

**Effekte einer Nährstoffkombination  
auf Parameter des antioxidativen Stoffwechsels  
bei Personen mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko**

**Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover**

**zur Erlangung des Grades  
Doktor der Naturwissenschaften  
Dr. rer. nat.**

**genehmigte Dissertation von**

**Dipl. oec. troph. Olaf Hülsmann  
geboren am 26.02.1972 in Kempen**

**2009**

Referent: Prof. Dr. Andreas Hahn

Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotoxikologie

Koreferent: Prof. Dr. Dr. Ralf Günter Berger

Institut für Lebensmittelchemie

Tag der Promotion: 04.02.2009

## Kurzzusammenfassung

In der vorliegenden randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten Studie wurde über einen Zeitraum von sechs Monaten die Wirkung einer Kombination von Mikronährstoffen auf Parameter des antioxidativen Stoffwechsels bei Personen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko untersucht. Das verabreichte Präparat enthielt neben B-Vitaminen, Mineralstoffen und Omega-3-Fettsäuren die Antioxidanzien Vitamin C und E, Coenzym Q<sub>10</sub>, Carotinoide, Polyphenole, Zink und Selen in physiologischen Dosierungen. Das Kollektiv bestand aus 123 Personen, die mindestens zwei etablierte Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen aufwiesen.

Die Supplementation führte zu einer signifikanten Verbesserung der Vitamin-E-Versorgung. Als präventiv angesehene absolute Konzentrationen von Vitamin E wurden mit zwei Ausnahmen von allen Teilnehmern erreicht. Bei Korrektur um die Gesamtcholesterolkonzentration fand sich kein Proband der Verumgruppe bei Studienende unterhalb dieses Wertes. Wurden in die Korrektur noch die Triglyceridspiegel einbezogen, lag eine Person der Verumgruppe unterhalb der präventiven Konzentration. Die Plasmakonzentrationen von Selen stiegen im Studienverlauf ebenfalls signifikant an, so dass nur drei Probanden aus der Verumgruppe nicht die aus der Literatur als präventiv gegenüber kardiovaskulären Erkrankungen abgeleiteten Konzentrationen erreichten. Ob die nach Supplementation signifikant angestiegenen Plasmakonzentrationen von Zink langfristig einen diesbezüglichen Effekt ausüben, kann noch nicht beantwortet werden.

In der Verumgruppe stiegen die TEAC-Werte signifikant an, während sich in der Placebogruppe keine Veränderung zeigte. Der Anstieg der harnsäurekorrigierten FRAP-Werte durch das Verumpräparat war im Vergleich zu den individuellen Ausgangswerten nicht signifikant, jedoch verglichen mit den Veränderungen in der Placebogruppe. Keine Wirkung der Nährstoffgabe wurde in Bezug auf die Konzentrationen an oxidiertem LDL sowie Malondialdehyd beobachtet.

Der PON1-Genotyp zeigte den aus der Literatur bekannten Einfluss auf die beiden gemessenen Aktivitäten der PON1: Paraoxonase und Arylesterase. Jedoch fand sich weder ein Zusammenhang zwischen Genotyp und Parametern des antioxidativen Stoffwechsels, noch wurden die beiden Enzymaktivitäten der PON1 in Abhängigkeit vom Polymorphismus unterschiedlich durch die Antioxidanzigabe beeinflusst.

Durch die Intervention konnte bei Personen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko eine Verbesserung des Versorgungsstatus an Antioxidanzien erreicht werden. Ob eine derartige Nährstoffgabe langfristig Morbidität und Mortalität reduzieren kann, müssen Untersuchungen mit Erfassung klinischer Endpunkte zeigen.

Schlagworte: Atherosklerose, Antioxidanzien, Paraoxonase

## Abstract

The present randomized, double-blind, placebo-controlled study investigated the effects of a complex nutrient mixture on different markers for cardiovascular disease in persons with elevated risk for coronary heart disease due to different risk factors. During six months intervention 123 persons took either placebo or the study product consisting of B vitamins, minerals, omega-3 fatty acids and the antioxidants vitamin C and E, coenzyme Q<sub>10</sub>, carotenoids, polyphenols, zinc and selenium in physiological dosages.

The supplementation led to a significant improvement regarding vitamin E status. Absolute concentrations reached or exceeded preventive levels in all but two persons of the intervention group. After correction for total cholesterol no volunteer was found to have suboptimal levels. When vitamin E was corrected for total lipids, calculated as the sum of cholesterol and triglycerides, one person in the intervention group did not reach protective levels. Selenium concentrations increased significantly with only three persons of the study group not reaching values regarded as cardioprotective. The zinc status was significantly improved by the supplementation, but long term effects on cardiovascular risk are unclear due to a lack of data regarding preventive levels.

Functional markers of the antioxidant status showed contradictory results. TEAC increased significantly in the study group, remaining constant in the placebo group. FRAP corrected for concentrations of uric acid increased with nutrient supplementation, but fell with placebo, leading to a significant difference of the changes. No effect of intervention was observed regarding concentrations of oxidized LDL and malondialdehyde. Variations of both markers were similar between the groups.

PON1 genotype showed the expected influence on paraoxonase and arylesterase activities. No effect on other markers of the antioxidant metabolism or any changes during the intervention period was observed. Changes of PON1 activities during the study showed no association with genotype.

The intervention led to a significant improvement of the antioxidant status in persons with elevated cardiovascular risk. Possible effects of this micronutrient combination on atherosclerotic morbidity and mortality have to be investigated in studies with clinical endpoints.

Keywords: atherosclerosis, antioxidants, Paraoxonase 1

**INHALTSVERZEICHNIS**

INHALTSVERZEICHNIS .....	1
TABELLENVERZEICHNIS .....	5
ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	9
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	10
<b>1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG .....</b>	<b>12</b>
<b>2 OXIDATION UND ATHEROSKLEROSE .....</b>	<b>14</b>
2.1 REAKTIVE SAUERSTOFFSPEZIES UND OXIDATIVER STRESS .....	14
2.2 OXIDATIVE PROZESSE IN DER ATHEROSKLEROSE.....	15
<b>3 ANTIOXIDANZIEN UND ATHEROSKLEROSE.....</b>	<b>21</b>
3.1 ENDOGENE ANTIOXIDANZIEN.....	22
3.1.1 <i>Glutathionperoxidase</i> .....	22
3.1.2 <i>Paraoxonase (PON1)</i> .....	22
3.1.2.1 Enzymaktivitäten .....	23
3.1.2.2 PON1-Polymorphismen.....	25
3.1.3 <i>Nichtenzymatische endogene Antioxidanzien</i> .....	27
3.2 EXOGENE ANTIOXIDANZIEN .....	28
3.2.1 <i>Vitamin C</i> .....	28
3.2.2 <i>Vitamin E</i> .....	30
3.2.3 <i>Zink</i> .....	34
3.2.4 <i>Selen</i> .....	36
3.2.5 <i>Coenzym Q<sub>10</sub></i> .....	38
3.2.6 <i>Sekundäre Pflanzenstoffe</i> .....	39
3.2.6.1 <i>Carotinoide</i> .....	40
3.2.6.2 <i>Polyphenole</i> .....	46
3.2.7 <i>Antioxidanzien-Kombinationen</i> .....	48
3.2.7.1 <i>Effekte auf den Redoxstatus</i> .....	48
3.2.7.2 <i>Klinische Endpunkte</i> .....	51
<b>4 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>54</b>
4.1 STUDIENDESIGN UND ZIELE.....	54
4.2 ABLAUF.....	54
4.3 VERABREICHTE PRÄPARATE .....	55
4.4 PROBANDEN .....	56
4.4.1 <i>Einschlusskriterien</i> .....	57
4.4.2 <i>Ausschlusskriterien</i> .....	58
4.5 BEFRAGUNGEN .....	59
4.6 BLUTWERTE .....	59
4.6.1 <i>Gewinnung des Probenmaterials</i> .....	59

4.6.2	<i>Basisparameter</i> .....	60
4.6.2.1	Harnsäure.....	60
4.6.2.2	Lipidprofil.....	61
4.6.2.3	Glucose.....	61
4.6.3	<i>Nährstoffversorgung</i> .....	61
4.6.3.1	Vitamin E.....	61
4.6.3.2	Zink und Selen.....	62
4.6.4	<i>Marker für den Redoxstatus</i> .....	62
4.6.4.1	FRAP.....	62
4.6.4.2	TEAC.....	62
4.6.4.3	oxLDL.....	63
4.6.4.4	MDA.....	63
4.6.4.5	Arylesterase-Aktivität (ARY).....	63
4.6.4.6	Paraoxonase-Aktivität (POX).....	63
4.6.5	<i>PON1-Polymorphismen</i> .....	63
4.7	QUALITÄTSSICHERUNG.....	64
4.8	STATISTISCHE VERFAHREN.....	64
<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>66</b>
5.1	ANTHROPOMETRISCHE DATEN UND RISIKOFAKTOREN.....	66
5.2	GESUNDHEITSVERHALTEN.....	72
5.2.1	<i>Obst- und Gemüseverzehr</i> .....	72
5.2.2	<i>Rauchverhalten</i> .....	76
5.3	KONZENTRATIONEN VON ANTIOXIDANZIEN IM BLUT.....	77
5.3.1	<i>Vitamin E</i> .....	77
5.3.2	<i>Zink</i> .....	85
5.3.3	<i>Selen</i> .....	87
5.4	MARKER FÜR DEN REDOXSTATUS.....	89
5.4.1	<i>Funktionelle Marker der antioxidativen Kapazität</i> .....	89
5.4.1.1	FRAP-Test.....	89
5.4.1.2	TEAC.....	91
5.4.1.3	PON1-Aktivitäten.....	92
5.4.2	<i>Konzentrationen von Oxidationsprodukten</i> .....	95
5.4.2.1	Oxidiertes LDL.....	95
5.4.2.2	Malondialdehyd.....	98
5.5	ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN EINFLUSSFAKTOREN AUF DEN REDOXSTATUS.....	100
5.5.1	<i>Oxidationsprodukte und funktionelle Marker</i> .....	100
5.5.2	<i>Konzentrationen von Antioxidanzien und Oxidationsprodukten</i> .....	101
5.5.3	<i>Ergebnisse nach Zahl der Risikofaktoren</i> .....	102
5.6	PON1-POLYMORPHISMEN.....	107
5.6.1	<i>Einfluss des PON1-Genotyps auf den antioxidativen Stoffwechsel zu t0</i> .....	107

5.6.2	<i>Einfluss des Genotyps auf die Veränderungen im Studienverlauf</i> .....	109
5.6.3	<i>Einfluss des kombinierten PON1-Genotyps</i> .....	111
<b>6</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>116</b>
6.1	EINFLUSS VON LEBENSSTILFAKTOREN AUF DEN ANTIOXIDATIVEN STATUS .....	116
6.1.1	<i>Obst- und Gemüseverzehr</i> .....	116
6.1.2	<i>Rauchverhalten</i> .....	118
6.2	EFFEKT DER INTERVENTION AUF DEN VERSORGUNGSSTATUS .....	122
6.2.1	<i>Vitamin E</i> .....	122
6.2.1.1	Absolute Konzentrationen .....	122
6.2.1.2	Lipidadjustierte Konzentrationen .....	123
6.2.2	<i>Zink</i> .....	126
6.2.3	<i>Selen</i> .....	128
6.3	EFFEKT DER INTERVENTION AUF ANTIOXIDANZIEN-MARKER .....	131
6.3.1	<i>FRAP</i> .....	131
6.3.2	<i>TEAC</i> .....	133
6.3.3	<i>Oxidiertes LDL</i> .....	135
6.3.4	<i>Malondialdehyd</i> .....	136
6.3.5	<i>PON1-Aktivitäten</i> .....	138
6.4	AUSWIRKUNGEN DES PON1-GENOTYPS .....	141
6.5	PROTEKTIVE KONZENTRATIONEN VON ANTIOXIDANZIEN .....	143
6.5.1	<i>Vitamin C</i> .....	143
6.5.2	<i>Vitamin E</i> .....	146
6.5.3	<i>Zink</i> .....	149
6.5.4	<i>Selen</i> .....	150
6.5.5	<i>Carotinoide</i> .....	153
6.5.6	<i>Synergistische Effekte von Antioxidanzien</i> .....	157
6.6	SCHLUSSFOLGERUNGEN IM HINBLICK AUF DAS ATHEROSKLEROSERISIKO .....	161
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>164</b>
<b>8</b>	<b>LITERATUR</b> .....	<b>167</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>200</b>
9.1	METHODEN .....	200
9.1.1	<i>Vitamin E</i> .....	200
9.1.1.1	Chemikalien .....	200
9.1.1.2	Prinzip .....	200
9.1.1.3	Durchführung .....	200
9.1.2	<i>Zink</i> .....	200
9.1.2.1	Chemikalien .....	200
9.1.2.2	Prinzip .....	201
9.1.2.3	Durchführung .....	201

9.1.3	<i>Selen</i> .....	201
9.1.3.1	Chemikalien.....	201
9.1.3.2	Prinzip.....	201
9.1.3.3	Durchführung.....	201
9.1.4	<i>FRAP</i> .....	202
9.1.4.1	Chemikalien.....	202
9.1.4.2	Prinzip.....	202
9.1.4.3	Durchführung.....	202
9.1.5	<i>TEAC</i> .....	203
9.1.5.1	Chemikalien.....	203
9.1.5.2	Prinzip.....	203
9.1.5.3	Durchführung.....	203
9.1.6	<i>oxLDL</i> .....	204
9.1.6.1	Chemikalien.....	204
9.1.6.2	Prinzip.....	204
9.1.6.3	Durchführung.....	204
9.1.7	<i>MDA</i> .....	205
9.1.7.1	Chemikalien.....	205
9.1.7.2	Prinzip.....	205
9.1.7.3	Durchführung.....	205
9.1.8	<i>Arylesterase-Aktivität</i> .....	206
9.1.8.1	Chemikalien.....	206
9.1.8.2	Prinzip.....	206
9.1.8.3	Durchführung.....	206
9.1.9	<i>Paraoxonase-Aktivität</i> .....	207
9.1.9.1	Chemikalien.....	207
9.1.9.2	Prinzip.....	207
9.1.9.3	Durchführung.....	207
9.1.10	<i>PON1-Polymorphismen</i> .....	208
9.1.10.1	Chemikalien.....	208
9.1.10.2	Prinzip.....	208
9.1.10.3	Durchführung.....	209
9.2	ERGEBNISSE.....	211
9.2.1	<i>Übersichtstabellen</i> .....	211
9.2.2	<i>PON-1-Polymorphismen und Antioxidanzienmarker</i> .....	215



**TABELLENVERZEICHNIS**

Tabelle 1: Auswahl reaktiver Sauerstoffspezies im Organismus [mod. nach Noguchi u. Niki 1999].....	14
Tabelle 2: Effekte von Interventionsstudien mit Antioxidanzien-Kombinationen auf Marker des antioxidativen Stoffwechsels .....	50
Tabelle 3: Zusammensetzung des Verumpräparates .....	56
Tabelle 4: Kriterien für die Studienteilnahme (ursprüngliche Einschlusskriterien).....	57
Tabelle 5: Kriterien für die Definition des metabolischen Syndroms [Grundy et al. 2005], die als Grundlage für die Auswertung verwendet wurden .....	58
Tabelle 6: In den jeweiligen Labors durchgeführte Analysen.....	60
Tabelle 7: Gründe für den Studienabbruch/-ausschluss .....	66
Tabelle 8: Anthropometrische Daten des Studienkollektivs zu t0 und t6 .....	67
Tabelle 9: Anzahl der Risikofaktoren zum Zeitpunkt t0 nach AHA.....	69
Tabelle 10: Häufigkeit einzelner Risikofaktoren nach AHA im Gesamtkollektiv (n=123).....	69
Tabelle 11: Konzentrationen der Lipoproteine im Studienkollektiv (n=123), aufgeteilt nach Interventionsgruppe .....	71
Tabelle 12: Verzehrshäufigkeit von Obst und Gemüse zum Zeitpunkt t0 .....	72
Tabelle 13: Risikofaktoren zum Zeitpunkt t0 stratifiziert nach Obst- und Gemüseverzehr zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (n=122).....	74
Tabelle 14: Antioxidanzienmarker stratifiziert nach Obst- und Gemüseverzehr zu t0 im Gesamtkollektiv (n=122) .....	75
Tabelle 15: Veränderungen von Antioxidanzienmarkern im Studienverlauf stratifiziert nach Obst- und Gemüseverzehr in der Verumgruppe (n=65) .....	76
Tabelle 16: Antioxidanzien-Parameter nach Rauchverhalten zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (n=123) .....	77
Tabelle 17: Serumkonzentrationen von Vitamin E im Studienverlauf [ $\mu\text{mol/l}$ ] .....	78
Tabelle 18: Absolute Konzentrationen an Vitamin E in Quintilen des Gesamtkollektivs (n=123) zum Zeitpunkt t0 [ $\mu\text{mol/l}$ ] .....	79
Tabelle 19: Auf die Summe aus Gesamtcholesterol und Triglyceriden bezogene lipidadjustierte Vitamin-E-Spiegel [ $\mu\text{mol Vit.E} / \text{mmol TC+TG}$ ] vor und nach Intervention .....	81
Tabelle 20: Auf Gesamtcholesterol bezogene lipidadjustierte Vitamin-E-Spiegel [ $\mu\text{mol Vit.E} / \text{mmol TC}$ ] vor und nach Intervention .....	82
Tabelle 21: Verteilung des Studienkollektivs (n=123) auf Referenzbereiche der Vitamin-E-Serumkonzentration .....	83
Tabelle 22: Verteilung des Studienkollektivs (n=123) auf lipidkorrigierte Referenzbereiche der Vitamin-E-Serumkonzentration (Vit. E / TC) .....	84
Tabelle 23: Verteilung des Studienkollektivs (n=123) auf lipidkorrigierte Referenzbereiche der Vitamin-E-Serumkonzentration (Vit. E / (TC+TG)).....	85
Tabelle 24: Veränderungen der Zinkspiegel [ $\mu\text{mol/l}$ ] im Studienverlauf.....	86
Tabelle 25: Veränderungen der Selenspiegel [ $\mu\text{mol/l}$ ] im Studienverlauf .....	88

Tabelle 26: Veränderungen der FRAP-Werte vor und nach Harnsäurekorrektur im Studienverlauf [µmol/µmol Harnsäure] .....	89
Tabelle 27: Korrelation der absoluten FRAP-Werte [µmol/l] zu t0 mit den Werten zu t6 sowie den Veränderungen im Studienverlauf .....	90
Tabelle 28: Korrelation der harnsäurekorrigierten FRAP-Werte [µmol/l] zu t0 mit den Werten zu t6 sowie den Veränderungen im Studienverlauf .....	90
Tabelle 29: Veränderungen der TEAC-Werte [µmol/l] im Studienverlauf .....	92
Tabelle 30: Korrelation der TEAC-Werte [µmol/l] zu t0 mit den Werten zu t6 sowie den Veränderungen im Studienverlauf .....	92
Tabelle 31: Veränderungen der Paraoxonase-Aktivität [U/l] im Studienverlauf .....	92
Tabelle 32: Veränderungen der Arylesterase-Aktivität [U/ml] im Studienverlauf .....	93
Tabelle 33: Konzentrationen von oxidiertem LDL [U/l] vor und nach der Intervention (Serie 1-3).....	96
Tabelle 34: Konzentrationen von oxidiertem LDL [U/l] bezogen auf die LDL-Konzentration [mmol/l] vor und nach der Intervention (Serie 1–3).....	96
Tabelle 35: Zusammenhänge zwischen oxLDL [U/l] und Risikofaktoren zum Zeitpunkt t0 (n=102) .....	97
Tabelle 36: Vergleich der oxLDL-Werte zwischen Personen ohne cholesterolsenkende Medikation und Personen unter Statintherapie.....	98
Tabelle 37: Konzentrationen von Malondialdehyd (MDA) [µmol/l] vor und nach der Intervention .....	99
Tabelle 38: Zusammenhänge zwischen Konzentrationen von Oxidationsprodukten zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (oxLDL Serie 1-3, n=102) .....	100
Tabelle 39: Zusammenhänge zwischen Veränderungen von Oxidationsprodukten im Studienverlauf innerhalb der beiden Gruppen.....	100
Tabelle 40: Zusammenhänge zwischen Oxidationsprodukten und funktionellen Antioxidanzien-Parametern zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv .....	101
Tabelle 41: Zusammenhänge zwischen funktionellen Antioxidanzien-Markern zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (n=123).....	101
Tabelle 42: Zusammenhänge zwischen Veränderungen der funktionellen Antioxidanzien-Marker im Studienverlauf nach Interventionsgruppe .....	101
Tabelle 43: Zusammenhänge zwischen Vitamin E und Antioxidanzien-Markern im Gesamtkollektiv zum Zeitpunkt t0 (n=123) .....	102
Tabelle 44: Zusammenhänge zwischen Spurenelementen und Antioxidanzien-Markern im Gesamtkollektiv zu t0 (n=123).....	102
Tabelle 45: Zusammenhänge zwischen Veränderungen von MDA-Spiegeln mit den Vitamin-E-Konzentrationen im Studienverlauf .....	102
Tabelle 46: Antioxidanzien-Marker in Abhängigkeit von der Zahl der Risikofaktoren nach AHA im Gesamtkollektiv zu t0 .....	104
Tabelle 47: Veränderung von Antioxidanzien-Markern in Abhängigkeit von der Zahl der Risikofaktoren nach AHA in der Verumgruppe .....	106
Tabelle 48: Verteilung der PON1-Polymorphismen auf das Studienkollektiv (n=122).....	107
Tabelle 49: Antioxidanzien-Parameter nach PON1-55-Polymorphismus im Gesamtkollektiv zu t0 (n=122) .....	108

Tabelle 50: Antioxidanzien-Parameter nach PON1-192-Polymorphismus im Gesamtkollektiv zu t0 (n=122) .....	109
Tabelle 51: Veränderungen der Antioxidanzien-Parameter nach PON1-55-Polymorphismus in der Verumgruppe (n=66) .....	110
Tabelle 52: Veränderungen der Antioxidanzien-Parameter nach PON1-192-Polymorphismus in der Verumgruppe (n=66) .....	110
Tabelle 53: Häufigkeiten der Polymorphismen-Kombinationen im Gesamtkollektiv (n = 122) .....	111
Tabelle 54: Häufigkeiten der Polymorphismen-Kombinationen nach Gruppenzugehörigkeit (n = 122) .....	111
Tabelle 55: Paraoxonase-Aktivität [U/l] nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122) .....	112
Tabelle 56: Veränderungen der Paraoxonase-Aktivität [U/l] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122) .....	114
Tabelle 57: Arylesterase-Aktivität [U/ml] nach kombinierten PON1-Polymorphismen zu t0 (n=122) ....	114
Tabelle 58: Veränderungen der Arylesterase-Aktivität [U/ml] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122) .....	115
Tabelle 59: Ergebnisse placebokontrollierter Studien zur antioxidativen Wirkung von Vitamin C bei Rauchern .....	120
Tabelle 60: Verteilung des Studienkollektivs (n=122) auf Referenzbereiche der Selen-Plasmakonzentration .....	152
Tabelle 61: Nährstoffdosierungen verschiedener Interventionsstudien im Vergleich .....	160
Tabelle 62: Zentrale Ergebnisse der Untersuchung in Stichworten .....	166
Tabelle 63: Korrelationen zwischen Antioxidanzien-Markern zu t0 im Gesamtkollektiv .....	211
Tabelle 64: Korrelationen zwischen Nährstoffkonzentrationen und Antioxidanzien-Markern zu t0 im Gesamtkollektiv .....	212
Tabelle 65: Korrelationen zwischen Veränderungen von Antioxidanzien-Parametern in Gruppe 2 (Verumgruppe) (n=66) im Studienverlauf .....	213
Tabelle 66: Korrelationen zwischen Nährstoffkonzentrationen und Antioxidanzien-Markern zu t0 in Gruppe 2 (Verumgruppe) (n=66) .....	214
Tabelle 67: FRAP nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122) .....	215
Tabelle 68: Veränderungen der FRAP-Werte [µmol/l] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122) .....	215
Tabelle 69: FRAP/Harnsäure nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122) .....	216
Tabelle 70: Veränderungen der harnsäurekorrigierten FRAP-Werte im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122) .....	216
Tabelle 71: TEAC nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122) .....	217
Tabelle 72: Veränderungen der TEAC-Werte [µmol/l] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122) .....	217
Tabelle 73: MDA nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122) .....	218
Tabelle 74: Veränderungen der MDA-Konzentrationen [µmol/l] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122) .....	218
Tabelle 75: Häufigkeiten der Polymorphismen-Kombinationen für oxLDL Serie 1-3 (n = 101) .....	219
Tabelle 76: oxLDL nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=101) .....	220

---

Tabelle 77: Veränderungen der oxLDL-Konzentration [U/l] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=101).....	220
Tabelle 78: oxLDL/LDL nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=101) .....	221
Tabelle 79: Veränderungen der oxLDL-Konzentrationen bezogen auf LDL im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=101) .....	221

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abbildung 1: Vereinfachte Darstellung der Atherogenese [mod. nach Hahn, Ströhle, Wolters 2006, S. 387].....	19
Abbildung 2: Enzymatische Hydrolysereaktionen der PON1: 1: Paraoxon; 2: Arylester; 3: Lactone; 4: Sarin .....	24
Abbildung 3: Verteilung des Gesamtkollektivs auf die BMI-Klassen zum Zeitpunkt t0 (n=123) .....	68
Abbildung 4: Häufigkeit der Anzahl von Risikofaktoren zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv nach Definition der AHA.....	69
Abbildung 5: Verteilung des Obst- und Gemüseverzehrs im Gesamtkollektiv (n=122).....	73
Abbildung 6: Prozentuale Differenz der absoluten Vitamin-E-Konzentration im Studienverlauf nach Quintile der Ausgangswerte zu t0 .....	79
Abbildung 7: Veränderungen der absoluten Vitamin-E-Konzentrationen in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0 .....	80
Abbildung 8: Korrelation zwischen den Veränderungen der auf Gesamtcholesterol und auf Gesamtlipide bezogenen lipidadjustierten Konzentrationen von Vitamin E ( $r=0,814$ , $p<0,001$ ).....	81
Abbildung 9: Veränderungen der lipidadjustierten Vitamin-E-Konzentrationen in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0 .....	82
Abbildung 10: Zusammenhang zwischen den Zinkkonzentrationen im Plasma zum Zeitpunkt t0 und der Veränderung im Studienverlauf in der Verumgruppe (n=65) .....	87
Abbildung 11: Zusammenhang zwischen den Selenkonzentrationen zum Zeitpunkt t0 und der Veränderung im Studienverlauf in der Verumgruppe (n=65) .....	88
Abbildung 12: Veränderungen der harnsäurekorrigierten FRAP-Werte in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0 .....	91
Abbildung 13: Veränderung der Paraoxonase-Aktivität der PON1 in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0 ( $r_s=0,025$ , $p=0,842$ ) .....	94
Abbildung 14: Veränderung der Arylesterase-Aktivität der PON1 in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0 ( $r=-0,089$ , $p=0,475$ ).....	95
Abbildung 15: Veränderungen der MDA-Konzentration in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0.....	99
Abbildung 16: Paraoxonase-Aktivität der PON1 [U/l] im Gesamtkollektiv zu t0 nach kombiniertem PON1-Genotyp .....	113

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

8-iso-PGF <sub>2α</sub>	8-iso-Prostaglandin-F <sub>2α</sub>
8-OhdG	8-Hydroxydeoxyguanosin
AHA	American Heart Association
AREDS	Age-Related Eye Disease Study
ARIC	Atherosclerosis Risk in Communities Study
ARY	Arylesterase-Aktivität der PON1
ASAP	Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention Study
ATBC	Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study
BA	Blutabnahme
BMI	Body mass index
CAD	Coronary artery disease
CARET	β-Carotene and Retinol Efficacy Trial
CHAOS	Cambridge Heart Antioxidant Trial
CRP	C-reaktives Protein
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EURAMIC	European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction, and Breast Cancer
FFQ	Food-Frequency-Questionnaire: Fragebogen zur Ermittlung der Verzehrshäufigkeit bestimmter Lebensmittel
FMD	Flow-mediated vasodilatation
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
GISSI	Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico
GPx	Glutathionperoxidase
HATS	HDL-Atherosclerosis Treatment Study
Hb	Hämoglobin
HOPE	Heart Outcomes Prevention Evaluation Study
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1
IMT	Intima media thickness

---

KHK	Koronare Herzkrankheit
MCP-1	Monocyte-Chemoattractant-Protein 1
MCSF-1	Membrane bound isoform of colony-stimulating factor-1
MDA	Malondialdehyd
MI	Myocardinfarkt
MUFS	Mehrfach ungesättigte Fettsäuren
n	Anzahl der Probanden
NO	Stickstoffmonoxid
n.s.	nicht signifikant
oxLDL	oxidiertes LDL-Cholesterol
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PDGF	Platelet-derived Growth Factor
PHS	Physicians' Health Study
POX	Paraoxonase-Aktivität der PON1
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SOD	Superoxiddismutase
t0	Zeitpunkt der 1. Blutentnahme (November 2003)
t6	Zeitpunkt der 2. Blutentnahme (Mai 2004)
TÄ	Tocopheroläquivalent
TBARS	Thiobarbitursäurereaktive Substanzen
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1
VEGF-A	vascular endothelial growth factor A
vWF	von Willebrand factor

# 1 Einleitung und Problemstellung

Die klinischen Manifestationen der Atherosklerose stellen in westlichen Industrienationen mit mehr als 40 % die Haupttodesursache dar [Luisi 2000, Kromhout 2001]. So starben in der Bundesrepublik Deutschland im Jahr 2006 insgesamt 358.953 Personen an Krankheiten des Kreislaufsystems, dies entspricht 43,7 % aller Todesfälle [Statistisches Bundesamt 2007]. Hinzu kommen volkswirtschaftliche Schäden durch die Behandlung der erkrankten Personen, die im Jahr 2002 bei 35,4 Milliarden Euro oder 16 % der gesamten Krankheitskosten lagen [Robert-Koch-Institut 2006].

