeln und der Zufuhr an **Obst** [ $r = 0,365$  ( $p = 0,001$ )] sowie **Obst und Gemüse** [ $r = 0,322$  ( $p = 0,002$ )] ermittelt werden, während sich zum Gemüseverzehr keine signifikanten Zusammenhänge ergaben. Die gefundenen Korrelationen mit dem Obst- und Gemüsekonsum stehen in guter Übereinstimmung mit Ergebnissen von Tucker et al. [1999], die allerdings 346 Frauen im Alter von 67-93 Jahren untersuchten. Dabei ergab sich zwischen den β-Carotin-Serumspiegeln und der Zufuhr von Obst und Gemüse mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,36$  ein vergleichbar hoher signifikanter Zusammenhang wie bei uns. Auch Drewnowski et al. [1997] fanden eine Korrelation von  $r = 0,36$  ( $p < 0,05$ ) zwischen der Zufuhr an Obst / Gemüse und dem β-Carotin-Plasmaspiegel. Die Autoren führten eine Studie mit 361 Franzosen und 476 Französinnen im Alter von 18-94 Jahren durch und kamen zu dem Schluss, dass β-Carotin (und Ascorbinsäure, siehe S. 143f.) einen guten Biomarker für den Obst- und Gemüseverzehr darstellt. Allerdings hatten neben der alimentären Zufuhr auch andere Ernährungs- und Lebensstil-Faktoren (z. B. Alter, Rauchen, BMI, Energie, Alkohol, Fett) einen signifikanten Einfluss auf die Blutspiegel an β-Carotin (und Vitamin C).

Daneben finden sich auch einige Untersuchungen, in denen die Zusammenhänge zwischen den β-Carotin-Blutspiegeln und der Zufuhr von Obst und Gemüse stärker ausgeprägt waren als in der BIKEI-Studie. So ermittelten Scott et al. [1996], die 162 Engländerinnen im Alter von 50 – 65 Jahren untersuchten, zwischen dem β-Carotin-Plasmaspiegel und dem Obst- und Gemüsekonsum einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,45$  ( $p < 0,05$ ). Die Ergebnisse sind allerdings nicht mit unseren vergleichbar, da sie 1) auf vier verschiedenen Untersuchungen basierten, die im Laufe eines Jahres durchgeführt wurden, 2) sich die Schätzung der β-Carotin-Zufuhr auf bestimmte Obst- und Gemüsesorten beschränkte und 3) das Studienkollektiv wesentlich älter als unseres war. Auch Block et al. [2001a] fanden einen statistisch signifikanten Zusammenhang von  $r = 0,44$  zwischen den β-Carotin-Plasmaspiegeln und der Aufnahme von Obst und

Gemüse. Sie untersuchten allerdings 116 männliche Probanden (Nichtraucher) im Alter von 35-72 Jahren und nicht - wie in unserer Studie - Frauen im Alter von 25 - 55 Jahren, so dass auch dieses Ergebnis nicht mit unserem vergleichbar ist. Neben diesen Studien, in denen stärkere Zusammenhänge zwischen den  $\beta$ -Carotin-Blutspiegeln und der Zufuhr von Obst und Gemüse als in unserem Fall gefunden wurden, gibt es auch Untersuchungen, bei denen die Korrelationskoeffizienten geringer ausfielen. Beispielsweise konnten van Kappel et al. [2001] zwar signifikante Zusammenhänge zwischen dem Obst- und Gemüsekonsum und den Serumspiegeln ausgewählter Carotinoide (so auch  $\beta$ -Carotin) ermitteln, die Korrelationskoeffizienten waren jedoch bei allen Carotinoiden nur sehr gering ausgeprägt ( $r < 0,20$ )<sup>27</sup>. Die Autoren hatten die Serumcarotinoide von insgesamt 350 Frauen mittleren Alters, die an der *New York Women's Health Study* partizipierten, analysiert.

Während sich in unserer Untersuchung keine signifikanten Korrelationen zwischen den  $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegeln und dem Gemüseverzehr ergaben, konnte dieser Zusammenhang in anderen Studien belegt werden. So dokumentierten z. B. Kitamura et al. [1997], die eine Studie mit 194 gesunden, japanischen Rauchern im Alter von 24 - 60 Jahren durchführten, dass der Verzehr von Gemüse signifikant mit den  $\beta$ -Carotin-Serumspiegeln korrelierte. Der Korrelationkoeffizient war jedoch sehr gering [ $r = 0,21$  ( $p < 0,01$ )], so dass es sich auch um einen Scheinzusammenhang gehandelt haben könnte.

Um zu klären, ob  $\beta$ -Carotin als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse geeignet ist oder ob es sich bei den gefundenen signifikanten Zusammenhängen lediglich um Scheinkorrelationen handelt, wurde auch hier eine partielle Korrelation durchgeführt. Dabei lag der zuvor ermittelte Zusammenhang zwischen  $\beta$ -Carotin und dem Obstverzehr nur noch an der Grenze zur Signifikanz [ $r = 0,233$  ( $p = 0,053$ )], derjenige zum summierten Obst- und Gemüsekonsum konnte nicht bestätigt werden. Damit scheint nach  $\alpha$ -Carotin auch  $\beta$ -Carotin in unserem Kollektiv nicht als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse geeignet zu sein.

Mit Hilfe der multiplen Regressionsanalyse mit schrittweisem Ausschluss fand sich ein signifikanter Einfluss des Obstverzehrs, des Cholesterol-Spiegels sowie des prozentualen Körperfettanteils auf den  $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegel. Die dabei ermittelten standardisierten

---

<sup>27</sup> Auch Kitamura et al. [1997] fanden nur einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,21$  ( $p < 0,01$ ) zwischen den  $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegeln und der Obstzufuhr.

Korrelationskoeffizienten waren jedoch nur sehr gering. So konnte die Varianz der  $\beta$ -Carotinspiegel im Plasma lediglich zu 11,3 % durch den alleinigen Konsum von Obst, zu 17,8 % durch Obstverzehr und den Cholesterolspiegel sowie zu 26,9 % durch Obstverzehr, Cholesterolspiegel und Körperfett-Anteil erklärt werden. Wie schon bei  $\alpha$ -Carotin fanden sich damit auch hier viele andere, unbekannte Faktoren, die den  $\beta$ -Carotinspiegel stärker beeinflussen als der Verzehr von Obst und/ oder Gemüse, so dass das Carotinoid auch unter diesem Aspekt bei uns nicht als Biomarker für den Konsum dieser Lebensmittel geeignet war.

### **$\beta$ -Cryptoxanthin**

Erwartungsgemäß konnten für  $\beta$ -Cryptoxanthin ebenfalls statistisch signifikante Korrelationen zu den anderen untersuchten Carotinoiden ermittelt werden. Daneben ergab sich ein Trend zu einer signifikant positiven Korrelation mit Lycopin und ein signifikanter Zusammenhang mit dem Plasma-Spiegel an Folsäure. Wie bereits vorab erläutert, sind beide Sachverhalte nicht überraschend, da die Carotinoide und auch Folsäure teilweise in den gleichen Lebensmitteln vorkommen.

Weiterhin konnten Korrelationen zwischen den  $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmaspiegeln und der Zufuhr an **Obst** [ $r = 0,346$  ( $p = 0,001$ )] sowie **Obst und Gemüse** [ $r = 0,313$  ( $p = 0,004$ )] ermittelt werden, während sich zum alleinigen Gemüseverzehr keine signifikanten Zusammenhänge ergaben. Die gefundenen Korrelationen zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und dem Obst- und Gemüsekonsum konnten in anderen Untersuchungen bestätigt werden. Allerdings erscheinen unsere Korrelationskoeffizienten im Vergleich zu anderen Studien relativ gering. So berichteten Tucker et al. [1999], die 346 Frauen im Alter von 67 - 93 Jahren im Rahmen der *Framingham Heart Study* untersuchten, über einen statistisch signifikanten Zusammenhang von  $r = 0,44$  zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und der Zufuhr von Obst und Gemüse. Bei Block et al. [2001a] ergab sich sogar ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,50$  für den Zusammenhang zwischen dem Obst- und Gemüseverzehr und den  $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmaspiegel. Die Autoren hatten allerdings 116 männliche Amerikaner (Nichtraucher) im Alter von 35 - 72 Jahren untersucht, während an der BIKEI-Studie Frauen im Alter von 25 – 55 Jahren partizipierten. Eine weitere mögliche Erklärung für unsere relativ niedrigen Korrelationskoeffizienten könnte in

der Auswahl der Obst- und Gemüsesorten der BIKEI-Probandinnen liegen<sup>28</sup>. Wie Irwig et al. [2002] in einer Studie mit 159 Jugendlichen in Costa Rica (Alter  $15,5 \pm 2,5$  Jahre) feststellten, ist der  $\beta$ -Cryptoxanthin-Spiegel am stärksten mit der Zufuhr tropischer Früchte korreliert [ $r = 0,38$  ( $p = < 0,15$ )]. So war die Aufnahme von Papaya, die in Lateinamerika häufig konsumiert wird, mit  $r = 0,41$  der beste Prädiktor der  $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmakonzentrationen. Dies zeigt ein zentrales Problem der Vergleichbarkeit verschiedener Studien; in einzelnen Ländern variieren die Verzehrsgewohnheiten erheblich. So sind bestimmte Lebensmittel (z. B. Papaya) in einigen Ländern wie z. B. Südamerika häufig verzehrte Produkte, während ihr Konsum in Deutschland unter quantitativen Gesichtspunkten unbedeutend ist.

Um die Frage zu klären, ob  $\beta$ -Cryptoxanthin als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse geeignet ist oder ob es sich bei den gefundenen signifikanten Zusammenhängen lediglich um Scheinkorrelationen handelt, wurde auch hier eine partielle Korrelation durchgeführt. Dabei lag der zuvor ermittelte Zusammenhang zwischen  $\beta$ -Cryptoxanthin und dem Obstverzehr (wie bei  $\beta$ -Carotin) nur noch an der Grenze zur Signifikanz [ $r = 0,207$  ( $p = 0,086$ )], derjenige zum summierten Obst- und Gemüsekonsum konnte wie schon bei  $\beta$ -Carotin auch hier nicht bestätigt werden. Damit scheint nach  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin auch  $\beta$ -Cryptoxanthin bei dem von uns untersuchten Kollektiv nicht als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse geeignet zu sein.

Im Rahmen der multiplen Regressionsanalyse mit schrittweisem Ausschluss fand sich lediglich ein signifikanter Einfluss des Körperfett-Anteils, des Cholesterols sowie des Harnsäure-Spiegels auf den  $\beta$ -Cryptoxanthin-Plasmaspiegel<sup>29</sup>. Für Obst und/ oder Gemüse konnten dagegen keine signifikanten Einflüsse ermittelt werden. Damit war  $\beta$ -Cryptoxanthin auch unter diesem Gesichtspunkt bei unseren Probandinnen nicht als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse geeignet.

---

<sup>28</sup> So sind viele Lebensmittel zwar reich an Carotinoiden (z. B. Mango, Papaya), spielen jedoch für die Carotinoid-Versorgung der deutschen Bevölkerung eine eher untergeordnete Rolle, da sie nicht regelmäßig und in nennenswertem Umfang konsumiert werden [Goldbohm et al. 1998, Pelz et al. 1998, Sommerbug et al. 1998].

<sup>29</sup> Allerdings konnte die Varianz der  $\beta$ -Cryptoxanthinspiegel lediglich zu 10,8 % durch den prozentualen Körperfett-Anteil, zu 21,1 % durch Körperfett-Anteil und Cholesterolspiegel sowie zu 26,9 % durch Körperfett-Anteil, Cholesterolspiegel und Harnsäure-Spiegel erklärt werden. Auch hier spielen also eine ganze Reihe anderer, unbekannter Faktoren eine Rolle.

### Lutein und Zeaxanthin

Auch für Lutein und Zeaxanthin fanden sich wie erwartet statistisch signifikante Korrelationen zu den anderen untersuchten Carotinoiden (mit Ausnahme von Lycopin)<sup>30</sup>. Daneben ergab sich für Lutein ein Trend zu einer signifikant positiven Korrelation mit Lycopin und ein signifikanter Zusammenhang mit dem Plasma-Spiegel an Folsäure, was sich dadurch erklären lässt, dass die Carotinoide und auch Folsäure teilweise in den gleichen Lebensmitteln vorkommen.

Weder für Lutein noch für Zeaxanthin konnten statistisch signifikante Korrelationen mit der Aufnahme von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse ermittelt werden. Für beide Carotinoide fanden sich lediglich Zusammenhänge mit anderen Lebensmittelgruppen (siehe Kapitel 4.4.4) und potenziellen Störgrößen (siehe Kapitel 4.4.5). Alle zuvor ermittelten signifikanten Zusammenhänge erwiesen sich im Rahmen der partiellen Korrelation allerdings als Scheinkorrelationen. Lediglich der signifikante Zusammenhang zwischen Zeaxanthin und dem Cholesterol-Spiegel konnte bestätigt werden.

Während wir weder für Lutein noch für Zeaxanthin signifikante Zusammenhänge mit der Zufuhr von Obst und/ oder Gemüse ermitteln konnten, fanden Tucker et al. [1999] eine Korrelation von  $r = 0,27$  für Lutein und Zeaxanthin mit der Obst- und Gemüsezufuhr<sup>31</sup>. Eine Studie von Kitamura et al. [1997] mit 194 gesunden, japanischen Rauchern im Alter von 24 - 60 Jahren ergab zudem, dass signifikante Zusammenhänge zwischen Lutein und dem Verzehr von Obst bestehen. Der Korrelationskoeffizient fiel dabei allerdings mit  $r = 0,11$  ( $p < 0,05$ ) recht gering aus. Daneben berichteten Scott et al. [1996] über einen (ungewöhnlich hohen) Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,64$  zwischen dem Lutein-Plasmaspiegel und Zufuhr von Obst und Gemüse.

Eine mögliche Erklärung für diese deutlichen Diskrepanzen könnte – wie schon bei  $\beta$ -Cryptoxanthin – die Lebensmittelauswahl der jeweiligen Studienkollektive darstellen. So beobachteten Sommerburg et al. [1998], dass sich die höchsten Konzentrationen an Lutein und Zeaxanthin in Eigelb und Mais finden. Lutein war darüber hinaus ein Hauptcarotinoid in Kiwi, Grapefruit, Zucchini und Kürbis; Zeaxanthin in orangem Paprika. In Karotten, Honigmelonen, getrockneten Aprikosen und grünen Bohnen wurden weder

---

<sup>30</sup> Lutein:  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Zeaxanthin, Gesamtcarotinoide  
Zeaxanthin:  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Gesamtcarotinoide

<sup>31</sup> Untersucht wurden 346 Frauen im Alter von 67 – 93 Jahren im Rahmen der *Framingham Heart Study*.

Lutein noch Zeaxanthin gefunden. Weiterhin fanden Irwig et al. [2002] einen Zusammenhang zwischen der Zufuhr tropischer Früchte und dem Blutspiegel an Lutein/ Zeaxanthin<sup>32</sup> ( $r = 0,17$ ,  $p = < 0,05$ ).

Bei der Analyse der Daten mittels multipler linearer Regression mit schrittweisem Ausschluss ergab sich ein signifikanter Einfluss des Cholesterol-Spiegels und des BMI auf die Lutein-Plasmaspiegel<sup>33</sup>, während der Zeaxanthin-Gehalt ausschließlich vom Cholesterol-Spiegel beeinflusst wurde<sup>34</sup>. Weder für Lutein noch für Zeaxanthin konnten signifikante Einflüsse des Konsums von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse ermittelt werden. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass nach unseren Ergebnissen weder Lutein noch Zeaxanthin als Biomarker für den Obst- und/ oder Gemüseverzehr geeignet sind.

In der Literatur gibt es allerdings Hinweise darauf, dass Lutein im Plasma ein besserer Biomarker für den Obst- und Gemüseverzehr sein könnte als viele andere Carotinoide, da es eine relative lange Halbwertszeit (HWZ) aufweist. So berichteten Rock et al. (1992), dass Plasma-Lutein eine HWZ von 33-61 Tagen besitzt, während es bei Lycopin im Vergleich dazu nur 12-33 Tagen sind. Die HWZ von  $\beta$ -Carotin,  $\alpha$ -Carotin und  $\beta$ -Cryptoxanthin betragen den Autoren zufolge weniger als 12 Tage [Rock et al. 1992]. Auch Burri et al. (2001) analysierten in einer Studie mit 19 gesunden jungen Frauen die HWZ verschiedener Carotinoide im Blut. Die längste wies dabei Lutein auf (76 Tage), gefolgt von  $\alpha$ -Carotin (45 Tage),  $\beta$ -Cryptoxanthin (39 Tage), Zeaxanthin (38 Tage),  $\beta$ -Carotin (37 Tage) und Lycopin (26 Tage). Weiterhin scheint auch die Bioverfügbarkeit von Lutein aus Gemüse besser zu sein als diejenige von  $\beta$ -Carotin [van het Hof et al. 1999a].

---

<sup>32</sup> Studie mit 159 Jugendlichen in Costa Rica (Alter  $15,5 \pm 2,5$  Jahre).

<sup>33</sup> Die Varianz des Lutein-Plasmaspiegels konnte allerdings nur zu 7,5 % durch den Cholesterol-Spiegel und zu 17,3 % durch Cholesterol-Spiegel und BMI erklärt werden. Wie bei den anderen Carotinoiden spielen also auch hier wieder eine ganze Reihe anderer, unbekannter Faktoren eine Rolle.

<sup>34</sup> Die Varianz der Zeaxanthin-Plasmaspiegel konnte lediglich zu 5,4 % durch den Cholesterol-Spiegel erklärt werden. Wieder spielen eine Vielzahl anderer, unbekannter Faktoren eine Rolle.

## Lycopin

Auch bei Lycopin konnten statistisch signifikante Korrelationen zu einigen anderen untersuchten Carotinoiden ermittelt werden. Diese waren - auf Grund des überwiegenden Vorkommens von Lycopin in Tomaten und Tomatenprodukten - jedoch weniger zahlreich und auch weniger stark ausgeprägt als bei anderen Carotinoiden. So konnte lediglich zwischen Lycopin und  $\beta$ -Carotin sowie Lycopin und den Gesamtcarotinoiden ein signifikanter Zusammenhang ermittelt werden. Außerdem ergab sich ein Trend zu einer signifikanten Korrelation zwischen Lycopin und  $\beta$ -Cryptoxanthin sowie Lutein.

Darüber hinaus fand sich eine signifikante Korrelation zwischen Lycopin und der Aufnahme von Lebensmittelgruppe 2 (Getreide, Nudeln, Reis), während sich zu Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse keine signifikanten Zusammenhänge nachweisen ließen<sup>35</sup>. Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen von Tucker et al. [1999], die einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,35$  zwischen Lycopin und der Obst- und Gemüsezufuhr ermittelten. Die Autoren untersuchten allerdings 346 Frauen der *Framingham Heart Study* im Alter von 67 – 93 Jahren, so dass keine direkten Vergleiche mit dem BIKEI-Kollektiv möglich sind. Auch Scott et al. [1996] berichteten von einem signifikantem Zusammenhang zwischen den Lycopin-Plasmaspiegeln und dem Konsum von Obst und Gemüse [ $r = 0,47$ ]. In Anbetracht der Tatsache, dass dieses Carotinoid in nennenswerten Mengen nur in wenigen Lebensmitteln vorkommt, überrascht dieses Ergebnis zunächst. Berücksichtigt man jedoch die bereits auf Seite 133 geschilderten Rahmenbedingungen der Studie von Scott et al. (ausschließliche Berücksichtigung ausgewählter Lebensmittel, mehrere Blutabnahmen, älteres Studienkollektiv), wird deutlich, dass dieses Ergebnis nicht mit unserem vergleichbar ist.

Im Rahmen der linearen Regressionsanalyse mit schrittweisem Ausschluss fand sich ausschließlich für das Alter ein signifikanter (inverser) Einfluss auf den Lycopin-Plasmaspiegel. Allerdings konnten nur 3,9 % der Varianz des Lycopinspiegels mit Hilfe des Alters erklärt werden, so dass eine Vielzahl anderer, unbekannter Faktoren einen Einfluss auf die Lycopin-Plasmakonzentrationen haben muss. Lycopin war somit ebenfalls nicht als Biomarker des Obst- und Gemüsekonsums unserer Probandinnen geeignet.

---

<sup>35</sup> Um bei den gefundenen Zusammenhängen Scheinkorrelationen ausschließen zu können, wurde auch hier wieder eine partielle Korrelation durchgeführt. Dabei konnten lediglich die signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Lycopin-Plasmaspiegel und der Alkoholzufuhr sowie die signifikant inverse Korrelation mit dem Alter bestätigt werden.

### Gesamtcarotinoide

Da die Gesamtcarotinoide die Summe der einzelnen untersuchten Carotinoide darstellen, ergaben sich erwartungsgemäß auch signifikante Zusammenhänge mit den Einzelsubstanzen, wobei die Korrelationskoeffizienten zwischen  $r = 0,333$  ( $p = 0,002$ ) für Lycopin und  $r = 0,959$  ( $p = 0,000$ ) für  $\beta$ -Carotin lagen<sup>36</sup>. Daneben konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Gesamtcarotinoiden und dem Folsäure-Plasmaspiegel ermittelt werden. Auch dieser Sachverhalt ist nicht verwunderlich, da Carotinoide und Folsäure teilweise in den gleichen Lebensmitteln vorkommen.