Die Entwicklung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen ist auf jeder Stufe der atherosklerotischen Veränderungen erheblich durch Lebensstilfaktoren beeinflussbar. So sind die etablierten Risikofaktoren Übergewicht, Bluthochdruck, Dyslipoproteinämie und Diabetes Typ 2 in hohem Maße mit den Ernährungs- und Lebensgewohnheiten assoziiert. Eine positive Energiebilanz trägt alleine deutlich zur Ausprägung des Risikos bei, so dass eine Reduktion der Energiezufuhr in Verbindung mit erhöhtem Energieverbrauch bereits erheblich zur Risikosenkung beiträgt. Dementsprechend kommt regelmäßiger Bewegung nicht zuletzt aufgrund des damit verbundenen erhöhten Energieverbrauchs eine besondere Rolle in der Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen zu [Pedersen u. Saltin 2006, Roberts u. Barnard 2005, Vuori 2001]. Unabhängig von Effekten auf das Körpergewicht zeigt die körperliche Leistungsfähigkeit einen eigenständigen Zusammenhang mit der Lebenserwartung, so dass die Erhöhung der Aktivität eine grundlegende Maßnahme in der Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen darstellen sollte [Sui et al. 2007, Pedersen u. Saltin 2006].

Entscheidenden Einfluss auf Risiko und Verlauf der Atherosklerose besitzen Menge und Art der Nahrung, da diese über das Sättigungsempfinden die Energieaufnahme und über die enthaltenen Nährstoffe die Versorgung des Organismus mit protektiven Substanzen beeinflussen. So werden verschiedenen Ballaststoffen sättigungsfördernde und lipidsenkende Eigenschaften zugeschrieben. Eine wichtige Rolle in der Atherogenese kommt auch der Fettsäurezusammensetzung der Nahrung zu. Epidemiologische Untersuchungen konnten wiederholt einen inversen Zusammenhang zwischen dem Verzehr von fettreichem Fisch und dem Auftreten kardiovaskulärer Endpunkte zeigen [He et al. 2004, Hu et al. 2002, He et al. 2002]. Zurückgeführt wird dies auf protektive Effekte der enthaltenen Omega-3-Fettsäuren, die einen Einfluss auf die Konzentrationen von Triglyceriden, Entzündungsmarkern und Gerinnungsfaktoren ausüben. Diese Wirkungen wurden auch für die isolierte Gabe dieser Fettsäuren in Form von Fischölpräparaten bestätigt. Auf Basis dieser Ergebnisse empfiehlt die American Heart Association (AHA) zur Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen die



Aufnahme von zwei Portionen fettreichem Fisch pro Woche bzw. 1 g/d Omega-3-Fettsäuren in Form von Fischölpräparaten [Lichtenstein et al. 2006].

Unter den Lebensmitteln, deren Verzehr in epidemiologischen Studien mit einem verringerten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert ist, wird Obst und Gemüse ein besonders hoher Stellenwert zugemessen. Ein regelmäßiger hoher Konsum ist mit einem geringen Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen verbunden. Dieser Zusammenhang wird vor allem mit der dadurch bedingten hohen Zufuhr von Antioxidanzien begründet [Acheson u. Williams 1983, Fraser 1994]. Auch konnten Untersuchungen zur Beziehung zwischen dem Antioxidanzienstatus und der Inzidenz atherosklerotischer Ereignisse zeigen, dass eine unzureichende Versorgung das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen erhöht [Gey 1998, Gey et al. 1991 u. 1993, Halliwell 1994, Gale et al. 1995, Biesalski et al. 1997b].

Erste Interventionsstudien, die mit einzelnen oder Kombinationen aus nur zwei oder drei isolierten Substanzen durchgeführt wurden, zeigten jedoch ernüchternde Ergebnisse. Aufgrund des synergistischen Zusammenwirkens vieler Stoffe im antioxidativen Stoffwechsel liegt die Vermutung nahe, dass nur eine Kombination zahlreicher Antioxidanzien Effekte im Hinblick auf Risikomarker zeigen würde. Ob diese Wirkungen jedoch nur über den erhöhten Verzehr von Obst und Gemüse oder auch über die konzentrierte Aufnahme definierter Substanzen in Form von Nährstoffpräparaten erzielt werden können, wird kontrovers diskutiert.

Die vorliegenden Daten wurden im Rahmen einer randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie erhoben. Diese hatte zum Ziel, die Effekte einer komplexen Kombination von Mikronährstoffen im Hinblick auf verschiedene Marker des antioxidativen Stoffwechsels bei Personen mit einem erhöhten Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu untersuchen. Dabei wurden die verabreichten Nährstoffe in physiologischen Dosierungen verabreicht, wobei sowohl lipophile als auch hydrophile Antioxidanzien gemeinsam mit Spurenelementen als Cofaktoren im antioxidativen Stoffwechsel zum Einsatz kamen. Aufgrund der unterschiedlichen Sensitivität von Parametern des Redoxstatus den verschiedenen Antioxidanzien gegenüber wurden in der vorliegenden Untersuchung mehrere Verfahren kombiniert, um eine zuverlässige Aussage über Veränderungen im Studienverlauf zu erlauben.

Zusätzlich zu funktionellen Markern wurde der Genotyp des HDL-assoziierten Enzyms Paraoxonase (PON1) bestimmt, für das ein Einfluss auf das kardiovaskuläre Risiko postuliert wurde. Es sollte geprüft werden, ob mögliche protektive Effekte bestimmter Varianten der PON1 über eine Beeinflussung des antioxidativen Stoffwechsels vermittelt werden und ob die Intervention mit Mikronährstoffen in Abhängigkeit vom Genotyp unterschiedliche Auswirkungen zeigt.

## 2 Oxidation und Atherosklerose

### 2.1 Reaktive Sauerstoffspezies und oxidativer Stress

Im Verlauf oxidativer Prozesse im Organismus entstehen als kurzlebige Zwischen- und Nebenprodukte verschiedene reaktive Sauerstoffspezies (ROS). Bei diesen handelt es sich um hoch reaktive Sauerstoffmetabolite, die in radikalische und nicht-radikalische Formen eingeteilt werden können (Tabelle 1). Sie werden physiologischerweise permanent im Organismus gebildet, denn sie erfüllen unterschiedliche Aufgaben in spezifischen Zellkompartimenten, Geweben und extrazellulären Flüssigkeiten. So bilden verschiedene Immunzellen Superoxidradikale, um im Rahmen der Infektabwehr Mikroorganismen abzutöten. Auch sind ROS an der Regulation der Expression bestimmter Gene beteiligt, die im Zusammenhang mit dem Redoxstatus stehen, beispielsweise in der Erythropoetinsynthese und der Atemregulation.

Tabelle 1: Auswahl reaktiver Sauerstoffspezies im Organismus [mod. nach Noguchi u. Niki 1999]

Radikale		Nicht-Radikale	
$O_2^{\bullet -}$	Superoxidradikal	$H_2O_2$	Wasserstoffperoxid
$HO^{\bullet}$	Hydroxylradikal	$^1O_2$	Singulett-Sauerstoff
$HO_2^{\bullet}$	Perhydroxylradikal	ROOH	Lipidhydroperoxid
$RO^{\bullet}$	Lipidalkoxylradikal		
$ROO^{\bullet}$	Lipidperoxylradikal		

Hauptquelle für ROS im Organismus ist die Atmungskette. Schätzungsweise 2,5–5 % des hier umgesetzten Sauerstoffs werden in Form von Superoxidanionen freigesetzt. Daneben ist auch das Cytochrom-P<sub>450</sub>-System eine bedeutende Quelle von Superoxid. Andere ROS entstehen als Nebenprodukte von enzymatisch katalysierten Oxidationsreaktionen, z. B. der Xanthinoxidase oder von Aminooxidasen. ROS können auch exogenen Ursprungs sein. Als Quellen gelten beispielsweise halogenierte Kohlenwasserstoffe, Alkoholkonsum, ionisierende und ultraviolette Strahlung, Luftverschmutzung, Ozon und bestimmte Arzneimittel. Insbesondere Tabakrauch kann ebenfalls erheblich zur oxidativen Belastung des Organismus beitragen [Panda et al. 1999].

Eine besondere Bedeutung kommt aufgrund ihrer hohen Reaktivität den freien Radikalen zu. Radikalische Formen von ROS weisen ein oder mehrere ungepaarte Elektronen auf, die aufgrund ihres Bestrebens, ein Elektronenpaar zu bilden, für den hochreaktiven und instabilen Charakter verantwortlich sind. Freie Radikale reagieren mit einem anderen Radikal, indem

beide ihr freies Elektron „paaren“ und eine kovalente Bindung eingehen. Da die meisten biologischen Moleküle kein freies Elektron besitzen, führt die Reaktion dieser Stoffe mit Radikalen zu Kettenreaktionen, die ständig neue, wiederum reaktive Radikale hervorbringen. Diese kumulative Radikalbildung führt zu Schäden an verschiedenen Zellelementen. So können insbesondere mehrfach ungesättigte Fettsäuren (MUFS) durch reaktive Sauerstoffspezies nicht nur oxidiert werden, sondern es kann auch zur Spaltung bzw. Verkürzung ihrer Kohlenstoffkette kommen. Aus der Oxidation membranständiger MUFS können Veränderungen der physiologischen Membranfunktionen resultieren, die im schlimmsten Fall zum völligen Zusammenbruch der Membraneigenschaften führen. Oxidative Veränderungen der DNA können ebenfalls dramatische Folgen in Form von Fehlpaarungen und Mutationen haben.

## **2.2 Oxidative Prozesse in der Atherosklerose**

Der Begriff Atherosklerose beschreibt chronisch degenerative Veränderungen der Arterienwände, die im Bereich der Intima beginnen und sich im weiteren Verlauf über die gesamte Gefäßwand erstrecken können. Kennzeichen der Erkrankung sind herdförmige Ablagerungen von Lipiden und fibrösen Elementen im arteriellen Gewebe, Zellwucherungen sowie reaktive Entzündungen. Hierbei verlieren elastische und kontraktile Elemente ihre Struktur, was zu einer Verdickung und Verhärtung (Sklerose) der gesamten Gefäßwand führt und ihre Funktionen einschränkt [Lusis 2000, Wahrburg u. Assmann 1999a].

Die Entstehung früher Läsionen gilt als Initialschritt in der Atherogenese. Bei diesen auch Typ-I-Läsionen genannten Schäden handelt es sich zunächst um eine Ansammlung atherogener Lipoproteine in der Intima. Im daran anschließenden Stadium kommt es zur Anhäufung lipidakkumulierender Makrophagen und deren Konversion zu Schaumzellen. Diese noch reversiblen morphologischen Veränderungen sind makroskopisch in Form gelber Fettstreifen, den sogenannten „fatty streaks“ (Typ-II-Läsionen), in der Intima sichtbar. Bilden sich diese frühen Läsionen nicht zurück, können sie in das fortgeschrittene Stadium übergehen. Charakteristisch für diese Phase sind fibroatheromatöse Plaques (Typ-V-Läsionen), die mit Bindegewebe durchzogen sind und zur Verdickung der Gefäßwand beitragen. In der letzten Phase der atherosklerotischen Veränderungen entstehen komplizierte Läsionen (Typ VI), die durch Ulzerations- und Verkalkungsprozesse sowie eine verstärkte Neigung zur Thrombusbildung charakterisiert sind. Das Lumen der betroffenen Gefäße wird zunehmend eingeengt (Stenosierung) oder kann sich vollständig verschließen. Obwohl häufig schon im Kindesalter „fatty streaks“ auftreten, führen die beschriebenen Veränderungen üblicherweise erst mit fortschreitendem Umfang im mittleren und höheren Lebensalter zu Verengungen des Gefäßlumens, die dann klinische Manifestationen auslösen können. Deshalb werden in den

meisten Fällen erst in diesem Stadium klinische Symptome manifest. Die im Verlauf dieses Prozesses zunehmende Dicke der Intima media wird – üblicherweise an der Carotis-Arterie gemessen – verbreitet als Marker für das kardiovaskuläre Risiko verwendet. Die Aussagekraft des Wertes in Bezug auf die Wahrscheinlichkeit von Schlaganfall und Herzinfarkt konnte kürzlich in einer Meta-Analyse bestätigt werden [Lorenz et al. 2007].

Im Verlauf der letzten Jahrzehnte haben zahlreiche Untersuchungen zur Klärung der molekularen Mechanismen bei der Entstehung und Progression der Atherosklerose beigetragen. Dennoch sind bis heute zahlreiche Details ungeklärt, so dass eine Vielzahl an Erklärungsmodellen zu Ursachen und möglichen Therapieansätzen existiert. Ein häufig verwendetes Modell zur Erklärung der Atherogenese verknüpft zwei bekannte und sich z. T. widersprechende Hypothesen [Brigelius-Flohe 2002]:

Die „Response-to-injury“-Hypothese nach Ross et al. [1977] beschreibt die Atherogenese als einen inflammatorischen Prozess als Reaktion auf eine Schädigung des Gefäßendothels durch mechanische, immunologische und/oder endotheltoxische Noxen. Die Plausibilität dieser Theorie beruht insbesondere darauf, dass hierbei eine Reihe potentiell atherogener, z. T. in enger Beziehung zum individuellen Lebens- und Ernährungsstil stehende Faktoren (z. B. blutdruckvermittelte mechanische Einflüsse, modifizierte Lipoproteine) zusammengefasst werden, die auf Gefäßebene eine unspezifische molekulare Antwort in Form der Atherosklerose hervorrufen. Initiale Ereignisse wie die Bildung von endothelialen Adhäsionsmolekülen und das Rekrutieren von Immunzellen (v. a. Monozyten) spiegeln dabei charakteristische Reparaturmechanismen in Sinne einer „Antwort auf Schaden“ wider, die durch überschießende Reaktionen zu Schäden in den betroffenen Gefäßen führen. In Bezug auf präventive und therapeutische Maßnahmen wird daher antiinflammatorischen sowie antikoagulatorischen Substanzen wie z. B. Omega-3-Fettsäuren oder ASS ein wichtiger Stellenwert eingeräumt.

In der von Brown und Goldstein [1983] begründeten Hypothese einer durch Akkumulation von Lipiden verursachten Atherosklerose (Lipidhypothese) wird dagegen die Hypercholesterolämie – auf Basis zahlreicher epidemiologischer und klinischer Befunde – als zentraler Faktor der Atherogenese dargestellt. Damit assoziiert ist das Modell der oxidativen Modifikation von LDL-Lipoproteinen (Oxidationshypothese), wodurch die unkontrollierte Anreicherung von oxidiertem LDL-Cholesterol (oxLDL) in Makrophagen und die daraus resultierende Konversion zu Schaumzellen eingeleitet wird. Die in diese Hypothese involvierten Oxidationsprozesse haben dazu geführt, dass in der Therapie der Atherosklerose neben etablierten Maßnahmen zur Senkung erhöhter LDL-Plasmaspiegel auch der mögliche Nutzen von Antioxidanzien zunehmend erforscht wird.

Das heute häufig verwendete Modell von Brigelius-Flohe [2002] verbindet die beiden bekannten Hypothesen über den zeitlichen Verlauf. So wird nach der „Response-to-injury-Hypothese“ der Beginn des pathogenetischen Geschehens durch die Verletzung des Endothels markiert [Ross 1993, 1997]. Daneben führt das Einwirken verschiedener atherogener Noxen wie Hyperlipidämien [Woolf 1987], Hypertonie [Shantaram 1999], Nikotin [Kilaru et al. 2001] oder Hyperhomocysteinämie [Gerhard u. Duell 1999] zu einer Schädigung des Endothels. Diese Frühphase der Atherogenese, die der Entstehung atherosklerotischer Läsionen vorausgeht, ist durch eine Störung der physiologischen, größtenteils durch Stickstoffmonoxid (NO) vermittelten Endothelfunktion gekennzeichnet. Die endotheliale Dysfunktion gilt als Schlüsselereignis der Atheroskleroseentstehung und bedingt u. a. eine erhöhte Gefäßpermeabilität, so dass LDL-Lipoproteine und andere Plasmakomponenten vermehrt infiltrieren können.

In der Folge kommt es zunächst zur Einlagerung von Lipiden in die Intima der Gefäßwände. Innerhalb kurzer Zeit lagern sich Monozyten an die Oberfläche dieser Bereiche an, wandern durch das Gefäßendothel in die Intima ein und differenzieren dort zu Makrophagen. Diese nehmen über den Scavenger-Rezeptor unkontrolliert modifizierte LDL-Partikel aus der Zirkulation auf. Neben oxidiertem und acetyliertem LDL werden auf diesem Weg auch andere, z. B. mit Malondialdehyd (MDA) oder Proteoglykanen konjugierte LDL-Partikel aufgenommen, nicht jedoch unveränderte oder gering veränderte Partikel [Glass u. Witztum 2001, Tsimikas u. Witztum 2001]. Dabei bewirkt ein höherer Cholesterolgehalt der LDL-Partikel eine schnellere Oxidation und geringere Wirksamkeit von Antioxidanzien [Mosinger 1999]. Oxidiertes LDL führt wiederum über Chemotaxis zu einer erhöhten Ansammlung von Monozyten im Endothel sowie aufgrund seiner Zytotoxizität gegenüber Endothelzellen zur Produktion und Ausschüttung von Lipiden und lysosomalen Enzymen in den Extrazellulärraum der Intima. Die Bildung von Läsionen wird so weiter verstärkt [Paolisso et al. 1999]. So konnten zwischen dem Grad der atherosklerotischen Veränderungen und Konzentrationen an oxLDL in verschiedenen Untersuchungen Zusammenhänge festgestellt werden. Bei Personen, die sich einer koronaren Angiographie unterzogen, wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen den oxLDL-Spiegeln und Anzahl bzw. Ausmaß von Stenosierungen festgestellt. Eine gleichzeitige Hypercholesterolämie trug zu einer weiteren Risikoerhöhung bei, so dass das Risiko in der höchsten Quartile der oxLDL-Konzentrationen um den Faktor 16,8 im Vergleich zur niedrigsten Quartile ohne Hypercholesterolämie erhöht war [Tsimikas et al. 2005]. Bei verschiedenen Patientengruppen zeigte sich ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen veränderter LDL-Partikel und der Schwere koronarer Symptome. So wiesen Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK) signifikant höhere MDA-LDL- und oxLDL-Konzentrationen auf als gesunde Kontrollpersonen oder Transplantationspatienten ohne KHK. Die Plasmaspiegel an MDA-LDL waren bei Vorliegen akuter koronarer Symptome signifikant erhöht im Vergleich zu

Patienten mit stabiler KHK und waren mit erhöhten Konzentrationen an C-reaktivem Protein (CRP) assoziiert [Holvoet et al. 1998]. Personen mit angiographisch bestätigter koronarer Herzerkrankung wiesen signifikant höhere oxLDL-Spiegel auf als gesunde Kontrollpersonen. Dabei erwies sich eine Konzentration oberhalb der 90. Perzentile von Gesunden als zuverlässiger in der Prognose als die Einstufung nach etablierten Risikofaktoren wie Blutdruck, Lipidkonzentrationen oder Diabetes [Holvoet et al. 2001]. In einer japanischen Studie wurden die höchsten Werte an oxLDL (bezogen auf LDL-Protein) bei Patienten mit akutem Myocardinfarkt gemessen, signifikant geringere bei instabiler und stabiler Angina pectoris. Gesunde Kontrollpersonen wiesen nur etwa 30 % der Werte von MI-Patienten auf. Dabei zeigten sich keine Unterschiede bezüglich Gesamt-, LDL- oder HDL-Cholesterol [Ehara et al. 2001]. Auch die Beständigkeit von LDL-Partikeln gegenüber Oxidation ex vivo war invers mit der Schwere atherosklerotischer Veränderungen assoziiert, die mittels Angiographie bestimmt wurde [Regnström et al. 1992].

Neben Makrophagen tragen auch Endothelzellen Scavenger-Rezeptoren, die modifizierte LDL aufnehmen. Sie stimulieren dort die Synthese von Adhäsionsmolekülen und Chemokinen, wodurch zirkulierende Monozyten und T-Lymphozyten verstärkt an den Gefäßwänden haften, in das Gewebe einwandern und zu Makrophagen umgebaut werden. Klinische Ereignisse können entweder als Folge einer Ruptur der atherosklerotischen Plaques mit nachfolgender Thrombusbildung oder durch allmähliche Lumenabnahme aufgrund des Dickenwachstums der Gefäßwand auftreten. In beiden Fällen ist die Folge eine Minderdurchblutung der betroffenen Region bis hin zu vollständigem Verschluss mit nachfolgender Nekrotisierung von Geweben.

Auch im subendothelialen Raum werden native LDL-Partikel mittels reaktiver Sauerstoffspezies, die aus dem Stoffwechsel von Leukozyten [Carr et al. 2000a], Endothelzellen und glatten Muskelzellen [Heinecke 1998] stammen, oxidativ modifiziert. Die aus den Oxidationsprozessen hervorgehenden LDL (oxLDL) erwerben in Abhängigkeit von ihrem Oxidationsgrad atherogene Eigenschaften, die zusätzlich die Bildung atherosklerotischer Plaques vorantreiben. Werden lediglich die in den LDL enthaltenen ungesättigten Fettsäuren oxidativ verändert, entstehen minimal oxidierte LDL (m-oxLDL) [Reaven und Witztum 1996]. Diese stimulieren Endothelzellen zur Bildung von Adhäsionsmolekülen (z. B. VCAM-1, ICAM-1) und chemotaktisch wirksamen Signalstoffen (MCP-1, MCSF-1), welche die Infiltration zirkulierender Monozyten und deren Transformation zu Makrophagen fördern [Valente et al. 1992, Ylä-Herttuala 1992]. Letztere sezernieren vermehrt Superoxidanionen, wodurch die Oxidationsstufe der m-oxLDL weiter erhöht wird. Hierdurch geht die strukturelle Integrität des Apolipoprotein B<sub>100</sub> verloren, und es entstehen hoch oxidierte LDL (h-oxLDL). Diese werden dann von Makrophagen über Scavenger-Rezeptoren internalisiert [Reaven und Witztum 1996] und tragen so ebenfalls zur weiteren Bildung von Schaumzellen bei.

Monozyten, ausdifferenzierte Makrophagen, Endothel- und glatte Muskelzellen setzen im weiteren Verlauf eine Reihe von Substanzen (Zytokine, Eicosanoide, Wachstumsfaktoren, z. B. PDGF) frei, die u. a. mit einer verstärkten Bildung von Adhäsionsmolekülen, einer verstärkten Thrombozytenaggregation sowie der Proliferation und Migration glatter Muskelzellen in Verbindung stehen. Letztere gehen unter dem Einfluss von Wachstumsfaktoren vom kontraktilen in den synthetisierenden Zustand über und produzieren Bindegewebsfasern, aus denen die für fortgeschrittene Läsionen charakteristische fibröse Kappe auf der atherosklerotischen Plaque besteht [Brigelius-Flohe 2002]. Der Verlauf der Atherogenese ist in *Abbildung 1* schematisch dargestellt.

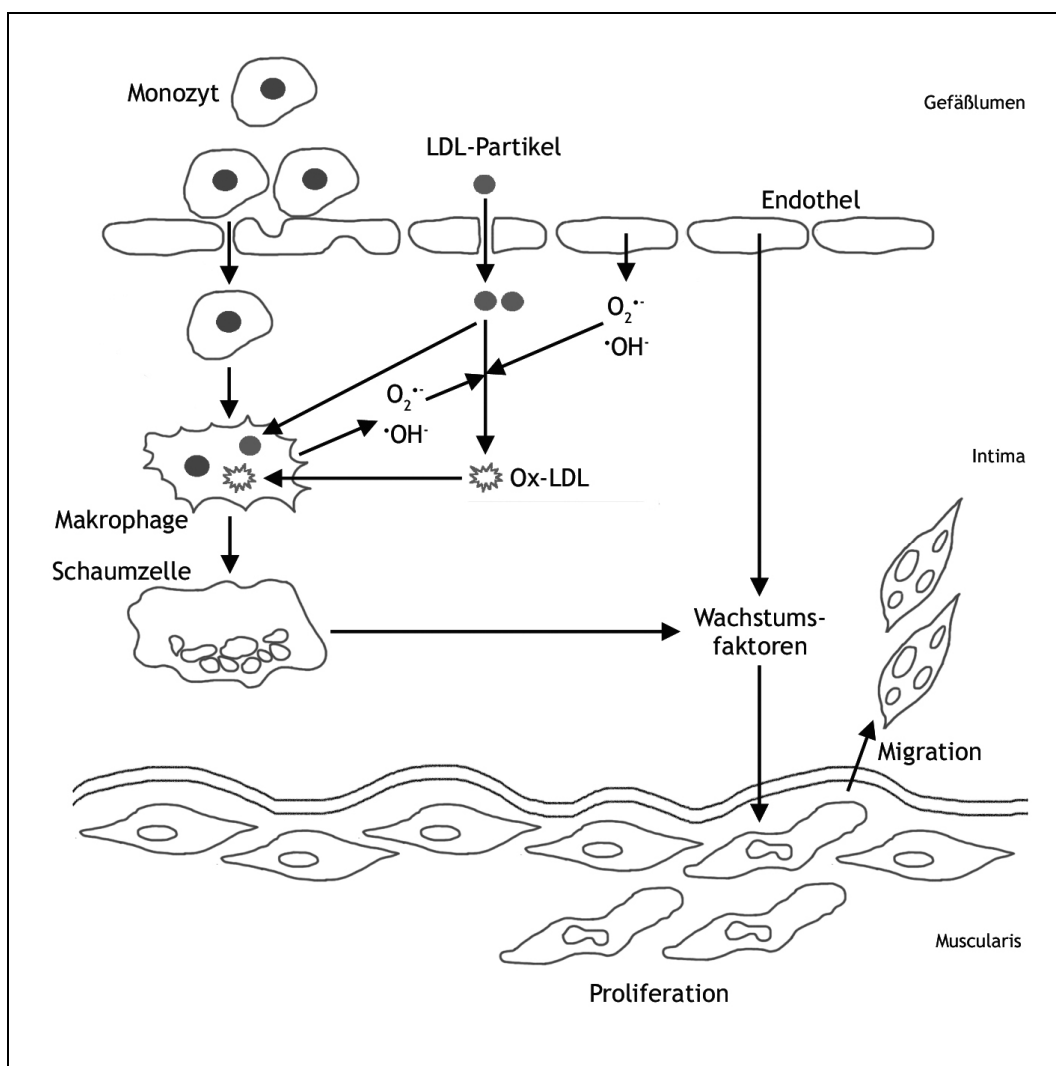


Abbildung 1: Vereinfachte Darstellung der Atherogenese [mod. nach Hahn, Ströhle, Wolters 2006, S. 387]

Die fortschreitende Anhäufung von Lipiden und anhaltende Aktivität inflammatorischer Zellen kann zu Intimafissuren führen, über denen sich thrombotisches Material ablagert. Folge ist eine Stenosierung des Gefäßlumens, die jedoch nur in seltenen Fällen zum völligen Verschluss des betroffenen Gefäßabschnitts führt. Wesentlich häufiger – damit auch von größerer klinischer Relevanz – ist eine akute Gefäßokklusion, der meist eine Ruptur der Plaquekappe vorausgeht. Nach Kreuzer und Tiefenbacher [2003] können rund zwei Drittel der akuten Koronarsyndrome auf die Ruptur einer Plaque, die das Gefäßlumen zuvor nur geringfügig stenosierte, zurückgeführt werden. Hierbei wird die Stabilität der Plaque im Wesentlichen von der Größe und Zusammensetzung bestimmt: Stabile Plaques zeichnen sich durch lipidarme, kalzifizierte Kerne mit einer dicken Plaquekappe aus. Vulnerable, instabile Plaques besitzen hingegen einen weichen, lipidreichen Kern mit einem großen Anteil an Entzündungszellen, der durch eine dünne fibröse Kappe abgeschirmt ist. Unter dem Einfluss von Makrophagen, Matrixmetalloproteinasen und proteolytischen Enzymen kann sich diese weiter verdünnen und schließlich ruptieren. Der thrombogene Plaqueinhalt wird in das Lumen abgegeben und löst über die Aktivierung der Gerinnungskaskade und erneute Anlagerung von Thrombozyten die Bildung eines mitunter lebensgefährlichen Thrombus aus [Libby 1995, Lusis 2000].

Eine besondere Situation liegt bei einer gestörten Glucosetoleranz vor. So kann es im Verlauf der postprandialen Hyperglykämie zu nichtenzymatischen Glycosylierungen kommen, die zur Bildung von Superoxidanionen, Hydroxylradikalen und Wasserstoffperoxid führen [Paolisso et al. 1999]. Die erhöhte oxidative Belastung scheint wiederum den Insulinstoffwechsel negativ zu beeinflussen. So konnten verschiedene Studien einen inversen Zusammenhang zwischen der Versorgung mit lipophilen Antioxidanzien und Markern für Insulinresistenz zeigen [Ylönen et al. 2003, Facchini et al. 2000]. Auch führte die hochdosierte Gabe von Vitamin E bei älteren Personen zu einer Verbesserung der insulinabhängigen Glucoseaufnahme sowie positiven Effekten auf das Lipidprofil [Paolisso et al. 1994, 1995]. Eine Insulinresistenz kann somit zu erhöhtem oxidativem Stress führen, der wiederum die Insulinwirkung negativ beeinflusst.



### 3 Antioxidanzien und Atherosklerose

Der menschliche Organismus verfügt über endogene und exogene Systeme, die Oxidationsvorgänge hemmen oder unterbrechen können und so einen wirksamen Schutz vor einem Ungleichgewicht zwischen physiologisch notwendiger Produktion und nachteilig wirkender Menge an ROS gewährleisten.

Zu den endogenen antioxidativen Schutzmechanismen gehören Enzyme (z. B. Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase), Proteine (z. B. Bilirubin, Albumin) und Thiole (z. B. Glutathion) sowie weitere Substanzen wie z. B. Harnsäure und Coenzym Q<sub>10</sub>. Beide Varianten der Superoxiddismutase, die manganabhängige intramitochondriale sowie die kupfer- und zinkabhängige cytosolische Form der SOD, katalysieren die Dismutation von Superoxid-Radikalen. Die selenabhängige Glutathionperoxidase, von der bislang vier Formen bekannt sind, katalysiert die Reduktion von Wasserstoffperoxid bei gleichzeitiger Oxidation von reduziertem Glutathion. Ebenfalls in der Entgiftung von Wasserstoffperoxid spielt die eisenabhängige Katalase eine Rolle. In seiner reduzierten Form wirkt auch  $\alpha$ -Liponsäure antioxidativ, indem sie direkt mit ROS reagiert und andere Systeme regeneriert. Coenzym Q<sub>10</sub> hemmt vor allem die ersten Schritte der Lipidperoxidation und kann oxidiertes Vitamin E regenerieren.

Die verfügbare Menge an exogenen Antioxidanzien wird in erster Linie über die Zufuhr mit der Nahrung bestimmt. Hierzu gehören die antioxidativen Vitamine E und C, zahlreiche sekundäre Pflanzenstoffe wie  $\beta$ -Carotin, Lycopin oder Catechine sowie Mineralstoffe wie Zink und Selen als Cofaktoren antioxidativer Enzyme. Diese Substanzen ergänzen sich in ihrer Wirkung. So stellt Vitamin C das wichtigste Antioxidans in der hydrophilen Phase dar, während Vitamin E in lipophilen Medien (z. B. Zellmembran, LDL) ROS eliminiert und lipidperoxidative Prozesse unterbricht. Im Bereich der Phasengrenzen wirken beide Vitamine synergistisch zusammen, wobei Vitamin E sein antioxidatives Potenzial zurückgewinnt.  $\beta$ -Carotin ergänzt die antioxidative Wirkung von Vitamin E, indem es eine Unterbrechung oxidativer Kettenreaktionen herbeiführt.

Werden LDL-Partikel in vitro der Oxidation durch Kupfer oder Endothelzellen ausgesetzt, werden zuerst das enthaltene  $\alpha$ -Tocopherol und  $\beta$ -Carotin verbraucht, bevor die Lipidperoxidation ansteigt. Im Verlauf der Kupfer-vermittelten Oxidation erfolgt der Abbau von Vitamin E erheblich schneller als der von  $\beta$ -Carotin, wohingegen die oxidativen Prozesse an Endothelzellen beide Antioxidanzien in gleichem Ausmaß verbrauchen. Dabei korreliert die Oxidationsrate mit dem Gehalt an  $\alpha$ -Tocopherol. In beiden Modellen führte die Anreicherung der LDL-Partikel mit  $\beta$ -Carotin zu einer Hemmung der Lipidperoxidation. Die Zugabe von Lutein oder Lycopin erhöhte dagegen die Oxidationsempfindlichkeit [Dugas et al. 1998].

### 3.1 Endogene Antioxidanzien

Um negative Auswirkungen oxidativer Vorgänge im Organismus zu verhindern, existiert im menschlichen Körper eine Vielzahl von Schutzsystemen mit antioxidativen Wirkungen. Die Mechanismen können dabei enzymatischer Art sein, wie bei den im Folgenden beschriebenen Substanzen. Sie können jedoch auch auf der Bindung und Neutralisierung von ROS beruhen wie im Falle von Harnsäure oder Bilirubin. Ein weiterer Mechanismus, mit dem sich der Organismus im Bedarfsfalle schützen kann, ist die Bindung von Übergangsmetallen wie Eisen und Kupfer durch die Plasmaproteine Albumin und Transferrin, wodurch die Ionen nicht mehr frei für radikalische Reaktionen zur Verfügung stehen.

#### 3.1.1 Glutathionperoxidase

Das Enzym Glutathionperoxidase katalysiert vor allem die Reduktion von Hydroperoxiden wie z. B. Wasserstoffperoxid unter Oxidation des Tripeptids Glutathion. Es kommt im menschlichen Organismus in vier verschiedenen Formen mit unterschiedlicher Lokalisation vor. Allen ist gemeinsam, dass Selen einen integralen Bestandteil des Proteins darstellt. Die „klassische“ Glutathionperoxidase (GPx<sub>1</sub>), die als erstes Selenoprotein identifiziert wurde, befindet sich im Cytosol der Zellen. Die GPx<sub>2</sub> ist im Gastrointestinaltrakt lokalisiert, die extrazelluläre GPx<sub>3</sub> kommt in Plasma und Nieren vor. Der membranassoziierten GPx<sub>4</sub> kommt im Zusammenhang mit der Atherogenese eine Sonderrolle zu, da sie sowohl Hydroperoxide von Phospholipiden als auch von Cholesterol und seinen Estern reduzieren kann und so ihre Atherogenität reduziert. Bei marginaler Selenversorgung wird die Aktivität der GPx<sub>4</sub> länger aufrechterhalten als die der GPx<sub>1</sub>, weshalb eine besonders ausgeprägte Schutzfunktion des Enzyms vermutet wurde [Brown u. Arthur 2001]. Die Glutathionperoxidasen spielen eine wichtige Rolle im antioxidativen System des Körpers. So wurde bei GPx<sub>1</sub>-knock-out-Mäusen eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber oxidativer Schädigung festgestellt [de Haan et al. 1998, Fu et al. 1999]. Aufgrund der Funktion von Selen als Bestandteil des Enzyms und der damit verbundenen Rolle im antioxidativen Stoffwechsel wird das Element ebenfalls zu den exogenen Antioxidanzien gezählt, obwohl eine eigenständige antioxidative Wirkung bis jetzt nicht beschrieben wurde.

#### 3.1.2 Paraoxonase (PON1)

Eine niedrige HDL-Konzentration ist einer der stärksten Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen. Aus epidemiologischen Daten wurde berechnet, dass jedes Absinken der HDL-Spiegel um 1 % das KHK-Risiko um 2–3 % erhöht [Rubins et al. 1993, Gordon et al. 1989, Manninen et al. 1988]. Die Mechanismen, über die HDL seine kardioprotektiven Effekte ausübt, sind jedoch nur unvollständig bekannt [Mackness et al. 2001]. So galt lange Zeit die

Funktion als Transportvehikel für Cholesterol aus der Peripherie zur Leber als wichtigste antiatherogene Eigenschaft von HDL. Erst in jüngerer Zeit wurden weitere Wirkungen aufgeklärt, die die zentrale Rolle des HDL-Cholesterols erklären können. Zu diesen gehört der Schutz von LDL-Cholesterol vor Oxidation durch HDL [Parthasarathy et al. 1990, Mackness et al. 1993a], wofür das in den HDL-Partikeln vorkommende Enzym Paraoxonase verantwortlich ist [Mackness et al. 1993b]. Die Reaktion, der das Enzym seinen Namen verdankt – die Hydrolyse von Paraoxon, einem Metabolit des Insektizides Parathion – wurde bereits 1953 beschrieben [Bargota et al. 2003]. Beim Menschen sind bis jetzt drei Formen der PON identifiziert worden (PON1, PON2, PON3), die sich sowohl in der Gewebeverteilung als auch den bevorzugten Substraten unterscheiden. PON1 und PON3 kommen vor allem im Serum vor, wo sie an HDL-Partikel assoziiert sind. Dabei sind für PON1 vor allem die Paraoxonase- und die Arylesteraseaktivität charakteristisch, PON3 besitzt diese hingegen nur begrenzt. Diese Form des Enzyms hydrolysiert beispielsweise Lactone, darunter auch einige Statine. PON2 kommt beim Menschen intrazellulär, vor allem in den Makrophagen vor [Aviram u. Rosenblat 2004]. Während die physiologischen Substrate der PON2 unbekannt sind, konnten in Zellkulturen antioxidative Wirkungen gezeigt werden, so dass eine Funktion als intrazelluläres endogenes Antioxidans postuliert wurde [Ng et al. 2005].

### **3.1.2.1 Enzymaktivitäten**

Die Substrate der PON1 umfassen neben dem genannten Paraoxon weitere Substanzen, vor allem Xenobiotika. Einige dieser Reaktionen sind in Abbildung 2 dargestellt.

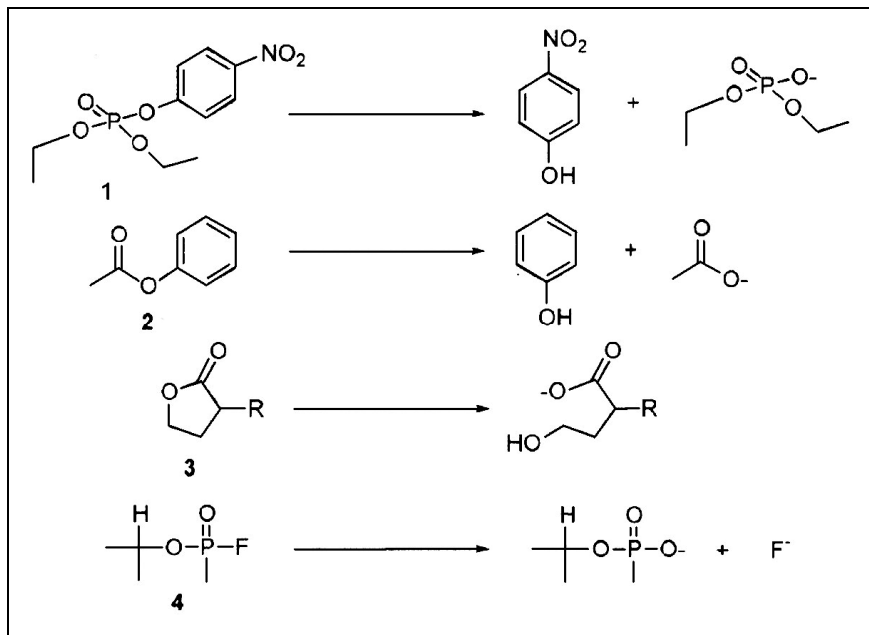


Abbildung 2: Enzymatische Hydrolysereaktionen der PON1: 1: Paraoxon; 2: Arylester; 3: Lactone; 4: Sarin

Zu den umfassenden Schutzfunktionen der PON1 liegen zahlreiche Untersuchungen vor. So verhindert sie eine Akkumulation von Lipidperoxiden in HDL- und LDL-Partikeln sowohl *in vitro* als auch *in vivo* [Watson et al. 1995, Mackness et al. 1993b, Aviram et al. 1998b u. 2000b] bzw. hydrolysiert bereits vorhandene [Watson et al. 1995, Mackness et al. 2001]. Auch Makrophagen werden durch PON1 vor oxidativer Schädigung und Ansammlung von Lipidperoxiden geschützt, wie Versuche an knock-out-Mäusen belegen. Bei diesen Tieren kam es im Vergleich zum Wildtyp zu einer signifikant erhöhten Bildung und Aufnahme von Lipidperoxiden sowie einer erhöhten zellvermittelten LDL-Oxidation durch Makrophagen. Transgene Mäuse mit erhöhter PON1-Aktivität zeigten dagegen eine signifikant verringerte intra- und extrazelluläre LDL-Oxidation im Vergleich zum Wildtyp [Aviram u. Rosenblatt 2004]. *In vitro* wurden ähnliche Effekte wie für PON1 auch für PON2 gezeigt. So konnte in den untersuchten Zellen die Neubildung von Lipidperoxiden gehemmt und die Menge bereits oxidativ modifizierter LDL reduziert werden. Während die Aktivität von PON1 und PON3 bei oxidativer Belastung absinkt, steigt die von PON2 in Makrophagen unter diesen Bedingungen an. Dagegen sanken durch Gabe von Vitamin E bei Mäusen Expression und Aktivität der PON2 um 30 bzw. 60 % ab. Demnach scheint das Enzym empfindlich nach dem Bedarf zur Erhaltung des Redoxgleichgewichtes reguliert zu werden [Aviram u. Rosenblatt 2004]. Dennoch waren die Expression und Aktivität der PON2 in Makrophagen von Patienten mit Hypercholesterolämie im Vergleich zu Gesunden erniedrigt. Dabei wiesen die Zellen höhere Gehalte an Cholesterolem und Lipidperoxiden sowie eine stärkere prooxidative Kapazität auf. Die Behandlung mit Atorvastatin reduzierte die intrazellulären Cholesterolkonzentrationen

sowie die Oxidation von LDL durch die Makrophagen der Patienten und bewirkte einen Anstieg von Expression und Aktivität der PON2, so dass nach zwei Monaten Therapie die gleichen Werte wie bei gesunden Vergleichspersonen festgestellt wurden. Aufgrund von Zellversuchen wurden die niedrigeren PON2-Konzentrationen und -Aktivitäten bei den Patienten auf den erhöhten Cholesterolgehalt der Makrophagen zurückgeführt [Rosenblatt et al. 2004].

Die Aktivität der PON1 im Serum sinkt bei oxidativer Belastung ab. Parallel zur hydrolytischen Aktivität des Enzyms reagieren oxidierte LDL bzw. Phospholipide mit der freien Sulfhydrylgruppe des Enzyms, wodurch es inaktiviert wird. Die gleichzeitige Anwesenheit der Flavonoide Quercetin oder Glabridin konnte diese Inaktivierung verhindern [Aviram et al. 1999]. So nimmt die Paraoxonase-Aktivität mit steigender Anzahl von Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen ab, gleichzeitig nehmen die Konzentrationen von Lipidperoxiden im Plasma zu [Senti et al. 2003, Mackness et al. 2000].

Epidemiologische Daten weisen ebenfalls auf eine Rolle der Paraoxonase in der Atherogenese hin. So wiesen in einer prospektiven Kohortenstudie an 1353 Männern diejenigen Teilnehmer, die später ein kardiovaskuläres Ereignis hatten, um 20 % niedrigere Aktivitäten der Paraoxonase auf. Männer in der höchsten Quintile der Aktivität hatten ein signifikant geringeres Risiko im Vergleich zu Männern in der niedrigsten Quintile (OR 0,57) [Mackness et al. 2003]. Auch Patienten mit angiografisch bestätigter Arterienverengung wiesen gegenüber Kontrollpersonen um 25 % niedrigere Werte auf [Jarvik et al. 2000]. Ein Zusammenhang zwischen der Paraoxonase-Aktivität und Atherosklerose konnte im Tiermodell an PON1-knock-out-Mäusen gezeigt werden. Es zeigten sich höhere Konzentrationen an Lipidperoxiden im Serum, HDL und LDL als in den Kontrolltieren. HDL-Partikel, die aus den transgenen Mäusen isoliert wurden, zeigten keine Schutzwirkung gegenüber Oxidation bei Inkubation mit LDL. Sowohl mit einer fett- und cholesterolreichen Diät als auch mit der Standardkost entwickelten sie größere Läsionen in der Aorta als die Wildtyp-Mäuse [Rozenberg et al. 2003, Shih et al. 1998]. Bei transgenen Mäusen, die eine deutlich erhöhte PON1-Aktivität aufwiesen, zeigte sich eine verringerte Bildung atherosklerotischer Läsionen und ein verbesserter Oxidationsschutz von LDL durch isolierte HDL [Tward et al. 2002, Oda et al. 2002].

### **3.1.2.2 PON1-Polymorphismen**

Da die Aktivität der Paraoxonase zum Teil genetisch determiniert ist, wurde der Einfluss verschiedener Polymorphismen auf das Enzym ausgiebig untersucht. Im Vordergrund stehen dabei die Substitutionen an Position 192 (Q (Glutamin) → R (Arginin)) und an Position 55 (L (Leucin) → M (Methionin)).

Eine Meta-Analyse ergab ein signifikant erhöhtes KHK-Risiko bei Personen mit dem PON1-192-RR-Allel gegenüber QR und QQ [Mackness et al. 2001]. So war z. B. in einer japanischen Untersuchung das 192R-Allel mit einem fast doppelt so hohen Risiko für koronare Herzerkrankung und Schlaganfall verbunden wie die 192Q-Variante [Imai et al. 2000]. Auch trat bei einer Population in Belfast das 192R-Allel häufiger auf als in einem französischen Vergleichskollektiv; gleichzeitig ist auch die KHK-Rate in Belfast um das Dreifache höher [Mackness et al. 2000]. Verschiedene neuere Studien bestätigten diesen Zusammenhang jedoch nur zum Teil. So wurde in einem Kollektiv von Schlaganfallpatienten eine signifikant erhöhte Häufigkeit des RR-Allels gegenüber einem gesunden Vergleichskollektiv gefunden. Dabei war die 192RR-Variante nach Adjustierung für weitere Risikofaktoren mit einem vierfach erhöhten Risiko verbunden [Voetsch et al. 2002]. In dem rein weiblichen Kollektiv der WISE-Study wurde dagegen lediglich ein höheres Vorkommen des RR-Allels bei Teilnehmerinnen festgestellt, die in allen drei Koronararterien Stenosierungen aufwiesen. Im Gesamtkollektiv zeigte sich kein Einfluss des Genotyps auf die Schwere der Stenosierung [Chen et al. 2003]. Bei italienischen Frauen fand sich kein Einfluss des PON1-192-Allels auf die Bildung von arteriellen Plaques [Fortunato et al. 2003]. In einer finnischen Autopsie-Studie zeigte sich kein Effekt von PON1-192-Polymorphismen auf Zahl oder Ausmaß atherosklerotischer Plaques [Malin et al. 2001a]. So kam eine neuere Meta-Analyse zu dem Schluss, dass der Zusammenhang zwischen PON1-192-Polymorphismen und KHK-Risiko zu schwach sei, um eindeutige Schlussfolgerungen abzuleiten [Wheeler et al. 2004].

Bei italienischen Frauen war die PON1-55-Variante MM mit einer geringeren Anzahl von arteriellen Plaques verbunden [Fortunato et al. 2003]. In einer finnischen Autopsie-Studie zeigte sich bei Männern mit dem LL-Allel eine höhere Anzahl von Plaques und Stenosierungen sowie eine dickere Intima media der Arterien als bei Teilnehmern mit dem MM-Allel [Malin et al. 2001a]. Bei gesunden Versuchspersonen wiesen die Teilnehmer mit dem LL-Allel eine mehr als doppelt so hohe Urinausscheidung von 8-iso-Prostaglandin- $F_{2\alpha}$  (8-iso-PGF $_{2\alpha}$ ) als Marker oxidativer Belastung auf wie Träger des MM-Allels [Malin et al. 2001b]. Dagegen war in einer finnischen Fall-Kontroll-Studie das Herzinfarktrisiko von Trägern des MM-Allels signifikant erhöht gegenüber den anderen Varianten [Salonen et al. 1999]. In einer japanischen Untersuchung wurde kein Einfluss der PON1-55-Polymorphismen auf das KHK-Risiko festgestellt [Imai et al. 2000]. Auch in einem Kollektiv von Schlaganfallpatienten zeigten PON1-55-Polymorphismen keinen Effekt [Voetsch et al. 2002]. Aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse zeigte eine neuere Meta-Analyse keinen Zusammenhang zwischen PON1-55-Polymorphismen und dem KHK-Risiko [Wheeler et al. 2004]. Einen Einfluss auf die Ergebnisse der epidemiologischen Studien könnte das Rauchverhalten der Kollektive haben. Bei Nichtrauchern mit dem PON1-55-LL-Allel wurde

eine dickere durchschnittliche Intima Media der Carotis-Arterie gemessen als bei nicht rauchenden MM-Trägern. Unter Rauchern war der Sachverhalt umgekehrt; hier wurden bei den Personen mit MM-Allel höhere Werte für die Verdickung gemessen [Malin et al. 2001c].