Die Gesamtcarotinoid-Spiegel wiesen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,367$  ( $p = 0,001$ ) mit der Zufuhr an **Obst** und  $r = 0,328$  ( $p = 0,002$ ) mit der Zufuhr an **Obst** und **Gemüse** auf. Dies steht in guter Übereinstimmung mit Daten von Bogers et al. [2003], die bei 161 Frauen mittleren Alters Zusammenhänge zwischen der Obst- und Gemüsezufuhr und den Blutspiegeln an Carotinoiden untersuchten. Die Autoren fanden für den Verzehr von Gemüse (für den wir keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Plasmaspiegel der Gesamtcarotinoide belegen konnten) eine signifikante Korrelation von  $r = 0,32$  und für den Obstkonsum signifikante Zusammenhänge von  $r = 0,30$  mit den Plasma-Carotinoiden. Demgegenüber fanden Campbell et al. [1994] zwischen der Summe der Plasma-Carotinoide (mit Ausnahme von Lycopin) und der Aufnahme von Obst / Gemüse mit  $r = 0,59$  einen wesentlich stärkeren Zusammenhang. Derart hohe Werte konnten allerdings in kaum einer anderen Studie bestätigt werden. Lediglich Le Marchand et al. [1994], die eine Studie mit 19 erfolgreich behandelten ehemaligen Krebspatienten im Alter von 54-77 Jahren durchführten, konnten signifikante Korrelationen in Höhe von  $r = 0,69$  zwischen einer (auf 8 Portionen/ Tag) erhöhten Zufuhr an Obst und Gemüse und den Gesamtcarotinoid-Plasmaspiegeln ermitteln. Die Autoren kamen zu der Schlussfolgerung, dass Carotinoide geeignete Marker für die Zufuhr an Obst und Gemüse darstellen. Die Ergebnisse anderer Studien deuten darauf hin, dass die Gesamtcarotinoide besser als einzelne Carotinoide als biologische Marker für die Aufnahme von Obst und Gemüse geeignet sind [Andersen 1999]. Allerdings müssen nach Angaben des Autors viele Einflussfaktoren berücksichtigt werden, wenn Carotinoide als Biomarker verwendet werden sollen. So scheinen gemittelte Werte von verschiedenen Messungen beispielsweise besser als Marker für den Langzeit-Status geeignet als einzelne Messungen.

Zur weiteren Analyse der gefunden Korrelationen wurden die ermittelten Zusammenhänge mittels partieller Korrelation auf mögliche Scheinkorrelationen untersucht. Dabei konnte der signifikante Zusammenhang zwischen den Gesamtcarotinoiden im Plasma und der Obstzufuhr bestätigt werden [ $r = 0,305$  ( $p = 0,010$ )], während sich für die Korrelation zu Obst und Gemüse lediglich noch ein Trend ergab [ $r = 0,223$  ( $p = 0,063$ )].

Bei der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss ergaben sich signifikante Einflüsse des Körperfettanteils, des Cholesterol-Spiegels und des Obstverzehr auf die Gesamtcarotinoide-Plasmakonzentrationen, während für den Konsum von Obst und Gemüse kein signifikanter Einfluss ermittelt werden konnte. Allerdings waren die gefundenen Zusammenhänge auch hier wieder nur sehr gering. So konnte die Varianz der Gesamtcarotinoide im Plasma lediglich zu 13,9 % durch den Körperfettgehalt, zu 25,5 % durch Körperfett-Gehalt und Cholesterol-Spiegel sowie zu 32,7 % durch Körperfett-Gehalt, Cholesterol-Spiegel und Obstkonsum erklärt werden. Dies ist zwar von allen potenziellen Biomarkern der beste Wert, dennoch bleiben fast zwei Drittel (67,3 %) der Einflussfaktoren auf den Gesamtcarotinoide-Plasmaspiegel unbekannt. Berücksichtigt man zudem, dass unter dem erklärbaren Drittel der Streuung der Obstverzehr nur einer von drei erklärenden Faktoren ist, so zeigt sich auch vor dem Hintergrund der in den Korrelationsanalysen ermittelten Werte, dass die Gesamtcarotinoide-Spiegel in unserer Studie zwar eine deutliche Beziehung zum Obstkonsum aufweisen, als (*quantifizierende*) Biomarker aber dennoch ungeeignet sind.

Unsere Ergebnisse werden durch die Daten verschiedener anderer Autoren unterstützt, die Carotinoide nur für eingeschränkt oder gar nicht geeignet halten, um als Biomarker für den Obst- und Gemüsekonsum verwendet zu werden. So fanden van Kappel et al. [2001] in einer Studie mit 302 Frauen der *New York Women's Health Study* zwar heraus, dass der Obstkonsum mit den Serumspiegeln von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie  $\beta$ -Cryptoxanthin korrelierte, während der Gemüsekonsum Zusammenhänge mit den Konzentrationen von  $\beta$ -Carotin, Lutein, Zeaxanthin sowie Lycopin im Serum aufwies; die Korrelationskoeffizienten waren jedoch – wie bei uns - nur sehr gering. Auch bei Rock et al. [1997] war die Aufnahme von Obst und Gemüse signifikant mit den Serum-Carotinoiden assoziiert, allerdings wurde eine grosse Spannweite bei den Serumspiegeln beobachtet. Dies lässt sich zum einen darauf zurückführen, dass einige Carotinoide (vor

---

<sup>36</sup> Der hohe Korrelationskoeffizient zwischen  $\beta$ -Carotin und den Gesamtcarotinoiden war zu erwarten, da  $\beta$ -Carotin einen Anteil von weit mehr als 90 % am Gesamtcarotinoide-Spiegel ausmacht.

allem  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie  $\beta$ -Cryptoxanthin) Provitamin-Funktionen aufweisen, so dass ihre Serumspiegel stets nur bedingt die alimentäre Zufuhr reflektieren [Crews et al. 2001].

Zudem kann die Variabilität in der Serumantwort von Carotinoiden teilweise durch die Lebensmittel-Matrix (z. B. Gemüsesaft vs. rohes oder gekochtes Gemüse) erklärt werden [McEligot et al. 1999], die sowohl positive als auch negative Effekte auf die Bioverfügbarkeit ausüben kann [Boileau et al. 1999]. Darüber hinaus sind - wie in Kapitel 2.4.1 beschrieben - auch viele andere bekannte und unbekannte Faktoren für intra- und interindividuelle Schwankungen der Carotinoid-Spiegel verantwortlich (z. B. Alter, genetische Einflüsse, Lebensstil und Umweltfaktoren) [Yong et al. 1994, Scott et al. 1996, Scott et al. 1997]. So gibt es bei Personen, die vergleichbare Mengen an Carotinoiden zuführen, stets solche, bei denen in der Folge die Plasmakonzentrationen ansteigen, und solche, bei denen sie unverändert bleiben [Micozzi et al. 1992, McEligot et al. 1999].

Erschwerend kommt hinzu, dass sich Carotinoide analytisch nur schwer erfassen lassen. So gibt es eine Vielzahl unterschiedlicher Formen und die Carotinoid-Zusammensetzung in den Lebensmitteln variiert sowohl qualitativ als auch quantitativ [Rodriguez-Amaya 2000]. Außerdem sind Carotinoide sehr instabil und empfindlich gegenüber Sauerstoff, Licht, Hitze oder Säuren (siehe Kapitel 2.3.1.3). Darüber hinaus unterliegen sie diversen Isomerisations-Prozessen, sowohl in Pflanzen als auch während der Lagerung und der Zubereitung<sup>37</sup> [Chen et al. 1994, von Doering et al. 1995]. Ein weiteres Problem besteht darin, dass in den gängigen Lebensmitteldatenbanken und Nährwerttabellen mit Ausnahme von  $\beta$ -Carotin keine Carotinoidgehalte ausgewiesen sind. So werden weder im Datenbestand des Bundeslebensmittelschlüssels (BLS) noch im deutschen Standardwerk Souci-Fachmann-Kraut Angaben zum weiteren Carotinoidgehalt von Lebensmitteln gemacht [Pelz et al. 1998, Crews et al. 2001]. Auch in internationalen Datenbanken finden sich häufig keine Angaben für Carotinoide. Besonders kritisch sieht es dabei für Zeaxanthin aus, für das fast gar keine Angaben zum Gehalt in Lebensmitteln vorliegen. Erschwerend kommt hinzu, dass in der Vergangenheit analytisch nicht immer zwischen Zeaxanthin und Lutein differenziert werden konnte, so dass die Luteingehalte der Datenbanken teilweise die Summe beider Carotinoide darstellen. Zudem finden sich in

---

<sup>37</sup> Die Absorption und die Verteilung der Isomere variiert in den unterschiedlichen Geweben. So wurden nach der Zufuhr einer Mischung von  $\beta$ -Carotin-Isomeren im Blut nur die all-trans-Formen gefunden, während 13-cis oder 9-cis Isomere in einigen Geweben mehr als 20 % ausmachten [Chen et al. 1994, von Doering et al. 1995].

den verschiedenen nationalen und internationalen Quellen zum Carotinoid-Gehalt von Lebensmitteln oftmals unterschiedliche Angaben [Vandenlangenberg et al. 1996].

### Ascorbinsäure

Für Ascorbinsäure konnten weder zu anderen potenziellen Biomarkern noch zur Aufnahme von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse statistisch signifikante Korrelationen ermittelt werden<sup>38</sup>. Demgegenüber fanden Khaw et al. [2001], die eine vierjährige Studie mit 1.096 Frauen im Alter von 45 – 79 Jahren durchführten<sup>39</sup>, zwischen der summierten Aufnahme von Obst und Gemüse und den Plasmakonzentrationen an Ascorbinsäure eine signifikante Korrelation [ $r = 0,35$  ( $p < 0,0001$ )]. Außerdem ermittelten die Autoren signifikante Zusammenhänge zwischen dem Ascorbinsäure-Plasmaspiegel und der alleinigen Aufnahme von Obst bzw. Gemüse, wobei Ascorbinsäure einen besseren Prädiktor der Obstzufuhr darstellte [ $r = 0,31$  vs.  $r = 0,23$ ]. Zu einem vergleichbaren Ergebnis waren auch Drewnowski et al. [1997] gekommen, die eine Studie mit 361 Franzosen und 476 Französischen im Alter von 18 - 94 Jahren durchführten. Auch bei Ihnen war die Ascorbinsäure-Serumkonzentrationen ein deutlich besserer Prädiktor des Obst- [ $r = 0,36$  ( $p < 0,05$ )] als des Gemüsekonsums [ $r = 0,15$  ( $p < 0,05$ )], während die Autoren im Fall von  $\beta$ -Carotin keine derartigen Unterschiede ausmachen konnten [ $r = 0,29$  ( $p < 0,05$ ) für Obst vs.  $r = 0,30$  ( $p < 0,05$ ) für Gemüse]. Die Autoren halten Ascorbinsäure (neben  $\beta$ -Carotin) jedoch für einen guten Biomarker des Obst- und Gemüseverzehr<sup>40</sup>.

Auch in einer kürzlich veröffentlichten Studie von Bogers et al. [2003] ergaben sich bei 161 Frauen mittleren Alters signifikante Zusammenhänge zwischen den Plasmaspiegeln an Vitamin C und der Zufuhr von Gemüse ( $r = 0,34$ ) sowie Obst ( $r = 0,25$ ). Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen auch Ness et al. [1998]. In ihrer Studie mit 566 Frauen (und 598 Männern) im Alter von 45 - 74 Jahren waren die altersadjustierten

---

<sup>38</sup> Es ergab sich lediglich ein Trend zu einem signifikant inversen Zusammenhang zwischen Ascorbinsäure und der Lebensmittelgruppe 11 (Kartoffeln, Kartoffelprodukte); dieser konnte im Rahmen der partiellen Korrelation jedoch nicht bestätigt werden.

<sup>39</sup> Untersucht wurde der Einfluss von Ascorbinsäure auf das Risiko, an Herzerkrankungen oder Krebs zu versterben.

<sup>40</sup> Allerdings stellten Drewnowski et al. [1997] auch fest, dass neben alimentären auch andere Ernährungs- und Lebensstil-Faktoren (z. B. Alter, Rauchen, BMI, Energie, Alkohol, Fett) einen signifikanten Einfluss auf den Blutspiegel an Vitamin C (und  $\beta$ -Carotin) haben.

Vitamin C-Plasmaspiegel bei den Probandinnen positiv mit der Aufnahme von frischem Obst [ $r = 0,25$  ( $p < 0,001$ )], Grüngemüse [ $r = 0,13$  ( $p < 0,01$ )] und anderem Gemüse [ $r = 0,14$  ( $p < 0,01$ )] sowie negativ mit der Zufuhr von Fleischprodukten [ $r = -0,10$  ( $p < 0,01$ )] korreliert. Bei Block et al. [2001a], ergab sich zwischen dem Obst- und Gemüseverzehr und den Ascorbinsäure-Plasmaspiegeln sogar ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,64$ . Damit war der Zusammenhang stärker als für  $\beta$ -Carotin ( $r = 0,44$ ) und  $\beta$ -Cryptoxanthin ( $r = 0,50$ ). Allerdings handelte es sich bei den Studienteilnehmern um 116 männliche Probanden (Nichtraucher) im Alter von 35 - 72 Jahren und nicht wie in der BIKEI-Studie um Frauen im Alter von 25 - 55 Jahren.

Neben diesen Studien, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen den Plasmaspiegeln an Ascorbinsäure und der Zufuhr von Obst und Gemüse belegen konnten, gibt es auch solche, in denen dies nicht der Fall war. So fanden Le Marchand et al. [1994] in einer Studie mit 19 erfolgreich behandelten ehemaligen Krebspatienten im Alter von 54 - 77 Jahren zwar (geringe) signifikante Korrelationen zwischen den Ascorbinsäure-Plasmaspiegeln und der Zufuhr an Zitrusfrüchten [ $r = 0,16$ ], jedoch nicht zur Gesamtzufuhr an Obst und Gemüse. Die Autoren kamen zu der Schlussfolgerung, dass Carotinoide geeignete Marker für die Zufuhr an Obst und Gemüse (Korrelationskoeffizienten zwischen  $r = 0,4 - 0,7$ ) darstellen, wohingegen Ascorbinsäure zu wenig sensitiv ist, um als Biomarker verwendet zu werden. Dies könnte u. a. auf die Wasserlöslichkeit des Vitamins und die dadurch bedingte schnelle renale Ausscheidung zurückzuführen sein. Möglicherweise ist es zudem nicht sinnvoll, den Ascorbinsäuregehalt im Plasma zu messen, da dies nur die relativ kurzfristige Nährstoffzufuhr widerspiegelt. Zelluläre Konzentrationen (z. B. der Leukozyten)<sup>41</sup> könnten bessere Indikatoren einer langfristigen Zufuhr sein, da sie nicht so schnell fluktuieren wie die Plasmakonzentrationen [Jacob 1990, Smith et al. 1995]. Der Ascorbinsäure-Gehalt der Leukozyten wäre damit weniger ein Zufuhr-Indikator als vielmehr ein Anzeiger der Vitamin C-Versorgung. Allerdings gibt es methodische Schwierigkeiten bei der gleichförmigen Isolierung der Leukozyten [Oltersdorf 1995, S. 214]. Zudem gestaltet sich die Messung von Erythrozyten-Ascorbinsäure auf Grund der hohen Mengen an hochreaktivem Häm-Eisen als schwierig, da dies das Vitamin C im Rahmen der Probengewinnung oder -lagerung (also vor der Messung) leicht oxidieren kann. So konnte bis dato noch keine geeignete Methode zur Bestimmung von Ascorbinsäure in den Erythrozyten etabliert werden [Papas 1999, S. 174].

---

<sup>41</sup> Vergleichbar der Messung von Folsäure in den Erythrozyten.

Bei der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss ergab sich ausschließlich ein statistisch signifikanter Einfluss des BMI auf den Plasmaspiegel an Ascorbinsäure. Allerdings konnten nur (unbedeutende) 5,1 % der Varianz des Ascorbinsäure-Plasmaspiegels durch den BMI erklärt werden. Wie bei allen anderen untersuchten Substanzen beeinflussen also auch hier andere, unbekannte Faktoren den Blutspiegel des Vitamins. So wird Ascorbinsäure (neben den natürlichen Gehalten in Lebensmitteln pflanzlicher und auch tierischer Herkunft) aus technologischen Gründen beispielsweise häufig in der Lebensmittelverarbeitung eingesetzt, vor allem als Antioxidanz zu Stabilisierungszwecken.

Die hier erhobenen Daten sprechen auch unter Berücksichtigung der vielfältigen, nicht kalkulierbaren Einflussfaktoren dafür, dass Ascorbinsäure unter Praxisbedingungen nicht als quantitativer Marker des Obst- und/ oder Gemüsekonsums geeignet ist.

### **Folsäure**

Erwartungsgemäß ergaben sich sowohl zwischen Folsäure im Plasma und in den Erythrozyten sowie zu den anderen potenziellen Biomarkern signifikante Zusammenhänge<sup>42</sup>. Der signifikant inverse Zusammenhang zwischen Folsäure und Homocystein war zu erwarten, da Folsäure neben Pyridoxin und Cobalamin in den Homocystein-Stoffwechsel involviert ist (→ Methylierung von Homocystein zu Methionin; siehe Kapitel 2.3.4.1). Bei einer unzureichenden Folsäureversorgung steigt daher der Homocysteinspiegel im Blut signifikant an [Ward et al. 1997, Lucock et al. 1999]. Im Umkehrschluss konnten Brouwer et al. [1999] in einer 4-wöchigen Studie mit 66 gesunden Probanden im Alter von 18 - 45 Jahren belegen, dass der Folsäurespiegel bei einer Gemüse- und Zitrusfrucht-reichen Ernährung anstieg, während der Homocysteinspiegel sank. Auch Riddell et al. [2000] konnten in einer Studie mit 65 freilebenden Probanden im Alter von 36 - 71 Jahren eine signifikant negative Korrelation [ $r = -0,66$ ] zwischen der Plasmakonzentrationen an Homocystein und dem Folsäure-Serumspiegel nachweisen.

Auffallend ist, dass bei uns lediglich ein signifikanter Zusammenhang für Erythrozyten-Folsäure und Homocystein ermittelt werden konnte, nicht aber für die Plasmakonzentrationen von Folsäure. Die Ursache hierfür könnte u. a. darin begründet sein, dass die Folsäure-Gehalte in den Erythrozyten etwa 20 Mal höher sind als diejenigen des Plasmas und damit die aussagekräftigsten Indikatoren für die langfristige

---

<sup>42</sup>  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Gesamtcarotinoide, Homocystein.

Folsäureversorgung darstellen [Crews et al. 2001]. Allerdings gibt es derzeit (noch) einige methodische Probleme bei der Analyse der Folsäurekonzentration in den Erythrozyten. So sind die Folsäure-Gehalte in den Erythrozyten beispielsweise auch im Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel reduziert [Brussard et al. 1997, Crews et al. 2001].

Es ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen dem Spiegel an Folsäure im Plasma oder in den Erythrozyten und der Aufnahme von Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse. Dies war so nicht zu erwarten, da Obst und insbesondere Gemüse eine der Hauptquellen für Folsäure („*folium*“ = Blatt) darstellen (siehe Kapitel 2.3.3.2). Schätzungen zu Folge tragen diese Lebensmittelgruppen zu mehr als 30 % zur alimentären Folsäurezufuhr bei [Ward 2001]. In anderen Studien konnten Zusammenhänge zwischen den Plasma-Folsäurespiegeln und der Obst- und Gemüsezufuhr ermittelt werden. So fanden Ashfield-Watt et al. [2002] in einer Studie mit 753 männlichen Angina-Patienten einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,29$  ( $p = < 0,01$ ). Demgegenüber ermittelten Tucker et al. [1996], dass Folsäure hauptsächlich über Frühstücks-Cerealien (13,3 %), Multivitamin-Supplemente (12,8 %) und Orangensaft (12,4 %) aufgenommen wird. Dies steht wiederum in Übereinstimmung mit der auch bei uns gefundenen signifikanten Korrelation zwischen dem Folsäuregehalt im Plasma und der Aufnahme von Lebensmittelgruppe 2 (Getreide, Nudeln, Reis), zu der auch Frühstücks-Cerealien zählen [ $r = 0,257$  ( $p = 0,018$ )]. Darüber hinaus konnten wir für Plasma-Folsäure auch signifikante Zusammenhänge zur Lebensmittelgruppe 22 (Fisch) sowie Trends zu signifikant inversen Korrelationen mit den Lebensmittelgruppen 17 (Kaffee, Tee) und 10 (Hülsenfrüchten) ermitteln. Demgegenüber ergab sich für Erythrozyten-Folsäure ein Trend zu einem signifikanten Zusammenhang mit der Zufuhr alkoholischer Getränke (18).

Um Trugschlüsse auf Grund von Scheinkorrelationen zu vermeiden, wurde eine partielle Korrelation durchgeführt. Dabei konnten lediglich die Korrelationen zwischen Plasma-Folsäure und den Lebensmittelgruppen 2 (Getreide, Nudeln, Reis) [ $r = 0,264$  ( $p = 0,028$ )] und 22 (Fisch) [ $r = 0,239$  ( $p = 0,049$ )] bestätigt werden. Die darüber hinaus zuvor ermittelten inversen Zusammenhänge zu den Lebensmittelgruppen 17 (Kaffee, Tee), 10 (Hülsenfrüchte) und 18 (alkoholische Getränke) mit einem Trend zur Signifikanz erwiesen sich dagegen als Scheinkorrelationen.