Bei Patienten mit angiografisch bestätigter Arterienverengung zeigte sich das höchste Risiko bei Personen mit dem kombinierten LR/LR Genotyp der PON1, wobei bereits ein LR für eine Erhöhung ausreichte. Das geringste Risiko wiesen die Teilnehmer mit dem MQ/MQ-Allel auf, gefolgt von MQ/LQ und LQ/LQ [Jarvik et al. 2000]. Allerdings weisen Personen mit dem LR/LR-Allozym auch die höchste Paraoxonase-Aktivität in Bezug auf Paraoxon auf, während diejenigen mit der MQ/MQ-Variante die geringste Aktivität zeigen [Mackness et al. 2001, Jarvik et al. 2000]. Bei einem Kollektiv in den Niederlanden wurde die deutlichste Verdickung der Intima media mit dem kombinierten LQ/LQ-Allel gefunden. Beide Polymorphismen hatten einzeln keinen signifikanten Effekt [Leus et al. 2000]. Diese Ergebnisse sprechen somit eher für eine Funktion der Paraoxonase-Aktivität als Marker für ein erhöhtes KHK-Risiko.

### **3.1.3 Nichtenzymatische endogene Antioxidanzien**

Neben den bereits erwähnten exogenen und enzymatischen Komponenten wirkt im menschlichen Organismus eine Reihe weiterer Substanzen als Antioxidans. Hierzu gehört z. B. das unter Punkt 3.2.5 beschriebene Coenzym Q<sub>10</sub>, das sowohl oral aufgenommen als auch endogen synthetisiert wird.

Eine wichtige Rolle – nicht zuletzt im Zusammenhang mit der Messung des antioxidativen Status – spielt hierbei die Harnsäure. Sie stellt das Abbauprodukt von Purinen dar und kristallisiert aufgrund ihrer schlechten Wasserlöslichkeit leicht aus. Die Ansammlung von Harnsäurekristallen in den Gelenken führt zu den bekannten Symptomen der Gicht, weshalb eine hohe Harnsäurekonzentration trotz starker Wirkung als Antioxidans nicht erstrebenswert ist. Zu berücksichtigen ist die Substanz jedoch insbesondere bei der Messung der antioxidativen Kapazität des Plasmas mit Hilfe des FRAP-Tests (Ferric Reducing Ability of Plasma), da in diesem Messsystem die üblichen Konzentrationen von Harnsäure etwa 60 % der gemessenen Kapazität ausmachen [Benzie u. Strain 1996]. Ein Einfluss der Harnsäurekonzentrationen auf die FRAP-Werte wurde in verschiedenen Untersuchungen bei unterschiedlichen Kollektiven gezeigt [Habdous et al. 2003, Nojiri et al. 2001, Maxwell et al. 1997]. So bewirkte auch die Verabreichung von Harnsäure eine Erhöhung der antioxidativen Kapazität in Ruhe und bei Belastung [Waring et al. 2001 u. 2003]. Ein Anstieg der antioxidativen Kapazität bei der Behandlung von Hypertonie wurde mit einer Erhöhung der Harnsäurekonzentrationen durch die Medikation begründet [Ward et al. 2002].

Eine weitere endogene Substanz, die eine Rolle im antioxidativen Stoffwechsel spielt, ist das Endprodukt des Häm-Katabolismus, das Bilirubin. Insbesondere gegenüber Lipidperoxidation

durch Peroxylradikale zeigt es eine ausgeprägte Wirksamkeit [Dudnik u. Khrapova 1998]. So wurde zwischen den Konzentrationen an Bilirubin und der antioxidativen Kapazität ein signifikanter negativer Zusammenhang bei Patienten mit angiographisch bestätigter Atherosklerose [Alamdari et al. 2007] und bei Neugeborenen mit Gelbsucht [Belanger et al. 1997] gefunden. Epidemiologisch hat sich ein erhöhtes Risiko für ischämische Herzkrankheit bei niedrigen Serumkonzentrationen von Bilirubin gezeigt [Breimer et al. 1995].

## **3.2 Exogene Antioxidanzien**

Neben den körpereigenen Schutzsystemen gegen ein Ungleichgewicht im Redoxstatus kann eine Vielzahl von Substanzen, die mit der Nahrung zugeführt werden, antioxidative Wirkungen ausüben. Hierzu gehören neben den Vitaminen C und E vor allem zahlreiche Verbindungen aus der Gruppe der sekundären Pflanzenstoffe, von denen an dieser Stelle nur die zwei großen Gruppen der Carotinoide und der Polyphenole behandelt werden sollen. Aber auch bestimmte Mineralstoffe spielen eine wichtige Rolle im antioxidativen Stoffwechsel. So sind die Elemente Kupfer, Zink und Mangan Cofaktoren der Superoxiddismutase, Eisen ist Bestandteil der Katalase und Selen der Glutathionperoxidasen.

### **3.2.1 Vitamin C**

In vitro konnte gezeigt werden, dass Vitamin C die Oxidation von LDL-Partikeln vermindert [Carr et al. 2000, Alul et al. 2003]. Neben der Regeneration von Vitamin E erfolgt zusätzlich eine direkte Inhibition der Lipidperoxidation. Dabei werden ROS an der Grenzfläche zwischen hydrophiler und lipophiler Phase neutralisiert, bevor sie negative Wirkungen auf Plasmalipide ausüben können [Frei 1999]. Daneben konnten durch die Zugabe von Vitamin C in physiologischen Dosierungen auch die Konzentrationen an Vitamin E und  $\beta$ -Carotin erhalten werden [Jialal u. Grundy 1991].

Besonders gegenüber ROS aus Tabakrauch zeigte sich Vitamin C wirksamer als andere Antioxidanzien [Panda et al. 1999]. Bei vergleichbarem Ernährungsverhalten waren deshalb lediglich die Plasmaspiegel an Vitamin C bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern erniedrigt, nicht jedoch an  $\beta$ -Carotin und Vitamin E [Lykkesfeldt et al. 2000, Porkkala-Sarataho et al. 2000]. Nur Raucher, die mindestens 200 mg/d Vitamin C aufnahmen, wiesen Plasmaspiegel in gleicher Höhe wie Nichtraucher auf, deren Zufuhr lediglich 60 mg/d erreichte [Schechtman et al. 1991]. Erst in höheren Zufuhrbereichen gleichen sich diese Unterschiede aus. So zeigten sich nach drei Jahren Supplementation mit 500 mg/d Vitamin C bei Rauchern und Nichtrauchern vergleichbare Plasmakonzentrationen, obwohl die Raucher zu Beginn um 26 % niedrigere Werte aufwiesen [Porkkala-Sarataho et al. 2000].



Die Ergebnisse aus Humanstudien zur antioxidativen Wirkung von Vitamin C sind jedoch widersprüchlich. Nur in wenigen Untersuchungen hatte die Gabe von Vitamin C bei Rauchern einen Effekt auf Parameter des antioxidativen Stoffwechsels. So führte die Einnahme von 1000 mg/d über vier Wochen im Anschluss an eine Depletionsphase zu einer verminderten Oxidierbarkeit des LDL-Cholesterols [Fuller et al. 1996]. Bei starken Rauchern mit einem Konsum von mehr als 30 Zigaretten pro Tag sank die Ausscheidung von 8-epi-PGF<sub>2α</sub> durch die Gabe von 2000 mg/d Vitamin C, wobei der Zusatz von Vitamin E bei einigen Personen keinen weiteren Effekt hatte [Reilly et al. 1996]. Andere Interventionsstudien über kurze Zeiträume von bis zu zwei Monaten konnten hingegen keine Effekte einer alleinigen Vitamin-C-Gabe in Dosierungen von 500 bis 1000 mg/d zeigen [Van Hoydonck et al. 2004, Fuller et al. 2000, Mulholland et al. 1996, Nyssönen et al. 1997b, Samman et al. 1997]. Bei Nichtrauchern wurden dagegen häufiger positive Effekte der Vitamin-C-Gabe beobachtet [Huang et al. 2002, Anderson et al. 1997, Wen et al. 1997, Harats et al. 1998, Naidoo u. Lux 1998]. Allerdings konnte durch die Verabreichung von 2 g/d Vitamin C bei Rauchern die im Vergleich zu Nichtrauchern eingeschränkte Antwort der Monozyten auf VEGF-A normalisiert werden. Die in dieser Hinsicht verminderte Funktion der Monozyten wurde mit einer schlechteren Fähigkeit zur Reparatur von Gewebeschädigungen in den Gefäßen in Verbindung gebracht, so dass eine Anhebung dieser Funktion unabhängig von antioxidativen Effekten protektive Wirkungen ausüben könnte [Stadler et al. 2007].

Daten aus Beobachtungsstudien zur Bedeutung der Vitamin-C-Aufnahme im Hinblick auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind ebenfalls widersprüchlich. In einem großen Kollektiv der EPIC-Studie zeigte sich ein sinkendes Risiko für die Gesamt- und KHK-Sterblichkeit mit steigenden Plasmaspiegeln an Vitamin C [Khaw et al. 2001]. Auch wiesen Personen mit hoher Vitamin-C-Aufnahme [Nam et al. 2003] bzw. hohen Plasmaspiegeln [Gey et al. 1987, Nyssönen et al. 1997a, Langlois et al. 2001] ein vermindertes Risiko für ischämische Herzkrankheiten auf. In zwei großen Untersuchungen (NHANES I, Basel Prospective Study) war dementsprechend eine schlechte Vitamin-C-Versorgung mit einer Erhöhung des Risikos für kardiovaskuläre Ereignisse assoziiert [Enstrom et al. 1992, Gey et al. 1993]. Kein Zusammenhang zwischen der Vitamin-C-Aufnahme und dem KHK-Risiko konnte dagegen in der Health Professionals' Follow-Up Study bei einer insgesamt hohen mittleren Zufuhr von 218 mg/d gefunden werden [Rimm et al. 1993].

Die Verwendung von Vitamin-C-Supplementen zeigte in Beobachtungsstudien ebenfalls nur geringe Effekte auf das kardiovaskuläre Risiko. In Kohortenstudien wurde kein signifikanter Einfluss einer Vitamin-C-Einnahme auf die KHK-Sterblichkeit festgestellt [Kushi et al. 1996, Losonczy et al. 1996, Enstrom et al. 1992]. In der Physicians' Health Study war die Einnahme von Vitamin C allein oder in Kombination mit Vitamin E nicht mit einem signifikant

verminderten Mortalitätsrisiko aufgrund koronarer Herzkrankheit oder kardiovaskulärer Erkrankungen insgesamt verbunden. Es zeigten sich nur geringe Effekte einer Einnahme, die jedoch keine statistische Signifikanz erreichten. So betrug bei Personen, die Vitamin C einnahmen, das relative Risiko für koronare Herzkrankheit 0,86 und für kardiovaskuläre Erkrankungen insgesamt 0,88; in Kombination mit Vitamin E waren die Effekte mit relativen Risiken von 0,69 bzw. 0,76 deutlicher [Muntwyler et al. 2002]. Eine ausgeprägtere Wirkung zeigte sich in einer Meta-Analyse von neun Kohortenstudien, in der die Einnahme von mindestens 700 mg/d Vitamin C mit einer signifikant verringerten KHK-Inzidenz verbunden war [Knekt et al. 2004].

Interventionsstudien zum Effekt einer Vitamin-C-Einnahme auf kardiovaskuläre Endpunkte lieferten widersprüchliche Ergebnisse. Nach einer koronaren Angioplastie bewirkte die Einnahme von 500 mg/d Vitamin C eine verringerte Restenosierungsrate. Allerdings erhielt die Kontrollgruppe kein Placebo, so dass die Aussagekraft der Studie fraglich ist [Tomoda et al. 1996]. Bei Männern, die nach einer Bypass-Operation Medikamente (Colestipol+Niacin) erhielten, hatte die selbstgewählte Einnahme von Vitamin C (mind. 250 mg/d) keinen Einfluss auf die Progression der atherosklerotischen Veränderungen [Azen et al. 1996]. In der ASAP-Studie (Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention Study) zeigte sich nach 3 Jahren bei Personen mit Hypercholesterolämie kein Effekt einer Gabe von 500 mg slow-release Vitamin C auf die Dicke der Intima media der Carotis-Arterie. Nur in Kombination mit Vitamin E zeigte sich eine signifikant geringere Zunahme der Wanddicke, allerdings war der Effekt auf die männlichen Teilnehmer beschränkt [Salonen et al. 2000].

### 3.2.2 Vitamin E

Vitamin E stellt das bedeutendste antioxidative Schutzsystem in der Lipidphase dar. Es schützt vor allem Phospholipide und Polyenfettsäuren, die in großen Mengen in biologischen Membranen und Cholesterolpartikeln enthalten sind, indem es selbst mit ROS reagiert und diese so neutralisiert. Hierbei kommt es zur Oxidation des Vitamin-E-Moleküls, das jedoch durch Ascorbinsäure oder Coenzym Q<sub>10</sub> wieder reduziert und damit regeneriert werden kann [Niki 1987, Esterbauer et al. 1991, Burton und Traber 1990]. In vitro konnte gezeigt werden, dass  $\alpha$ -Tocopherol die Oxidierbarkeit von LDL-Cholesterol konzentrationsabhängig vermindert [Stocker 1999, Mortensen et al. 2001, Gey 1998]. Dabei erwies sich der Vitamin-E-Gehalt von Lipoproteinen als stärkster Prädiktor für die Widerstandsfähigkeit gegenüber Oxidation ex vivo [Porkkala-Sarataho et al. 1996]. Patienten mit angiographisch bestätigter Atherosklerose wiesen signifikant niedrigere Konzentrationen an Vitamin E in den LDL-Partikeln auf als gesunde Kontrollpersonen. Diese waren mit einer signifikant erhöhten Oxidationsempfindlichkeit ex vivo verbunden. Es zeigten sich signifikante inverse

Korrelationen zwischen dem Gehalt an Vitamin E in LDL sowie der lag time und dem Schweregrad der Gefäßveränderungen [Haidari et al. 2001].

Auch in Interventionsstudien wurde ex vivo nach Vitamin-E-Supplementation eine signifikante Verlängerung der lag-Phase sowie eine Verringerung der Oxidationsrate von LDL-Lipoproteinen beobachtet. So sank in einer Dosisfindungs-Studie über acht Wochen an gesunden Probanden die Oxidationsempfindlichkeit der LDL-Partikel mit Dosierungen von mindestens 400 I.E./d signifikant ab, wohingegen sich mit nur 60 oder 200 I.E./d keine Veränderung zeigte. Der Anstieg der absoluten und lipidadjustierten Tocopherolkonzentration korrelierte signifikant mit der Verringerung der Oxidationsneigung [Jialal et al. 1995]. Die Gabe von 800 I.E./d Vitamin E für unterschiedliche Zeiträume von 4–12 Wochen führte auch in anderen Untersuchungen zu einer erhöhten Oxidationsbeständigkeit von LDL-Partikeln [Islam et al. 2000, Upritchard et al. 2000, Jialal u. Grundy 1993]. Bei Patienten mit Typ-2-Diabetes war eine hochdosierte Vitamin-E-Gabe wirksamer in Bezug auf Antioxidanzienmarker als Tomatensaft, Obst und Gemüse oder hochdosiertes Vitamin C [Upritchard et al. 2000, Singhal et al. 2001].

Aufgrund der Bedeutung von oxidiertem LDL-Cholesterol in der Atherogenese (Kap. 2.2) sind präventive Effekte von Vitamin E plausibel. Epidemiologische Untersuchungen konnten diesen Zusammenhang für die Aufnahme über die Nahrung bestätigen. So wurde in der MONICA-Studie an 16 europäischen Bevölkerungsgruppen eine inverse Korrelation zwischen der KHK-Inzidenz und der Vitamin-E-Plasmakonzentration festgestellt. Dabei hatte Vitamin E einen stärkeren Einfluss auf die KHK-Mortalitätsrate als die Cholesterolkonzentration oder der Blutdruck [Gey et al. 1991]. In einer finnischen Studie wurde eine drastische Abnahme tödlicher Herzinfarkte mit steigender Vitamin-E-Zufuhr beobachtet, die oberste Tertile begann jedoch bereits bei einer Aufnahme von 8,9 mg/d für Männer und bei 7,1 mg/d für Frauen [Knekt et al. 1994]. In der Iowa Women's Health Study zeigte sich ein protektiver Effekt von Vitamin E aus der Nahrung, jedoch nicht aus Supplementen. Gegenüber der Quintile mit einer Aufnahme über die normale Kost von nur 4 mg/d hatten die Personen mit 12 mg/d eine um 62 % geringere Mortalität aufgrund von KHK und um 60 % aufgrund von Schlaganfall [Kushi et al. 1996, Yochum et al. 2000]. Eine kleinere Studie an 395 Männern in vier verschiedenen Regionen Europas zeigte ein höheres KHK-Risiko bei niedrigen Cholesterol-adjustierten Vitamin-E-Spiegeln, nicht jedoch in Bezug auf die absoluten Konzentrationen [Riemersma et al. 1990].

Kohortenstudien zu protektiven Effekten von Supplementen konnten die Ergebnisse aus Ernährungsanalysen nur zum Teil bestätigen. Bei 11178 älteren Personen war die Einnahme von Vitamin E mit einer geringeren Gesamt- und KHK-Sterblichkeit (RR=0,66 bzw. 0,53) verbunden [Lozonczy et al. 1996]. In der Nurses' Health Study wurde bei Verwendern von

Vitamin-E-Präparaten eine Risikoreduktion um 37 % gegenüber nichttödlichem Herzinfarkt und KHK-Mortalität beobachtet [Stampfer et al. 1993]. Bei den Männern der Health Professionals' Follow-Up Study führte die Verwendung zu einem um 25 % reduzierten Risiko gegenüber verschiedenen Manifestationen der KHK wie nichttödlichem Herzinfarkt, Bypass-Operation, Angioplastie oder kardiovaskulärer Mortalität [Rimm et al. 1993]. In beiden Untersuchungen trat der Effekt erst auf, wenn die Einnahmedauer mindestens zwei Jahre und die tägliche Dosierung mindestens 100 I.E. betrug. In der Physicians' Health Study war die Einnahme von Vitamin E dagegen nur mit einem geringfügig, nicht signifikant verminderten Mortalitätsrisiko verbunden. Das relative Risiko für die Sterblichkeit aufgrund koronarer Herzkrankheit betrug 0,88 und aufgrund kardiovaskulärer Erkrankungen insgesamt 0,92. In Kombination mit Vitamin C waren die Effekte einer Einnahme mit relativen Risiken von 0,69 bzw. 0,76 etwas deutlicher, allerdings ebenfalls nicht signifikant [Muntwyler et al. 2002].

Interventionsstudien konnten protektive Wirkungen von Vitamin E gegenüber koronaren Herzerkrankungen ebenfalls nicht durchgängig bestätigen. In der ASAP (Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention) Study zeigte sich nach drei Jahren bei Personen mit Hypercholesterolämie kein Effekt einer Gabe von 272 I.E./d in Form von  $\alpha$ -Tocopherol auf die Dicke der Intima media der Carotis-Arterie. Nur in Kombination mit Vitamin C zeigte sich eine signifikant geringere Zunahme der Wanddicke, allerdings war der Effekt auf die männlichen Teilnehmer beschränkt [Salonen et al. 2000]. In der SECURE Study [Lonn et al. 2001] an Personen mit manifester CVD oder KHK-Risikofaktoren sowie der VEAPS Study [Hodis et al. 2002] mit Personen ohne diagnostizierte CVD, aber erhöhtem LDL-Cholesterol, hatte die Gabe von 400 I.E./d Vitamin E nach 4,5 bzw. 3 Jahren keinen signifikanten Effekt auf die Dicke der Intima media. In der australischen MAVET-Studie führte die Gabe von 500 I.E./d Vitamin E über vier Jahre zu einer signifikant verringerten Oxidationsempfindlichkeit von LDL bei männlichen und weiblichen Rauchern. Dennoch erhöhte sich die Dicke der Intima media während des Versuchszeitraumes in der Vitamingruppe stärker als in der Placebogruppe [Magliano et al. 2006].

Auch in der Sekundärprävention nach einem operativen Eingriff am Herzen zeigten sich nur geringe Effekte einer Vitamin-E-Gabe. Nach vier Monaten mit 1.200 I.E./d oder Placebo wurde in der Vitamingruppe eine geringere Anzahl von Restenosierungen beobachtet als in der Placebogruppe, aufgrund des kleinen Kollektivs war der Effekt jedoch nicht signifikant [DeMaio et al. 1992]. Bei Männern, die nach einer Bypass-Operation Medikamente (Colestipol+Niacin oder Placebo) erhielten, zeigten sich unterschiedliche Effekte einer selbstgewählten zusätzlichen Antioxidanzieinnahme. Innerhalb der Placebogruppe nahm die Dicke der Intima media der Carotisarterie bei einer zusätzlichen Supplementation mit

mindestens 100 I.E./d Vitamin E im Studienverlauf weniger zu als bei geringerer Dosierung. Kein Effekt einer Vitamineinnahme zeigte sich in der Medikamentengruppe [Azen et al. 1996].

Die Intervention mit 50 mg/d Vitamin E führte in der „Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study“ (ATBC) verglichen mit Placebo zu einem um 4 % niedrigeren Risiko für das erste kardiovaskuläre Ereignis und um 8 % geringerer KHK-Sterblichkeit insgesamt. Kein Effekt zeigte sich bei Personen mit bereits überlebtem Myocardinfarkt [Rapola et al. 1997, Virtamo et al. 1998]. In der Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study, die ebenfalls Primär- und Sekundärprävention umfasste, hatte die Gabe von 400 I.E./d Vitamin E keinen Einfluss auf Gesamt- oder KHK-Sterblichkeit sowie andere kardiovaskuläre Ereignisse. Nach 4,5 Jahren waren in der Versuchsgruppe, die 400 I.E./d Vitamin E erhalten hatte, gleich viele Herzinfarkte und Schlaganfälle aufgetreten wie in der Placebogruppe. Auch nach Fortführung mit einem Teil des Kollektivs bis zu insgesamt sieben Jahren Beobachtungszeit hatte die Vitamingabe keinen Effekt [Yusuf et al. 2000, Lonn et al. 2005]. In einer großen Multicenter-Studie in Italien zur Sekundärprävention nach einem überlebten Myocardinfarkt hatte die Einnahme von 300 mg/d synthetischem Vitamin E über 3,5 Jahre ebenfalls keinen Einfluss auf die Häufigkeit weiterer koronarer Ereignisse [GISSI-Prevenzione Investigators 1999]. Auch in zwei kleineren Studien mit einer Gabe von 300 I.E./d zeigten sich nach drei bzw. vier Jahren keine Effekte auf kardiovaskuläre Endpunkte [Hodis et al. 2002, de Gaetano 2001]. Bei 2002 Personen mit bereits bestehender KHK verringerte die Supplementation mit 400 oder 800 I.E. pro Tag über durchschnittlich 17 Monate im Rahmen der Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) das Auftreten von nichttödlichem Herzinfarkt um 77 % ohne signifikante Auswirkung auf die Anzahl kardiovaskulärer Todesfälle [Stephens et al. 1996]. Die Gabe von 400 I.E./d Vitamin E zusätzlich zur Medikation mit Aspirin führte bei Patienten mit ischämischen Attacken zu einer signifikanten Reduktion der Anfälle und einer verminderten Aggregation der Thrombozyten [Steiner et al. 1995]. Im Rahmen der SPACE-Studie konnte durch Gabe von Vitamin E bei Hämodialysepatienten mit manifester Atherosklerose eine signifikante Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse um 54 % erzielt werden [Boaz et al. 2000]. In einem rein weiblichen Kollektiv wurde nach Gabe von 600 I.E. als  $\alpha$ -Tocopherol jeden zweiten Tag eine signifikante Senkung der kardiovaskulären Mortalität beobachtet, es zeigte sich jedoch kein Effekt auf die Häufigkeit kardiovaskulärer Ereignisse insgesamt. Unter den Frauen, die im Studienverlauf keine weiteren Supplemente einnahmen, betrug das relative Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis in der Vitamingruppe 0,88 im Vergleich zur Placebogruppe, bei den Verwenderinnen weiterer Präparate war das Risiko jedoch identisch. Die hochdosierte Gabe von Vitamin E hatte in diesem Kollektiv somit keinen Zusatzeffekt [Lee et al. 2005]. Dennoch wurde aus diesem Ergebnis gefolgert, „that vitamin E may decrease cardiovascular deaths in women“ [NIH State-of-the-Science Panel 2006].

Neben Auswirkungen auf die Oxidation von LDL-Partikeln werden mit Vitamin E weitere protektive Effekte in Bezug auf die Atherosklerose in Verbindung gebracht. So zeigten sich bei Personen mit Hypercholesterolämie erhöhte Konzentrationen der Adhäsionsmoleküle VCAM-1 und vWf sowie erniedrigte Spiegel an NO-Metaboliten verglichen mit Gesunden. Die achtwöchige Supplementation mit 400 oder 800 I.E./d Vitamin E führte dosisabhängig zu einer Reduktion der Adhäsionsmarker und einem Anstieg von NO-Metaboliten, wobei die Veränderung jeweils mit dem Anstieg der Vitamin-E-Plasmakonzentration korrelierte [Desideri et al. 2002]. Zumindest an Ratten, die als Modell für Typ-2-Diabetes verwendet wurden, verbesserte die Gabe von  $\alpha$ -Tocopherol zudem Blutglucose und HbA1c sowie Marker für die Gefäßfunktion [Minamiyama et al. 2008].

### 3.2.3 Zink

Als Bestandteil bzw. Cofaktor von etwa 200 Enzymen besitzt Zink eine zentrale Funktion in zahlreichen Stoffwechselwegen. Im Zusammenhang mit der antioxidativen Abwehr spielt Zink eine wichtige Rolle, wobei viele der involvierten Mechanismen noch nicht geklärt sind. Die Bedeutung des Elements wird jedoch dadurch deutlich, dass eine Unterversorgung zahlreiche Marker für oxidative Belastung erhöht [Powell 2000].

Der Zusammenhang zwischen Zinkversorgung und Atherogenese ist wenig untersucht, nicht zuletzt aufgrund des Fehlens aussagekräftiger Statusparameter [Hambidge 2003, Wood 2000]. Einige Studien zeigten bei Patienten mit verschiedenen Formen der Atherosklerose niedrigere Konzentrationen an Zink im Serum [Reunanen et al. 1996, Martin-Lagos et al. 1997], Plasma [Oster et al. 1989, Speich et al. 1988] oder Haaren [Falkiewicz et al. 2000]. In einer Fall-Kontroll-Studie mit 10.532 Personen wurde eine verminderte kardiovaskuläre Mortalität in der höchsten Quintile der Zinkspiegel ( $>12,7 \mu\text{mol/l}$ ) beobachtet, allerdings war der Unterschied nicht signifikant [Kok et al. 1988]. In der EURAMIC-Studie<sup>1</sup> wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zinkkonzentration in den Fußnägeln und dem Herzinfarktrisiko gefunden. Allerdings wiesen Personen, die im Beobachtungszeitraum einen Infarkt erlitten, um 4 % niedrigere Werte auf. In der obersten Quintile der Konzentration war das Risiko um 19 % vermindert, es fand sich jedoch kein signifikanter Trend, der einen Einfluss der Zinkversorgung unterstützen würde [Martin-Moreno et al. 2003]. Andere Studien zeigten identische oder höhere Konzentrationen bei Patienten im Serum [Iskra et al. 1997, Iskra et al. 1993], Plasma [Mielcarz et al. 2001, Tiber et al. 1986] oder Haaren [Bialkowska et al. 1987]. Kein Einfluss der Serumspiegel an Zink wurde in einer kleineren Fall-Kontroll-Studie über 13 Jahre festgestellt [Marniemi et al. 1998].