Im Rahmen der linearen Regressionsanalyse mit schrittweisem Ausschluss konnten weder für die verschiedenen Lebensmittelgruppen noch für die potenziellen Einfluss- und/oder Störgrößen signifikante Einflüsse auf die Folsäure-Spiegel in Plasma oder Erythrozyten ermittelt werden. Die Varianz der Folsäure-Konzentrationen ist also von vielen unbekanntem Einflussgrößen abhängig. Zusammenfassend kann festgehalten

werden, dass auch Folsäure bei unserem Studienkollektiv nicht als Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse geeignet ist (weder im Plasma noch in den Erythrozyten), was die ebenfalls gefundenen - bisweilen widersinnig erscheinenden - Korrelationen nur unterstreichen.

### **Homocystein**

Für die Homocystein-Plasmakonzentration konnte ausschließlich eine inverse Korrelation mit dem Folsäure-Spiegel in den Erythrozyten ermittelt werden [ $r = -0,353$  ( $p = 0,001$ )]. Mit allen anderen potenziellen Biomarkern ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge. Auch zu Obst, Gemüse bzw. Obst und Gemüse fanden sich keine signifikanten Korrelationen, obwohl theoretisch ein negativer Zusammenhang zu erwarten gewesen wäre, da eine wesentliche Ursache für einen erhöhten Homocystein-Spiegel<sup>43</sup> in der Praxis offenbar ein Mangel an Folsäure ist [Brönstrup und Pietrzik 1996, Ward 2001, Hahn 2001, S. 75]. Die zusätzliche Gabe von Folsäure - also auch die vermehrte Aufnahme von Obst und Gemüse - führt zu einer Verringerung des Homocystein-Spiegels, wie in vielfältigen Studien gezeigt werden konnte [Tucker et al. 1996, Ward et al. 1997, Pietrzik und Brönstrup 1998, Brouwer et al. 1999b, Lucock et al. 1999]. Gleichzeitig wäre ein inverser Zusammenhang zwischen Homocystein und/ oder Obst und Gemüse auch deswegen zu erwarten gewesen, weil eine vermehrte Obst- und Gemüseaufnahme mit einer verminderten Zufuhr an Fleisch sowie Fleischprodukten und damit einer reduzierten Zufuhr des Homocystein-Präkursormoleküls Methionin (siehe Kapitel 2.3.4.1) verbunden ist. Dieser theoretisch zu erwartende Zusammenhang konnte nicht bestätigt werden.

Wie angeführt konnten zahlreiche Studien nachweisen, dass eine Supplementierung mit Folsäure den Homocystein-Spiegel senkt [beispielsweise Dierkes et al. 1998, Brouwer et al. 1999a, De Leo et al. 2000, Riddell et al. 2000, Rydlewicz et al. 2002, Neal et al. 2002, Venn et al. 2003, van Oort et al. 2003]. Bisher gibt es jedoch nur wenige Studien, die sich mit den Auswirkungen eines erhöhten Obst- und Gemüsekonsums auf den Homocystein-Plasmaspiegel beschäftigt haben. So fanden Broekmans et al. [2000] in einer 4-wöchigen Studie mit 47 Probanden im Alter von 40 - 60 Jahren, dass ein hoher

---

<sup>43</sup> Daneben finden sich zahlreiche weitere Faktoren, die einen erhöhten Homocystein-Plasmaspiegel bedingen können, so ein Mangel an den Vitaminen B<sub>6</sub> und/ oder B<sub>12</sub> sowie genetische Polymorphismen der am Homocystein-Stoffwechsel beteiligten Enzyme (z. B. Cystathionin- $\beta$ -Synthetase, Methionin-Synthetase, 5,10-Methylenetetrahydrofolat-Reduktase).

Konsum von Obst und Gemüse (500 g/ Tag) im Vergleich zu einer niedrigen Aufnahme (100 g/ Tag) mit 11 % geringeren Homocystein- und 15 % höheren Folsäure-Plasmaspiegeln assoziiert war. Die Autoren kommen zu der Schlußfolgerung, dass Homocystein (neben den Carotinoiden) einen wichtigen Indikator der Obst- und Gemüseaufnahme darstellt, da der Blutspiegel sich in Abhängigkeit von der Zufuhr dieser Lebensmittel verändert. Auch Venn et al. [2002] berichteten nach einer 4-wöchigen Interventions-Studie<sup>44</sup> von einem Anstieg der Serumkonzentrationen an Folsäure um 37 % und einem parallelen Absinken der Homocystein-Spiegel um 19,2 %. Weiterhin konnten Brouwer et al. [1999] in einer 4-wöchigen Studie mit 66 gesunden Probanden im Alter von 18 – 45 Jahren zeigen, dass Obst und Gemüse den Folsäure-Status verbessern und den Homocystein-Spiegel senken.

In unserer Untersuchung zeigte sich zwar kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Homocystein-Spiegel und der Aufnahme von Obst und/ oder Gemüse, dafür konnte jedoch unerwartet ein Trend zu einem inversen Zusammenhang mit dem Wurstkonsum (Lebensmittelgruppe 24) ermittelt werden. Dies würde bedeuten, dass Personen, die viel Wurst konsumieren, einen niedrigen Homocystein-Spiegel aufweisen; was allerdings allen Literaturdaten widerspricht und auch biochemisch nicht plausibel ist. Dennoch konnte der Trend im Rahmen der partiellen Korrelation bestätigt werden.

Bei der multiplen linearen Regression mit schrittweisem Ausschluss konnten weder für die diversen Lebensmittelgruppen noch für andere Faktoren signifikante Einflüsse auf den Homocystein-Spiegel ermittelt werden. Die Varianz der Homocystein-Plasmakonzentration wird also durch andere, völlig unbekannte Einflussgrößen determiniert. Auch für Homocystein lässt sich somit festhalten, dass es in unserer Untersuchung nicht – auch nicht *indirekt* - als Biomarker für den Obst- und Gemüsekonsum geeignet ist.

### **Zusammenfassende Bewertung der ermittelten Daten**

Die wenigen bislang publizierten Daten zum Thema ‚Biomarker des Obst- und Gemüsekonsums‘ sind aufgrund der sehr unterschiedlichen Untersuchungskollektive (z. B. Alter, Geschlecht, Rasse), der stark variierenden Versuchsbedingungen (z. B. Ermittlung der Lebensmittelaufnahme, Anzahl und Bedingungen der Blutabnahmen, Jahreszeiten) und auch wegen erheblicher geographischer Unterschiede (z. B.

---

<sup>44</sup> Ziel war dabei die Erhöhung der alimentären Folsäure-Zufuhr mittels Ernährungsberatung.

Ernährungsgewohnheiten in den jeweiligen Ländern, Verwendung bzw. Nichtverwendung bestimmter Lebensmittel) sehr uneinheitlich. Eine direkte Vergleichbarkeit der verschiedenen Daten untereinander und auch mit den in dieser Arbeit erzielten Ergebnissen ist daher nicht möglich. Insbesondere wurde bislang kaum versucht, Beziehungen zwischen dem Konsum bestimmter Lebensmittel und den Spiegeln potenzieller Biomarker daraufhin zu untersuchen, ob die Marker tatsächlich als Indikatoren des Obst- und Gemüseverzehr geeignet sind.

Wie die vorliegende Arbeit zeigt, ist genau dies offenbar nicht gegeben. Für die hier ermittelten Daten ergab sich, dass es sich bei den gefundenen Korrelationen zwischen den potenziellen Biomarkern und der Zufuhr von Obst und Gemüse zu einem weit überwiegenden Teil um Scheinkorrelationen handelte, die einen *quantitativen* Rückschluss auf den Obst- und Gemüsekonsum nicht zulassen und somit eine Verwendung der Substanzen als Biomarker ausschließen. Diejenigen (wenigen) signifikanten Korrelationen, die auch bei einer weitergehenden Überprüfung bestätigt werden konnten, erwiesen sich als zu gering, um aus den Blutspiegeln dieser Stoffe Rückschlüsse auf die Höhe des Obst- und Gemüsekonsums ziehen zu können.

## 6 ABSCHLIEßENDE BEMERKUNGEN UND AUSBLICK

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, ob sich die Höhe der alimentären Zufuhr von Obst und Gemüse in ausgewählten Substanzen im Blut von 85 anamnestisch gesunden Frauen (Alter 25 – 55 Jahre) widerspiegelt und ob sich aus diesen Substanzen ein Rückschluss auf die individuelle Zufuhr an Obst und Gemüse ziehen lässt.

Wie andere Autoren fanden auch wir Zusammenhänge zwischen verschiedenen Substanzen im Blut ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Gesamtcarotinoide) und dem Konsum von Obst und/ oder Gemüse. Nach einer weitergehenden Untersuchung der ermittelten Beziehungen, die bei den bisher in der Literatur zu findenden anderen Studien nicht erfolgte, stellte sich allerdings heraus, dass es sich bei der überwiegenden Mehrzahl der Zusammenhänge um Scheinkorrelationen handelte. Zudem waren die verbleibenden Zusammenhänge *quantitativ* zu gering, als dass sich die überprüften Substanzen als Biomarker für den Konsum von Obst und/ oder Gemüse eignen würden.

Die Etablierung von Biomarkern des Obst- und Gemüseverzehr wäre wünschenswert, um Verbindungen zwischen der Ernährung und Krankheit bzw. Gesundheit besser zu verstehen und Ernährungsstrategien entwickeln zu können, mit deren Hilfe Krankheitsrisiken (z. B. für Krebs) minimiert werden können [Branca et al. 2001]. Unsere Daten unterstreichen allerdings, dass dies - zumindest im untersuchten Kollektiv - auf Grund der vielfältigen Einfluss- und Störgrößen nicht realisierbar war.

Es ist bei genauer Betrachtung auch theoretisch unwahrscheinlich, einen Marker zu finden, der so „ideal“ ist, dass er *allein* die Obst- und Gemüsezufuhr widerspiegeln könnte [Smith et al. 1995]. Ein „idealer“ Biomarker für den Konsum von Obst und Gemüse wäre eine Substanz, die u. a.

- in allen Obst und Gemüsesorten (und *nur* dort) in vergleichbaren Konzentrationen vorkommt,
- chemisch weitgehend stabil ist und deshalb bei der Zubereitung in ihrem Gehalt unverändert bleibt,
- in einem definierten Ausmaß resorbiert wird,
- keinem oder einem exakt definierten Metablismus unterliegt und
- in ihrer Plasmakonzentration möglichst nicht durch andere Faktoren wie z. B. den Cholesterolspiegel beeinflusst wird.

Diese Bedingungen können jedoch von keiner Substanz erfüllt werden. Die angemessene Verwendung von Biomarkern erfordert daher möglicherweise ein Set („*biochemical battery*“) von Markern, die auf die gleiche Indikation abzielen [Oltersdorf 1995, S. 199, Weber 2001]. Hierzu sind allerdings weitergehende Untersuchungen erforderlich.

Das grösste Problem bei der Validierung und Verwendung von Biomarkern ist die Vielzahl möglicher Interaktionen (hemmende und synergistische) bzw. dynamischer Veränderungen im menschlichen Körper. So konstatierte Baron bereits im Jahre 1986: *„The message is that we are faced with an equation that implies a snap ‚photographic‘ sampling of the body fluid, we always have to realise that the immediate state derives from a large number of dynamic changes all going on at the same time, and that an abnormal result is most likely to be the summation of dynamic changes in the steady-state both of inflow and of outflow“*.

Dies erklärt, warum die Verwendung von Biomarkern zur Ermittlung des Ernährungsstatus wie auch zur Aufnahme von Lebensmitteln bisher noch immer unbefriedigend ist. Zu viele Faktoren beeinflussen die potenziellen Marker, angefangen beim Anbau der jeweiligen Pflanzen (z. B. Sorte, Boden, Reifegrad), über Transport, Lagerung und küchentechnische Zubereitung bis hin zu einer Vielzahl physiologischer Einflüssen (z. B. Alter, Geschlecht, BMI, Proteinbindung, Erkrankungen, Pharmaka-Nährstoff-Interaktionen). Hinzu kommen fehlende Standards bei der analytischen Bestimmung und viele bisher (noch) nicht bekannte Faktoren, welche die „*black box*“ zusätzlich vergrössern. Kybernetisch gesprochen wissen wir also zwar sehr viel über „*Input*“ (Aufnahme) und „*Output*“ (Blutspiegel, Urinkonzentrationen), jedoch nur sehr wenig über das Geschehen in der „*black box*“ des individuellen Organismus.

Aus diesem Grund gilt nach wie vor der Satz von Bates et al. [1997, S. 226]: *„Validation of biochemical markers as predictors of dietary intake of nutrients (.....) is currently at an early and rather unsatisfactory stage of evolution. There are many interlocking factors to be taken into account and different conclusions for different nutrients“*.

## 7 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob sich Biomarker etablieren lassen, anhand derer ein Rückschluss auf die Höhe des Konsums von Obst und Gemüse möglich ist. Hierzu wurde im Sommer 2001 von 85 anamnestisch gesunden Frauen (25 - 55 Jahre) mit Hilfe eines validierten Nahrungs-Frequenz-Fragebogens (FFQ) der Verzehr dieser und anderer Lebensmittel retrospektiv über einen Zeitraum von 12 Monaten erhoben. Parallel dazu wurden verschiedene klinisch-biochemische Parameter ermittelt, die auf Grund der vorliegenden Literatur als potenzielle Biomarker geeignet erschienen. Wegen ihres weit verbreiteten Vorkommens in Obst und Gemüse wurden hierfür die Carotinoide ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Zeaxanthin und Lycopin) sowie die Vitamine Folsäure und Ascorbinsäure ausgewählt. Daneben wurde der Plasmaspiegel des Stoffwechselmetaboliten Homocystein als „indirekter“ Marker in die Untersuchung einbezogen, weil verschiedene Daten darauf hindeuten, dass ein gesteigerter Obst- und Gemüsekonsum durch die damit verbundene vermehrte Folsäureaufnahme zu erniedrigten Spiegeln dieser Substanz führt.

Das Studienkollektiv wies eine mediane Zufuhr von 134 g Obst und 107 g Gemüse (mit einer Schwankungsbreite von 33,0 g - 315 g bzw. 48,9 g - 267 g) pro Tag auf<sup>45</sup>. Für die verschiedenen biochemischen Meßwerte wurden zunächst bivariate Korrelationen ermittelt und anschließend mittels partieller Korrelationen näher analysiert, um Scheinbeziehungen aufzudecken. Zusätzlich erfolgte eine Datenanalyse mittels multipler linearer Regression, um zu überprüfen, ob und in wieweit die Spiegel der Biomarker durch verschiedene Faktoren erklärt werden können. Dabei ergaben sich folgende Ergebnisse:

Für  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin und die Gesamtcarotinoide konnten mittels bivariater Korrelation Beziehungen zur Aufnahme von Obst und/ oder Gemüse ermittelt werden. Für die anderen untersuchten Parameter (Lutein, Zeaxanthin, Lycopin, Ascorbinsäure, Folsäure und Homocystein) fanden sich dagegen keine Zusammenhänge mit der Obst- und/ oder Gemüsezufuhr. In praktisch allen Fällen ergaben sich Beziehungen zu unterschiedlichen anderen Einflussfaktoren, so beispielsweise zum BMI, dem Körperfett-Gehalt oder dem Cholesterolspiegel. Die Stärke der Zusammenhänge, sowohl zu Obst und Gemüse, als auch zu den anderen Faktoren, war allerdings überwiegend sehr gering.

---

<sup>45</sup> ohne Hülsenfrüchte und Kartoffeln.

Aus der weitergehenden Analyse der Daten mit Hilfe der partiellen Korrelation ergab sich, dass es sich bei der überwiegenden Mehrzahl der zuvor ermittelten Zusammenhänge um Scheinkorrelationen handelte. Eine Beziehung zu den interessierenden Lebensmittelgruppen Obst und Gemüse konnte lediglich für die Gesamtcarotinoide und Obst [ $r = 0,305$  ( $p = 0,010$ )] bestätigt werden. Daneben ergaben sich Trends für eine Beziehung zwischen den Plasmaspiegeln an  $\beta$ -Carotin sowie  $\beta$ -Cryptoxanthin und der Obstzufuhr [ $r = 0,233$  ( $p = 0,053$ ) bzw.  $r = 0,207$  ( $p = 0,086$ )] und für die Gesamtcarotinoid-Plasmaspiegel und den summierten Konsum von Obst und Gemüse [ $r = 0,223$  ( $p = 0,063$ )]. Keine der untersuchten Substanzen wies eine Beziehung zur Gemüsezufuhr auf.

Der Versuch, mittels multipler linearer Regression die Varianz der Meßwerte der verschiedenen potenziellen Biomarker anhand der aus der Korrelationsanalyse bekannten Einflussgrößen (Obst, Gemüse und andere Faktoren) zu erklären, zeigte, dass bei allen untersuchten Substanzen - wenn überhaupt - nur ein sehr geringer Teil der Streuung (3,9 % bis maximal 32,7 %) hierdurch zu erklären war. Neben den bekannten Einflussfaktoren müssen also noch zahlreiche weitere (unbekannte) Parameter die Spiegel der Biomarker beeinflussen, wobei deren Effekt weitaus höher liegt als die Bedeutung des Obst- und/ oder Gemüseverzehr.

Somit kann geschlossen werden, dass sich die Aufnahme von Obst und/ oder Gemüse in verschiedenen Substanzen zwar *qualitativ* niederschlägt, daraus aber keine *quantitative* Beziehung abgeleitet werden kann. Die Frage, ob aus den Blutspiegeln verschiedener Substanzen Rückschlüsse auf die Höhe der Obst- und Gemüsezufuhr zu ziehen sind, ist somit zumindest für das von uns untersuchte Kollektiv zu verneinen.

## 8 SUMMARY

The objective of this paper was to investigate whether it is possible to establish biomarkers which allow conclusions to the consumed amount of fruit and vegetables. Therefore, in april 2001 the consumption of these and other foodstuffs of 85 anamnestic healthy women (age 25 to 55) was acquired by using a validated food-frequency-questionnaire (FFQ) over a period of 12 months. At the same time different clinical biochemical parameters were determined which, according to the present literature, seemed to be appropriate and potential biomarkers. Because of their ubiquitary occurrence in fruits and vegetables carotinoids ( $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene,  $\beta$ -cryptoxanthin, lutein, zeaxanthin, and lycopene) and vitamins such as folic acid and ascorbic acid were chosen. More over, the plasma level of homocystein was included into the investigation as an indirect marker because several data indicate that an increased consumption of fruit and vegetables goes along with an elevated intake of folic acid and will therefore lead to decreased levels of homocystein.

The collective showed a median daily intake of 134 g of fruit and 107 g of vegetables (within a range of 33,0 g – 315 g and 48,9 g – 267 g respectively)<sup>46</sup>. At first, bivariant correlation for all the different biomarkers were determined. Then, in order to trace out any fictitious relations, they were more closely analysed by using partial correlation. Additionally, a data-analysis using multiple linear regression was carried out to examine if and how levels of these biomarkers can be explained by different factors. The results turned out to be as follows:

By using bivariant correlation relations to the consumed amount of fruit and vegetables could be found for  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene,  $\beta$ -cryptoxanthin and the total amount of carotenoids. For all other parameters (lutein, zeaxanthin, lycopene, ascorbic acid, folic acid and homocystein) no relations could be determined. In practically all cases relations to several other factors, such as BMI, amount of body fat or cholesterol levels were detected. In most cases the magnitude of all these relations turned out to be very small.

Further analysis of the data using partial correlation showed that the majority of the relations that have been determined earlier were only fictitious correlations. A real correlation regarding the intake of fruit and vegetables could only be observed for the total of carotenoids and for fruit [ $r = 0,305$  ( $p=0,010$ )]. Besides, tendencies for other relations

---

<sup>46</sup> Without legumes and potatoes.

could be observed, one between the plasma levels of  $\beta$ -carotene as well as  $\beta$ -cryptoxanthin and the intake of fruit [ $r = 0,233$  ( $p = 0,053$ ) and  $r = 0,207$  ( $p = 0,086$ )] and another one between the total carotenoid plasma levels and the total consumption of fruit and vegetables [ $r = 0,223$  ( $p = 0,063$ )]. None of the examined substances showed relations to the intake of vegetables.

When multiple linear regression is used in order to try to explain the measured variance of all the different biomarkers by known influencing factors (fruit, vegetables and other factors) which have been found in the correlation analysis, it showed that for all examined substances only a very small part of the dispersion (3,9 % to a maximum of 32,7 %) may be explained by these factors. Therefore, apart from known factors there must be several other (unknown) parameters which have an influence on the biomarker-levels and the impact they have is higher than the consumption of fruit and/ or vegetables.

In the end, it can be concluded that the intake of fruit and/ or vegetables manifests in a *qualitative* way but this does not automatically allow to deduce a *quantitative* relation. As far as our examined collective is concerned, the question about whether or not plasma levels of different substances may reflect the consumed amount of fruit and vegetables, must be denied.