---

<sup>1</sup> European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction, and Breast Cancer

Zu den etablierten Funktionen im antioxidativen Stoffwechsel gehört gemeinsam mit Kupfer diejenige als struktureller Bestandteil der SOD, die die Neutralisation von Superoxidradikalen katalysiert. So erniedrigt ein Zinkmangel die Aktivität der SOD [Ruz et al. 1992], aber auch die Supplementation mit 50 mg/d Zink führt über eine Hemmung der Kupferabsorption zu einer reduzierten Aktivität [Yadrick et al. 1989, Abdallah u. Samman 1993]. Bei älteren Personen in Spanien zeigte sich eine erhöhte Gesamtsterblichkeit mit niedriger Aktivität der SOD in Erythrozyten, jedoch nicht im Plasma [Huerta et al. 2006], so dass der protektive Einfluss von Zink in diesem Zusammenhang unklar bleibt. Darüber hinaus verdrängt Zink prooxidativ wirkende Übergangsmetalle wie Eisen und Kupfer aus Makromolekülen und verhindert so insbesondere lokale oxidative Schädigungen der Zellen. So konnte an isolierten ischämischen Herzen gezeigt werden, dass die Zugabe von Zink zur Perfusionslösung den Kupfergehalt des Gewebes und gleichzeitig die Oxidation von Proteinen verringert [Powell et al. 1999]. Diskutiert wird ferner eine stabilisierende Wirkung von Zink auf Thiol-Gruppen von Makromolekülen, wodurch diese weniger anfällig gegenüber oxidativer Schädigung sind [Powell 2000]. Möglicherweise spielt auch die Induktion der Synthese von Metallothionein durch Zinkgaben eine Rolle [McCormick et al. 1981, Swerdel u. Cousins 1982]. Diese weisen unter verschiedenen Bedingungen mit erhöhter oxidativer Belastung antioxidative Effekte auf, so z. B. bei radioaktiver Strahlung [Matsubara 1987], Medikamentengabe [Satoh et al. 1988, Lazo et al. 1998] sowie Alkoholexposition [Harris 1990]. In vitro wurde ein protektiver Effekt von Metallothionein auf Herzzellen vor Schädigung durch hohe Glucose- und Fettsäurekonzentrationen beobachtet [Wang et al. 2006].

Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass der Zinkstatus einen Einfluss auf die Empfindlichkeit gegenüber oxidativem Stress besitzt. So erhöhte sich bei chronischer Unterversorgung die Oxidationsempfindlichkeit von Lipoproteinen [DiSilvestro u. Blostein-Fujii 1997], eine Supplementation reduzierte dagegen alkoholbedingte Leberschäden in Verbindung mit verminderter oxidativer Schädigung der Leber [Zhou et al. 2005]. Auch konnte durch die hochdosierte Gabe bei diabetischen Mäusen die Entwicklung einer Cardiomyopathie verhindert werden [Wang et al. 2006]. Die Oxidationsprodukte Malondialdehyd und Hydroxyalkenal im Plasma sowie 8-Hydroxydeoxyguanosin (8-OHdG) im Urin als Marker für DNA-Oxidation wurden bei gesunden Probanden durch die Gabe von 45 mg/d Zink über 8 Wochen ebenfalls signifikant gesenkt [Prasad et al. 2004]; die Konzentration von MDA sank auch bei Hämodialyse-Patienten nach Gabe von 20 mg/d Zink über drei Monate ab [Candan et al. 2002]. Kein Effekt zeigte sich bei gesunden Probanden nach Einnahme von 50 mg/d über vier Wochen in Bezug auf die Oxidationsresistenz der LDL-Partikel [Gatto u. Samman 1995]. Bei Typ-2-Diabetikern wurden die Konzentrationen an thiobarbitursäurereaktiven Substanzen (TBARS) durch Gabe von 30 mg/d Zink über sechs Monate signifikant gesenkt [Roussel et al. 2003, Anderson et al. 2001], die gleiche Dosis für

drei Wochen hatte jedoch keine Auswirkung auf die Oxidationsempfindlichkeit von Lipoproteinen. Obwohl die Aktivität des zinkabhängigen Enzyms 5'-Nucleotidase im Versuchszeitraum anstieg, lagen die Werte weiterhin unter denen gesunder Vergleichspersonen [Blostein-Fujii et al. 1997]. Bei Altenheimbewohnern zeigte sich eine signifikante Senkung der TBARS nach Einnahme von 25 mg/d über drei Monate [Fortes et al. 1997]. Keine Auswirkung auf die Aktivität der SOD oder die Konzentration von TBARS hatte die Gabe von 20 mg/d in Kombination mit anderen Antioxidanzien bei hospitalisierten Senioren [Girodon et al. 1997].

Teilnehmer der „Age-Related Eye Disease Study“ (AREDS), die fünf Jahre lang 80 mg/d Zink in Form von Zinkoxid erhielten, wiesen eine signifikant verringerte Gesamtmortalität im Vergleich zu den anderen Gruppen auf, es wurde jedoch kein Effekt in Bezug auf kardiovaskulär bedingte Todesfälle festgestellt [Clemons et al. 2004]. Bei Typ-2-Diabetikern mit subnormalen Zinkspiegeln führte die Supplementation mit 36 mg/d<sup>2</sup> zu einer signifikanten Absenkung von Gesamtcholesterol und Triglyceriden [Partida-Hernandez et al. 2006]. Bei älteren Personen führte die Gabe von 20 mg/d Zink über acht Wochen zu signifikant niedrigeren Konzentrationen an Gesamtcholesterol im Vergleich zu Placebo; keine Unterschiede wurden bei den LDL-Werten festgestellt. Im Subkollektiv mit schlanken Teilnehmern (BMI  $\leq$  21) zeigte sich jedoch eine Erhöhung der Triglyceridwerte [Boukaiba et al. 1993]. Die Verabreichung einer kontrollierten Diät mit 53 mg/d Zink hatte bei postmenopausalen Frauen nach 90 Tagen eine signifikante Senkung von Gesamt- und LDL-Cholesterol zur Folge [Milne et al. 2001].

### 3.2.4 Selen

Das Spurenelement Selen stellt als Bestandteil der Glutathionperoxidase, die Hydroperoxide reduziert, einen wichtigen Teil des endogenen antioxidativen Systems dar. Die Aktivität des Enzyms ist über einen weiten Versorgungsbereich von der Selenzufuhr abhängig, weshalb dieser Parameter lange Zeit zur Beurteilung der Selenversorgung verwendet wurde. Neben der Rolle im antioxidativen Stoffwechsel scheint Selen weitere Funktionen im atherogenen Prozess zu besitzen. So beeinflusst die Selenversorgung in vitro die Aktivität der Enzyme Cyclooxygenase und Lipoxygenase in Endothelzellen, wodurch die Produktion von Thromboxan A<sub>2</sub> beeinflusst wird [Cao et al. 2000].

Einige epidemiologische Studien zeigten eine inverse Korrelation zwischen der Selenversorgung und der Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen bzw. der Mortalität. So wurden in Fall-Kontroll-Studien bei KHK-Patienten niedrigere Selengehalte in Plasma,

---

<sup>2</sup> Berechnet aus der angegebenen Dosierung von 100 mg Zinksulfat unter Annahme des üblicherweise verwendeten Rohstoffs Zinksulfat-Monohydrat



Erythrozyten und Urin verglichen mit gesunden Kontrollpersonen gefunden [Bor et al. 1999, Navarro-Alarcon et al. 1999, Oster et al. 1989]. Bei Männern mit Anzeichen für eine ischämische Herzerkrankung wurden niedrigere Serumspiegel an Selen gemessen als bei Personen mit unauffälligem EKG. Der Unterschied war jedoch mit 1,03 gegenüber 1,09  $\mu\text{mol/l}$  trotz hoher Signifikanz gering [Salonen et al. 1988].

Epidemiologische Daten zum Zusammenhang des Selenstatus mit kardiovaskulären Erkrankungen sind widersprüchlich. So konnten einige Untersuchungen einen Einfluss von Selen zeigen, in anderen hatte das Element keine diesbezüglichen Effekte. In einem Kollektiv älterer Frauen in den USA war die Gesamtsterblichkeit während eines Beobachtungszeitraums von fünf Jahren bei den Teilnehmerinnen mit hohen Serumspiegeln an Selen niedriger als bei denen mit geringeren Konzentrationen. Der Median des gesamten Kollektivs lag mit 1,53  $\mu\text{mol/l}$  sehr hoch im Vergleich zu anderen Ländern [Ray et al. 2006]. Zwei andere Studien aus den USA, die mit männlichen Probanden durchgeführt wurden, zeigten keinen derartigen Zusammenhang. So wurde in einem Teilkollektiv der Physicians' Health Study kein Einfluss der Selenspiegel im Plasma auf das Herzinfarktrisiko gefunden. Die mittleren Werte lagen auch hier mit 1,44 bzw. 1,43  $\mu\text{mol/l}$  bei Fällen und Kontrollpersonen sehr hoch [Salvini et al. 1995]. Eine Auswertung der Health Professionals' Follow-Up Study zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den Selenkonzentrationen in Fußnägeln und dem kardiovaskulären Risiko [Yoshizawa et al. 2003]. In der europäischen EURAMIC-Studie wurde lediglich bei den Teilnehmern des deutschen Teilkollektivs ein Zusammenhang zwischen den Selenkonzentrationen in Fußnägeln und dem Herzinfarktrisiko festgestellt. Diese Gruppe wies von allen zehn untersuchten die niedrigsten Werte auf. Insgesamt waren die Werte der EURAMIC-Studie deutlich niedriger als in Untersuchungen aus den USA; die Mediane der Kollektive von Nurses' Health Study und Health Professionals' Follow-Up Study lagen in Höhe der obersten Quintile des EURAMIC-Gesamtkollektivs [Yoshizawa et al. 2003, Kardinaal et al. 1997].

In verschiedenen Studien aus Europa ergab sich zum Einfluss der Selenversorgung auf das KHK-Risiko ebenfalls kein einheitliches Bild. Bei älteren Männern in Dänemark zeigte sich ein erhöhtes Risiko für ischämische Herzerkrankungen bei Serumspiegeln von  $\leq 1$   $\mu\text{mol/l}$  Selen [Suadicani et al. 1992]. In einem ebenfalls rein männlichen Kollektiv in Finnland zeigte sich keine Assoziation zwischen den Serumspiegeln an Selen und dem KHK-Risiko. Lediglich Personen mit Werten unter 0,57  $\mu\text{mol/l}$  wiesen eine erhöhte Gesamt- und KHK-Mortalität auf. Dabei zeigte sich jedoch eine geringere KHK-Mortalität in der Region mit den höheren Selenspiegeln, so dass die Autoren weitere Einflussfaktoren postulierten [Virtamo et al. 1985]. Ein vergleichbares Kollektiv aus Finnland wies bei durchschnittlichen Serumkonzentrationen von 0,92  $\mu\text{mol/l}$  keinen Zusammenhang der Selenkonzentration mit

dem kardiovaskulären Risiko auf [Miettinen et al. 1983]. In einer Vergleichsstudie mit Personen aus vier verschiedenen Gebieten Europas zeigte sich kein Zusammenhang der Selenspiegel mit der kardiovaskulären Mortalität [Riemersma et al. 1990]. Dagegen konnte für den etablierten Risikomarker der Intima-media-Dicke der Carotisarterie ein Einfluss der Selenversorgung gezeigt werden. Männer, die bei der Basisuntersuchung Serumspiegel unterhalb des Medians von 1,4  $\mu\text{mol/l}$  aufwiesen, hatten zwei Jahre später eine signifikant stärkere Zunahme der Wanddicke zu verzeichnen als Männer oberhalb dieses Wertes [Salonen et al. 1991].

Interventionsstudien mit einer Selengabe, die das kardiovaskuläre Risiko als Zielparame-ter hatten, sind nicht bekannt. Eine spätere Auswertung der „Clark-Study“, in der über einen durchschnittlichen Zeitraum von 7,6 Jahren mit einer Dosis von 200  $\mu\text{g/d}$  Selen supplementiert wurde, zeigte keinen Einfluss der Selengabe auf die Häufigkeit kardiovaskulärer Ereignisse bzw. KHK-Todesfälle im Vergleich zur Placebogruppe. Auch nach Einteilung des Kollektivs in Tertilen nach Plasmakonzentrationen an Selen bei Studienbeginn zeigte sich kein Effekt; die unterste Tertile lag allerdings bei  $\leq 1,33 \mu\text{mol/l}$ , die oberste bei  $> 1,55 \mu\text{mol/l}$  [Stranges et al. 2006]. Die Werte waren damit insgesamt als sehr hoch im Vergleich zu anderen Kollektiven einzustufen.

### 3.2.5 Coenzym Q<sub>10</sub>

Das zur Gruppe der Ubichinone gehörende Coenzym Q<sub>10</sub> wird vom menschlichen Organismus synthetisiert. Es gehört somit zu den endogenen Antioxidanzien, wird aber dennoch häufig in Nährstoffpräparaten verwendet. Aufgrund seiner Lipophilie ist Coenzym Q<sub>10</sub> in den Lipidmembranen und LDL-Partikeln lokalisiert, wo es seine antioxidative Wirkung sowohl direkt als auch indirekt über die Regeneration von Vitamin E ausübt [Hahn 2006, S. 118]. Coenzym Q<sub>10</sub> spielt eine wichtige Rolle beim Schutz der LDL-Partikel, da es insbesondere die ersten Schritte der Oxidation verhindert [Bowry et al. 1995]. So wurde eine negative Korrelation zwischen dem Q<sub>10</sub>-Gehalt in LDL und deren Oxidationsneigung festgestellt [Kontush et al. 1994, Tribble et al. 1994]. Dementsprechend konnten verschiedene Studien eine Erhöhung der antioxidativen Kapazität durch eine hochdosierte Q<sub>10</sub>-Gabe zeigen. So führte die Einnahme von 100 mg/d Q<sub>10</sub> über fünf Tage bei gesunden Probanden zu einem Anstieg der Konzentration in den LDL-Partikeln auf das 3–4fache. Die Oxidationsresistenz der Partikel ex vivo war in der Folge signifikant erhöht [Thomas et al. 1996]. Die Gabe von 100 mg/d Q<sub>10</sub> über eine Woche und von 300 mg/d über eine weitere Woche steigerte nicht nur die Q<sub>10</sub>-Konzentration in Plasma und Lymphozyten signifikant, sondern erhöhte ex vivo auch die Resistenz der Lymphozyten gegen DNA-Strangbrüche nach Sauerstoffbehandlung [Tomasetti et al. 2001].

Dagegen hatte die Einnahme von 90 mg/d Q<sub>10</sub> über 2 Monate bei gesunden Rauchern weder einen Einfluss auf die Oxidationsresistenz von Lipoproteinen noch auf die Konzentration an Malondialdehyd [Kaikkonen et al. 1997]. Auch die höher dosierte Q<sub>10</sub>-Einnahme von 200 mg/d durch Patienten mit leichter Hypercholesterinämie hatte keinen additiven Effekt zu einer Vitamin-E-Gabe von 1000 I.E./d [Kaikkonen et al. 2000]. Eine Supplementation in gleicher Höhe über zehn Wochen führte ebenfalls nicht zu einer verbesserten antioxidativen Kapazität. Die Konzentration an Malondialdehyd bei gesunden Probanden blieb unverändert [Turunen et al. 2002].

Eine Bedeutung in der Atherogenese könnte Coenzym Q<sub>10</sub> möglicherweise trotz der widersprüchlichen Ergebnisse in Bezug auf Antioxidanzienmarker zukommen. So wurde festgestellt, dass in atherosklerotisch veränderten Gefäßwänden die Konzentration von oxidiertem Coenzym Q<sub>10</sub> um über 300 % ansteigt. Diese Erhöhung könnte auf einen lokal gesteigerten Coenzym-Q<sub>10</sub>-Bedarf hindeuten [Eggens et al. 1996]. Allerdings wurden in einer Fall-Kontroll-Studie an Patienten mit manifester Atherosklerose gleich hohe Konzentrationen im Plasma wie bei gesunden Vergleichspersonen gemessen [van de Vijver et al. 1999]. Bei Diabetikern als Personengruppe mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko fanden sich dagegen erniedrigte Werte im Vergleich zu Kontrollpersonen [Miyake et al. 1999].

### 3.2.6 Sekundäre Pflanzenstoffe

Ein hoher Obst- und Gemüseverzehr erwies sich in allen Untersuchungen übereinstimmend als protektiv gegenüber kardiovaskulären Erkrankungen. So wurde in einem Teilkollektiv der Physicians' Health Study mit 15.220 Männern ein sinkendes KHK-Risiko mit steigendem Gemüseverzehr beobachtet<sup>3</sup>, wobei sich für jede zusätzliche Portion eine weitere Risikosenkung ergab. Der deutlichste Unterschied bestand hier zwischen den beiden obersten Verzehrskategorien. Personen mit einer durchschnittlichen Aufnahme von 2–2,49 Portionen täglich wiesen ein relatives Risiko von 0,89 auf, diejenigen mit mindestens 2,5 Portionen pro Tag nur von 0,77 im Vergleich zu Personen mit weniger als einer täglichen Portion Gemüse. Besonders ausgeprägt war der Effekt bei Rauchern, für die in der höchsten Kategorie ein RR von 0,41 berechnet wurde [Liu et al. 2001]. Vergleichbare Effekte eines hohen Obst- und Gemüsekonsums wurden auch in anderen Kollektiven gefunden, ohne ein Plateau festzustellen [Genkinger et al. 2004, Gaziano et al. 1995b, Knekt et al. 1994, Rissanen et al. 2003]. Eine kombinierte Auswertung von Daten aus der Nurses' Health Study und der Health Professionals' Follow-Up Study mit insgesamt 126.399 Personen zeigte ein um 20 % vermindertes kardiovaskuläres Risiko bei Personen mit dem höchsten Obst- und Gemüseverzehr im Vergleich zur niedrigsten Quintile, obwohl die untersuchten Personen im

<sup>3</sup> Abgefragt wurde nur der Konsum von Broccoli, Blumenkohl, Karotten, Spinat, dunkelgrünem Salat, Kürbis, Tomaten und Tomatensaft

Gesamtschnitt mit 5,1 Portionen bei Männern und 5,8 bei Frauen einen sehr hohen Verzehr aufwiesen. Für jede Portion pro Tag wurde eine Risikoreduktion um 4 % errechnet. Dabei ergab sich der deutlichste Effekt durch grünes Blattgemüse und Vitamin-C-reiche Obst- und Gemüsesorten. Selbst zwischen Personen mit 6–7,9 und Personen mit mindestens 8 Portionen täglich wurde noch eine deutliche Risikosenkung beobachtet [Joshiyura et al. 2001]. In der Framingham-Studie zeigte sich bei gleich hohem mittlerem Verzehr an Obst und Gemüse eine Reduktion des Schlaganfallrisikos mit steigender Zahl der Portionen pro Tag. Ein Anstieg um drei Portionen pro Tag war mit einer Risikoreduktion um 22 % verbunden [Gillman et al. 1995]. Auf Basis der beobachteten Effekte wurde beispielsweise für die Bevölkerung der Niederlande berechnet, dass eine Erhöhung des Verzehrs von Obst und Gemüse von den realisierten 250 g/d auf die empfohlenen 400 g/d eine Reduktion der KHK-Mortalität um 6–22 % je nach Rechenmodell zur Folge hätte [van't Veer et al. 2000].

Für die beobachteten Zusammenhänge werden zahlreiche Inhaltsstoffe von Obst und Gemüse verantwortlich gemacht. Neben Vitaminen, insbesondere Vitamin C, und Mineralstoffen wie Kalium und Magnesium sind dies vor allem sekundäre Pflanzenstoffe. Ihr Wirkungsspektrum wird in den letzten Jahren zunehmend erforscht, wodurch immer mehr Stoffwechselwege einzelner Substanzen bzw. Gruppen aufgeklärt werden. Hierbei steht nicht zuletzt die antioxidative Wirkung im Mittelpunkt des Interesses, auf die einige der bekannten Effekte zurückgeführt werden. So konnte im Tierversuch durch Verabreichung einer Mischung verschiedener Extrakte, deren Dosierung zehn Portionen Obst und Gemüse bei erwachsenen Menschen entsprechen sollte, eine Reduktion der oxidativen Belastung, eine Absenkung von Gesamtcholesterol bei unveränderter HDL-Fraktion sowie eine verringerte Bildung von fatty streaks erzielt werden [Sutra et al. 2007].

### **3.2.6.1 Carotinoide**

Carotinoide besitzen ein hohes Potential zum Quenchen von Singulett-Sauerstoff, einer angeregten, besonders reaktiven Form von ROS. Insbesondere in Bezug auf die LDL-Oxidation besitzen Carotinoide protektive Wirkungen [Boileau et al. 1999]. Sie stellen neben Tocopherolen und Coenzym Q<sub>10</sub> die wichtigsten Antioxidanzien in LDL-Partikeln dar [Palace et al. 1999].

Die Quenching-Eigenschaft eines Carotinoids ist abhängig von der Anzahl seiner Doppelbindungen. Aus diesem Grund weist Lycopin mit seinen beiden offenen  $\beta$ -Iononringen die stärkste Aktivität unter den Carotinoiden auf, gefolgt von  $\alpha$ -Carotin und  $\beta$ -Carotin [Di Mascio et al. 1989]. Die Fähigkeit von Lycopin zum Abfangen freier Radikale übersteigt die Wirkung von Trolox um das Dreifache [Shixian et al. 2005].

Zahlreiche Untersuchungen ergaben eine inverse Assoziation zwischen den Carotinoidkonzentrationen in Plasma, Serum oder Fettgewebe und dem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse. Bei älteren Frauen zeigte sich eine sinkende Gesamtmortalität im Verlauf von fünf Jahren mit steigenden Serumspiegeln an Carotinoiden bei der Basisuntersuchung. Die Konzentration jedes einzelnen Carotinoids außer  $\beta$ -Carotin war bei den im weiteren Verlauf Gestorbenen zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung signifikant niedriger als bei den Überlebenden [Ray et al. 2006]. Bei älteren Personen in den Niederlanden zeigte sich für die Gesamtkonzentration an Carotinoiden sowie an Xanthophyllen, die in diesem Kollektiv einen Großteil der Carotinoide ausmachten, ein geringeres KHK-Risiko mit der höchsten Serumkonzentration [De Waart et al. 2001]. Für die Gesamtkonzentration an Carotinoiden wurde auch bei Männern mit Hyperlipoproteinämie in den USA ein Einfluss auf das KHK-Risiko festgestellt. Dieser war bei Nichtrauchern besonders ausgeprägt. So betrug das relative Risiko für nichttödlichen Myocardinfarkt und KHK-Mortalität in der höchsten Quartile der Konzentration ( $>3,16 \mu\text{mol/l}$ ) nur 0,64 im Vergleich zur untersten Quartile ( $<2,33 \mu\text{mol/l}$ ). Personen, die zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung rauchten, wiesen die niedrigsten Serumkonzentrationen auf [Morris et al. 1994].

In einer großen Fall-Kontroll-Studie wurde zwischen der Serumkonzentration an  $\beta$ -Carotin und dem Herzinfarktrisiko bei Rauchern eine inverse Korrelation festgestellt [Street et al. 1994]. Eine ältere Meta-Analyse über sechs große epidemiologische Studien ergab, dass Personen mit der höchsten Zufuhr bzw. den höchsten Konzentrationen an  $\beta$ -Carotin ein um 31 % geringeres KHK-Risiko aufwiesen als diejenigen mit den niedrigsten Werten [Egger et al. 1998]. In der NHANES-III-Studie mit 11.327 Teilnehmern fand sich ein sinkendes Risiko für Angina pectoris mit höheren  $\beta$ -Carotin-Konzentrationen. Die oberste Quartile dieses Kollektivs mit mindestens  $0,45 \mu\text{mol/l}$  wies dabei nur ein relatives Risiko von 0,57 auf [Ford u. Giles 2000]. Diese Ergebnisse konnten verschiedene neuere Untersuchungen aus mehreren Ländern nur zum Teil bestätigen. Zwar betrug bei älteren Personen in Italien das relative Risiko in der höchsten Quartile der Plasmaspiegel an  $\beta$ -Carotin nur 0,73 verglichen mit der niedrigsten, es zeigte sich jedoch kein signifikanter Trend zu einem geringeren kardiovaskulären Risiko mit steigenden Konzentrationen [Mezzetti et al. 2001]. Die gemessenen Werte waren allerdings insgesamt hoch; die höchste Quartile begann hier bei  $>0,69 \mu\text{mol/l}$  und Personen in der niedrigsten wiesen mit maximal  $0,37 \mu\text{mol/l}$  immer noch hohe Werte auf. Es zeigte sich jedoch auch in einem rein männlichen finnischen Kollektiv mit insgesamt niedrigeren Werten keine signifikante KHK-Risikosenkung mit steigenden Serumkonzentrationen an  $\beta$ -Carotin. Die höchste Quartile begann hier bereits bei  $0,49 \mu\text{mol/l}$ , die niedrigste endete bei maximal  $0,23 \mu\text{mol/l}$  [Rissanen et al. 2001]. In der Physicians'

Health Study zeigte sich ebenfalls kein Einfluss der Plasmaspiegel an  $\beta$ -Carotin auf das Herzinfarktrisiko, obwohl hier ein sehr großer Konzentrationsbereich beobachtet wurde. Die Teilnehmer in der obersten Quintile wiesen im Schnitt 0,89  $\mu\text{mol/l}$ , die in der untersten 0,21  $\mu\text{mol/l}$  auf [Hak et al. 2003].