## 9 LITERATURVERZEICHNIS

- Adams-Campbell LL, Nwankwo MU, Ukoli FA, Omene JA, Kuller LH: Serum retinol, carotenoids, vitamin E, and cholesterol in Nigerian women. *J Nutr Biochem* 1992; 3: 58-61
- Albanes D, Virtamo J, Taylor PR, Rautalahti M, Pietinen P, Heinonen OP: Effects of supplemental beta-carotene, cigarette smoking, and alcohol consumption on serum carotenoids in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (2): 366-72
- Alberg A: The influence of cigarette smoking on circulating concentrations of antioxidant micronutrients. *Toxicology* 2002; 180 (2): 121-37
- Amessen E, Refsum H, Bonaa KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE: Serum total homocysteine and Coronary Heart Disease. *Int J Epidemiol* 1995; 24: 704-09
- Andersen LF: Biological markers for the intake of fruits and vegetables. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1999; 119 (23): 3421-26
- Arai Y, Watanabe S, Kimira M, Shimoi K, Mochizuki R, Kinoshita N: Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *J Nutr* 2000; 130 (9): 2243-50
- Ashfield-Watt PA, Clark ZE, Breay P, Zotos PC, Cale SB, Burr ML, McDowell IF: Nutritional advice to increase soluble fibre intake does not change plasma folate or homocysteine in men with angina: a randomised controlled trial. *Public Health Nutr* 2002; 5 (1): 47-53
- Atteslander P: Methoden der empirischen Sozialforschung. 8. Aufl., de Gruyter, New York 1995
- Backhaus K, Erichson B, Plinke W, Schuchard-Fischer C, Weiber R: Multivariate Analysemethoden – Eine anwendungsorientierte Einführung. 5. Aufl., Springer Verlag, Heidelberg 1989
- Baron DN: Wellcome lecture 1986 – Ideas towards a general theory of clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem* 1986; 23 (6): 615-23
- Bässler KH, Golly I, Loew D: Vitamin-Lexikon für Ärzte, Apotheker und Ernährungswissenschaftler. 3. Aufl., Gustav Fischer, Stuttgart-Jena-Lübeck-Ulm 2002
- Bates CJ: Bioavailability of vitamin C. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 28-33
- Bates CJ, Thurnham DI, Bingham SA, Margetts BM, Nelson M: Biochemical markers of nutrient intake. In: Margetts BM, Nelson M: Design Concepts in Nutritional Epidemiology. Oxford University Press, New York 1997, 171-240
- Bayer W, Schmidt K, Wegemund M: Homocystein – ein Risikofaktor für Herz- und Gefäßerkrankungen. *Naturheilpraxis* 1997; 5: 711-18
- Bazzano LA, He J, Ogden LG, Loria CM, Vupputuri S, Myers L, Whelton PK: Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Am J Clin Nutr* 2002; 76 (1): 93-99
- Belitz HD, Grosch W: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 4. Aufl. Springer Verlag, Heidelberg 1992
- Bellach BM, Herrmann-Kunz E, Thefeld W: Der Bundesgesundheitsurvey 1997/98. *Gesundheitswesen* 1998; 60 (Sonderheft 2): 59-68
- Bendich A: Carotinoids and the immune response. *Am J Nutr* 1991; 136: 112-14
- Benzie IFF, Strain JJ: Acute post-ingestion changes in plasma ascorbic acid concentration – relationship to dose and to existing body stores. *Nutr Res* 1997; 17: 187-90

- Benzie IFF, Janus ED, Strain JJ: Plasma ascorbate and vitamin E levels in Hong Kong Chinese. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 447-51
- Benzie IFF: Vitamin C – prospective functional markers for defining optimal nutritional status. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 469-76
- Berg G, Kohlmeier L, Brenner H: Use of oral contraceptives and serum beta-carotene. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51 (3): 181-87
- Bernstein A, Nelson ME, Tucker KL, Layne J, Johnson E, Nuernberger A, Castaneda C, Judge JO, Buchner D, Singh MF: A home-based nutrition intervention to increase consumption of fruits, vegetables, and calcium-rich foods in community dwelling elders. *J Am Diet Assoc* 2002; 102 (10): 1421-27
- Bessard J, Cracowski JL, Stanke-Labesque F, Bessard G: Determination of isoprostaglandin F2 alpha type III in human urine by gas chromatography – electronic impact mass spectrometry. Comparison with enzyme immunoassay. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000; 754 (2): 333-43
- BGVV: Der Bundeslebensmittelschlüssel (BLS II.3) – Konzeption, Aufbau und Dokumentation der Datenbank blsdatt. Hefte 08, 1999
- Biesalski HK, Böhles H, Esterbauer H, Fürst P, Gey KF, Kasper H, Sies H, Weisburger J, Hundsdörfer G: Antioxidative Vitamine in der Prävention. *Dt Ärztebl* 1995; 92: 1316-21
- Biesalski HK: Vitamine. In: Biesalski HK, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin HB (Hrsg): *Ernährungsmedizin*. Thieme, Stuttgart 1999a, 111-58
- Biesalski HK: Ballaststoffe. In: Biesalski HK, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin HB (Hrsg): *Ernährungsmedizin*. Thieme, Stuttgart 1999b, 69-73
- Bingham SA, Welch AA, McTaggart A, Mulligan AA, Runswick SA, Luben R, Oakes S, Khaw KT, Wareham N, Day NE: Nutritional methods in the European Prospective Investigation of Cancer in Norfolk. *Public Health Nutr* 2001; 4 (3): 847-58
- Block G, Patterson B, Subar A: Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 1992; 18 (1): 1-29
- Block G, Mangels AR, Patterson BH, Levander OA, Norkus EP, Taylor PR: Body weight and prior depletion affect plasma ascorbate levels attained on identical vitamin C intake: a controlled-diet study. *J Am Coll Nutr* 1999; 18 (6): 628-37
- Block G, Norkus E, Hudes M, Mandel S, Helzlsouer K: Which plasma antioxidants are most related to fruit and vegetable consumption? *Am J Epidemiol* 2001a; 154 (12): 1113-18
- Block G, Mangels AR, Norkus EP, Patterson BH, Levander OA, Taylor PR: Ascorbic acid status and subsequent diastolic and systolic blood pressure. *Hypertension* 2001b; 37 (2): 268-69
- Böhm H, Boeing H, Hempel J, Raab B, Kroke A: Flavonole, Flavone und Anthocyane als natürliche Antioxidantien der Nahrung und ihre mögliche Rolle bei der Prävention chronischer Erkrankungen. *Z Ernährungswiss* 1998; 37: 141-163
- Böhm V, Bitsch R: Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr* 1999; 38: 118-25
- Boeing H, Bohlscheid-Thomas S, Voss S, Schneeweiss S, Wahrendorf J: The relative validity of vitamin intakes derived from a Food Frequency Questionnaire compared to 24-hour Recalls and Biological Measurements: Results from the EPIC pilot study in Germany. *Int J Epidemiol* 1997; 26 (Suppl. 1): 82-90

- Bogers RP, Dagnelie PC, Westerterp KR, Kester AD, van Klaveren JD, Bast A, van den Brandt PA: Using a correction factor to correct for overreporting in a food-frequency questionnaire does not improve biomarker-assessed validity of estimates for fruit and vegetable consumption. *J Nutr* 2003; 133 (4): 1213-19
- Bognàr A: Vitaminverluste bei der Lagerung und Zubereitung von Lebensmitteln. *Nutrition* 1995; 19: 411-16, 478-83, 1098-1105
- Bohlscheid-Thomas S, Hoting I, Boeing H, Wahrendorf J: Reproducibility and relative validity of food group intake in a Food Frequency Questionnaire developed for the German Part of the EPIC project. *Int J Epidemiol* 1997a; 26 (Suppl. 1): 59-70
- Bohlscheid-Thomas S, Hoting I, Boeing H, Wahrendorf J: Reproducibility and relative validity of energy and macronutrient intake of a Food Frequency Questionnaire developed for the German Part of the EPIC project. *Int J Epidemiol* 1997b; 26 (Suppl. 1): 71-81
- Boileau TWM, Moore AC, Erdman JW Jr: Carotenoids and vitamin A. In: Papas AM (ed): *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. CRC Press, Boca Raton 1999, 133-51
- Bolton-Smith C, Casey CE, Gey KF: Antioxidant vitamin intakes assessed using a food-frequency questionnaire: correlation with biochemical status in smokers and non-smokers. *Br J Nutr* 1991; 65: 337-46
- Borel P, Tyssandier V, Mekki N, Grolier P, Rochette Y, Alexandre-Gouabau MC, Lairon D, Azais-Braesco V: Chylomicron  $\beta$ -carotene and retinyl palmitate responses are dramatically diminished when men ingest  $\beta$ -carotene with medium-chain rather than long-chain triglycerides. *J Nutr* 1998; 128: 1361-67
- Bourne LC, Rice-Evans C: Bioavailability of ferulic acid. *Biochem Biophys Res Commun* 1998a; 253 (2): 222-27
- Bourne LC, Rice-Evans CA: Urinary detection of hydroxycinnamates and flavonoids in humans after high dietary intake of fruit. *Free Rad Res* 1998b; 28: 429-38
- Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG: A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-57
- Bowen PE, Mobarhan S, Cecil Smith J: Carotenoid absorption in humans. *Methods Enzymol* 1993a; 214: 3-17
- Bowen PE, Garg V, Stacewicz-Saountzakis M, Yelton L, Schreiner RS: Variability of serum carotenoids in response to controlled diets containing six servings of fruits and vegetables per day. *Ann N Y Acad Sci* 1993b; 691: 241-43
- Brady WE, Mares-Perlman JA, Bowen P, Stacewicz-Sapuntzakis M: Human serum carotenoid concentrations are related to physiologic and lifestyle factors. *J Nutr* 1996; 126 (1): 129-37
- Branca F, Hanley AB, Pool-Zobel B, Verhagen H: Biomarkers in disease and health. *Br J Nutr* 2001; 86 (Suppl): 55-92
- Brattström LE, Lindgren A, Israelson B, Andersson A, Hultberg B: Homocysteine and cysteine – determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med* 1994; 236: 633-41
- Bravo L: Polyphenols – chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56 (11): 317-33
- Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, Nicol MF, Basilico MJ, Wikinski RW, Lesuy SF: Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. *Clin Sci (Lond)*; 96 (4): 381-85

- Brockhaus FA (Hrsg): Der Brockhaus Ernährung – Gesund essen, bewusst leben. F.A. Brockhaus GmbH, Leipzig – Mannheim 2001
- Broekmans WM, Klopping-Ketelaars IA, Schuurman CR, Verhagen H, van den Berg H, Kok FJ, van Poppel G: Fruits and vegetables increase plasma carotenoids and vitamins and decrease homocysteine in humans. *J Nutr* 2000; 130 (6): 1578-83
- Brönstrup A, Pietrzik K: Bedeutung von Homocystein bei der Entstehung von Atherosklerose – Ist eine Supplementierung mit Vitaminen sinnvoll? *Ern Umschau* 1996; 43 (3): 80-87
- Brosius G: SPSS / PC + Basics and Graphics. Einführung und praktische Beispiele. McGraw-Hill Company, Hamburg 1989
- Brouwer IA, van Dusseldorp M, Thomas CM, Duran M, Hautvast JG, Eskes TK, Steegers-Theunissen RP: Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 1999a; 69 (1): 99-104
- Brouwer IA, van Dusseldorp M, West CE, Meyboom S, Thomas CM, Duran M, van het Hof KH, Eskes TK, Hautvast JG, Steegers-Theunissen RP: Dietary folate from vegetables and citrus fruit decreases plasma homocysteine concentrations in humans in a dietary controlled trial. *J Nutr* 1999b; 129 (6): 1135-39
- Brussard JH, Lowik MRH, van den Berg H, Brants HAM, Goldbohm RA: Folate intake and status among adults in the Netherlands. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 46-50
- Bühl A, Zöfel P: SPSS Version 10 – Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows. 7. Aufl., Addison Wesley Verlag, München 2000
- Burkitt DP, Trowell HC: Dietary fibre and western diseases. *Ir Med J* 1977; 70 (9): 272-77
- Burkitt DP, Trowell HC: Nutritional intake, adiposity, and diabetes. *Br Med J* 1979; 1 (6170): 1083-84
- Burri BJ, Neidlinger TR, Clifford AJ: Serum carotenoid depletion follows first-order kinetics in healthy adult women fed naturally low carotenoid diets. *J Nutr* 2001 Aug; 131 (8): 2096-100
- Butz P, Edenharder R, Fister H, Tauscher B: The influence of high pressure processing on antimutagenic activities of fruit and vegetable juice. *Food Res Int* 1997; 30: 287-91
- Byers T, Perry G: Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 139-59
- Calder PC, Kew S: The immune system: a target for functional foods? *Br J Nutr* 2002; 88 (Suppl 2): 165-77
- Campbell DR, Gross MD, Martini MC, Grandits GA, Slavin JL, Potter JD: Plasma carotenoids as biomarkers of vegetable and fruit intake. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 493-500
- Cantilena LR, Strukel TA, Greenberg R, Nann S, Nierenberg DW: Diurnal and seasonal variation of five carotenoids measured in human serum. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 659-63
- Castenmiller JJM, West CE: Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Annu Rev Nutr* 1998; 18: 19-38
- Castenmiller JJ, West CE, Linssen JP, van het Hof KH, Voragen AG: The food matrix of spinach is a limiting factor in determining the bioavailability of beta-carotene and to a lesser content of lutein in humans. *J Nutr* 1999; 129 (2): 349-55
- Castenmiller JJ, van de Poll CJ, West CE, Brouwer IA, Thomas CM, van Dusseldorp M: Bioavailability of folate from processed spinach in humans. Effect on food matrix and interaction with carotenoids. *Ann Nutr Metab* 2000; 44 (4): 163-69

- Chen BH, Chen TM, Chien JT: Kinetic model for studying the isomerization of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene during heating and illumination. *J Agric Food Chem* 1994; 42: 2391-97
- Chopra M, O'Neill ME, Keogh N, Wortley G, Southon S, Thurnham DI: Influence of increased fruit and vegetable intake on plasma and lipoprotein carotenoids and LDL oxidation in smokers and nonsmokers. *Clin Chem* 2000; 46 (11): 1818-29
- Chowers Y, Sela BA, Holland R, Fidder H, Simoni FB, Bar-Meir S: Increased levels of homocysteine in patients with Crohn's disease are related to folate levels. *Am J Gastroenterol* 2000; 95 (12): 3498-502
- Christodoulakos G, Panoulis C, Rizos D, Moustakarias T, Phocas I, Creatsas G: Homocysteine and folate levels in postmenopausal women. *Maturitas* 2001; 39 (2): 161-67
- Chug-Ahuja JK, Holden JM, Forman MR, Mangels AR, Beecher GR, Lanza E: The development and application of a carotenoid database for fruits, vegetables, and selected multicomponent foods. *J Am Diet Assoc* 1993; 93 (3): 318-23
- Clevidence BA, Bieri JG: Association of plasma carotenoids with human plasma lipoprotein fractions. *Methods Enzymol* 1993; 214: 33-46
- Clinton SK: Lycopene – chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr Rev* 1998; 56 (2 Pt 1): 35-51
- Combs GF: The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health. Academic Press, San Diego, New York, Boston 1998
- Cooney RV, Franke AA, Hankin JH, Custer LJ, Wilkens LR, Harwood PJ, Le Marchand L: Seasonal variations in plasma micronutrients and antioxidants. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4: 207-15
- Craig WJ: Phytochemicals – guardians of our health. *J Am Diet Assoc* 1997; 97 (10 Suppl 2): 199-204
- Crews H, Alink G, Andersen R, Braesco V, Holst B, Maiani G, Ovesen L, Scotter M, Solfrizzo M, van den Berg R, Verhagen H, Williamson G: A critical assessment of some biomarker approaches linked with dietary intake. *Br J Nutr* 2001; 86 (Suppl): 5-35
- Cummings JH, Bingham SA: Diet and the prevention of cancer. *BMJ* 1998; 317: 1636-40
- Cuskelly GJ, McNulty H, Scott JM: Effect of increasing dietary folate on red-cell folate: implications for preventing of neural tube effects. *Lancet* 1996; 347: 657-59
- de Bree A, Verschuren WM, Blom HJ, Kromhout D: Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Epidemiol* 2001; 154 (2): 150-54
- De Cree C, Malinow MR, van Kranenburg GP, Geurten PG, Longford NT, Keizer HA: Influence of exercise and menstrual cycle phase on plasma homocyst(e)ine levels in young women – a prospective study. *Scand J Med Sci Sports* 1999; 9 (5): 272-78
- De Leo V, La Marca A, Morgante G, Ciani F, Zammarchi E, Setacci C: Low-dose folic acid supplementation reduces plasma levels of the cardiovascular risk factor homocysteine in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183 (4): 945-47
- den Heijer M, Blom HJ, Gerrits WBJ, Rosendaal FR, Haak HL, Wijermans PW, Bos GMJ: Is hyperhomocysteinemia a risk factor for recurrent venous thrombosis? *Lancet* 1995; 345: 882-85
- den Heijer M, Koster T, Blom HJ, Bos GMJ, Briet E, Reitsma PH, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR: Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *New Engl J Med* 1996; 334: 759-62

- Deutsche Forschungsgemeinschaft: Ableitung von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze nach dem Eichkurvenverfahren (XI-A 1-13). In: Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, 11. Lieferung, VCH, Weinheim 1991
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.: Ernährungsbericht 2000. DGE, Frankfurt a.M. 2000
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung (Hrsg): Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. 1. Auflage, Umschau/ Braus, Frankfurt 2000
- Dierkes J, Kroesen M, Pietrzik K: Folic acid and Vitamin B6 supplementation and plasma homocysteine concentrations in healthy young women. *Int J Vitam Res* 1998; 68 (2): 98-103
- Dietrich M, Block G, Norkus EP, Hudes M, Traber MG, Cross CE, Packer L: Smoking and exposure to environmental tobacco smoke decrease some plasma antioxidants and increase gamma-tocopherol in vivo after adjustment for dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr* 2003; 77 (1): 160-66
- Dietz JM, Sri Kantha S, Erdman JW: Reversed phase HPLC analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene from selected raw and cooked vegetables. *Plant Foods Hum Nutr* 1988; 38: 333-41
- DiMascio P, Kaiser S, Sies H: Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlt oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* 1989; 274: 532-38
- Dimitrov NV, Boone CW, Hay MD: Plasma beta-carotene levels – kinetic patterns during administration of various doses of beta-carotene. *Br J Nutr Growth Cancer* 1986; 3: 227-37
- D'Oodorico A, Borrtolan S, Cardin R, D'Inca R, Martines D, Ferronato A, Sturmiolo GC: Reduced plasma antioxidant concentrations and increased oxidative DNA damage in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36 (12): 1289-94
- Drewnowski A, Rock CL, Henderson SA, Shore AB, Fischler C, Galan P, Preziosi P, Hercberg S: Serum  $\beta$ -carotene and vitamin C as biomarkers of vegetable and fruit intakes in a community-based sample of French adults. *Am J Clin Nutr* 1997; 65 (6): 1796-802
- Duell PB, Malinow MR: Homocyst(e)ine: an important risk factor for atherosclerotic vascular disease. *Curr Opin Lipidol* 1997; 8: 28-34
- Edwards AJ, Nguyen CH, You CS, Ewanson JE, Emenhiser C, Parker RS: Alpha- and beta-carotene from a commercial puree are more bioavailable to humans than from boiled-mashed carrots, as determined using an extrinsic stable isotope reference method. *J Nutr* 2002, 132 (2): 159-67
- Elinder LS, Hadell K, Johansson J, Holme JM, Olsson AG, Walldius G: Probuco treatment decreases serum concentrations of diet-derived antioxidants. *Arterio Throm Vasc Biol* 1995; 15: 1057-63
- El-Sohemy A, Baylin A, Kabagambe E, Ascherio A, Spiegelman D, Campos H: Individual carotenoid concentration in adipose tissue and plasma as biomarkers of dietary intake. *Am J Clin Nutr* 2002; 76 (1): 172-79
- Enger SM, Longnecker MP, Shikany JM, Swenseid ME, Chen MJ, Harper JM, Haile RW: Questionnaire assessment of intake of specific carotenoids. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4 (3): 201-05
- Erdmann JW, Bierer TL, Gugger ET: Absorption and transport of carotenoids. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 691: 76-85
- Erlund I, Meririnne E, Alfthan G, Aro A: Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones Naringenin and Hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. *J Nutr* 2001, 131: 235-241