Für Lycopin konnte eine Reihe von Studien einen Einfluss auf das kardiovaskuläre Risiko zeigen. So wiesen in der EURAMIC-Studie Männer in der Quintile mit der höchsten Konzentration an Lycopin im Fettgewebe ein um 48 % geringeres Herzinfarktrisiko auf als Männer mit dem niedrigsten Wert [Kohlmeier et al. 1997]. Auch niedrige Serumspiegel von Lycopin waren in verschiedenen Beobachtungsstudien mit einem erhöhten Atheroskleroserisiko verbunden. Bei den Teilnehmern der Rotterdam Study sank das Risiko für die Bildung messbarer Plaques in der Aorta mit steigenden Lycopinkonzentrationen, wobei sich der deutlichste Einfluss bei aktiven und ehemaligen Rauchern zeigte. Für andere Carotinoide wurde keine signifikante Assoziation festgestellt [Klipstein-Grobusch et al. 2000]. Auch die Teilnehmerinnen der Women's Health Study zeigten einen Einfluss der Lycopinspiegel auf das KHK-Risiko. So besaßen Frauen in der dritten und vierten Quartile der Konzentration mit mindestens 0,31  $\mu\text{mol/l}$  ein relatives Risiko von 0,66 verglichen mit denen der unteren beiden Quartilen [Sesso et al. 2004]. In Finnland wiesen Männer mit einem kardiovaskulären Ereignis signifikant niedrigere Serumspiegel an Lycopin auf als diejenigen ohne. Für Männer in der untersten Quartile der Konzentrationen wurde ein relatives Risiko von 3,3 verglichen mit den übrigen berechnet [Rissanen et al. 2001]. Dagegen wurde in zwei verschiedenen Auswertungen der Physicians' Health Study kein Zusammenhang zwischen den Plasma-Lycopinspiegeln und dem KHK-Risiko festgestellt, obwohl der beobachtete Bereich der Konzentrationen in beiden Studien gemeinsam betrachtet sehr groß war. Die ältere der beiden Untersuchungen ergab in der obersten Quintile durchschnittliche Konzentrationen von 1,08  $\mu\text{mol/l}$  [Hak et al. 2003], mit 0,24  $\mu\text{mol/l}$  lagen die Werte der neueren Studie [Sesso et al. 2005] deutlich niedriger und waren mit den finnischen Ergebnissen vergleichbar. Hier wiesen Teilnehmer in der untersten Quartile lediglich Lycopinspiegel von maximal 0,12  $\mu\text{mol/l}$  auf [Rissanen et al. 2001]. In Bezug auf das Risiko für Angina pectoris ergab sich auch in der NHANES-Studie kein signifikanter Einfluss der Lycopinspiegel [Ford u. Giles 2000].

In verschiedenen Beobachtungs- und Interventionsstudien wurde die Dicke der Intima media der Carotis-Arterie als Marker für das Fortschreiten atherosklerotischer Veränderungen verwendet. Mit diesem Verfahren konnten einige Arbeitsgruppen einen Einfluss der Carotinoidspiegel auf die Atherogenese zeigen. So wurde eine zunehmende Wanddicke bei niedrigen Serumkonzentrationen verschiedener Carotinoide wie  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Zeaxanthin und Lycopin festgestellt [Gianetti et al. 2002, Iribarren et al. 1997]. Eine

besonders deutliche Korrelation zeigte sich bei Patienten mit angiographisch bestätigter Gefäßverengung, deren durchschnittlicher Lycopingehalt im Plasma um 38 % geringer war als bei gesunden Kontrollpersonen [Gianetti et al. 2002].

Die Ergebnisse zum Einfluss der Carotinoidzufuhr auf das Herzinfarktrisiko sind widersprüchlich. So wurden in der Massachusetts Elderly Cohort Study [Gaziano et al. 1995b] sowie in der Rotterdam Study [Klipstein-Grobusch et al. 1999] inverse Beziehungen zwischen einer  $\beta$ -Carotin-reichen Kost und dem Risiko für einen Myokardinfarkt gefunden. Bei letzterer zeigte sich zudem ein stärkerer inverser Zusammenhang bei Verwendung von Supplementen. In der Nurses' Health Study wurde ein vermindertes Risiko in der Quintile mit der höchsten Aufnahme von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin festgestellt, nicht jedoch von Lycopin, Lutein/Zeaxanthin oder  $\beta$ -Cryptoxanthin. So war das Herzinfarktrisiko bei den Teilnehmerinnen in der Quintile mit der höchsten Zufuhr von 7,6 mg/d  $\beta$ -Carotin um 26 % vermindert verglichen mit denen, die nur eine Aufnahme von 1,7 mg/d realisierten. Für  $\alpha$ -Carotin war der berechnete Effekt mit einer Risikosenkung um 20 % bei einer Aufnahme von 1,5 mg/d verglichen mit 0,2 mg/d etwas geringer [Osganian et al. 2003]. In einer italienischen Fall-Kontroll-Studie zeigte sich kein Einfluss der Zufuhr an Gesamtcarotinoiden, Lycopin oder Lutein/Zeaxanthin. Nur für  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie  $\beta$ -Cryptoxanthin fand sich ein signifikant verringertes Herzinfarktrisiko mit steigender Zufuhr. Allerdings wies das Kollektiv mit 18,2 mg/d eine sehr hohe Gesamtzufuhr an Carotinoiden auf [Tavani et al. 2006]. Für Lycopin konnte dagegen bei den Teilnehmerinnen der Women's Health Study ein signifikanter Trend zu geringerem KHK-Risiko mit steigender Zufuhr gezeigt werden, obwohl bereits die unterste Quartile 8,1 mg/d aufnahm und der Unterschied zur obersten mit durchschnittlich 9,9 mg/d gering war [Sesso et al. 2004].

Interventionsstudien mit  $\beta$ -Carotin konnten protektive Effekte der isolierten Substanz gegenüber Herz-Kreislauf-Erkrankungen allerdings durchgängig nicht bestätigen. So führte in der Physicians' Health Study mit 22.071 Teilnehmern die Supplementierung mit 50 mg  $\beta$ -Carotin jeden zweiten Tag über zwölf Jahre nicht zu einem verminderten Auftreten koronarer Herzerkrankungen. Die Anzahl von Todesfällen durch kardiovaskuläre Erkrankungen, Myokardinfarkte oder Schlaganfälle war in Verum- und Placebogruppe nicht signifikant verschieden [Hennekens et al. 1996]. Das gleiche Einnahmeschema hatte auch in einem rein weiblichen Kollektiv keinerlei Auswirkung [Lee et al. 1999]. Die tägliche Gabe hatte in verschiedenen Interventionsstudien ebenfalls keine protektive Wirkung gegenüber kardiovaskulären Erkrankungen. Weder in der ATBC-Studie mit 20 mg/d [Törnwall et al. 2004, Rapola et al. 1996, Virtamo et al. 1998], der CARET-Studie ( $\beta$ -Carotene and Retinol Efficacy Trial) mit 30 mg/d [Omenn et al. 1996] noch in der Skin Cancer Prevention Study mit 50 mg/d [Greenberg et al. 1996] zeigten sich Effekte auf die KHK-Inzidenz. Bei Personen mit

vorhergehendem Myocardinfarkt wurde in der ATBC-Studie nach Gabe von  $\beta$ -Carotin sogar eine signifikant höhere KHK-Sterblichkeit als in der Placebogruppe festgestellt [Rapola et al. 1997]. Auch in einer Folgeauswertung der CARET-Studie zeigte sich für die weiblichen Teilnehmer eine signifikant erhöhte KHK-Mortalität innerhalb von sechs Jahren nach Studienende [Goodman et al. 2004].

Die Ergebnisse zum Einfluss von Carotinoiden auf den Redoxstatus sind trotz der etablierten antioxidativen Wirkungen widersprüchlich. So zeigen bereits normale Schwankungen der Obst- und Gemüseversorgung im Jahresverlauf Einflüsse auf den oxidativen Status. So wurden in einem Kollektiv in der Slowakei höhere MDA-Werte am Ende des Winters gemessen als bei Herbstbeginn, wobei sich ein entgegengesetzter Verlauf zu den Folsäurespiegeln als Marker des Gemüseverzehr zeigte [Smolkova et al. 2004]. Interventionsstudien zur antioxidativen Wirkung von Carotinoiden lieferten allerdings uneinheitliche Ergebnisse. Nachdem gesunde männliche und weibliche Probanden 15 Tage lang 23–35 mg/d Lycopin in Form von Tomatensuppe oder Gemüsesaft erhalten hatten, zeigte sich eine um 6–11 % erhöhte Oxidationsresistenz der Lipoproteine [Hadley et al. 2003]. Selbst die nur einmalige Aufnahme von 30 mg Lycopin aus Tomatenextrakt mit einer fettreichen Mahlzeit führte zu einer um 21 % reduzierten Oxidationsempfindlichkeit von LDL ex vivo [Fuhrman et al. 2000]. Durch den zusätzlichen Verzehr von 650 g/d Gemüse, die jeweils ca. 10 mg/d  $\beta$ -Carotin, Lutein und Lycopin lieferten, erhöhte sich die Oxidationsbeständigkeit von LDL im Laufe von zwei Wochen signifikant [Hininger et al. 1997]. Die Verabreichung von verschiedenen Tomatenprodukten über einen Zeitraum von einer Woche hatte einen vergleichbaren Effekt. Nach zusätzlichem Konsum von Tomatensauce mit 39 mg/d, Tomatensaft mit 50 mg/d oder Kapseln mit 75 mg/d Lycopin sank die Konzentration der thiobarbitursäurereaktiven Substanzen (TBARS) um 25 % und die der konjugierten Diene um 13 %, wobei sich kein Unterschied zwischen den verschiedenen Interventionen zeigte [Agarwal u. Rao 1998]. Bei Typ-2-Diabetikern verlängerte sich durch die Verabreichung von 500 ml Tomatensaft mit etwa 45 mg/d Lycopin über vier Wochen die lag-Phase als Marker für die Oxidationsresistenz der LDL um 42 % [Upritchard et al. 2000]. Eine identische Intervention bewirkte bei gesunden Frauen eine Verminderung der Oxidationsrate ex vivo. Mit einer Dosierung von 15 mg/d zeigte sich dagegen kein Effekt [Maruyama et al. 2001]. Nach jeweils zweiwöchiger Aufnahme von 10 g/d Spinatpulver, 330 ml/d Karottensaft oder Tomatensaft zeigten sich nur in der Tomatensaftgruppe eine erhöhte Oxidationsbeständigkeit von LDL ex vivo und eine Senkung der TBARS. Die beiden anderen Interventionen hatten keinen diesbezüglichen Effekt; die FRAP-Werte zeigten in keiner Gruppe eine Veränderung [Bub et al. 2000]. Eine Verschlechterung des antioxidativen Status nach Gabe von 4 g/d Fischöl über drei Wochen wurde durch parallele Gabe von 30 mg/d einer Carotinoidmischung reduziert. So konnte durch die Carotinoidgabe die nach Fischöleinnahme erhöhte



Ausscheidung von 8-OHdG im Urin vollständig verhindert und der Anstieg der LDL-Oxidierbarkeit vermindert werden [Kiokias u. Gordon 2003].

Vergleichbare Interventionen zeigten bei rein weiblichen Kollektiven keine derartigen Effekte. Die Aufnahme von 14 mg/d Lycopin in Form von Tomatenpüree über drei Wochen hatte bei gesunden Frauen trotz eines Anstiegs der Lycopinkonzentration keinen signifikanten Einfluss auf die totale antioxidative Kapazität des Plasmas (TAOC). Dennoch zeigte sich dabei eine Korrelation der TAOC mit den Konzentrationen an Vitamin C, Lycopin und  $\beta$ -Carotin [Tyssandier et al. 2004]. Auch die Aufnahme von 5 mg/d Lycopin in Form von Kapseln (Oleoresin), Tomaten oder Tomatensaft über sechs Wochen hatte keine signifikante Veränderung des antioxidativen Status bei gesunden Frauen zur Folge, obwohl mit Saft und Kapseln die Plasmakonzentrationen signifikant anstiegen. Als Marker wurden in dieser Untersuchung die TEAC-Werte (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) verwendet [Böhm u. Bitsch 1999].

Einige Studien konnten im Anschluss an eine Depletionsphase mit carotinoidarmer Kost auch bei weiblichen Kollektiven Effekte einer erhöhten Zufuhr zeigen. So wurde bei gesunden Frauen nach einer 60 Tage langen Phase mit extrem niedriger Carotinoidzufuhr ein Anstieg der MDA-Konzentrationen beobachtet. Nach zusätzlicher Gabe von nur 0,5 mg/d  $\beta$ -Carotin über die folgenden 40 Tage kehrten die Werte auf das Ausgangsniveau zurück. In der Vergleichsgruppe, die über den gesamten Zeitraum 0,5 mg/d  $\beta$ -Carotin erhielt, zeigte sich keine Veränderung im Studienverlauf. Die Einnahme von zusätzlich 7 mg/d einer Carotinoidmischung für weitere 20 Tage durch beide Gruppen hatte keine weiteren Effekte [Dixon et al. 1998]. Nach einer carotinoidarmen Kost über 100 Tage, die in einem reduzierten Gehalt an  $\beta$ -Carotin in LDL-Partikeln und Plasma resultierte, zeigte sich ein Anstieg der LDL-Oxidierbarkeit ex vivo. Die anschließende zwanzigtägige Gabe einer Carotinoidmischung mit 7 mg/d, wovon  $\beta$ -Carotin 3,3 mg/d ausmachte, steigerte sowohl den  $\beta$ -Carotin-Gehalt in Plasma und LDL als auch die Oxidationsresistenz der LDL-Partikel weit über das Ausgangsniveau zu Beginn der Studie hinaus [Lin et al. 1998]. Keinen Effekt auf den antioxidativen Status, der mittels TRAP-Assay erfasst wurde, hatte die Aufnahme von 7 mg/d Lycopin mit Tomatenpüree über 14 Tage im Anschluss an eine nur siebentägige Depletionsphase [Pellegrini et al. 2000].

Die Einnahme von 13,3 mg/d Lycopin, 15,3 mg/d Lutein oder einer Mischung aus 8 mg  $\beta$ -Carotin und 4 mg  $\alpha$ -Carotin über zwölf Wochen führte bei gesunden Männern zu einem Anstieg der jeweiligen Konzentration in Plasma und LDL-Partikeln, hatte jedoch keinen signifikanten Effekt auf sämtliche erfassten Marker des antioxidativen Stoffwechsels. Hierzu gehörten die Aktivitäten von Glutathionperoxidase und Superoxiddismutase sowie die Oxidationsresistenz von LDL-Partikeln [Hininger et al. 2001, Olmedilla et al. 2002]. Eine

Reduktion endogener DNA-Schäden wurde nach Supplementation von 12 mg/d Lutein, Lycopin,  $\beta$ -Carotin oder einer Mischung aus jeweils 4 mg über 8 Wochen beobachtet. Dabei war die Höhe des Effektes in allen vier Gruppen am Ende der Studie identisch, mit der Mischung war jedoch bereits nach 15 Tagen ein signifikanter Unterschied feststellbar [Zhao et al. 2006]. Die Gabe von 5, 10, 20 oder 40 mg/d  $\beta$ -Carotin für 5 Wochen senkte bei gesunden Probanden die TEAC-Werte. Nur in der Gruppe mit der höchsten Dosis wurde eine Senkung der MDA-Konzentrationen erreicht [Elmadfa et al. 2004]. Durch eine Supplementation mit 50–100 mg  $\beta$ -Carotin jeden zweiten Tag über drei Wochen wurde zwar der Gehalt in Plasma und LDL vervielfacht, es zeigte sich jedoch kein Einfluss auf die Oxidationsresistenz der LDL-Partikel [Gaziano et al. 1995a].

Neben ihrer antioxidativen Wirkung zeigen Carotinoide weitere antiatherogene Eigenschaften. Im Zellversuch erhöhte die Zugabe von Lycopin zu Makrophagen die Zahl von LDL-Rezeptoren; die Aufnahme von LDL stieg daraufhin um 110 %, der Abbau in den Zellen um 34 % und die Cholesterolsynthese sank um 73 %. Um die Ergebnisse beim Menschen zu überprüfen, erhielten sechs Männer täglich 60 mg Lycopin. Nach einer Studiendauer von drei Monaten zeigte sich eine Senkung des LDL-Cholesterins um 14 % ohne Veränderung der HDL-Spiegel [Fuhrman et al. 1997]. Kein Einfluss zeigte sich dagegen nach zwei Wochen erhöhtem Gemüsekonsum mit je 10 mg/d  $\beta$ -Carotin, Lutein und Lycopin auf die Lipoproteinkonzentrationen von Rauchern oder Nichtrauchern [Hininger et al. 1997] oder nach sechs Wochen Intervention mit 5 mg Lycopin in Form von Tomaten, Tomatensaft oder Kapseln [Böhm u. Bitsch 1999]. In vitro wurde auch eine verminderte Expression von Adhäsionsmolekülen durch menschliche Endothelzellen beobachtet, nachdem die Zellen mit Lycopin inkubiert worden waren. Die Adhäsion von Monozyten war in der Folge ebenfalls reduziert. Im Rahmen dieses Versuches zeigte sich Lycopin wirksamer als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, Lutein und  $\beta$ -Cryptoxanthin [Martin et al. 2000]. Auch die Blutgerinnung konnte in vitro durch Inkubation mit Tomatenextrakt gehemmt werden [Dutta-Roy et al. 2001]. Im Tiermodell zeigte  $\beta$ -Carotin protektive Effekte unabhängig von seiner antioxidativen Wirkung. Bei Kaninchen hatte die Supplementation keinen Einfluss auf die LDL-Oxidation ex vivo, jedoch wurde die Bildung von atherosklerotischen Gefäßveränderungen signifikant vermindert [Shaish et al. 1995].

### **3.2.6.2 Polyphenole**

Polyphenole kommen vor allem in rot-bläulich gefärbten Obst- und Gemüsesorten vor und besitzen ein ausgeprägt antioxidatives Potenzial, das sich vor allem in der hydrophilen Phase entfaltet [Wang et al. 1997, Chopra et al. 2000]. Das antioxidative Potenzial von rotem Traubensaft und Rotwein korreliert mit dem Polyphenolgehalt; dies wird in erster Linie auf

den Gehalt an Anthocyanen zurückgeführt, die in Trauben die bedeutendste Gruppe der Polyphenole darstellen [Ghiselli et al. 1998]. Neben der antioxidativen Wirkung bewirken einige Polyphenole eine Hemmung der Thrombozytenaggregation. Dies konnte in vitro dosisabhängig für Resveratrol und Quercetin [Pace-Asciak et al. 1995] sowie im Tierversuch für Saft und Wein aus roten Trauben [Demrow et al. 1995] gezeigt werden.

Epidemiologische Daten zum Einfluss der Polyphenolzufuhr auf das kardiovaskuläre Risiko sind uneinheitlich. In der Health Professionals Follow-Up Study zeigte sich kein Einfluss der Flavonoidzufuhr im Bereich von 7,1–40,0 mg/d auf das Herzinfarktrisiko. Ein schwacher Zusammenhang zeigte sich nur bei Teilnehmern mit bereits bestehender koronarer Herzkrankheit [Rimm et al. 1996]. Im Kollektiv der Iowa Women's Health Study wurde nur eine erhöhte KHK-Mortalität bei sehr niedriger Zufuhr an Flavonoiden festgestellt. Im Vergleich zur untersten Quintile mit maximal 5,7 mg/d wiesen alle anderen ein vermindertes Risiko auf; kein Zusammenhang zeigte sich für die Sterblichkeit aufgrund von Schlaganfall [Yochum et al. 1999]. In der niederländischen Zutphen Elderly Study wurde eine signifikant geringere Sterblichkeit an koronaren Herzerkrankungen [Hertog et al. 1993 u. 1997a] sowie eine verringerte Schlaganfallinzidenz [Keli et al. 1996] bei hoher Flavonoidzufuhr festgestellt. Studien aus anderen Ländern konnten diesen Zusammenhang jedoch nicht durchgängig bestätigen [Hertog et al. 1997b, Knekt et al. 1996].

Kurzfristige Interventionsstudien bei Menschen und Tieren konnten antioxidative Wirkungen verschiedener Polyphenole zeigen. So bewirkte der zusätzliche Verzehr von Säften, die etwa 230 mg/d Polyphenole lieferten, eine Senkung der MDA-Konzentrationen und reduzierte die oxidative Schädigung von Lymphozyten-DNA [Bub et al. 2003]. Auch die Aufnahme von täglich 300 ml rotem oder weißem Wein bewirkte bei gesunden Probanden einen Effekt auf den antioxidativen Status. Die Urinausscheidung von 8-iso-PGF<sub>2α</sub> als Oxidationsmarker fiel in beiden Gruppen signifikant ab, wobei der Unterschied mit Rotwein höher ausfiel. Es zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen der Ausscheidung des Markers und der Plasmakonzentration von Polyphenolen [Pignatelli et al. 2006]. Dieser Zusammenhang wurde auch in Fütterungsversuchen bei Ratten bestätigt. Die FRAP-Werte erhöhten sich durch alkoholfreien und alkoholhaltigen Wein, wobei letzterer eine deutlichere Wirkung zeigte. Im Nierengewebe wurde durch beide Weine ein identisches Absinken der MDA-Konzentrationen beobachtet. Es zeigte sich dabei eine signifikante Korrelation zwischen dem Gehalt des Weins an Polyphenolen und dem resultierenden FRAP-Wert [Rodrigo et al. 2002 u. 2005].

Kein Effekt auf die Oxidationsbeständigkeit von LDL zeigte sich dagegen bei Frauen, die vier Wochen lang gefriergetrocknetes Traubenpulver mit einem Gesamtphenolgehalt von ca. 200 mg/d erhielten. Allerdings wurden die Konzentrationen an Triglyceriden und LDL-Cholesterol im Studienverlauf signifikant gesenkt [Zern et al. 2005]. Auch nach einer kontrollierten Diät

mit oder ohne Teekonsum zeigte sich in der Teegruppe mit einer Aufnahme von 860 mg/d Polyphenolen eine signifikante Senkung des Gesamt- und des LDL-Cholesterins sowie von Lipoprotein (a) verglichen mit Placebo. Es zeigte sich jedoch ebenfalls kein Effekt auf Marker für oxidativen Stress bzw. auf die antioxidative Kapazität [Davies et al. 2003]. In einer Beobachtungsstudie wurde ein Zusammenhang zwischen dem Konsum von Tee und der Höhe des Blutdrucks gefunden. Danach war ein um 250 ml/d höherer Teekonsum mit einem um 2,2 mmHg niedrigeren systolischen Wert und einem um 0,9 mmHg niedrigeren diastolischen Wert verbunden [Hodgson et al. 2003]. Im Tierversuch konnte dieser Zusammenhang bestätigt werden. Ratten, die 150 mg/d Polyphenole aus grünem oder schwarzem Tee mit dem Trinkwasser erhielten, wiesen einen signifikant niedrigeren Blutdruck auf als Kontrolltiere [Negishi et al. 2004].

### **3.2.7 Antioxidanzien-Kombinationen**

#### **3.2.7.1 Effekte auf den Redoxstatus**

In einem In-vitro-Modell konnte Lycopin die Bildung von TBARS effektiver verhindern als die anderen untersuchten Carotinoide. Hierbei zeigte sich ein ausgeprägter Synergismus, wenn die Mischung Lycopin und/oder Lutein enthielt. Für alle anderen ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin und Zeaxanthin) waren die synergistischen Effekte wenig ausgeprägt, einen Zusatzeffekt hatte jedoch die Zugabe von  $\alpha$ -Tocopherol [Stahl et al. 1998]. In anderen Modellen wurde zwischen Lycopin,  $\beta$ -Carotin, Vitamin C und  $\alpha$ -Tocopherol kein Synergismus festgestellt [Castro et al. 2005, Zhang u. Omaye 2001]. Für hohe Konzentrationen (ab 10  $\mu$ g/g) wurde ein prooxidativer Effekt von  $\beta$ -Carotin auf ungesättigte Fette festgestellt, bei 5  $\mu$ g/g zeigte sich dagegen eine antioxidative Wirkung. Lutein alleine wirkte bereits bei 5  $\mu$ g/g prooxidativ. Die Zugabe von  $\alpha$ -Tocopherol verhinderte nicht nur den prooxidativen Effekt, sondern führte zu einer synergistischen antioxidativen Wirkung [Subagio u. Morita 2001].

Interventionsstudien mit Antioxidanzien-Kombinationen zeigten überwiegend positive Effekte auf den antioxidativen Stoffwechsel (Tabelle 2). Die Gabe von Vitamin C, Vitamin E und  $\beta$ -Carotin sowie z. T. Selen in unterschiedlichen Dosierungen und über verschiedene Zeiträume führte zu einer signifikant höheren Oxidationsbeständigkeit von LDL bei den untersuchten Personen [Nyssönen et al. 1994, Woodside et al. 1999, Earnest et al. 2003]. Auch die FRAP-Werte stiegen in einem männlichen Kollektiv mit Rauchern und Nichtrauchern durch eine vergleichbare Supplementation an. Die Konzentrationen von MDA sanken bei Nichtrauchern in der Verum-Gruppe signifikant ab, wohingegen bei Rauchern die Abnahme nicht signifikant war [Volkovova et al. 2005]. Nach ebenfalls sechs Monaten Supplementation mit 120 mg/d Vitamin C, 15 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol, 6 mg/d  $\beta$ -Carotin, 20 mg/d Zink und 100  $\mu$ g/d

Selen zeigte sich bei hospitalisierten Senioren keine Veränderung der Konzentrationen an TBARS, jedoch wurde ein erhöhter Widerstand der Erythrozyten gegenüber oxidativ bedingter Hämolyse festgestellt. Dabei korrelierte die Änderung mit dem Anstieg der Serumkonzentrationen aller verabreichten Nährstoffe mit Ausnahme von Zink [Girodon et al. 1997].

Der postprandiale Anstieg von Lipiden und Kohlenhydraten führt zu einer Erhöhung der oxidativen Belastung; auch chronische Hyperlipidämie und Hyperglykämie wird mit oxidativem Stress in Verbindung gebracht. Hiermit ist auch eine Einschränkung der Gefäßfunktion und ein Anstieg von CRP und PAI-1 verbunden [Bae et al. 2001, Tsai et al. 2004]. Die Gabe von 800 I.E. Vitamin E und 1 g Vitamin C vor einer fettreichen Mahlzeit verhinderte den Abfall der Endothelfunktion und den Anstieg von Entzündungsmarkern [Carroll u. Schade 2003, Plotnick et al. 1997]. Auch bei gesunden Probanden zeigte sich nach Einnahme von 75 g Glucose eine eingeschränkte endothelabhängige Vasodilatation (flow-mediated vasodilatation = FMD). Wurden gleichzeitig 2 g Vitamin C und 800 I. E. Vitamin E verabreicht, kam es zu dagegen zu einem leichten Anstieg der FMD [Title et al. 2000]. Dabei hatte die Glucoseaufnahme bei Gesunden keinen Einfluss auf Antioxidanzienmarker oder die Konzentrationen von Vitamin C und E [Ma et al. 2004, Title et al. 2000, Ceriello et al. 1998].

Tabelle 2: Effekte von Interventionsstudien mit Antioxidanzien-Kombinationen auf Marker des antioxidativen Stoffwechsels

	Nyysönen et al. 1994	Monget et al. 1996	Preziosi et al. 1998	Woodside et al. 1999	Earnest et al. 2003	Volkovova et al. 2005
Vitamin C (mg/d)	400	120	120	150	1000	100
Vitamin E (mg TE/d)	183	11	30	67	537	100 <sup>4</sup>
Zink (mg/d)	-	20	20	-	15	-
Selen µg/d)	100	100	100	-	100	50
β-Carotin (mg/d)	30	6	6	9	3 <sup>5</sup>	6
Q <sub>10</sub> (mg/d)	-	-	-	-	50	-
Dauer	3 Monate	6 Monate	6 Monate	8 Wochen	6 Monate	12 Wochen
Kollektiv	40 männliche Raucher mittleren Alters	575 männliche und weibliche ältere Personen	401 gesunde Männer und Frauen mittleren Alters	101 gesunde Männer mittleren Alters	182 gesunde Männer und Frauen mittleren Alters	124 männliche Raucher und Nichtraucher
Interventionseffekte						
LDL-Oxidation ex vivo	↓	-	-	↓	↓	-
MDA bzw. TBARS	-	→	→	-	-	↓ (Raucher n.s.)
FRAP	-	-	-	-	-	↑

Untersuchungen zu synergistischen Effekten verschiedener Antioxidanzien ergaben widersprüchliche Resultate. So wurde bei Personen mit Hypercholesterolämie, die 272 I.E./d α-Tocopherol und/oder 500 mg/d slow-release Vitamin C erhielten, nach zwölf Monaten ein Absinken der Oxidationsbeständigkeit von Serumlipiden beobachtet. Nur in der Gruppe, die die Vitaminkombination einnahm, wurde dieser Abfall verhindert. Nach 36 Monaten hatte sich

<sup>4</sup> Chemische Form oder Tocopherol-Äquivalente nicht angegeben

<sup>5</sup> Zusätzlich 10 mg Lycopin und 6 mg Lutein in der Tagesdosis

die Oxidationsbeständigkeit in allen drei Vitamingruppen verbessert, wobei die Kombination wiederum den deutlichsten Effekt hatte. Die Oxidation von LDL- und VLDL-Partikeln ex vivo sowie die Konzentrationen von Cholesterol-Oxidationsprodukten im Serum wurden dagegen mit Vitamin E und der Kombination vergleichbar verbessert [Porkkala-Sarataho et al. 2000]. Die Gabe von 60 mg/d  $\beta$ -Carotin über drei Monate hatte trotz eines Anstiegs der Konzentration in LDL um das 20fache keinen Einfluss auf die Oxidierbarkeit ex vivo. Der Zusatz von 1.600 I.E./d Vitamin E bewirkte eine Verringerung der Oxidation um 30–40 %, die Erweiterung der Supplementation um 2 g/d Vitamin C hatte keinen zusätzlichen Effekt [Reaven et al. 1993].

Andere Untersuchungen konnten keine synergistischen Effekte von Antioxidanzien-Kombinationen zeigen. So führte eine kombinierte Gabe von 800 I.E./d Vitamin E, 1 g/d Vitamin C und 30 mg/d  $\beta$ -Carotin zu einer signifikanten Verlängerung der lag phase und Verminderung der Oxidationsrate. Der gleiche Effekt wurde jedoch auch durch die alleinige Einnahme von Vitamin E erzielt [Jialal u. Grundy 1993]. Nach Gabe von 500 mg/d Vitamin C und/oder 400 I.E./d Vitamin E über zwei Monate zeigte sich eine verminderte Ausscheidung von 8-iso-Prostaglandin mit dem Urin in allen drei Interventionsgruppen. Die Kombination hatte einen geringeren Effekt als die Einzelgabe [Huang et al. 2002]. Bei gesunden Probanden wurde dagegen weder nach der alleinigen Gabe von 100 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol oder 15 mg/d Lutein, Lycopin oder  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin noch nach der kombinierten Einnahme von  $\alpha$ -Tocopherol und Carotinoiden ein Einfluss auf die LDL-Oxidierbarkeit ex vivo festgestellt [Southon 2000].

Einige Interventionsstudien zeigten negative Auswirkungen einer Supplementation auf Parameter des antioxidativen Stoffwechsels. So führte die Gabe von 800 I.E./d  $\alpha$ -Tocopherol, 1000 mg/d Vitamin C und 24 mg/d  $\beta$ -Carotin bei Diabetikern nach zwölf Wochen zu einer signifikant verringerten Oxidationsbeständigkeit der LDL. Die Werte lagen am Ende der Studie weit unter denen einer gesunden Vergleichsgruppe [Anderson et al. 1999]. Die Gabe von Vitamin E (1 g/d) über fünf Tage ohne weitere Antioxidanzien führte bei gesunden Probanden zu einer gesteigerten Oxidationsempfindlichkeit der LDL-Partikel, die jedoch durch parallele Gabe von 100 mg/d Q<sub>10</sub> verhindert werden konnte [Thomas et al. 1996].

### **3.2.7.2 Klinische Endpunkte**

Beobachtungsstudien zur Wirkung von Antioxidanzienkombinationen zeigten unterschiedliche Ergebnisse. So war in einer niederländischen Studie an älteren Personen die Einnahme eines Antioxidanzien-Präparates im Vergleich zu Personen ohne Einnahme mit einem signifikant verringerten MI-Risiko verbunden [Klipstein-Grobusch et al. 1999]. Auch in einem älteren US-amerikanischen Kollektiv wiesen Personen mit kombinierter Einnahme von

Vitamin C und E eine niedrigere Gesamt- und KHK-Sterblichkeit auf [Losonczy et al. 1996]. Dagegen konnte in einer finnischen Untersuchung keine Wirkung einer Antioxidanzien-Einnahme gezeigt werden, allerdings nahmen nur 3 % der Teilnehmer ein solches Präparat ein [Knekt et al. 1994]. Die größte derartige Studie an mehr als 1 Million Menschen in den USA, die keine Vorgeschichte im Bezug auf KHK hatten, zeigte einen protektiven Effekt bei Frauen, jedoch nicht bei Männern [Watkins et al. 2000].

Zahlreiche Interventionsstudien untersuchten den Effekt unterschiedlicher Kombinationen von Antioxidanzien auf das Fortschreiten der Gefäßverengung als Parameter für die Atherogenese. In der ASAP-Studie zeigte sich nach drei Jahren bei Personen mit Hypercholesterolämie kein Effekt einer Gabe von Vitamin E oder Vitamin C auf die Dicke der Intima media der Carotis-Arterie. Nur in der Gruppe, die beide Vitamine erhalten hatte, zeigte sich eine signifikant geringere Zunahme der Wanddicke, allerdings war der Effekt auf die männlichen Teilnehmer beschränkt [Salonen et al. 2000]. Die Fortsetzung über weitere drei Jahre nur mit der Kombination im Vergleich zu Placebo bestätigte die früheren Ergebnisse. Bei Männern verstärkte sich der Effekt auf die Zunahme der Wanddicke mit zunehmender Studiendauer, bei den Frauen zeigte sich nur ein geringer, nicht signifikanter Effekt. Insgesamt profitierten die Teilnehmer am deutlichsten von der Supplementation, die bei Studienbeginn niedrige Vitamin-C-Spiegel und bereits nachweisbare Plaques aufwiesen [Salonen et al. 2003]. Ein deutlicher protektiver Effekt einer Antioxidanziengabe zeigte sich auch in der Sekundärprävention bei Patienten nach einer Herztransplantation. Die Einnahme von 800 I.E./d Vitamin E und 1000 mg/d Vitamin C führte nach einem Jahr zu einer signifikant geringeren Dickenzunahme der Intima media [Fang et al. 2002]. In der SU.VI.MAX-Studie zeigte sich nach sieben Jahren Supplementation mit 120 mg/d Vitamin C, 30 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol, 6 mg/d  $\beta$ -Carotin, 100  $\mu$ g/d Selen und 20 mg/d Zink kein Unterschied in der Dicke der Intima media und der Gefäßfunktion im Vergleich zur Placebogruppe [Zureik et al. 2004].

Negative Effekte einer Antioxidanziengabe zeigten sich in einigen Untersuchungen an Risikokollektiven. Bei postmenopausalen Frauen war die Verengung der Koronargefäße nach Einnahme von 800 I.E./d Vitamin E und 1000 mg/d Vitamin C nach 2,8 Jahren geringfügig stärker als in der Vergleichsgruppe ohne Antioxidanzien. Auch wenn die Signifikanzgrenze nicht erreicht wurde, weisen die Autoren auf mögliche negative Folgen hin [Waters et al. 2002]. In der Multivitamins and Probucol Study wurde der Effekt von Placebo, Antioxidanzien (1000 mg/d Vitamin C, 1400 I.E./d Vitamin E und 100 mg/d  $\beta$ -Carotin), 1000 mg/d Probucol oder der Kombination aus Antioxidanzien und Probucol auf die Restenosierungsrate nach Angioplastie untersucht. Die Einnahme begann einen Monat vor und endete sechs Monate nach dem Eingriff. Die Gabe von Probucol zeigte einen signifikanten hemmenden Effekt auf



die erneute Gefäßverengung, wohingegen die Antioxidanziengebe keine protektive Wirkung hatte. Die Gefäßverengung in der Gruppe, die die Nährstoffkombination erhalten hatte, lag höher als mit der ProbucoI-Monotherapie und eine erneute Angioplastie war häufiger notwendig. Zumindest in dieser Zusammenstellung war die zusätzliche Einnahme von Antioxidanzien somit nachteilig [Tardif et al. 1997]. Auch in der HATS-Studie (HDL-Atherosclerosis Treatment Study) an Personen mit manifester KHK hatte die begleitende Antioxidanziengebe negative Effekte. Die Teilnehmer erhielten Placebo, eine Kombination aus 800 I.E./d Vitamin E, 1000 mg/d Vitamin C, 25 mg/d  $\beta$ -Carotin und 100  $\mu$ g/d Selen oder Simvastatin plus Niacin. Die Zunahme von Stenosisierungen in der Antioxidanziengruppe war zwar geringer als mit Placebo, der Unterschied war jedoch nicht signifikant. In der Gruppe, die nur die Medikation erhalten hatte, zeigte sich eine leichte Abnahme, die jedoch in Kombination mit Antioxidanzien verhindert wurde. In Bezug auf kardiovaskuläre Ereignisse zeigte sich kein Effekt der alleinigen Antioxidanziengebe, allerdings war die Zahl der betroffenen Personen in der Kombinationsgruppe wiederum höher als bei den Teilnehmern mit Medikation ohne zusätzliche Supplementierung [Brown et al. 2001].

Auch die Ergebnisse von Interventionsstudien zu klinischen Manifestationen der Atherosklerose waren zum größten Teil negativ. So zeigte die Oxford Heart Protection Study keinen Effekt einer Kombination aus täglich 600 mg Vitamin E, 250 mg Vitamin C und 20 mg  $\beta$ -Carotin. In dem Kollektiv aus 20.536 Personen mit bestehender Atherosklerose oder Diabetes wurde kein Effekt auf Gesamt- oder KHK-Mortalität sowie die Häufigkeit nichttödlicher Herzinfarkte oder Schlaganfälle festgestellt [Heart Protection Study Collaborative Group 2002]. Auch in der AREDS-Studie mit einer Kombination aus 500 mg/d Vitamin C, 400 I.E./d Vitamin E und 15 mg/d  $\beta$ -Carotin wurde kein Unterschied zur Placebogruppe in Bezug auf die Gesamtsterblichkeit beobachtet [Clemons et al. 2004]. Die Intervention mit 50 mg/d Vitamin E und 20 mg/d  $\beta$ -Carotin hatte in der ATBC-Studie ebenfalls keinen Einfluss auf das Risiko für Herzinfarkt, kardiovaskuläre Ereignisse insgesamt oder KHK-Sterblichkeit verglichen mit Placebo. Weder in Bezug auf das erste koronare Ereignis noch bei Personen mit bereits überlebtem Myocardinfarkt wurde ein Effekt beobachtet [Rapola et al. 1997, Virtamo et al. 1998]. Lediglich in der Linxian-Studie konnte bei schlecht versorgten Personen ein signifikanter Effekt einer Antioxidanziengebe auf klinische Endpunkte gezeigt werden. Die Einnahme von 30 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol, 15 mg/d  $\beta$ -Carotin und 50  $\mu$ g/d Selen führte zu einer geringeren Mortalität aufgrund von Schlaganfall, wohingegen andere Nährstoffkombinationen keine Wirkung auf kardiovaskuläre Endpunkte zeigten [Blot et al. 1995, Mark et al. 1998].

## **4 Material und Methoden**

### **4.1 Studiendesign und Ziele**

Die vorliegende Humanstudie wurde randomisiert, placebokontrolliert und doppelblind nach den Grundsätzen der Good Clinical Practice (GCP) durchgeführt. Das Studienprotokoll wurde der Ethikkommission der Medizinischen Hochschule Hannover vorgelegt und von dieser genehmigt.

Im Rahmen der Studie erhielten Männer und Frauen ab 40 Jahren mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko über einen Zeitraum von sechs Monaten eine Nährstoffkombination aus Vitaminen, Mineralstoffen, Omega-3-Fettsäuren und sekundären Pflanzenstoffen. Ziel der Studie war es, den Einfluss der Supplementierung auf den Versorgungsstatus von ausgewählten und in Bezug auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen als kritisch geltenden Nährstoffen zu untersuchen. Zusätzlich sollte der Einfluss der Nährstoffgabe auf verschiedene Marker für das Krankheitsrisiko bestimmt werden.

Durch die Wahl des Interventionszeitraumes von sechs Monaten sollte sichergestellt werden, dass Veränderungen der Versorgungsparameter auch in den Erythrozyten messbar sein würden. Diese weisen eine durchschnittliche Lebensdauer von 100–120 Tagen auf [Zetkin u. Schaldach 1999, S. 582] und lassen deshalb für einige Nährstoffe einen Rückschluss auf die längerfristige Versorgungssituation zu. Auch erhöht sich mit zunehmender Studiendauer die Wahrscheinlichkeit, dass Probanden Änderungen in ihrem Ernährungs- und Lebensstil, die durch die Studienteilnahme verursacht sind, wieder revidieren. Auf der anderen Seite sollte für die Probanden, die keine Vergütung erhielten, ein überschaubarer und noch zumutbarer Zeitrahmen gewählt werden. Hiermit wurde auch eine mit fortschreitender Dauer von Studien abnehmende Compliance berücksichtigt.

Die physiologischen Effekte der Supplementierung wurden anhand ausgewählter Laborparameter untersucht. Hierzu gehörten die Nährstoffkonzentrationen in verschiedenen Blutbestandteilen wie Serum und Erythrozyten sowie verschiedene Marker für das kardiovaskuläre Risiko wie Parameter des antioxidativen Stoffwechsels, der Blutgerinnung, Entzündung und endothelialen Dysfunktion. Zusätzlich wurden anthropometrische Werte, Blutdruck sowie Ernährungs- und Lebensgewohnheiten erhoben.

### **4.2 Ablauf**

Die Basisuntersuchung vor der Supplementierung diente zur Erfassung des Ausgangsstatus der Probanden vor der Interventionsphase und wird im Folgenden als t<sub>0</sub> bezeichnet. An diesem Termin wurde den Teilnehmern im Zeitraum zwischen dem 03. und 13. November

2003 jeweils in den Morgenstunden nüchtern Blut entnommen. Das Körpergewicht und die Körpergröße wurden vor der Blutentnahme ermittelt. Mit einer geeichten Personenwaage wurden die Teilnehmer bekleidet, aber ohne Schuhe, gewogen. Anschließend erfolgte die Messung des Taillenumfanges und des Blutdrucks. Die zweite Blutentnahme fand nach sechsmonatiger Supplementierung vom 03. bis zum 12. Mai 2004 statt. und wurde als  $t_6$  definiert. Der Ablauf war im Wesentlichen mit dem zu  $t_0$  identisch. Die Entblindung der Intervention und Bekanntgabe der Gruppenzugehörigkeit an die Probanden erfolgte erst nach Abschluss der Studie einschließlich der Dateneingabe.

### **4.3 Verabreichte Präparate**

Die verwendete Nährstoffkombination wurde erstmalig für die vorliegende Studie in Kapselform hergestellt; die Zusammensetzung ist aus Tabelle 3 ersichtlich. Das Placebopräparat, das lediglich Sojaöl enthielt, war äußerlich mit dem Verum identisch. Von dem zum Zeitpunkt  $t_0$  für den gesamten Zeitraum abgegebenen Präparat wurden zweimal täglich je zwei Kapseln zu den Mahlzeiten eingenommen.

Vergessene Einnahmen, Erkrankungen und Änderungen der Medikamenteneinnahme während der Interventionsphase mussten von den Teilnehmern dokumentiert werden. Sämtliche Vitamin- und Mineralstoffpräparate einschließlich Multivitaminsäfte mussten mindestens acht Wochen vor der ersten Blutentnahme abgesetzt und der Verzicht während des gesamten Interventionszeitraums beibehalten werden.

Tabelle 3: Zusammensetzung des Verumpräparates

Nährstoff	Gesamtdosierung pro Tag (4 Kapseln)	Verbindung
Vitamin E	80 mg	d- $\alpha$ -Tocopherol
Vitamin C	500 mg	L-Ascorbinsäure
Folsäure	800 $\mu$ g	Pteroylmonoglutamat
Vitamin B <sub>12</sub>	20 $\mu$ g	Cyanocobalamin
Vitamin B <sub>6</sub>	6 mg	Pyridoxinhydrochlorid
Vitamin B <sub>1</sub>	4 mg	Thiaminnitrat
Vitamin B <sub>2</sub>	5 mg	Riboflavin
Niacin	40 mg	Nicotinamidascorbat
natürliche Carotinoide	3 mg	Palmfruchtextrakt
Lycopin	2 mg	Tomatenextrakt
Polyphenole	50 mg	Traubentrockenextrakt
Magnesium	250 mg	Magnesiumcitrat
Zink	15 mg	Zinkgluconat
Selen	80 $\mu$ g	Natriumselenat
Kupfer	1 mg	Kupfergluconat
Chrom	60 $\mu$ g	Chrom(III)chlorid
Jod	150 $\mu$ g	Kaliumiodid
Omega-3-Fettsäuren	1100 mg	Fischöl
Coenzym Q <sub>10</sub>	30 mg	Ubidecarenon

#### 4.4 Probanden

Um eine ausreichend große Zahl von Teilnehmern zu gewinnen, wurden Aufrufe in verschiedenen Zeitungen im Raum Hannover veröffentlicht. Die Interessenten wurden telefonisch auf ihre grundsätzliche Eignung geprüft und erhielten gegebenenfalls einen ausführlichen Fragebogen (CRF Screening) zu Risikofaktoren, Erkrankungen, Medikamenteneinnahme sowie Ernährung und Lebensstil einschließlich einer zu unterzeichnenden Einverständniserklärung. Voraussetzung für die Teilnahme war, dass sich die Interessenten mit den Blutabnahmen und dem Ausfüllen der Fragebögen einverstanden erklärten sowie mit der Einnahme von täglich vier Kapseln des bereitgestellten Präparates ohne zu wissen, ob sie der Placebo- oder Verumgruppe zugeordnet worden waren.

Nach Erhalt des von den interessierten Personen zurückgesandten Fragebogens und der Einverständniserklärung erfolgten der Einschluss der geeigneten Probanden und die Randomisierung. In einem Losverfahren wurden die Teilnehmer von an der Studie nicht beteiligten Dritten der Verum- und der Placebogruppe zugeteilt.

#### 4.4.1 Einschlusskriterien

Um in das Kollektiv aufgenommen zu werden, war das Vorhandensein von mindestens zwei etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren erforderlich (Tabelle 4).

Tabelle 4: Kriterien für die Studienteilnahme (ursprüngliche Einschlusskriterien)

Mindestens zwei der folgenden Kriterien erfüllt:	
Hyperlipidämie	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Verhältnis Gesamtcholesterol:HDL <math>\geq 5</math> oder</li> <li>– Triglyceride <math>\geq 1,7</math> mmol/l oder</li> <li>– spezifische Medikation</li> </ul>
Hypertonie	<ul style="list-style-type: none"> <li>– <math>\geq 140</math> mmHg systolisch oder</li> <li>– <math>\geq 90</math> mmHg diastolisch oder</li> <li>– spezifische Medikation</li> </ul>
Diabetes mellitus Typ 2	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Nüchternnglucose <math>\geq 7,0</math> mmol/l oder</li> <li>– Diätetische Therapie oder</li> <li>– spezifische Medikation</li> </ul>
Positive Familienanamnese für KHK	Im Alter $< 60$ Jahren diagnostizierte KHK bei Verwandtem ersten Grades
Übergewicht	BMI $\geq 30$
Rauchen	<ul style="list-style-type: none"> <li>– <math>\geq 1</math> Zigarette pro Tag oder</li> <li>– Rauchen innerhalb der letzten 12 Monate beendet</li> </ul>

Im Jahr 2005 wurden aktualisierte Kriterien der American Heart Association für die Definition des metabolischen Syndroms publiziert (Tabelle 5). Da diese als die aussagekräftigsten Parameter zur Beurteilung des kardiovaskulären Risikos angesehen werden, wurde das Kollektiv im Nachhinein anhand dieser Werte neu eingeteilt.

Tabelle 5: Kriterien für die Definition des metabolischen Syndroms [Grundy et al. 2005], die als Grundlage für die Auswertung verwendet wurden

Mindestens drei der folgenden Kriterien erfüllt:	
Erhöhter Taillenumfang	≥ 102 cm bei Männern ≥ 88 cm bei Frauen
Erhöhte Triglyceride	≥ 1,7 mmol/l oder spezifische Medikation
Erniedrigte HDL-Konzentrationen	< 1,03 mmol/l bei Männern < 1,3 mmol/l bei Frauen oder spezifische Medikation
Erhöhter Blutdruck	≥ 130 mmHg systolisch oder ≥ 85 mmHg diastolisch oder spezifische Medikation
Erhöhte Nüchtern-glucose	≥ 100 mg/dl oder spezifische Medikation

#### 4.4.2 Ausschlusskriterien

Da der Einfluss der Supplementierung an klinisch gesunden Personen untersucht werden sollte, wurden folgende Punkte als Ausschlusskriterium definiert:

- Bereits erfolgte Operation am Herzen (Bypass-OP, PCTA)
- Akutes Koronarsyndrom (Angina pectoris, Myocardinfarkt)
- Apoplex
- Periphere Verschlusskrankheit
- Niereninsuffizienz

Um eine möglichst normale Absorption der verabreichten Nährstoffe sowie einen physiologischen Stoffwechsel zu gewährleisten, galten ferner folgende Zustände als Ausschlusskriterium:

- Erkrankungen oder Operationen am Gastrointestinaltrakt
- Regelmäßige Einnahme von Laxanzien
- Herzinsuffizienz, Herzfehler, Myocarditis, Arrhythmien
- Diabetes mellitus Typ 1

- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Tumorerkrankungen innerhalb der letzten 5 Jahre
- Gerinnungsstörungen bzw. Einnahme gerinnungshemmender Medikamente (Ausnahme: ASS)
- Alkohol- oder Drogenabhängigkeit

Ferner wurden Personen ausgeschlossen, bei denen eine Allergie oder Unverträglichkeit gegen Fisch bekannt war, da das Studienpräparat Fischöl enthielt.

## **4.5 Befragungen**

Um das allgemeine Ernährungsverhalten zu ermitteln, wurde vor Studienbeginn eine Befragung der Verzehrshäufigkeit bestimmter Lebensmittelgruppen durchgeführt. Die Erhebung erfolgte mit Hilfe eines validierten Food-Frequency-Questionnaires (FFQ) [Winkler und Döring 1995], über den ein im Hinblick auf kardiovaskuläre Erkrankungen günstiges bzw. ungünstiges Verzehrsmuster erfasst werden kann. Zusätzlich konnte so überprüft werden, ob Unterschiede im Lebensmittelverzehr zwischen den Gruppen bestanden, durch die mögliche Unterschiede in der Ausgangsversorgung erklärt werden könnten.

## **4.6 Blutwerte**

Die im Rahmen der Studie durchgeführten Analysen sind im Folgenden in kurzer Form beschrieben. Eine ausführlichere Darstellung zu allen Messungen findet sich unter Kapitel 9.1 im Anhang.

### **4.6.1 Gewinnung des Probenmaterials**

Die Blutabnahmen fanden zu beiden Terminen im Institut für Lebensmittelwissenschaft der Universität Hannover statt. Mittels eines Adaptersystems wurde von jedem Probanden Blut in 6 Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) abgenommen:

- 2 Serum-Monovetten 9 ml
- 1 Monovette EDTA 4,9 ml
- 1 Monovette EDTA 7,5 ml
- 1 Monovette Citrat 8,2 ml
- 1 Monovette Li-Heparin (Metallanalytik) 7,5 ml

Insgesamt wurden so von jedem Teilnehmer zu beiden Messzeitpunkten jeweils etwa 46 ml Blut entnommen. Anschließend wurden die Proben sofort im Labor des Institutes für den Versand in die externen Labors weiterverarbeitet. Hierzu wurden die Monovetten bei 1000 g für 10 Minuten zentrifugiert. Plasmaröhrchen wurden sofort nach Eintreffen in die Zentrifuge gegeben, Serumröhrchen wurden zuerst für 20 Minuten bei 4 °C in der Dunkelheit gelagert, um Zeit für die vollständige Gerinnung zu geben. Aus dem Überstand wurden dann die für die jeweiligen Analysen benötigten Mengen in Reaktionsgefäße pipettiert und entweder am selben Tag verschickt oder bei –70°C gelagert, bis sie auf Trockeneis versandt wurden.

Tabelle 6: In den jeweiligen Labors durchgeführte Analysen

Labor	Parameter
Institut für klinische Chemie, Medizinische Hochschule Hannover	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Lipidprofil</li> <li>– Harnsäure</li> <li>– Selen</li> <li>– Zink</li> </ul>
Medizinisches Labor Bremen, Dr. Wittke, Dr. Gerritzen & Partner	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Vitamin E</li> <li>– oxLDL</li> </ul>
Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe	<ul style="list-style-type: none"> <li>– MDA</li> <li>– TEAC</li> <li>– FRAP</li> <li>– PON1-Aktivitäten</li> <li>– PON1-Polymorphismen</li> </ul>

## 4.6.2 Basisparameter

### 4.6.2.1 Harnsäure

Für die Harnsäure-Bestimmung wurde das Test-Kit UA Plus (Roche Diagnostics, Mannheim) verwendet. Dabei wird Harnsäure durch das Enzym Uricase in Allantoin umgewandelt. Das bei dieser Reaktion ebenfalls entstehende Wasserstoffperoxid wird mit TOOS (N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methylanilin) und 4-Aminophenazon unter katalytischer Wirkung einer Peroxidase zu einem Chinondiimin-Farbstoff umgesetzt. Die Konzentration dieses Farbstoffs kann photometrisch bestimmt werden.