- Erlund I, Silaste ML, Alfthan G, Rantala M, Kesaniemi YA, Aro A: Plasma concentrations of the flavonoids hesperetin, naringenin and quercetin in human subjects following their habitual diets, diets high or low in fruit and vegetables. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56 (9): 891-98
- Evelson P, Gambino G, Travacio M, Jaita G, Verona J, Maroncelli C, Wikinski R, Lesuy S, Brites F: Higher antioxidant defences in plasma and low density lipoproteins from rugby players. *Eur J Clin Invest* 2002; 32 (11): 818-25
- Evans RM, Currie L, Campbell A: The distribution of ascorbic acid between various cellular components of blood, in normal individuals, and its relation to the plasma concentration. *Br J Nutr* 1982; 47: 473-82
- EVI (Arbeitskreis Ernährungs- und Vitamin-Information e.V., Hrsg.): Vitamin E,  $\beta$ -Carotin, Carotinoide, Vitamin C – Nutzen und Perspektiven in Prävention und Therapie. Frankfurt 1999
- Falbe J, Regitz M (Hrsg): Römpp Chemie Lexikon. 9. Aufl, Thieme Verlag, Stuttgart 1995
- Farchi S, Forastiere F, Pistelli R, Baldacci S, Simoni M, Perucci CA, Viegi G, On behalf of the SEASD Group: Exposure to environmental tobacco smoke is associated with lower plasma beta-carotene levels among nonsmoking women married to a smoker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10 (8): 907-09
- Faruque MO, Khan MR, Rahman MN, Ahmed F: Relationship between smoking and antioxidant nutrient status. *Br J Nutr* 1995; 73 (4): 625-32
- Faustin V, Ellrott T: Praxis der Verzehrsdiagnostik. In: Schauder P, Ollenschläger G (Hrsg): Ernährungsmedizin – Prävention und Therapie. 2. Aufl., Urban und Fischer Verlag, München – Jena 2003, 378-93
- Fernandez-Miranda C, de la Calle M, Manuel Bris J, Muelas M, Gomez P, Diaz-Rubio P: Influence of menopausal status in homocysteine plasma levels. *Med Clin (Barc)* 2001; 116 (6): 206-08
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes: Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and beta-carotene, and other carotenoids. Academy Press, Washington DC 2000
- Foote CS, Denny RW: Chemistry of singlet oxygen. VII. Quenching by  $\beta$ -carotene. *Am Chem Soc* 1968; 90: 6233-35
- Ford ES, Gillespie C, Ballew C, Sowell A, Mannino DM: Serum Carotenoid concentrations in US children and adolescents. *Am J Clin Nutr* 2002; 76 (4): 818-27
- Forman MR, Zhang J, Gunter E, Yao SX, Gross M, Qiao YL, Graubard BI, Taylor PR, Keith S, Maher M: Season-specific correlation between dietary intake of fruits and vegetables and levels of serum biomarkers among Chinese tin miners at high risk for lung cancer. *Ann N Y Acad Press* 1999; 889: 230-39
- Fotouhi N, Meydani M, Santos MS, Meydani SN, Hennekens CH, Gaziano JM: Carotenoid and tocopherol concentrations in plasma, peripheral blood mononuclear cells, and red blood cells after long-term  $\beta$ -carotene supplementation in men. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 553-58
- Fowler B: Disorders of homocysteine metabolism. *J Inher Metab Dis* 1997; 20: 270-85
- Frabj T, Kuhl M, Makowski B, Bitsch R, Jahreis G, Hubscher J: Does a 100-km walking affect indicators of vitamin status? *Int J Vitam Nutr Res* 2000; 70 (5): 238-50
- Frei B, England L, Ames BN: Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Nat Acad Sci USA* 1989; 86: 6377-81
- Friedmann M: Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. *J Agric Food Chem* 2002; 50 (21): 5751-80

- Friedrich W: Handbuch der Vitamine. Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore 1987
- Fröhlich RH, Kunze M, Kiefer I: Cancer preventive value of natural, non-nutritive food constituents. *Acta Med Austriaca* 1997; 24 (3): 108-13
- Fugmann B, Lang-Fugmann S, Steglich W (Hrsg): Römpps Lexikon der Naturstoffe. 10. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart 1997
- Gandini S, Merzenich H, Robertson C, Boyle P: Meta-analysis of studies on breast cancer risk and diet: the role of fruit and vegetable and the intake of associated micronutrients. *Eur J Cancer* 2000; 36: 636-46
- Gärtner C, Stahl W, Sies H: Preferential increase in chylomicron levels of the xanthophylls lutein and zeaxanthin compared to beta-carotene in the human. *Int J Vitam Nutr Res* 1996; 66 (2): 119-25
- Gärtner C, Stahl W, Sies H: Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 116-22
- Gerhard GT, Duell PB: Homocysteine and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10: 417-28
- Gergard GT, Malinow MR, DeLoughery TG, Evans AJ, Sexton G, Connor SL, Wander RC, Connor WE: Higher total homocysteine concentrations and lower folate concentrations in premenopausal black women than in premenopausal white women. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (2): 252-60
- Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC: Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1767-76
- Giovannucci E: Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91 (4): 317-31
- Goldbohm RA, Brants HA, Hulshof KF, van den Brandt PA: The contribution of various foods to intake of vitamin A and carotenoids in The Netherlands. *Int J Vitam Nutr Res* 1998; 68 (8): 378-83
- González CA: Relative validity and reproducibility of a diet history questionnaire in Spain.III. Biochemical markers. *Int J Epidemiol* 1997; 26 (Suppl. 1): 110-17
- Gossauer A, Engel N: Chlorophyll catabolism – structures, mechanisms, conversions. *J Photochem Photobiol* 1996; 32: 141-51
- Gräfe EU, Wittig J, Müller S, Riethling AK, Ühleke B, Drewelow B, Pforte H, Jacobasch G, Derendorf H, Veit M: Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. *J Clin Pharmacol* 2001; 41 (5): 492-99
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattström LE, Ueland PM, Palma-Reis RJ, Boers GHJ, Sheahan RG, Isrealsson B, Uiterwaal CS, Meleady R, McMaster D, Verhoef P, Witterman J, Rubba P, Bellet H, Wautrecht JC, de Valk HW, Sales Luis AC, Parrot-Roulaud FM, Tan KS, Higgins I, Garcon D, Medrano MJ, Candito M, Evans AE, Andria G: Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease – The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277: 1776-81
- Graumlich JF, Ludden TM, Conry-Cantilena C, Cantilena LR Jr., Wang Y, Levine M: Pharmacokinetic model of ascorbic acid in healthy male volunteers during depletion and repletion. *Pharmaceutical Research* 1997; 14: 1133-39
- Green TJ, Houghton LA, Donovan U, Gibson RS, O'Connor DL: Oral contraceptives did not affect biochemical folate indexes and homocysteine concentrations in adolescent females. *J Am Diet Assoc* 1998; 98 (1): 49-55

- Greenberg ER, Baron JA, Karagas MR: Mortality associated with low plasma concentration of  $\beta$ -carotene and the effect of oral supplementation. *JAMA* 1996; 275: 699-703
- Greenhalgh T: Einführung in die Evidence-based Medicine. Kritische Beurteilung klinischer Studien als Basis einer rationalen Medizin. Verlag Hans Huber, Bern 2000
- Gritschneider K, Herbert B, Lührmann P, Neuhäuser-Berthold M: Versorgungszustand von Teilnehmern der Gießener Seniorenlangzeitstudie (GISELA) mit antioxidativ wirksamen Vitaminen und Selen. *Z Gerontol Geriat* 1998; 31: 448-453
- Grolier P, Boirie Y, Levadoux E, Brandolini M, Borel P, Azais-Braesco V, Beaufriere B, Ritz P: Age-related changes in plasma lycopene concentrations, but not in vitamin E, are associated with fat mass. *Br J Nutr* 2000; 84 (5): 711-16
- Groopman JD, Kensler TW: The light at the end of the tunnel for chemical-specific biomarkers: daylight or headlight? *Carcinogenesis* 1999; 20 (1): 1-11
- Gross M, Yu X, Hannan P, Prouty C, Jacobs Dr Jr: Lipid standardization of serum fat-soluble antioxidant concentrations: the YALTA study. *Am J Clin Nutr* 2003; 77 (2): 458-66
- Großklaus R: Sekundäre Pflanzenstoffe – Was ist beim Menschen wissenschaftlich hinreichend gesichert? *Aktuel Ernaehr Med* 2000; 25: 227-37
- Hahn A: Wirkungen von Pharmaka auf den Stoffwechsel der Nährstoffe. *Dtsch Apoth Ztg* 1994, 134 (50): 17-29
- Hahn A: Nahrungsergänzungsmittel. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 2001
- Hak AE, Polderman KH, Westendorp IC, Jakobs C, Hofman A, Witteman JC, Stehouwer CD: Increased plasma homocysteine after menopause. *Atherosclerosis* 2000; 149 (1): 163-68
- Hallfrisch J, Singh VN, Muller DC, Baldwin H, Bannon ME, Andres R: High plasma vitamin C associated with high plasma HDL- and HDL2 cholesterol. *Am J Clin Nutr* 1994; 60 (1): 100-05
- Halliwell B: Ascorbic acid – hype, hoax or healer? *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1891-92
- Halliwell B: Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. *Nutr Rev* 1999; 57: 104-13
- Hankey GJ, Eikelboom JW: Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354: 407-13
- Hankinson SE, Stampfer MJ, Seddon JM: Nutrient intake and cataract extraction in women: a prospective study. *Br Med J* 1992; 305: 335-39
- Harborne JB: Role of secondary metabolites in chemical defense mechanisms in plants. *Ciba Found Symp* 1990; 154: 126-34
- Harborne JB (ed): The flavonoids: advances in research since 1986. Chapman und Hall, London 1994
- Hecker H: Auswahl, Anwendung und Interpretation statistischer Tests. Eine kurze Einführung. Medizinische Hochschule hannover, Institut für Biometrie, 1997  
<http://www.mh-hannover.de/institute/biometrie> [Stand 14.10.2002]
- Hedren E, Diaz V, Svanberg U: Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56 (5): 425-30
- Heilmann J, Merfort I: Aktueller Kenntnisstand zum Metabolismus von Flavonoiden 1) Resorption und Metabolismus von Flavonolen. *Pharmazie in unserer Zeit* 1998a; 27 (2): 58-65
- Heilmann J, Merfort I: Aktueller Kenntnisstand zum Metabolismus von Flavonoiden 2) Resorption und Metabolismus von Flavonen, Flavanonen, Flavanen, Proanthocyanidinen und Isoflavonoiden. *Pharmazie in unserer Zeit* 1998b; 27 (4): 173-83

- Heinrich HC: Die experimentellen Grundlagen einer hochdosierten oralen Vitamin B12-Therapie beim Menschen. *Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde* 1967; 25: 1-24
- Hemila H: Vitamin C intake and the common cold. *Br J Nutr* 1997; 77: 59-72
- Hercberg S, Preziosi P, Galan P, Devanlay M, Keller H, Bourgeois C: Vitamin status of a healthy French population: dietary intakes and biochemical markers. *Int J Vitam Nutr Res* 1994; 64: 220-32
- Hertog MGL, Kromhout D: Flavonoid intake and longterm risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Inter Med* 1995; 155: 381-86
- Heseker H, Adolf T, Eberhardt W, Hartmann S, Herwig A, Kübler W, Matiaske B, Moch KJ, Nitsche A, Schneider R, Zipp A. In: Kübler W, Anders HJ, Heeschen W, Kohlmeier M (Hrsg): VERA-Schriftenreihe, Band III: Lebensmittel- und Nährstoffaufnahme Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland. 2. Aufl, Wissenschaftl. Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen 1994a
- Heseker H, Schneider R, Moch KJ, Kohlmeier M, Kübler W: Vitaminversorgung Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland. In: Kübler W, Anders HJ, Heeschen W, Kohlmeier M (Hrsg): VERA-Schriftenreihe, Band IV, Wissenschaftl. Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen 1994b
- Hijova E, Kuchta M, Petrasova D: Smokers - vitamin C – hypercholerstolaemia. *Cent Eur J Public Health* 2002; 10 (1-2): 29-31
- Hoffmann I: Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie: Untersuchung auf Bias am Beispiel von Fettstoffwechsel-Parametern. Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen 1994
- Holden JM, Eldridge AL, Beecher GR, Buzzard IM, Bhagwat S, Davis CS, Douglass LW, Gebhardt S, Haytowitz D, Schakel S: Carotenoid content of U.S. Foods: an update of the database. *J Food Comp Anal* 1999; 12: 169-96
- Hollman PCH, van Trijp JMP, Buysman MNCP, van der Gaag MS, Mengelers MJB, de Vries JHM, Katan MB: Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Lett* 1997; 418: 152-56
- Hollman PC, Katan MB: Dietary flavonoids – intake, health effects and bioavailability. *Food Chem Toxicol* 1999; 37 (9-10): 937-42
- Horner NK, Kristal AR, Prunty J, Skor HE, Potter JD, Lampe JW: Dietary determinants of plasma enterolactone. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11 (1): 121-26
- Hossain MZ, Wilkens LR, Mehta PP, Loewenstein WR, Bertram JS: Enhancement of gap junctional communication by retinoids correlates with their ability to inhibit neoplastic transformation. *Carcinogenesis* 1989; 10: 1743-48
- Hubel CA, Kagan VE, Kisin ER, McLaughlin MK, Roberts JM: Increased ascorbate radical formation and ascorbate depletion in plasma from women with preeclampsia: implications for oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 1997; 4: 597-609
- Irwig MS, El-Sohemy A, Baylin A, Rifai N, Campos H: Frequent intake of tropical fruits that are rich in beta-cryptoxanthin is associated with higher plasma beta-cryptoxanthin concentrations in Costa Rican adolescents. *J Nutr* 2002; 132 (10): 3161-67
- Ito Y, Gajalakshmi KC, Sasaki R, Suzuki K, Shanta V: A study on serum carotenoid levels in breast cancer patients of Indian women in Chennai (Madras), India. *J Epidemiol* 1999; 9 (5): 306-14
- Itoh R, Yamada K, Oka J, Echizen H, Suyama Y, Murakami K: Serum ascorbic acid and HDL cholesterol in a healthy elderly Japanese population. *Int J Vitam Nutr Res* 1990; 60 (4): 360-65
- Itoh R, Yamada K, Oka J, Echizen H, Murakami K: Sex as a factor in levels of serum ascorbic acid in a healthy elderly population. *Int J Vitam Nutr Res* 1998; 59 (4): 365-72
- Jackson MJ, McArdle A, McArdle F: Antioxidant micronutrients and gene expression. *Proc Nutr Soc* 1998; 57: 301-05

- Jacob RA: Assessment of human vitamin C status. *J Nutr* 1990; 120: 1480-85
- Jacques PF, Sulsky SI, Perrone GA, Schaefer EJ: Ascorbic acid and plasma lipids. *Epidemiology* 1994; 5 (1): 19-26
- Jalal F, Nesheim MC, Agus Z, Sanjur D, Habicht JP: Serum retinol concentrations in children are affected by food sources of  $\beta$ -carotene, fat intake, and anthelmintic drug treatment. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 623-29
- Jayarajan P, Reddy V, Mohanram M: Effect of dietary fat on absorption of  $\beta$ -carotene from green leafy vegetable in children. *Indian J Med Res* 1980; 71: 53-56
- John JH, Ziebland S, Yudkin P, Roe LS, Neil HA (Oxford Fruit and Vegetable Study Group): Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 359 (9322): 1969-74
- Johnson EJ, Russell RM: Distribution of orally administered  $\beta$ -carotene among lipoproteins in healthy men. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 128-351
- Johnson EJ, Suter PM, Sahyoun N, Ribaya-Mercado JD, Russell RM: Relation between  $\beta$ -carotene in plasma and adipose tissue concentrations of carotenoids and retinoids. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 598-603
- Johnson EJ, Qin J, Krinsky NI, Russell RM: Ingestion by men of a combined dose of beta-carotene and lycopene does not affect the absorption of beta-carotene but improves that of lycopene. *J Nutr* 1997; 127 (9): 1833-37
- Joosten E, van den Berg A, Riezler R, Naurath HJ, Lindebaum J, Stabler SP, Allen RH: Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B12 (cobalamin), folate, and vitamin B6 occur commonly in elderly people. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 468-76
- Kaaks RJ: Biochemical markers as additional measurements in studies of the accuracy of dietary questionnaire measurements: conceptual issues. *Am J Clin Nutr* 1997; 65 (Suppl): 1232-39
- Kaaks R, Riboli E, Sinha R: Biochemical markers of dietary intake. *IARC Sci Publ* 1997; 142: 103-26
- Kang SS: Treatment of hyperhomocyst(e)inemia: Physiological basis. *J Nutr* 1996; 126: 1273-75
- Kardinaal AFM, van't Veer P, Brants HAM, van den Berg H: Relations between antioxidant vitamins in adipose tissue, plasma, and diet. *Am J Epidemiol* 1995; 141: 440-50
- Kelloff GJ, Cowell JA, Steele VE, Lubert RA, Malone WA, Boone CW, Kopelovich L, Hawak ET, Liebermann R, Lawrence JA, Ali I, Viner JL, Sigman CC: Progress in cancer prevention: development of diet-derived chemopreventive agents. *J Nutr* 2000; 130: 467-71
- Kelly GS: The interaction of cigarette smoking and antioxidants. Part I: diet and carotenoids. *Altern Med Rev* 2002; 7 (5): 370-88
- Khachik F, Beecher GR, Whittaker NF: Separation, identification, and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 1986; 34: 603
- Khachik F, Goli MB, Beecher GR, Holden J, Lusby WR, Tenorio MD, Barrera MR: Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J Agric Food Chem* 1992; 40: 390-98
- Khachik F, Beecher GR, Cecil Smith J: Lutein, lycopene, and their oxidative metabolites in chemoprevention of cancer. *J Cell Biochem* 1995; 22 (Suppl): 236-46
- Khachik F, Spangler CJ, Smith JC Jr: Identification, Quantification, and Relative Concentrations of Carotenoids and Their Metabolites in Human Milk and Serum. *Anal Chem* 1997; 69 (10): 1873-81

- Khaw KT, Bingham S, Welch A, Luben R, Wareham N, Oakes S, Day N: Relation between plasma ascorbic acid and mortality in men and women in EPIC-Norfolk prospective study: a prospective population study. *Lancet* 2001; 357: 657-63
- Kilkkinen A, Stumpf K, Pietinen P, Valsta LM, Tapanainen H, Adlercreutz H: Determinants of serum enterolactone concentration. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (6): 1094-100
- Kipnis V, Freedman LS, Brown CC, Hartman A, Schatzkin A, Wacholder S: Interpretation of energy adjustment models for nutritional epidemiology. *Am J Epidemiol* 1993; 137: 1376-80
- Kirkman LM, Lampe JW, Campbell DR, Martini MC, Slavin JL: Urinary lignan and isoflavonoid excretion in men and women consuming vegetable and soy diets. *Nutr Cancer* 1995; 24 (1): 1-12
- Kitamura Y, Tanaka K, Kiyohara C, Hirohata T, Tomita Y, Ishibashi M, Kido K: Relationship of alcohol use, physical activity and dietary habits with serum carotenoids, retinol and alpha-tocopherol among male Japanese smokers. *Int J Epidemiol* 1997; 26 (2): 307-14
- Kohlmeier M: Simple method for preparing and quantifying very-low-density lipoprotein. *Clin Chem* 1984; 30: 295-97
- Kohlmeier L: Analytical problems in nutritional epidemiology. In: Kohlmeier L, Helsing E (Hrsg): *Epidemiology, nutrition and health*. Smith-Gordon, London 1989, 9-18
- Kostic D, White WS, Olson JA: Intestinal absorption, serum clearance, and interactions between lutein and  $\beta$ -carotene when administered to human adults in separate or combined oral doses. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 604-10
- Koz M, Erbas D, Bilgihan A, Aricioglu A: Effects of acute swimming exercise on muscle on muscle and erythrocyte malondialdehyde, serum myoglobin, and plasma ascorbic acid concentrations. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70 (10): 1392-95
- Krinsky NI, Russett MD, Handelman GJ, Snodderly DM: Structural and geometrical isomers of carotenoids in human plasma. *J Nutr* 1990; 120: 1654-62
- Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD: Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 2002; 113 (Suppl 9B): 71-88
- Kübler W, Anders HJ, Heeschen W (Hrsg): *Ergebnisse der Nationalen Verzehrsstudie (1985-1988) über die Lebensmittel- und Nährstoffaufnahme in der Bundesrepublik Deutschland*. Bd XI, Fleck, Niederkleen 1995
- Kuo SM, Stout A, Wactawski-Wende J, Leppert PC: Ascorbic acid status in postmenopausal women with hormone replacement therapy. *Maturitas* 2002; 41 (1): 45-50
- Lampe JW: Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (Suppl): 475-90
- Lampe JW, Gustafson DR, Hutchins AM, Martini MC, Li S, Wähälä K, Grandits GA, Potter JD, Slavin JL: Urinary isoflavonoid and lignan excretion on a Western Diet: Relation to soy, vegetable, and fruit intake. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 699-707
- Law MR, Morris JK: By how much does fruit and vegetable consumption reduce the risk of ischaemic heart disease? *Eur J Clin Nutr* 1998; 52 (8): 549-56
- Lee EJ, Myint CC, Tay ME, Yusuf N, Ong CN: Serum ascorbic acid and protein calorie malnutrition in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* 2001; 17: 219-22
- Leibovitch I, Kurtz S, Shemesh G, Goldstein M, Sela BA, Lazar M, Loewenstein A: Hyperhomocysteinemia in Pseudoexfoliation Glaucoma. *Glaucoma* 2003; 12 (1): 36-39
- Leitzmann C, Hahn A: *Vegetarische Ernährung*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 1996

- Leitzmann C, Müller C, Michel P, Brehme U, Hahn A, Laube H: Ernährung in Prävention und Therapie. Hippokrates, Stuttgart 2001
- Le Marchand L, Hankin JH, Carter S, Essling C, Luffey D, Franke AA, Wilkens LR, Cooney RV, Kolonel LN: A pilot study on the use of plasma carotenoids and ascorbic acid as biomarkers of compliance to a high fruit and vegetable dietary intervention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 245-51
- Le Marchand L: Cancer preventive effects of flavonoids – a review. *Biomed Pharmacother* 2002; 56 (6): 296-301
- Levine M, Conry-Catilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, Park JB, Lazarev A, Graumlich JF, King J, Cantilena LR: Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers; evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 3704-09
- Lichtman SW, Pisarska K, Berman ER, Pestone M, Dowling H, Offenbacher E, Weisel H, Heshka S, Matthews DE, Heymsfield SB: Discrepancy between self-reported and actual caloric intake and exercise in obese subjects. *New Engl J Med* 1992; 327: 1893-98
- Lievers KJ, Kluijtmans LA, Blom HJ: Genetics of hyperhomocysteinemia in cardiovascular disease. *Ann Clin Biochem* 2003; 49 (1): 46-59
- Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen RH: Diagnosis of cobalamin deficiency II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid and total homocysteine. *Am J Hematol* 1990; 34: 99-107
- Liu ML, Bergholm R, Makimattila S, Lahdenpera S, Valkonen M, Hilden H, Yki-Jarvinen H, Taskinen MR: A marathon run increases the susceptibility of LDL to oxidation in vitro and modifies plasma antioxidants. *Am J Physiol* 1999; 276 (6 Pt 1): 1083-91
- Liu S, Manson JAE, Lee IM, Cole SR, Hennekens CH, Willett WC, Buring JE: Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 922-28
- Löffler G, Petrides PE: Biochemie und Pathobiochemie. 5. Aufl, Springer Verlag, Berlin 1997
- Lorenz RJ: Grundbegriff der Biometrie. 4. Aufl., Gustav Fischer, Stuttgart-Jena-Lübeck-Ulm 1996
- Lucock MD, Daskalakis I, Schorah CJ, Lumb CH, Oliver M, Devitt H, Wild J, Dowell AC, Levene MI: Folate-homocysteine interrelations: potential new markers of folate status. *Mol Gen Metab* 1999; 67: 23-35
- Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest Jr J: Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 587-93
- Malinow MR: Plasma homocyst(e)ine – a risk factor for arterial occlusive diseases. *J Nutr* 1996; 126: 1238-43
- Manach C, Morand C, Gil-Izquierdo A, Bouteloup-Damage C, Remsey C: Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57 (2): 235-42
- Mangels AR, Holden JM, Beecher GR, Forman MR, Lanza E: Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *J Am Diet Assoc* 1993a; 93 (3): 284-96
- Mangels AR, Block G, Frey CM, Patterson BH, Taylor PR, Norkus EP, Levander OA: The bioavailability to humans of ascorbic acid from oranges, orange juice and cooked broccoli is similar to that of synthetic ascorbic acid. *J Nutr* 1993b; 123: 1054-61
- Marangon K, Herbeth B, Lecomte E, Paul-Dauphin A, Grolier P, Chancerelle Y, Arthur Y, Siest G: Diet, antioxidants, and smoking habits in French men. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 231-39

- Margetts BM, Nelson M (Hrsg): Design concepts in nutritional epidemiology. Oxford University Press, New York 1991
- Martini MC, Campbell DR, Gross MD, Grandits GA, Potter JD, Slavin JL: Plasma carotenoids as biomarkers of vegetable intake: The University of Minnesota Cancer Prevention Research Unit feeding studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 213: 491-96
- Maskarinec G, Chan CLY, Meng L, Franke AA, Cooney RV: Exploring the feasibility and effects of a high-fruit and -vegetable diet in healthy women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 919-24
- Matthias D, Becker CH, Riezler R, Kindling PH: Homocysteine induced arteriosclerosis-like alterations of the aorta in normotensive and hypertensive rats following application of high doses of methionine. *Atherosclerosis* 1996; 122: 201-16
- Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K: Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 517-27
- McCully KS: Homocysteine and vascular disease. The discovery of hyperhomocysteinemia as a major factor in the pathogenesis of arteriosclerosis offers new strategies and opportunities for prevention and treatment. *Nature Med* 1996; 2: 386-89
- McEligot AJ, Rock CL, Flatt SW, Newman V, Faerber S, Pierce JP: Plasma carotenoids are biomarkers of long-term high vegetable intake in women with breast cancer. *J Nutr* 1999a; 129: 2258-63
- McEligot AJ, Rock CL, Shanks TG, Flatt SW, Newman V, Faerber S, Pierce JP: Comparison of serum carotenoid responses between women consuming vegetable juice and women consuming raw or cooked vegetables. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999b; 8 (3): 227-31
- McKillop DJ, Pentieva K, Daly D, McPartlin JM, Hughes J, Strain JJ, Scott JM, McNulty H: The effect of different cooking methods on folate retention in various foods that are amongst the major contributors to folate intake in the UK diet. *Br J Nutr* 2002; 88 (6): 681-88
- McKinley MC, Strain JJ, McPartlin J, Scott JM, McNulty H: Plasma homocysteine is not subject to seasonal variation. *Clin Chem* 2001; 47 (8): 1430-36
- McNulty H, Cuskelly GJ, Ward M: Response of red blood cell folate to intervention: implications for folate recommendations for the prevention of neural tube defects. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (5 Suppl): 1308-11
- Merken HM, Beecher GR: Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *J Agric Food Chem* 2000; 48 (3): 577-99
- Mensink GBM, Herrmann-Kunz E, Thamm M: Der Ernährungssurvey. *Gesundheitswesen* 1998; 60: 83-86
- Mensink G, Beitz R, Burger M, Bisson S: Lebensmittelkonsum in Deutschland. *Ern-Umschau* 2000; 47: 328-32
- Mia MA, Siddiqui MN, Rukunuzzaman M, Rahman MM, Deb K: Protective effect of dietary fibers against colorectal carcinoma. *Mymensingh Med J* 2002; 11 (1): 54-56
- Michaud DS, Giovannucci EL, Ascherio A, Rimm EB, Forman MR, Sampson L, Willett WC: Associations of plasma carotenoid concentrations and dietary intake of specific carotenoids in samples of two prospective cohort studies using a new carotenoid database. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7 (4): 283-90
- Micozzi MS, Brown ED, Edwards BK, Bieri JG, Taylor PR, Khachik F, Beecher GR, Smith JC: Plasma carotenoid response to chronic intake of selected foods and  $\beta$ -carotene supplements in men. *Am J Clin Nutr* 199; 55: 1120-25
- Micozzi MS: Evaluation of carotenoid intake. *Methods Enzymol* 1993; 214: 17-21

- Mirvish SS: Experimental evidence for inhibition of N-nitroso compound formation as a factor in the negative correlation between vitamin C consumption and the incidence of certain cancers. *Cancer Res* 1994; 54: 1948-51
- Morton LW, Caccetta RAA, Puddey IB, Croft KD: Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clin Exp Pharma Physiol* 2000; 27: 152-59
- Mothes K: Historical introduction. In: Bell ES, Charlwood BV (eds): *Secondary plant products*. Vol. 8, Springer Verlag, Berlin 1980, 1-10
- Mühlhauser I, Berger M: Trugschlüsse durch Surrogatmarker. Fehlinterpretationen von epidemiologischen Studien und ihre Konsequenzen.. *ARS Medici* 21: 1300-1303 (1997)
- Müller H, Bub A, Watzl B, Rechkemmer G: Plasma concentrations of carotenoids in healthy volunteers after intervention with carotenoid-rich foods. *Eur J Nutr* 1999; 38 (1): 35-44
- Neal B, MacMahon S, Ohkubo T, Tonkin A, Wilcken D (PACIFIC Study Group): Dose-dependent effects of folic acid on plasma homocysteine in a randomized trial conducted among 723 individuals with coronary heart disease. *Eur Heart J* 2002; 23 (19): 1509-15
- Nelson M: Biomarkers in the study of diet and disease. *Public Health Rev* 1998; 26: 11-12
- Ness AR, Khaw KT, Bingham S, Day NE: Vitamin C status and serum lipids. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50 (11): 724-29
- Ness AR, Khaw KT, Bingham S, Day NE: Plasma vitamin C: what does it measure? *Public Health Nutr* 1999; 2: 51-54
- Nestle M: Fruits and vegetables: protective or just fellow travelers? *Nutr Rev* 1996; 54 (8): 255-57
- Neuhouser ML, Rock CL, Eldridge AL, Kristal AR, Patterson RE, Cooper DA, Neumark-Sztainer D, Cheskin LJ, Thornquist MD: Serum concentrations of retinol, alpha-tocopherol and the carotenoids are influenced by diet, race and obesity in a sample of healthy adolescents. *J Nutr* 2001; 131 (8): 2184-91
- Nielsen SE, Freese R, Kleemola P, Mutanen M: Flavonoids in human urine as biomarkers for intake of fruits and vegetables. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11 (5): 459-66
- Noakes M, Clifton P, Ntanos F, Shrapnel W, Record I, McInerney J: An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining plasma carotenoid concentrations. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 79-86
- Noroozi M, Burns J, Crozier A, Kelly IE, Lean ME: Prediction of dietary flavonol consumption from fasting plasma concentration or urinary excretion. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54 (2): 143-49
- Nygaard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland PM, Kvale G: Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. *JAMA* 1995; 274: 1526-33
- Nygrad O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE: Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 263-70
- Olmedilla B, Granado F, Blanco I, Rojas-Hidalgo E: Seasonal and sex-related variations in six serum carotenoids, retinol, and  $\alpha$ -tocopherol. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 106-10
- Olson JA: Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. *Pure Appl Chem* 1994; 66: 1011-15
- Olson JA: Bioavailability of carotenoids. *Arch Latino Nutr* 1999; 49 (1): 21-25
- Oltersdorf US: *Ernährungsepidemiologie - Mensch, Ernährung, Umwelt*. Ulmer, Stuttgart 1995

- Padh H: Cellular functions of ascorbic acid. *Biochem Cell Biol* 1990; 68: 1166-73
- Palli D, Decarli A, Russo A, Cipriani F, Giacosa A, Amadori D, Salkeld R, Salvini S, Buiatti E: Plasma levels of antioxidant vitamins and cholesterol in a large population sample in central-northern Italy. *Eur J Nutr* 1999; 38 (2): 90-98
- Pao EM, Cypel YS: Estimation of dietary intake. In: Brown ML (Hrsg.): Present knowledge in nutrition. 399-406, 6. Aufl., ILSI Nutrition Foundation, Washington 1990
- Papas AM: Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health. CRC Press LLC, Boca Raton – London – New York – Washington D.C. 1999
- Park EJ, Pezzuto JM: Botanicals in cancer chemoprevention. *Cancer Metastasis Rev* 2002; 21 (3-4): 231-55
- Parker RS: Carotenoids in human blood and tissues. *J Nutr* 1989; 119: 101-04
- Parker RS: Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *FASEB J* 1999; 10: 542-51
- Pauling L: Vitamin C and the common cold and the flu. WH Freeman and Co., San Francisco 1976
- Pelucchi C, Talamini R, Levi F, Bosetti C, La Vecchia C, Negri E, Parpinel M, Franceschi S: Fibre intake and laryngeal cancer risk. *Ann Oncol* 2003; 14 (1): 162-67
- Pelz R, Schmidt-Faber B, Heseke H: Carotenoid intake in the German National Food Consumption Survey – Die Carotinoidzufuhr in der Nationalen Verzehrsstudie. *Z Ern Wiss* 1998; 37 (4): 319-27
- Pentice AM, Black AE, Margatroyd PR, Goldberg GR, Coward WA: Metabolism or appetite? Questions of energy balance with particular reference to obesity. *J Hum Nutr Diet* 1989; 2: 95-104
- Peterson J, Dwyer J: An Informatics Approach to Flavonoid Database Development. *J Food Comp Anal* 2000; 13: 441-454
- Pietrzik K: Rationale for risk reduction of cardiovascular disease using homocysteine concentration in blood and plasma as biomarker: support by clinical data. *Bibl Nutr Dieta* 2001; 55: 34-41
- Pietrzik K, Brönstrup A: Vitamins B12, B6, and folate as determinants of homocysteine concentration in the healthy population. *Eur J Pediatr* 1998; 157 (Suppl 2): 135-38
- Polsinelli ML, Rock CL, Henderson SA, Drewnowski A: Plasma carotenoids as biomarkers of fruit and vegetable servings in women. *J Am Diet Assoc* 1998; 98 (2): 194-96
- Porrini M, Riso P, Testolin G: Absorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato. *Br J Nutr* 1998; 80: 353-61
- Preston AM, Rodriguez C, Rivera CE, Sahai H: Influence of environmental tobacco smoke on vitamin C status in children. *Am J Clin Nutr* 2003; 77 (1): 167-72
- Prince MR, Frisoli JK: Beta-carotene accumulation in serum and skin. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 175-87
- Pudel V, Westenhöfer J: Fragebogen zum Essverhalten. Handanweisung, Hogrefe, Göttingen 1989
- Pudel V, Westenhöfer J: Ernährungspsychologie. 2. überarb. und erw. Aufl. Hogrefe, Göttingen 1998
- Quaas L: Gravidität und Laktation. In: Biesalski HK, Schrezenmeir J, Weber P, Weiß H: Vitamine – Physiologie, Pathophysiologie, Therapie. 168-72. Thieme, Stuttgart 1997
- Radtke J, Lineisen J, Wolfram G: Fasting plasma concentrations of selected flavonoids as markers of their ordinary dietary intake. *Eur J Nutr* 2002; 41 (5): 203-09

- Ramaswamy G, Krishnamoorthy L: Serum carotene, vitamin A, and vitamin C levels in breast cancer and cancer of uterine cervix. *Nutr Cancer* 1996; 25 (2): 174-77
- Rauh M, Verwied S, Knerr I, Dorr HG, Sonnichsen A, Koletzko B: Homocysteine concentrations in an German cohort of 500 individuals: reference ranges and determinants of plasma levels in healthy children and their parents. *Amino Acids* 2001; 20 (4): 409-18
- Rautalahti M, Albanes D, Haukka J, Roos E, Gref CG, Virtamo J: Seasonal variation of serum carotenoids of  $\beta$ -carotene and  $\alpha$ -tocopherol. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 551-56
- Rebec GV, Pierce RC: A vitamin as neuromodulator: Ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutaminergic transmission. *Prog Neurobiol* 1994; 43: 537-65
- Reilly MP, Lawson JA, Fitzgerald GA: Eicosanoids and isoeicosanoids: indices of cellular function and oxidant stress. *J Nutr* 1998; 128: 434-38
- Reitman A, Friedrich I, Ben-Amotz A, Levy Y: Low plasma antioxidants and normal plasma B vitamins and homocysteine in patients with severe obesity. *Isr Med Assoc J* 2002; 4 (8): 590-93
- Riddell LJ, Chrisholm A, Williams S, Mann JI: Dietary strategies for lowering homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (6): 1448-54
- Riedl J, Lineisen J, Hoffmann J, Wolfram G: Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women. *J Nutr* 1999; 129: 2170-76
- RiliBÄK (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien): *Lab med* 1988; 12 (5): BDL 43-60 (Sonderdruck)
- Riso P, Porrini M: Determination of carotenoids in vegetable foods and plasma. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67: 47-54
- Robert Koch Institut (Hrsg.): Was essen wir heute? Ernährungsverhalten in Deutschland. Beiträge zur Gesundheitsberichtserstattung des Bundes, Berlin 2002
- Rock CL, Lovalvo JL, Emenhiser C, Ruffin MT, Flatt SW, Schwartz SJ: Bioavailability of  $\beta$ -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. *J Nutr* 1998; 128: 913-16
- Rock CL, Swendseid ME: Plasma beta-carotene response in humans after meals supplemented with dietary pectin. *Am J Clin Nutr* 1992a; 55: 96-99
- Rock CL, Swendseid ME, Jacob RA, McKee RW: Plasma carotenoid levels in human subjects fed a low carotenoid diet. *J Nutr* 1992b; 122: 96-100
- Rock CL, Flatt SW, Wright FA, Faerber S, Newman V, Kealey S, Pierce JP: Responsiveness of carotenoids to a high vegetable diet intervention designed to prevent breast cancer recurrence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 616-23
- Rock CL, Lovalvo JL, Emenhiser C, Ruffin MT, Flatt SW, Schwartz SJ: Bioavailability of  $\beta$ -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. *J Nutr* 1998; 128: 913-16
- Rock CL, Moskowitz A, Huizar B, Saenz CC, Clark JT, Daly TL, Chin H, Behling C, Ruffin MT: High vegetable and fruit diet intervention in premenopausal women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Am Diet Assoc* 2001; 101 (19): 1167-74
- Rodriguez-Amaya DB: Some considerations in generating carotenoid data from food composition tables. *J Food Comp Anal* 2000; 13: 641-47
- Roodenburg AJC, Leenen R, van het Hof KH, Weststrate JA, Tijburg LBM: Amount of fat in the diet affects bioavailability of lutein esters but not of  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, and vitamin E in humans. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1187-93

- Ross MA, Crosley LK, Brown KM, Duthie SJ, Collins AC, Arthur JR, Duthie GG: Plasma concentrations of carotenoids and antioxidant vitamins in Scottish males: influences of smoking. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49 (11): 861-65
- Rumi G Jr, Szabo I, Vincze A, Matus Z, Toth G, Mozsik G: Decrease of serum carotenoids in Crohn's disease. *J Physiol Paris* 2000; 94 (2): 159-61
- Russel-Briefel R, Bates MW, Kuller LH: The relationship of plasma carotenoids to health and biochemical factors in middle-aged men. *Am J Epidemiol* 1985; 122: 741-49
- Rydlawicz A, Simpson JA, Taylor RJ, Bond CM, Golden MH: The effect of folic acid on plasma homocysteine in an elderly population. *QJM* 2002; 95 (1): 27-35
- Sahyoun N: Nutrient intake by the NSS elderly population. In: Hartz SC, Rosenberg ICH; Russell RM: Nutrition in the elderly. The Boston nutritional status survey. Smith-Gordon, London 1992
- Saintot M, Astre C, Scali J, Gerber M: Within-subjects seasonal variation and determinants of inter-individual variations of plasma beta-carotene. *Int J Vitam Nutr Res* 1995; 65 (3): 169-74
- Sampson L, Rimm E, Hollman PC, de Vries JH, Katan MB: Flavonol and flavone intakes in US health professionals. *J Am Diet Assoc* 2002; 102 (10): 1414-20
- Sandstrom B: Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *Br J Nutr* 2001; 85 (Suppl 2): 181-85
- Scalbert A, Williamson G: Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 2000; 130: 2073-85
- Schneider R: Vom Umgang mit Zahlen und Daten – Eine praxisnahe Einführung in die Statistik und Ernährungsepidemiologie. Umschau-Zeitschriftenverlag, Breidenstein 1997
- Schneider R, Hesecker H: Erfassung von Ernährungsgewohnheiten. In: Schauder P, Ollenschläger G (Hrsg): Ernährungsmedizin – Prävention und Therapie. 2. Aufl., Urban und Fischer Verlag, München – Jena 2003, 368-77
- Schorah CJ: The transport of vitamin C and effects of disease. *Proc Nutr Soc* 1992; 51: 189-92
- Schwartz SJ, Lorenzo TV: Chlorophylls in Foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1990; 29 (1): 1-17
- Scott JM, Weir DG, Kirke PN: Prevention of neural tube defects with folic acid. *Q J Med* 1994; 87: 705-07
- Scott KJ, Thurnham DI, Hart DJ, Bingham SA, Day K: The correlation between the intake of lutein, lycopene and  $\beta$ -carotene from vegetables and fruits, and blood plasma concentrations in a group of women aged 50-65 years in the UK. *Br J Nutr* 1996; 75: 409-18
- Scott JM, Weir DG: Homocysteine and Cardiovascular disease. *Q J Med* 1996; 89: 561-63
- Selhub J, Miller JW: The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 131-38
- Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg ICH: Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270: 2693-98
- Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PWF, Belanger AJ, O'Leary DH, Wolf PA, Schaefer EJ, Rosenberg IH: Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 286-91
- Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, O'Leary DH, Wolf PA, Rush D, Schaefer EJ, Rosenberg IH: Relationship between plasma homocysteine, vitamin status and extracranial carotid-artery stenosis in the Framingham Study population. *J Nutr* 1996; 126: 1258-1265

- Sempos CT, Liu K, Ernst ND: Food and nutrient exposures: what to consider when evaluating epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (Suppl): 1330-38
- Seyoum E, Selhub J: Properties of food folates determined by stability and susceptibility to intestinal pteroylpolyglutamate hydrolase action. *J Nutr* 1998; 128: 1956-60
- Shi J, Le Maguer M: Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2000; 40 (1): 1-42
- Sichert W, Oltersdorf U, Winzen U, Leitzmann C: Ernährungs-Erhebungsmethoden. AGEV Schriftenreihe Bd. 4, Umschau-Zeitschriftenverlag, Frankfurt a.M. 1984
- Siegel BV: Vitamin C and the Immune Response in Health and Disease. Plenum Publishing, New York 1993
- Silberberg J, Crooks R, Fryer J, Wlodarczyk J, Nair B, Guo XW, Xie LJ, Dudman N: Gender differences and other determinants of the rise in plasma homocysteine after L-methionine loading. *Atherosclerosis* 1997; 133 (1): 105-10
- Sinha R, Block G, Taylor PR: Determinants of plasma ascorbic acid in a healthy male population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1992; 1 (4): 297-302
- Slattery ML, Jacobs DR Jr, Dyer A, Benson J, Hilner JE, Caan BJ: Dietary antioxidants and plasma lipids: the CARDIA Study. *J Am Coll Nutr* 1995; 14 (6): 635-42
- Smirnoff N, Pallanca JE: Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 1996; 24: 472-78
- Smith U: Dietary fibre, diabetes and obesity. *Int J Obes* 1987; 11 (1 Suppl.): 27-31
- Smith SA, Campbell DR, Elmer PJ, Martini MC, Slavin JL, Potter JD: The University of Minnesota – Cancer Prevention Research Unit vegetable and fruit classification scheme. *Cancer Causes and Control* 1995; 6: 292-302
- Smith-Warner SA, Elmer PJ, Tharp TM, Fosdick L, Randall B, Gross M, Wood J, Potter JD: Increasing vegetable and fruit intake: randomized intervention and monitoring in an at-risk population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9 (3): 307-17
- Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson WL, van den Brandt PA, Folsom AR, Fraser GE, Freudenheim JL, Goldbohm RA, Graham S, Miller AB, Potter JD, Rohan TE, Speizer FE, Toniolo P, Willett WC, Wolk A, Zeleniuch-Jacquotte A, Hunter DJ: Intake of fruits and vegetables and risk of breast cancer – a pooled analysis of cohort studies. *JAMA* 2001; 285: 769-76
- Sommerburg O, Keunen JEE, Bird AC, van Kuijk FJGM: Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 907-10
- Souci SW, Fachmann W, Kraut H: Food Composition and Nutrition Tables = Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen. 5. Aufl., Medpharm Scientific Publ., Stuttgart 1994
- Souci SW, Fachmann W, Kraut H: Food Composition and Nutrition Tables = Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen. 6. Aufl., Medpharm Scientific Publ., Stuttgart 2000
- Sowell AL, Huff DL, Yeager PR, Caudill SP, Gunter EW: Retinol, alpha-tocopherol, lutein / zeaxanthin, beta-cryptoxanthin, lycopene, alpha-carotene, trans-beta-carotene, and four retinyl esters in serum determined simultaneously by reversed-phase HPLC with multiwavelength detection. *Clin Chem* 1994; 40: 411-16

- Speitling A, Hüppe R, Kohlmeier M, Matiaske B, Stelte W, Thefeld W, Wetzel S: In: Kübler W, Anders HJ, Heeschen W, Kohlmeier M: VERA-Schriftenreihe, Band I: Methodenhandbuch der Verbundstudie Ernährungserhebung und Risikofaktoren Analytik. Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen 1992
- Spieß WEL: Veränderungen von Inhaltsstoffen während der Herstellung und der Lagerung von tiefgefrorenen Lebensmitteln - eine Literaturübersicht. ZFL 1984; 35: 625-35
- Spieß WEL: Veränderungen von Inhaltsstoffen während der Herstellung und der Lagerung von tiefgefrorenen Lebensmitteln - eine Literaturübersicht. ZFL 1985; 36: 10-14
- Stähelin HB, Gey F, Brubacher G: Preventive potential of antioxidative vitamins and carotenoids on cancer. In: Walter P, Stähelin H, Brubacher G (Hrsg): Elevated dosages of vitamins. Hans Huber Publishers, Toronto 1988 - zitiert nach Hesecker et al. 1994b
- Stahl W, Sies H: Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. J Nutr 1992; 122: 2161-66
- Stegers-Theunissen RP, Van Rossum JM, Steegers EA, Thomas CM, Eskes TK: Sub-50 oral contraceptives affect folate kinetics. Gynecol Obstet Invest 1993; 36 (4): 230-33
- Steghens JP, van Kappel AL, Riboli E, Collombel C: Simultaneous measurement of seven carotenoids, retinol and  $\alpha$ -tocopherol in serum by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr 1997; 694: 71-81
- Stumpf K, Adlercreutz H: Short-term variations in enterolactone in serum, 24-hour urine, and spot urine and relationship with enterolactone concentrations. Clin Chem 2003; 49 (1): 178-81
- Stunkard AJ, Messick S: The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. J Psychosom Res 1985; 29 (1): 71-83
- Su LC, Bui M, Kardinaal A, Gomez-Aracena J, Martin-Moreno J, Martin B, Thamm M, Simonsen N, van't Veer P, Kok F, Strain S, Kohlmeier L: Differences between plasma and adipose tissue biomarkers of carotenoids and tocopherols. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1998; 7 (11): 1043-48
- Sun J, Chu YF, Wu X, Liu RH: Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. J Agric Food Chem 2002; 50 (25): 7449-54
- Talalay P, Fahey JW: Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. J Nutr 2001; 131 (11 Suppl): 3027-33
- Talova J, Tomandl J, Bicikova M, Hill M: Changes of plasma total homocysteine levels during the menstrual cycle. Eur J Clin Invest 1999; 29 (12): 1041-44
- Tangney CC, Shebelle RB, Raynor W, Gale M, Betz EP: Intra- and inter-individual variation in measurements of  $\beta$ -carotene, retinol and tocopherols in diet and plasma. Am J Clin Nutr 1987; 45: 764-69
- Ternes W: Naturwissenschaftliche Grundlagen der Lebensmittelzubereitung. 2. Aufl. Behr's Verlag, Hamburg 1995
- Teuscher E: Sekundärstoffe – Favoriten bei der Suche nach neuen Arzneistoffen? Dtsch Apoth Ztg 1990; 130: 1627-33
- Thun MJ, Peto R, Lopez AD, Monaco JH, Henley SJ, Heath CW, Doll R: Alcohol consumption and mortality among middle-aged and elderly U.S. adults. N Engl J Med 1997; 337: 1705-14
- Törrönen R, Lehmusaho M, Häkkinen S, Hänninen O, Mykkänen H: Serum  $\beta$ -carotene response to supplementation with raw carrots, carrot juice or purified  $\beta$ -carotene in healthy non-smoking women. Nutr Res 1996; 16: 565-75

- Trowell H: The development of the concept of dietary fiber in human nutrition. *Am J Clin Nutr* 1978; 31 (10 Suppl.): 3-11
- Tsao R, Romanchuk FE, Peterson CJ, Coats JR: Plant growth regulatory effect and insecticidal activity of the extracts of the Tree of Heaven (*Ailanthus altissima* L.). *BMC Ecol* 2002; 2 (1): 1-10
- Tsubono Y, Tsugane S, Gey KF: Differential effects of cigarette smoking and alcohol consumption on the plasma levels of carotenoids in middle-aged Japanese men. *Jpn J Cancer Res* 1996; 87 (6): 563-69
- Tucker KL, Selhub J, Wilson PWF, Rosenberg IH: Dietary intake pattern relates to plasma folate and homocysteine concentrations in the Framingham Heart Study. *J Nutr* 1996; 126 (12): 3025-31
- Tucker KL, Chen H, Vogel S, Wolson PW, Schaefer EJ, Lammi-Keefe CJ: Carotenoid intakes, assessed by dietary questionnaire, are associated with plasma carotenoid concentrations in an Elderly Population. *J Nutr* 1999; 129: 438-45
- Tyssandier V, Cardinault N, Caris-Veyrat C, Aminot MJ, Grolier P, Bouteloup C, Azais-Braesco V, Borel P: Vegetable-borne lutein, lycopene, and beta-carotene compete for incorporation into chylomicrons, with no adverse effect on the medium-term (3-wk) plasma status of carotenoids in humans. *Am J Clin Nutr* 2002; 75 (3): 526-34
- van den Berg H: Effect of lutein on beta-carotene absorption and cleavage. *Int J Vitam Nutr Res* 1998; 68 (6): 360-65
- van den Berg H: Carotenoid interactions. *Nutr Rev* 1999; 57: 1-10
- Vandenlangenberg GM, Brady WE, Nebeling LC, Block G, Forman M, Bowen PE, Stacewicz-Sapuntzakis M, Mares-Perlman JA: Influence of using different sources of carotenoid data in epidemiologic studies. *J Am Diet Assoc* 1996; 96: 1271-75
- van het Hof KH, Brouwer IA, West CE, Haddeman E, Steegers-Theunissen RPM, Van Dusseldorp M, Weststrate JA, Eskes TKAB, Hautvast JGAJ: Bioavailability of lutein from vegetables is five times higher than that of  $\beta$ -carotene. *Am J Clin Nutr* 1999a; 70: 261-68
- van het Hof KH, Tijburg LBM, Pietrzik K, Weststrate JA: Bioavailability of carotenoids and folate from different vegetables. *Br J Nutr* 1999b; 82: 203-12
- van het Hof KH, Tijburg LB, Pietrzik K, Weststrate JA: Influence of feeding different vegetables on plasma levels of carotenoids, folate and vitamin C. Effect of disruption of the vegetable matrix. *Br J Nutr* 1999c; 82 (3): 203-12
- van het Hof KH, West CE, Weststrate JA, Hautvast JGAJ: Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr* 2000a; 130: 503-06
- van het Hof KH, de Boer BCJ, Tijburg LBM, Lucius BRHM, Zijp I, West CE, Hautvast JGAJ, Weststrate JA: Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways determined from the carotenoid response in the triglycerid-rich lipoprotein fraction of plasma after single consumption and in plasma after four days of consumption. *J Nutr* 2000b; 130: 1189-96
- van Kappel AL, Steghens JP, Zeleniuch-Jacquotte A, Chajes V, Toniolo P, Riboli E: Serum carotenoids as biomarkers of fruit and vegetable consumption in the New York Women's Health Study. *Public Health Nutr* 2001a; 4 (3): 829-35
- van Kappel AL, Martinez-Garcia C, Elmstahl S, Steghens JP, Chajes V, Bianchini F, Kaaks R, Riboli E: Plasma carotenoids in relation to food consumption in Granada (southern Spain) and Malmo (southern Sweden). *Int J Vitam Nutr Res* 2001b; 71 (2): 97-102
- van Oort FV, Melse-Boonstra A, Brouwer IA, Clarke R, West CE, Katan MB, Verhoef P: Folic acid and reduction of plasma homocysteine concentrations in older adults: a dose-response study. *Am J Clin Nutr* 2003; 77 (5): 1318-23

- van Zeben W, Hendriks TF: The absorption of carotene from cooked carrots. *Zschr Vitamin Forsch* 1948; 19: 265-66
- Venn BJ, Mann JL, Williams SM, Riddell LJ, Chrisholm A, Harper MJ, Aitken W: Dietray counseling to increase natural folate intake: a randomized, placebo-controlled trial in free-living subjects to assess effects on serum folate and plasma total homocysteine. *Am J Clin Nutr* 2002; 76 (4): 758-65
- Venn BJ, Green TJ, Moser R, Mann JI: Comparison of the effect of low-dose supplementation with L-5-methyltrrahydrofolate or folic acid on plasma homocysteine: a randomized placebo-controlled study. *Am J Clin Nutr* 2003; 77 (3): 658-62
- Verhoef P, Stampfer MJ, Rimm EB: Folate and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9: 17-22
- Verpoorte R, van der Heijden R, Memelink J: Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production. *Transgenic Res* 2000; 9 (4-5): 323-43
- Vester B, Rasmussen K: High performance liquid chromatography method for rapid and accurate determination of homocystein in plasma and serum. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991; 549-54
- von Doering EW, Sotiriou-Leventis C, Roth WR: Thermal interconversion among 15-cis, 13-cis, and all-trans- $\beta$ -carotene: kinetics, arrhenius parameters, thermochemistry and potential relevance to anticarcinogenicity of all-trans- $\beta$ -carotene. *J Am Chem Soc* 1995; 117: 2747-57
- Wallstrom P, Wirfalt E, Lahmann PH, Gullberg B, Janzon L, Berglund G: Serum concentrations of beta-carotene and alpha-tocopherol are associated with diet, smoking, and general and central adiposity. *J Clin Nutr* 2001; 73 (4): 777-85
- Ward M, McNulty H, McPartlin J, Strain JJ, Weir DG, Scott JM: Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological doses of folic acid. *Q J Med* 1997; 90: 519-24
- Ward M: Homocysteine, folate, and cardiovascular disease. *Int J Vitam Nutr Res* 2001; 71 (3): 173-78
- Watson RW, Prabhala RH, Plezia PM, Alberts DS: Effect of  $\beta$ -carotene on lymphocyte subpopulations in elderly humans: evidence for a dose-response relationship. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 90-94
- Watzl B: Gesundheitliche Bedeutung sekundärer Pflanzenstoffe. In: Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (Hrsg): *Ernährungsbericht 1996*. Frankfurt/ Main 1996, 217-32
- Watzl B, Leitzmann C: *Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln*. 2. Aufl., Hippokrates Verlag, Stuttgart 1999
- Watzl B, Bub A, Brandstetter BR, Rechkemmer G: Modulation of human T-lymphocyte functions by the consumption of carotenoid-rich vegetables. *Br J Nutr* 1999; 82: 383-89
- Weber P, Bendich A, Schalch W: Vitamin C and human health – a review of recent data relevant to human requirements. *Int J Vitam Nutr Res* 1996; 66 (1): 19-30
- Weber P: Role of biomarkers in nutritional science and industry – a comment. *Br J Nutr* 2001, 86 (Suppl 1): 93-95
- Wei W, Kim Y, Boudreau N: Association of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES III, 1988-94. *Am J Public Health* 2001; 91 (2): 258-64
- Welch GN, Loscalzo J: Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-50
- Wendland BE, Aghdassi E, Tam C, Carrier J, Steinhart AH, Wolman SL, Baron D, Allard JP: Lipid peroxidation and plasma antioxidant micronutrients in Crohn disease. *Am J Clin Nutr* 2001; 74 (2): 259-64

- West CE, Castenmiller JJ: Quantification of the "SLAMENGI" factors for carotenoids bioavailability and bioconversion. *Int J Vitam Nutr Res* 1998; 68 (6): 371-77
- Weststrate JA, van het Hof KH: Sucrose polyester and plasma carotenoid concentrations in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 591-97
- Wild CP, Andersson C, O'Brien NM, Wilson L, Woods JA: A critical evaluation of the application of biomarkers in epidemiological studies on diet and health. *Br J Nutr* 2001; 86 (Suppl): 37-53
- Willett WC: *Nutritional Epidemiology*. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University Press, New York 1998
- Winklhofer-Roob BM, van't Hof MA, Shmerling DH: Reference values for plasma concentrations of vitamin E and A and carotenoids in a Swiss population from infancy to adulthood, adjusted for seasonal influences. *Clin Chem* 1997; 43 (1): 146-53
- Wirth A.: *Adipositas - Epidemiologie, Ätiologie, Folgekrankheiten, Therapie*. Springer, Heidelberg 1998
- Wouters MG, Moorrees MT, van der Mooren MJ, Blom HJ, Boers GH, Schellekens LA, Thomas CM, Eskes TK: Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1995; 25 (11): 801-05
- World Cancer Research Found (WCRF), American Institute for Cancer Research: *Food, Nutrition and the Prevention of Cancer; a global perspective*. American Institute for Cancer Research, Washington DC 1997
- Yadav SK, Sehgal S: Effect of home processing on ascorbic acid and beta-carotene content of spinach (*Spinacia oleracea*) and amaranth (*Amaranthus tricolor*) leaves. *Plant Foods Hum Nutr* 1995; 47: 125-31
- Yeum KJ, Booth SL, Sadowski JA, Liu C, Tang G, Krinsky NI, Russell RM: Human plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables. *Am J Clin Nutr* 1996; 64 (4): 594-602
- Yeum KJ, Booth SL, Roubenoff R, Russell RM: Plasma carotenoid concentrations are inversely correlated with fat mass in older women. *J Nutr Health Aging* 1998; 8 (2): 79-83
- Yeum KJ, Russell RM: Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 483-504
- Yong LC, Forman MR, Beecher GR, Graubard BI, Campbell WS, Reichman ME, Taylor PR, Lanza E, Holden JM, Judd JT: Relationship between dietary intake and plasma concentrations of carotenoids in premenopausal women: application of the USDA-NCI carotenoid food-composition database. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 223-30
- Zeger SL: Biomarkers as surrogates in clinical research. NIH-Workshop 1999. In: Weber P: *Role of biomarkers in nutritional sciences and industry – a comment*. *Br J Nutr* 2001; 86 (Suppl 1): 93-95
- Zeng S, Furr HC, Olson JA: Metabolism of carotenoid analogs in humans. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 433-39
- Zhang LX, Cooney RV, Bertram JS: Carotenoids up-regulate connexin 43 gene expression independent of their provitamin A or antioxidant properties. *Cancer res* 1992; 52: 5707-12
- Zino S, Skeaff M, Williams S, Mann J: Randomised controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants. *BMJ* 1997; 314 (7127): 308
- Zöfel P: *Statistik verstehen. Einbegleitbuch zur computergestützten Anwendung*. Addison-Wesley Verlag, München 2001
- Zondervan KT, Ocke MC, Smit SA, Seidell JC: Do dietary and supplement intakes of antioxidants differ with smoking status? *Int J Epidemiol* 1996; 25 (1): 70-79

## 10 ANHANG

### 10.1 Umrechnungsfaktoren

Für die Umrechnungen von der molaren Konzentration in Masseeinheiten wurden folgende Faktoren verwendet:

Substanz	molare Einheit	Divisionsfaktor	Masse-Einheit
Ascorbinsäure	µmol/l	56,8	mg/dl
a-Carotin	µmol/l	0,018627	µg/dl
b-Carotin	µmol/l	0,018627	µg/dl
b-Cryptoxanthin	µmol/l	0,018088	µg/dl
Lutein	µmol/l	0,017579	µg/dl
Zeaxanthin	µmol/l	0,017578	µg/dl
Lycopin	µmol/l	0,018627	µg/dl
Folsäure	nmol/l	2,2655	ng/ml
Cobalamin	pmol/l	0,738	pg/ml
Selen	µmol/l	0,01266	µg/l
Harnsäure	µmol/l	59,48486	mg/dl
Cholesterol	mmol/l	0,02586	mg/dl
HDL-Cholesterol	mmol/l	0,02618	mg/dl
LDL-Cholesterol	mmol/l	0,02563	mg/dl
Triglyceride	mmol/l	0,011267	mg/dl
Hämoglobin	mmol/l	0,622	g/dl
MCH	fmol	0,0624	pg

### 10.2 Internetauszüge

Hecker H: Auswahl, Anwendung und Interpretation statistischer Tests. Eine kurze Einführung. Medizinische Hochschule hannover, Institut für Biometrie, 1997  
<http://www.mh-hannover.de/institute/biometrie> [Stand 14.10.2002]

Holden JM, Eldridge AL, Beecher GR, Buzzard IM, Bhagwat S, Davis CS, Douglass LW, Gebhardt S, Haytowitz D, Schakel S: Carotenoid content of U.S. Foods: an update of the database. J Food Comp Anal 1999; 12: 169-96  
<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/car98/car98.html> [Stand 26.01.2003]

<http://www.5amTag.de>

### 10.3 Analytische Methoden

	<b>Carotinoide</b> ( $\alpha$ -Carotin, $\beta$ -Carotin, $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Lycopin, Zeaxanthin)
Methode:	RP-HPLC
Probenentnahme:	EDTA-Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Nürnbrecht)
Aufbereitung:	Das Blut wurde 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen und im Anschluss daran für 5 Minuten bei 2000 G zentrifugiert. Dann wurden 1,5 ml Plasma in ein Eppendorfggefäß pipettiert und bei -20°C bis zur Bestimmung tiefgefroren (dunkel).
Transport:	Dunkel und Tiefgefroren (-20°C)
Lagerung:	Dunkel und Tiefgefroren (-20°C)
Probenvorbereitung und Durchführung:	1 ml Plasma wurde mit 1 ml Ethanol (0,1 % BHT, w / v) versetzt und 15 Sek. homogenisiert (Vortex-Genie 2, Scientific Industries Inc., USA) [1]. Anschließend Zugabe von 500 $\mu$ l ISTD-Lösung ( $\beta$ -Apo-12'-Carotenal in n-Hexan; c = 100 $\mu$ g/ml) und 1,5 ml n-Hexan sowie erneute Homogenisierung für 20 Sek. Dann Zentrifugierung für 5 Minuten bei 2000 g (10°C). Im Anschluss daran wurde die obere Hexanphase in einen Braunglas-Spitzkolben pipettiert und die verbleibende ethanolische Phase erneut mit 2 ml n-Hexan extrahiert und zentrifugiert (2000 G, 10°C, 5 Min.). Die vereinigten n-Hexanphasen wurden mit Hilfe eines Rotationsverdampfers (30°C, 100 mbar) bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde in 500 ml eines Gemisches aus Methanol / TBME / BHT (1 / 1 / 0,1 v / v / w) aufgenommen und zur HPLC eingesetzt. Alle Arbeiten wurden im Dunkeln durchgeführt.
Geräte und Reagenzien:	HPLC der Serie HP 1100 (Hewlett Packard) mit Variablem Wellenlängen-Detektor (VWD) und HP3D-Auswertesoftware (Rev. A. 04.02)
Auswertung:	Die Berechnung der Carotinoidgehalte erfolgte durch externe Kalibration. Der ISTD ( $\beta$ -Apo-12'-Carotenal) wurde ausschließlich zur Verfahrenskontrolle eingesetzt. Für Lutein und Zeaxanthin wurde eine gemeinsame Kalibrierfunktion verwendet.
Probenart:	EDTA-Blut
Labor:	Institut für Lebensmittelchemie der Universität Stuttgart-Hohenheim
Chromatographie-Bedingungen:	Säule: YMC C <sub>30</sub> -Unkehrphase (250 x 4,6 mm, 5 $\mu$ m) der Firma YMC Europe (Schermbek) Vorsäule: YMC C <sub>30</sub> -Unkehrphase (10 x 4,6 mm, 5 $\mu$ m) der Firma YMC Europe (Schermbek) Säulentemperatur: 30°C, reguliert durch ein Säulenthermostat der Serie HP 1100 (Hewlett Packard) Detektion: Wellenlänge 450 nm Eluenten: A - TBME / MeOH / H <sub>2</sub> O = 15 / 81 / 4 (v / v / v) B - TBME / MeOH / H <sub>2</sub> O = 90 / 6 / 4 (v / v / v) jeweils + 0,1 % (v / v) Triethylamin

	<p>Fluß: 1 ml/ Min.</p> <p>Injektionsvolumen: 20 µl</p> <p>Gradient:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Zeit [min]</th> <th>A [%]</th> <th>B [%]</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>99</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>39</td> <td>44</td> <td>56</td> </tr> <tr> <td>45</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>50</td> <td>99</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>55</td> <td>99</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>	Zeit [min]	A [%]	B [%]	0	99	1	39	44	56	45	0	100	50	99	1	55	99	1
Zeit [min]	A [%]	B [%]																	
0	99	1																	
39	44	56																	
45	0	100																	
50	99	1																	
55	99	1																	
Qualitätskontrolle:	<p>Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK).</p> <p>Präzision: n = 10</p> <p>V.K. in einer Charge = 2,2 %</p> <p>V.K. von Tag zu Tag = 3,1 %</p>																		
Nachweisgrenze:	<p>Die Ermittlung der Nachweis (NWG)- bzw. Bestimmungsgrenzen (BG) erfolgte gemäß DFG [2]. Die NWG lag bei 0,04 µmol/L, die BG bei 0,06 µmol/L. Da durch den Extraktionsprozeß eine Konzentrierung der Proben um den Faktor 2 verursacht wird, resultiert bezogen auf das Plasma eine NWG von 0,02 µmol/L bzw. eine BG vom 0,03 µmol/L</p>																		
Literatur:	<p>[1] Khachik F, Spangler CJ, Smith JC Jr.: Identification, Quantification, and Relative Concentrations of Carotenoids and Their Metabolites in Human Milk and Serum. Anal Chem 1997 May; 69 (10): 1873-81</p> <p>[2] Deutsche Forschungsgemeinschaft: Ableitung von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze nach dem Eichkurvenverfahren (XI-A 1-13). In: Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, 11. Lieferung, VCH, Weinheim 1991</p>																		
<b>Ascorbinsäure</b>																			
Methode:	Photometrisch mit Dinitrophenyl-hydrazin und Kupfer als Katalysator																		
Probenentnahme:	Heparin-Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Nürnbrecht)																		
Aufbereitung:	Das (Heparin-) Blut wurde für 5 Minuten bei 2000 G zentrifugiert. Dann wurden 400 µl des Plasmas in ein Spitzröhrchen pipettiert und zur Ausfällung der Proteine mit 20 µl 50 %iger Trichloressigsäure (TCA) versetzt. Im Anschluss daran wurde das Gefäß verschlossen, durch leichtes Schütteln gemischt und unzentrifugiert bei -20°C bis zur Bestimmung tiefgefroren.																		
Transport:	Dunkel und Tiefgefroren (-20°C)																		
Lagerung:	Dunkel und Tiefgefroren (-20°C)																		
Probenvorbereitung und Durchführung:	<p>Nach dem Auftauen wurden die Proben zentrifugiert (10 Minuten bei 4000 U/min) und 200 µl Probenüberstand mit 40 µl DTC-Reagenz versetzt, wodurch Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure oxidiert wird. Dabei diente Kupfer, das in der DTC-Reagenz in Form von Kupfersulfatlösung enthalten ist, als Katalysator.</p> <p>Die Probe wurde mit der DTC-Reagenz eine Stunde bei 60 °C inkubiert und anschließend im Eisbad abgekühlt. Nach fünf Minuten wurden 300 µl eiskalte Schwefelsäure (65%ig) hinzugegeben, gut durchmischt und weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln gelagert.</p>																		

Geräte und Reagenzien:	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Spektralphotometer</li> <li>- DTC-Reagenz: <ul style="list-style-type: none"> <li>3,0 g Dinitrophenylhydrazin</li> <li>0,4 g Thioharnstoff</li> <li>32,0 mg CuSO<sub>4</sub> (wasserfrei)</li> </ul> </li> <li>- Alles zusammen wurde mit einer 4,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung (24%ig) auf 100 ml aufgefüllt.</li> </ul>
Auswertung:	Bei einer Wellenlänge von $\lambda = 520$ nm wurde im Spektralphotometer die Absorption gegen einen Reagenzienleerwert (200 $\mu$ l 50 %ige TCA statt Probe) gemessen. Der Gehalt wurde anhand einer Kalibrationsgeraden berechnet, die mit Vitamin-C-Standardlösung aufgenommen wurde.
Probenart:	(Heparin-) Plasma
Referenzwerte:	ab 0,50 mg/dl
Labor:	Labor des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie der Justus-Liebig-Universität Gießen
Qualitätskontrolle:	Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK). Präzision: n = 10 V.K. in einer Charge = 3,5 % V.K. von Tag zu Tag = 3,7 %
Nachweisgrenze:	Die Nachweisgrenze (NWG) liegt bei 0,01 mg/dl. Linearer Messbereich = 0,2-2 mg/dl
Literatur:	[1] Speitling A, Hüppe R, Kohlmeier M, Matiaske B, Stelte W, Thjefeld W, Wetzel S: Methodenhandbuch der Verbundstudie Ernährungserhebung und Risikofaktoren Analytik. VERA-Schriftenreihe, Band I, Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen 1992
<b>Folsäure (Plasma)</b>	
Methode:	Elektrochemolumineszenz
Probenentnahme:	Serum-Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Nürnbrecht)
Transport:	Sofort nach der Blutabnahme: direkter Transport der Blutentnahmeröhrchen ins Zentrallabor der Uni-Klinik
Geräte und Reagenzien:	ELECSYS der Firma Roche Reagenz Firma Roche
Probenart:	Serum
Referenzwerte:	6,8 – 45,0 nmol/l
Labor:	Zentrallabor der Ludolf-Krehl-Klinik, Heidelberg
Qualitätskontrolle:	Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK) inkl. Teilnahme an Ringversuchen des INSTANT e.V. (Institut für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium e.V.)

	<b>Folsäure (Erythrozyten)</b>
Methode:	Kompetitiver Immunoassay mit automatischer Chemilumineszenz-Messung (mit Acridiniumester-markiertem Folat)
Probenentnahme:	Heparin-Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Nürnbrecht)
Aufbereitung:	Zunächst wurde der Hämatokritwert des (Heparin-) Blutes bestimmt sowie 1 ml Ascorbinsäure rekonstituiert und in ein Spitzröhrchen vorgelegt. Anschließend wurde das Blut durch Invertieren gemischt und 50 µl davon zu der Ascorbinsäure pipettiert. Das Gefäß wurde verschlossen, mittels leichtem Schütteln gemischt (Schaumbildung wurde vermieden) und mit Alufolie ummantelt. Die gesamte Aufbereitung erfolgte lichtgeschützt. Nach 30 Minuten Standzeit bei Raumtemperatur wurde das Hämolysat bei -20°C bis zur Bestimmung tiefgefroren.
Transport:	Dunkel und Tiefgefroren (-20°C)
Lagerung:	Dunkel und Tiefgefroren (-20°C)
Probenvorbereitung und Durchführung:	<p>Zunächst wurden die gefrorenen Hämolysate aufgetaut und gut gemischt. Im Anschluss daran führte das Automatische Chemolumineszenz-System ACS:180® für Kalibratoren, Qualitätskontrollen und Patientenproben automatisch folgende Schritte durch:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- es dispensierte 150 µl Probe in eine Küvette</li> <li>- es dispensierte 50 µl DDT (Dithiothreitol)</li> <li>- es dispensierte 75 µl Releasing Agens (Natriumhydroxid) und inkubierte das Reagenz für 2,5 Minuten bei 37°C</li> <li>- es dispensierte 200 µl Solid Phase (gereinigtes Folsäurebindendes Protein vom Rind kovalent an paramagnetische Partikel gebunden in Puffer mit Natriumazid und Konservierungsstoffen) und inkubierte die Reagenzien 2,5 Minuten bei 37°C</li> <li>- es dispensierte 100 µl Lite-Reagenz (Folsäure markiert mit Acridiniumester in Puffer mit Natriumazid und Konservierungsstoffen) und inkubierte die Reagenzien für 2,5 Minuten bei 37°C</li> <li>- es trennte, aspirierte und reinigte die Küvetten mit deionisiertem Wasser</li> <li>- es dispensierte jeweils 300 µl Reagenz 1 und Reagenz 2, um die Chemolumineszenz-Reaktion auszulösen (zwischen der in der Patientenprobe enthaltenen Folsäuremenge und der Menge der relativen Lichteinheiten – RLUs-, die vom System erfasst wird, besteht ein umgekehrt-proportionales Verhältnis)</li> </ul>
Gerät:	ACS:180 CHIRON von Bayer Diagnostics
Auswertung:	<p>Aus den Vollblutwerten der Folsäure wurde über den Hämatokrit der korrespondierende Wert in den Erythrozyten errechnet:</p> $\frac{\text{Folsäure im Vollblut} \times 1050}{50 \times \text{Hämatokrit}}$
Probenart:	(Heparin-) Plasma
Referenzwerte:	6,8 – 45,0 nmol/ L (Plasma)

	340 – 1020 nmol/ L (Erythrozyt)
Labor:	Labor des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie der Justus-Liebig-Universität Gießen
Qualitätskontrolle:	Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK). Präzision: n = 10 V.K. in einer Charge = 2,9 % V.K. von Tag zu Tag = 3,8 %
Nachweisgrenze:	Die Nachweisgrenze (NWG) liegt bei 0,25 ng/ml [0,57 nmol/ L]
<b>Homocystein</b>	
Methode:	HPLC mit Fluoreszenzdetektor; Methode nach Vester und Rasmussen
Probenentnahme:	EDTA-Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Nürnbrecht) (auf Eis)
Transport:	Sofort nach der Blutabnahme: direkter Transport der Blutentnahmeröhrchen ins Zentrallabor der Uni-Klinik (auf Eis)
Geräte und Reagenzien:	HPLC der Serie 1100 (Firma Merck) Standard und Kontrollen: Chromsystems (München)
Probenart:	EDTA-Blut
Referenzwerte:	bis 12 µmol/l
Labor:	Zentrallabor der Ludolf-Krehl-Klinik, Heidelberg
Qualitätskontrolle:	Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK) inkl. Teilnahme an Ringversuchen der DGKC (Ringversuch KS2/01, Teilnehmer-Nr. 0000027)
Literatur:	[1] Vester B, Rasmussen K: High performance liquid chromatography method for rapid and accurate determination of homocystein in plasma and serum. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991: 549-54
<b>Cholesterol</b>	
Methode:	Enzymatisch mit Farbreaktion
Probenentnahme:	Heparin-Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Nürnbrecht)
Transport:	Sofort nach der Blutabnahme: direkter Transport der Blutentnahmeröhrchen ins Zentrallabor der Uni-Klinik
Geräte und Reagenzien:	LX20 der Firma Beckmann
Probenart:	(Heparin-) Plasma
Referenzwerte:	180 + anni mg/dl
Labor:	Zentrallabor der Ludolf-Krehl-Klinik, Heidelberg
Qualitätskontrolle:	Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK) inkl. Teilnahme an Ringversuchen der DGKC (Ringversuch KS2/01, Teilnehmer-Nr. 0000027)

	<b>Triglyceride</b>
Methode:	Enzymatisch mit Farbreaktion
Probenentnahme:	Heparin-Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Nürnbrecht)
Transport:	Sofort nach der Blutabnahme: direkter Transport der Blutentnahmeröhrchen ins Zentrallabor der Uni-Klinik
Geräte und Reagenzien:	Gerät und Reagenz: LX20 der Firma Beckmann
Probenart:	(Heparin-) Plasma
Referenzwerte:	Bis 150 mg/dl
Labor:	Zentrallabor der Ludolf-Krehl-Klinik, Heidelberg
Qualitätskontrolle:	Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK) inkl. Teilnahme an Ringversuchen der DGKC (Ringversuch KS2/01, Teilnehmer-Nr. 0000027)
	<b>Harnsäure</b>
Methode:	Uricase-POD
Probenentnahme:	Heparin-Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Nürnbrecht)
Transport:	Sofort nach der Blutabnahme: direkter Transport der Blutentnahmeröhrchen ins Zentrallabor der Uni-Klinik
Geräte und Reagenzien:	Gerät und Reagenz: LX20 der Firma Beckmann
Probenart:	(Heparin-) Plasma
Referenzwerte:	bis 6,0 mg/dl
Labor:	Zentrallabor der Ludolf-Krehl-Klinik, Heidelberg
Qualitätskontrolle:	Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK) inkl. Teilnahme an Ringversuchen der DGKC (Ringversuch KS2/01, Teilnehmer-Nr. 0000027)

## 10.4 Weitere im Rahmen der BIKEI-Studie untersuchte biochemische Parameter

Parameter	Probenart	Labor	Methodik
Kleines Blutbild	Vollblut	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	automatisierte Verfahren; vorwiegend über Streulichtmessung im kontinuierlichen Durchfluss
Leberenzyme (GOT/AST, GPT/ALT, AP, $\gamma$ -GT)	Plasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	adaptiert an die Standardmethoden der DGKC bei 25 °C
Cobalamin	Serum	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Elektrochemolumineszenz
Selen	Vollblut	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Atomabsorption (Graphitrohr)
Harnsäure	Plasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Uricase-POD
Harnstoff	Plasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Urease und Konduktivitätsmessung
Gesamtprotein	Plasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Biuretreaktion
Creatinin	Plasma und Urin	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Jaffe kinetisch
Albumin	Plasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Bromcresolgrün
Elektrolyte (Na, K, Ca)	Plasma	Zentrallabor der Uni-Klinik Heidelberg	Flammenphotometrisch
8-iso-prostaglandin-F <sub>2</sub> $\alpha$	Morgenuurin	Labor Dr. Bieger, München	kompetitiver Enzymimmunoassay

## 10.5 Einteilung der Lebensmittelgruppen<sup>47</sup>

Nr.	Lebensmittelgruppe	Enthaltene Lebensmittel (Auswahl)
1	Brot, Brötchen	Vollkornbrot, Grau-, Roggen-, Mischbrot, Toastbrot, Brötchen, Hörnchen, Laugenbrezel, Croissant
2	Getreide, Nudeln, Reis	Getreideflocken, Körner, Müsli, Cornflakes, Reis, Vegetarische Gerichte (z.B. Polenta, Getreidebratlinge, Sojaragout), Nudeln - Hauptgericht oder Beilage
3	Pizza, Zwiebelkuchen	Pizza, Quiche, Zwiebel-, Speckkuchen, Chips, Flips, Salzstangen, Kräcker
4	Kuchen, Gebäck	Obstkuchen (z.B. Apfel-, Rhabarberkuchen), Sand-, Rühr-, Napfkuchen, Hefegebäck, Süße Teilchen, Sahne-, Creme-, Obsttorte, Kekse, Plätzchen, Pfannkuchen
5	Süßigkeiten, Knabberartikel	Schokolade, Pralinen, Pausensnack (z.B. Mars, Müsliriegel), Speiseeis, Zucker
6	süße Brotaufstriche	Honig, Marmelade, Konfitüre, Gelee, Nußnougatcreme, Schokoladencreme, Erdnußbutter
7	Ei, Eigerichte	Hart-, weichgekochtes Ei, Spiegelei, Rührei, Omelette
8	Obst	Kernobst (z. B. Apfel, Birne), Steinobst (z. B. Kirschen, Zwetschgen, Mirabellen), Weintrauben, Beerenobst (z. B. Johannisbeeren, Himbeeren, Brombeeren), Zitrusfrüchte (z. B. Orangen, Grapefruit, Kiwi), Südfrüchte (z. B. Ananas, Mango), Banane
9	Gemüse, Kräuter, Pilze	Blattsalat (z. B. Kopf-, Feldsalat, Chinakohl), rohe Zwiebeln, roher+gegarter Knoblauch, rohe Paprika, Salatgurke, rohe+gegarte Tomaten, rohe+gegarte Karotten, Rettich, Radieschen, Krautsalat, Keime, Sprossen, Spinat, Kohlgemüse (z. B. Blumen-, Rot- und Weißkohl), Kohlrabi, Porrée, Spargel, Paprikagemüse, Fruchtgemüse (z. B. Zucchini, Auberginen), Sellerie, Sauerkraut, gesäuertes Gemüse (z. B. Perlzwiebeln), Mischgemüse, frische+gegarte Pilze, frische Kräuter, vegetarische Paste
10	Hülsenfrüchte	Grüne Bohnen, grüne Erbsen, Linsen-, Erbsen-, Bohneneintopf
11	Kartoffeln, Kartoffelprodukte	Salz-, Pellkartoffeln, Kartoffelbrei, Bratkartoffeln, Pommes Frites, Kroketten, Kartoffelpuffer, Semmelknödel, Kartoffelsalat
12	Nüsse	Schalenfrüchte (z. B. Erd-, Wal-, Paranüsse)
13	Erfrischungsgetränke	Mineralwasser, Leitungswasser, Fruchtsäfte (z. B. Apfel-, Orangen-, Kirsch-, Traubensaft), Limonadengetränke, Colagetränke, alkoholfreies Bier (z. B. Malzbier)
14	Milch, Milchprodukte	Milch, Milchmixgetränk, Dickmilch, Kefir, Joghurt, Schlagsahne, Quark

<sup>47</sup> Die Einteilung der Lebensmittelgruppen erfolgte - ebenso wie die Nährwertberechnungen auf Basis des BLS - durch das Deutsches Institut für Ernährungsforschung (Dife) in Potsdam.

Nr.	Lebensmittel- gruppe	Enthaltene Lebensmittel (Auswahl)
15	Käse	Frischkäse, Weichkäse (z. B. Camembert), Schnittkäse (z. B. Gouda, Tilsiter), Schmelzkäse
16		- nicht belegt -
17	Kaffee, Tee	Kaffee (mit und ohne Koffein), Malz-, Ersatzkaffee, schwarzer und grüner Tee, Früchte-, Kräutertee
18	Alkoholische Getränke	Bier, Wein, Obstwein (z. B. Apfelwein, Most), Schaumwein, Dessertwein, Likör (z. B. Sherry, Portwein), Spirituosen (z. B. Weinbrand, Whisky, Rum)
19	Fette, Öle	Butter, Margarine, Öle (z. B. Distel-, Olivenöl), pflanzl.Kochfett
20	Saucen, Sahne, Mayonaise	Sahne, Creme fraiche, Mayonnaise, Ketchup, Saucen
21	Pudding, Quark, Eis	Pudding, Früchtequark, Eis, Konservenobst, süßer Auflauf (z. B. Milchreis, Quarkauflauf)
22	Fisch	Fischfilet, Fischstäbchen, Konservenfisch, geräucherter Fisch (z. B. Forelle), Thunfisch, Rollmops
23	Fleisch	Fleisch von Rind, Schwein, Pute, Kalb, Kaninchen, Lamm, Brathähnchen, Ente, Gans, Innereien
24	Wurst	Mett-, Rot-, Leberwurst, Aufschnitt, Würstchen, Fleischkäse, Streichwurst, Bratwurst
25	Suppen	Klare Brühe, klare Suppe, Gemüse-, Kartoffeleintopf, gebundene Suppe, Fleisch-, Fisch-, Gemüsesuppe (z. B. Gulaschsuppe, Bouillabaisse)

## 11 LEBENS LAUF

<b>Name</b>	Daniela Siekmann
<b>Geburtsdatum</b>	06.06.1972
<b>Geburtsort</b>	Göttingen
<b>Staatsangehörigkeit</b>	deutsch
<b>Familienstand</b>	ledig, keine Kinder
<b>Eltern</b>	Doris Siekmann, Bankkauffrau Hans-Ulrich Siekmann, Verwaltungsangestellter
<b>Schulbildung</b>	1978 – 1982 Grundschule Hardeggen 1982 – 1984 Orientierungsstufe der Kooperativen Gesamtschule Moringen 1984 – 1988 Gymnasialer Zweig der Kooperativen Gesamtschule Moringen 1988 – 1991 Gymnasium Uslar Juni 1991 Abitur
<b>Berufsausbildung</b>	08/91 – 01/94 Ausbildung zur Hotelfachfrau 02/94 – 09/94 Anstellung als Hotelfachfrau im Restaurant „Seeterassen“ in Northeim
<b>Studium</b>	10/94 – 12/99 Studium Lehramt an Berufsbildenden Schulen mit der Fachrichtung Lebensmittelwissenschaft und dem Unterrichtsfach Biologie
<b>Promotion</b>	02/00 – 07/02 Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Universitäts-Frauenklinik in Heidelberg 08/02 – 04/03 Freiberufliche wissenschaftliche Tätigkeit und Abfassung der Dissertation
<b>Referendariat</b>	05/03 – vrsl. 11/04 Vorbereitungsdienst für das Lehramt an Berufsbildenden Schulen an der BBS II in Salzgitter

## 12 DANKSAGUNG

Ich möchte mich bei Frau Prof. Dr. med. Ingrid Gerhard ganz herzlich für die Überlassung des Themas sowie ihre Unterstützung und Betreuung bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit bedanken. Dies gilt insbesondere für die Vielzahl der konstruktiven Anregungen und Anmerkungen. Gleichmaßen danke ich Herrn Hochschul- und Privatdozent Dr. Andreas Hahn für sein Interesse an der Fragestellung und die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Auswertung und Abfassung der Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank all denjenigen Kolleginnen und Kollegen, die mich bei der Durchführung der BIKEI-Studie an der Universitäts Frauenklinik Heidelberg, Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, unterstützt haben.

Zudem danke ich allen Probandinnen der BIKEI-Studie, die durch ihr Engagement und ihr Mitwirken diese Studie erst ermöglichten.

Nicht zuletzt gilt mein Dank Annika für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung der Datenflut, Helmut für die akribische Beseitigung des Fehlerteufels und allen meinen Freunden für ihre moralische Unterstützung.