Zur Messung der Harnsäure-Konzentration wurde 40 µl Heparin-Plasma zu 1 ml Reagenzlösung aus dem Kit (Puffer + TOOS) in eine Küvette pipettiert, gemischt und nach



5 Minuten Inkubation die Extinktion  $E_0$  bei 555 nm im Hitachi-Photometer U 2000 gemessen. Anschließend wurde in die Küvette 200  $\mu$ l vom Startreagenz (4-Aminophenazon, Peroxidase, Uricase) pipettiert, die Küvette für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und innerhalb von 15 Minuten die Extinktion  $E_x$  gemessen. Zur Auswertung wurde  $\Delta E = E_x - E_0$  berechnet.

#### **4.6.2.2 Lipidprofil**

Die Konzentrationen der Blutlipide wurden am Tag der Probennahme aus dem frischen Serum bestimmt. Zur Messung wurden folgende kommerziell erhältliche enzymatische Testsysteme verwendet:

- Gesamtcholesterol: CHOD-PAP (Roche Diagnostics, Mannheim)
- LDL-Cholesterol: LDL-C L-Type (Wako Chemicals, Neuss)
- HDL-Cholesterol: HDL-C L-Type (Wako Chemicals, Neuss)
- Triglyceride: GPO-PAP (Roche Diagnostics, Mannheim)

#### **4.6.2.3 Glucose**

Die Konzentration von Glucose im Serum wurde mit dem Enzymkit Gluco-quant (Roche Diagnostics, Mannheim) bestimmt. Dabei wird Glucose mittels Hexokinase zu Glucose-6-Phosphat umgesetzt, welches dann katalysiert durch Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase zu Gluconat-6-Phosphat reagiert. Das im zweiten Reaktionsschritt aus  $\text{NADP}^+$  entstehende  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  wird photometrisch bestimmt.

### **4.6.3 Nährstoffversorgung**

#### **4.6.3.1 Vitamin E**

Die Konzentrationen an Vitamin E wurden mittels HPLC mit UV-Detektion aus dem Serum bestimmt. Hierfür wurde eine modifizierte Methode nach Castignani u. Bieri [1983] angewendet.

Um den Zusammenhang der Vitamin-E-Konzentrationen mit verschiedenen Blutlipiden zu ermitteln, wurden die Korrelationen mit Gesamtcholesterol, Triglyceriden sowie der Summe aus beiden (auf molarer Basis) berechnet. Der Korrelationskoeffizient bildete die Grundlage für die Auswahl der Lipidadjustierung, mit der der Einfluss der Lipidkonzentrationen auf die absoluten Vitamin-E-Konzentrationen eliminiert werden sollte [Thurnham et al. 1986, Gross et al. 2003]. Das Ziel war hierbei, eine fälschlich positive Bewertung von Konzentrationen zu vermeiden, die lediglich durch erhöhte Blutlipide bedingt waren.

#### **4.6.3.2 Zink und Selen**

Plasma für die Bestimmung der Zink- und Selenkonzentration wurde aus Lithium-Heparin-Monovetten gewonnen, die besondere Reinheitsanforderungen in Bezug auf Kontaminationen mit Metallen erfüllen. Die Probenröhrchen wurden nach der Blutabnahme lediglich kühl und dunkel gelagert, bevor sie noch am selben Tag an das Labor geschickt wurden. Dort erfolgte die Analyse der Konzentrationen mittels Atomabsorptionsspektrometrie.

#### **4.6.4 Marker für den Redoxstatus**

##### **4.6.4.1 FRAP**

Die Methode nach Benzie und Strain [1996] erfasst die eisenreduzierende Wirkung des Plasmas. Da die physiologischen Effekte von Antioxidanzien vor allem auf ihre reduzierenden Eigenschaften zurückzuführen sind, wird dieses Verfahren verbreitet zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität eingesetzt. Da bei dieser Methode auch im Blut vorhandene Harnsäure als Antioxidans wirkt, werden FRAP-Werte um die Harnsäurekonzentration bereinigt angegeben.

Antioxidanzien im Plasma reduzieren dreiwertiges Eisen im TPTZ-Komplex zur zweiwertigen Form. Die entstehende blaue Färbung der Lösung wird photometrisch gemessen und kann mit Hilfe von Standardlösungen zur Berechnung der antioxidativen Kapazität verwendet werden.

##### **4.6.4.2 TEAC**

Bei dem angewandten Verfahren [Re et al. 1999] handelt es sich um eine Modifikation der ursprünglich von Rice-Evans u. Miller [1994] entwickelten Methode. Sie beruht auf der standardisierten Produktion von Radikalen der Substanz ABTS (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonat) durch Zugabe von Kaliumpersulfat ( $K_2S_2O_8$ ). Die dabei entstehenden Radikale können durch Antioxidanzien im Probenmaterial abgefangen werden. Als Referenz wird hierbei synthetisches Vitamin E (Trolox) verwendet. Die Konzentration der ABTS-Radikale ( $ABTS^{*\cdot}$ ) kann photometrisch bestimmt werden.

Zur Bestimmung der TEAC-Werte im Rahmen dieser Studie wurden Serumproben und verschiedene Konzentrationen einer Trolox-Lösung in die wells einer Microtiter-Platte als Standard vorgelegt, die Reaktion durch Zugabe der  $ABTS^{*\cdot}$ -Lösung gestartet und ihr Verlauf photometrisch quantifiziert.

#### **4.6.4.3 oxLDL**

Die Bestimmung erfolgte mit einem kompetitiven ELISA. Dabei konkurriert oxidiertes LDL in der Probe mit einer definierten Menge oxLDL, das in einer Microtiter-Platte fixiert ist, um die Bindung an spezifische Antikörper. Nach dem Auswaschen der Platte wurden die gebundenen oxLDL-Antikörper-Komplexe durch Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB) sichtbar gemacht und die Menge photometrisch bestimmt.

#### **4.6.4.4 MDA**

Malondialdehyd entsteht durch oxidative Modifikation von Lipiden und wird deshalb als Marker für die oxidative Belastung des Organismus verwendet.

Zur Konzentrationsmessung wird zuerst MDA mittels Trifluoressigsäure aus seinen Bindungen freigesetzt, woraufhin es mit Thiobarbitursäure (TBA) reagieren kann. Der entstehende Komplex bewirkt eine rote Färbung, die quantitativ bestimmt werden kann. Die Analyse erfolgte mittels HPLC, die mit Fluoreszenz-Detektion ausgestattet war.

#### **4.6.4.5 Arylesterase-Aktivität (ARY)**

Die Bestimmung der Arylesterase-Aktivität von PON1 erfolgte mittels einer modifizierten Methode nach Gan et al. [1991]. Dabei wird das Substrat Phenylacetat durch in der Serumprobe vorhandene PON1 hydrolysiert. Der Verlauf der Reaktion wird photometrisch gemessen und die Aktivität pro Zeiteinheit angegeben. Dabei entspricht 1 U der Hydrolyse von 1  $\mu\text{mol}$  Phenylacetat pro ml Probe pro Minute [Aviram et al. 1998b].

#### **4.6.4.6 Paraoxonase-Aktivität (POX)**

Die Aktivität der PON1 gegenüber Paraoxon wird gemessen, indem verdünntes Serum in einer Microtiterplatte vorgelegt und dann durch Zugabe der Paraoxon-Lösung die Reaktion gestartet wird. In der Serumprobe vorhandene PON1 hydrolysiert das Substrat zu p-Nitrophenol und Diethylphosphat; das dabei entstehende p-Nitrophenol wird photometrisch bestimmt. Die Aktivität wird pro Zeiteinheit angegeben, wobei 1 U der Hydrolyse von 1 nmol Paraoxon pro ml Probe pro Minute entspricht [Aviram et al. 1998b].

#### **4.6.5 PON1-Polymorphismen**

Die Genotypisierung von PON1-55 und PON1-192 erfolgte mittels PCR und Restriktionsanalyse.

Vor der Durchführung der PCR wurde die DNA aus den Blutproben isoliert. Zu der aufbereiteten DNA wurde eine Lösung mit den Sense- und Antisense-Primern PON1-55 und PON1-192 gegeben und die PCR im Thermocycler durchgeführt.

Zu Beginn der Restriktionsanalyse wurde die DNA mit dem Restriktionsenzym Hinf 1 geschnitten und die Produkte mittels Gelelektrophorese getrennt. Die DNA-Banden wurden gefärbt und mittels DNA-Längenstandard den entsprechenden Basenpaaren zugeordnet.

## 4.7 Qualitätssicherung

Die Untersuchungsergebnisse der beauftragten Labors wurden gemäß den „Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Studien“ [RiliBÄK 2001] und den harmonisierten ICH-Leitlinien für die EU, Japan und die USA („Leitlinie zur guten klinischen Praxis“: CPMP/ICH/135/95) überprüft. Von den in dieser Arbeit genannten Messgrößen existieren lediglich für Harnsäure und Gesamtcholesterol quantitative Vorgaben zur geforderten Genauigkeit der Analysen.

Zur Qualitätssicherung wurden Verfahrenskontrollen mit einem Kontrollprobensystem durch laborinterne Qualitätskontrollen der verschiedenen Untersuchungslabors durchgeführt und an Ringversuchen teilgenommen. Dabei müssen die Zuverlässigkeitskriterien (Präzision, Richtigkeit, Spezifität der Methode, Nachweisgrenze) berücksichtigt und die entsprechenden festgelegten Grenzwerte eingehalten werden. Die Präzision kennzeichnet das Ausmaß der Übereinstimmung der Ergebnisse wiederholter Messungen, 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 Wert (als Mittelwert von Wiederholungsmessungen) bezeichnet. Die Spezifität der Methode beschreibt die Eignung einer Analysenmethode zur Bestimmung der jeweiligen Messgröße, die Nachweisgrenze ist das kleinste sich vom Leerwert unterscheidende Messergebnis [RiliBÄK 2001].

## 4.8 Statistische Verfahren

Die Auswertung der erhaltenen Daten erfolgte mit dem Programm SPSS 13.0. Vor jeder Berechnung wurde für jeden Parameter mittels Kolmogorov-Smirnov-Test die Normalverteilung der Daten überprüft. Bei einer Signifikanz von  $p > 0,05$  wurde von einer Normalverteilung ausgegangen. In diesem Fall wurden Differenzen sowohl abhängiger als auch unabhängiger Variablen mittels t-Test auf signifikante Unterschiede geprüft und Korrelationen nach Pearson berechnet. Die Ergebnisse für die untersuchten Gruppen wurden für diese Werte als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Lag das Signifikanzniveau

des K-S-Tests  $p \leq 0,05$ , wurde für unabhängige Variablen der Mann-Whitney-U-Test und für abhängige der Wilcoxon-Test verwendet. Ergebnisse von Messwerten wurden als Median sowie 5%- und 95%-Perzentile angegeben. Korrelationen wurden in diesem Fall nach Spearman berechnet.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p = 0,05$  wurde durchgängig als Grenze der Signifikanz angesehen, so dass Werte von  $p \leq 0,05$  als signifikant,  $p \leq 0,01$  als hoch signifikant und  $p \leq 0,001$  als höchst signifikant eingestuft wurden. Zusätzlich zur Irrtumswahrscheinlichkeit wurde bei Korrelationen der Korrelationskoeffizient  $r$  nach Pearson bei normalverteilten Werten und  $r_s$  nach Spearman bei nicht normalverteilten Werten angegeben.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Anthropometrische Daten und Risikofaktoren

Insgesamt wurden 137 Personen mit mindestens zwei kardiovaskulären Risikofaktoren in das Studienkollektiv eingeschlossen. Im Verlauf der sechs Monate dauernden Studie mussten 14 Personen als drop-out registriert werden (Tabelle 7), so dass 123 Personen (67 Männer und 56 Frauen) an beiden Untersuchungen teilnahmen. In der Verumgruppe befanden sich 36 Männer und 30 Frauen (insgesamt 66 Probanden), in der Placebogruppe 31 Männer und 26 Frauen (insgesamt 57 Probanden).

Tabelle 7: Gründe für den Studienabbruch/-ausschluss

Grund	Anzahl der Probanden
Unverträglichkeit des Präparates	1
Hörsturz	1
Herzinfarkt	1
Schlaganfall	1
Unregelmäßige Einnahme	2
Verwendung eines Antioxidanzienpräparates	1
Haarausfall	1
Starke Durchfälle	1
Thrombose	1
Gewichtszunahme	1
Nichterscheinen bei 2. Blutabnahme	3
Summe	14

Das Durchschnittsalter des Kollektivs lag bei 58,3 Jahren. Der jüngste Studienteilnehmer war 42 Jahre, der älteste 78 Jahre alt. Die weiteren zu t0 und t6 erhobenen anthropometrischen Daten finden sich in Tabelle 8. Es zeigten sich zu beiden Zeitpunkten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die dort aufgeführten Basisparameter.

Während des Studienzeitraumes nahm der systolische Blutdruck im Gesamtkollektiv signifikant ab, innerhalb der beiden Untersuchungsgruppen war die Veränderung jedoch nicht signifikant. Die übrigen Basisparameter veränderten sich im Studienverlauf weder im Gesamt- noch in den Teilkollektiven signifikant.

Tabelle 8: Anthropometrische Daten des Studienkollektivs zu t0 und t6

		Gesamtkollektiv n=123	Verumgruppe n=66	Placebogruppe n=57
Alter [a]	t0	58,3 ± 8,1	58,1 ± 8,2	58,6 ± 8,1
Körpergröße [m]	t0	1,71 ± 0,10	1,71 ± 0,09	1,71 ± 0,10
Körpergewicht [kg]	t0	93,4 ± 17,3	94,5 ± 17,7	92,1 ± 17,0
	t6	93,2 ± 17,7	94,0 ± 18,3	92,4 ± 17,1
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	t0	31,9 ± 5,1	32,5 ± 5,7	31,3 ± 4,3
	t6	31,9 ± 5,1	32,3 ± 5,6	31,4 ± 4,4
Taillenumfang [cm]	t0	106,5 ± 13,3	107,8 ± 13,4	105,0 ± 13,1
	t6	106,5 ± 12,9	107,4 ± 13,3	105,4 ± 12,5
Blutdruck systolisch [mmHg]	t0	150,9 ± 19,9	153,1 ± 23,0	148,4 ± 15,2
	t6	147,3 ± 19,0*	148,5 ± 21,0	145,9 ± 16,3
Blutdruck diastolisch [mmHg]	t0	94,5 ± 10,0	93,8 ± 10,7	95,4 ± 9,1
	t6	93,5 ± 11,2	92,7 ± 12,0	94,4 ± 10,4
Blutglucose [mmol/l]	t0	6,59 ± 1,98	6,61 ± 2,20	6,57 ± 1,72
	t6	6,69 ± 1,88	6,78 ± 2,13	6,58 ± 1,55

\* p=0,020

Nach den in der Basisuntersuchung ermittelten Werten betrug der durchschnittliche BMI des Kollektivs 31,9 kg/m<sup>2</sup> und war somit deutlich erhöht. Dies wird auch aus Abbildung 3 deutlich, wonach 60,6 % der Probanden als adipös (BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>) einzustufen waren.

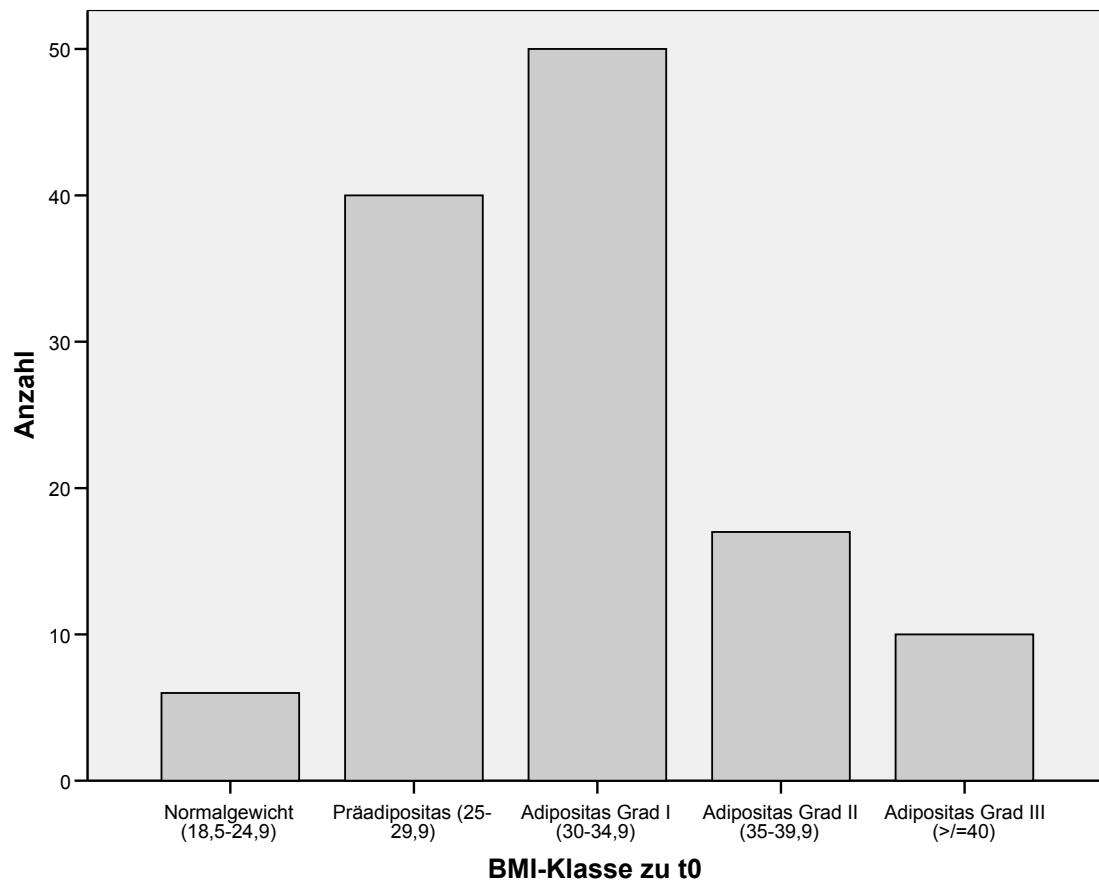


Abbildung 3: Verteilung des Gesamtkollektivs auf die BMI-Klassen zum Zeitpunkt t0 (n=123)

Auf Basis der nach Studienende aktualisierten Kriterien der American Heart Association für das metabolische Syndrom [Grundy et al. 2005] wurden die jeweiligen Risikofaktoren der Probanden neu beurteilt. Die Verteilung auf Basis dieser Risikofaktoren bei Studienbeginn im Gesamtkollektiv und den beiden Interventionsgruppen ist in Tabelle 9 und Abbildung 4 dargestellt. Der Median lag bei 3 Risikofaktoren. Tabelle 10 zeigt die Häufigkeit der einzelnen Marker.



Tabelle 9: Anzahl der Risikofaktoren zum Zeitpunkt t0 nach AHA

Anzahl der Risikofaktoren	Gesamtkollektiv n=123		Verumgruppe n=66		Placebogruppe n=57	
	n	[%]	n	[%]	n	[%]
1	8	6,5	4	6,1	4	7,0
2	24	19,5	13	19,7	11	19,3
3	41	33,3	21	31,8	20	35,1
4	37	30,1	21	31,8	16	28,1
5	13	10,6	7	10,6	6	10,5

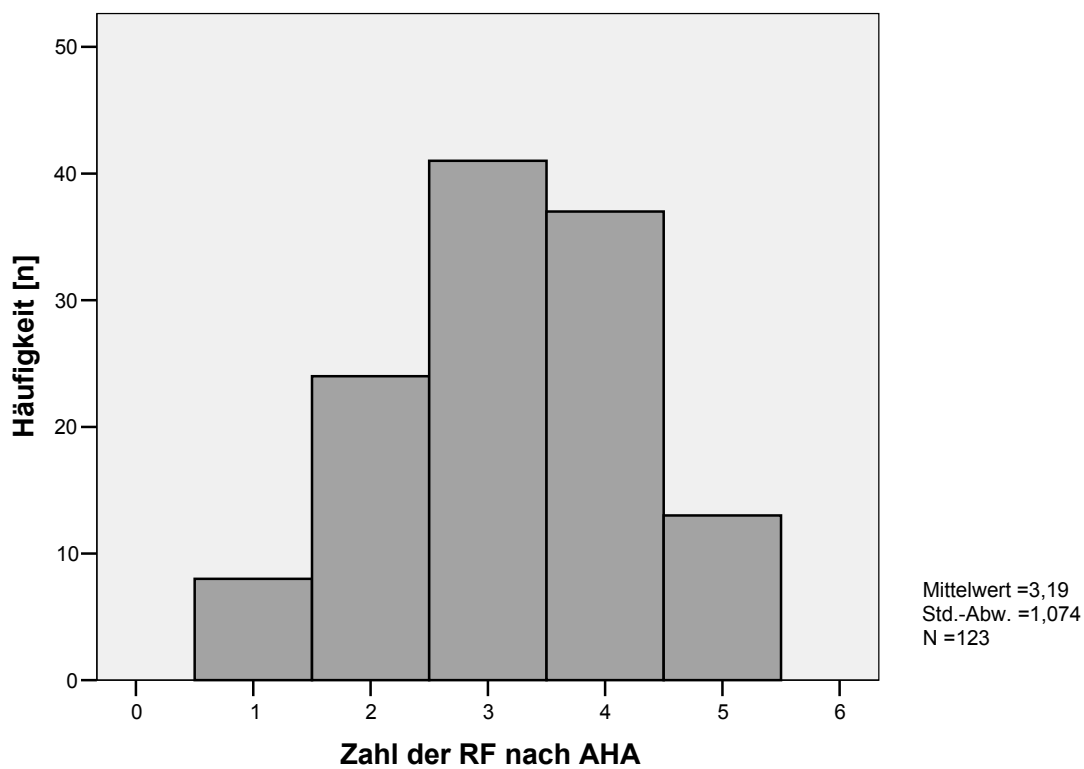


Abbildung 4: Häufigkeit der Anzahl von Risikofaktoren zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv nach Definition der AHA

Tabelle 10: Häufigkeit einzelner Risikofaktoren nach AHA im Gesamtkollektiv (n=123)

	Glucose	Blutdruck	Triglyceride	HDL	Taillenumfang
n	86	122	64	29	95
%	69,9	99,2	52,0	23,6	77,2

Die Konzentrationen der verschiedenen Lipoproteine im Studienverlauf sind in Tabelle 11 dargestellt. In der Verumgruppe sanken die Konzentrationen an LDL-Cholesterol signifikant ab. Hierdurch kam es auch zu einem Absinken der Gesamtcholesterolkonzentrationen. Eine geringere, nicht signifikante Senkung wurde bei den Triglyceridspiegeln beobachtet, während die HDL-Konzentrationen unverändert blieben. In der Placebogruppe zeigte sich keinerlei Veränderung in Bezug auf die Lipoproteinkonzentrationen. Dennoch waren die Unterschiede zwischen beiden Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikant.

Tabelle 11: Konzentrationen der Lipoproteine im Studienkollektiv (n=123), aufgeteilt nach Interventionsgruppe

Placebo (n=57)		Verum (n=66)	
<b>Gesamtcholesterol [mmol/l]</b>			
	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	p
t0	6,06 ± 1,24	6,01 ± 1,32	0,855
t6	6,03 ± 1,16	5,74 ± 1,26	0,179
Δ	-0,02 ± 0,90	-0,28 ± 0,93	0,127
p	0,838	<b>0,017</b>	
<b>HDL-Cholesterol [mmol/l]</b>			
	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	p
t0	1,44 ± 0,42	1,42 ± 0,38	0,733
t6	1,47 ± 0,41	1,41 ± 0,38	0,377
Δ	+0,03 ± 0,26	-0,01 ± 0,26	0,413
p	0,399	0,778	
<b>LDL-Cholesterol [mmol/l]</b>			
	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	p
t0	3,94 ± 0,92	4,01 ± 1,00	0,683
t6	3,89 ± 0,97	3,76 ± 0,87	0,428
Δ	-0,05 ± 0,70	-0,25 ± 0,64	<b>0,096</b>
p	0,618	<b>0,002</b>	
<b>Triglyceride [mmol/l]</b>			
	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	p
t0	2,19 ± 1,67	1,96 ± 0,97	0,351
t6	2,18 ± 1,54	1,80 ± 0,94	0,116
Δ	-0,01 ± 1,24	-0,16 ± 0,97	0,469
p	0,940	0,192	

## 5.2 Gesundheitsverhalten

### 5.2.1 Obst- und Gemüseverzehr

Mit der im Aufnahmefragebogen zu t0 enthaltenen Food-Frequency-Befragung wurde die durchschnittliche Aufnahme von Obst und Gemüse retrospektiv erfasst. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 12: Verzehrshäufigkeit von Obst und Gemüse zum Zeitpunkt t0

Häufigkeit	Gemüse roh (n=123)		Gemüse gegart (n=122)		Obst frisch (n=123)	
	n	%	n	%	n	%
Nie	3	2,4	0	0	4	3,3
1 mal pro Monat	1	0,8	2	1,6	2	1,6
2–3 mal pro Monat	5	4,1	8	6,5	5	4,1
1 mal pro Woche	24	19,5	16	13	6	4,9
2–3 mal pro Woche	51	41,5	64	52	28	22,8
täglich	39	31,7	32	26	78	63,4

Zur weiteren Berechnung wurden für die einzelnen Zufuhrkategorien Punkte vergeben: pro Lebensmittelgruppe 0–5 Punkte (nie=0 bis täglich=5), so dass zwischen 0 und 15 Punkten vergeben wurden. Das zu erreichende Maximum lag mit jeweils 5 Punkten, also „täglich“ Aufnahme von Produkten aus jeder Kategorie bei 15 Punkten. Dabei konnte jedoch nicht zwischen ein- und mehrmaliger Zufuhr pro Tag unterschieden werden.

Die Verteilung der Punkte ist in Abbildung 5 dargestellt. Der Median für die Verzehrshäufigkeit lag bei 13 Punkten, dies entspricht rechnerisch einer Aufnahme von 2–3 Portionen pro Woche aus jeder der drei Lebensmittelkategorien (3 x 4 Punkte).

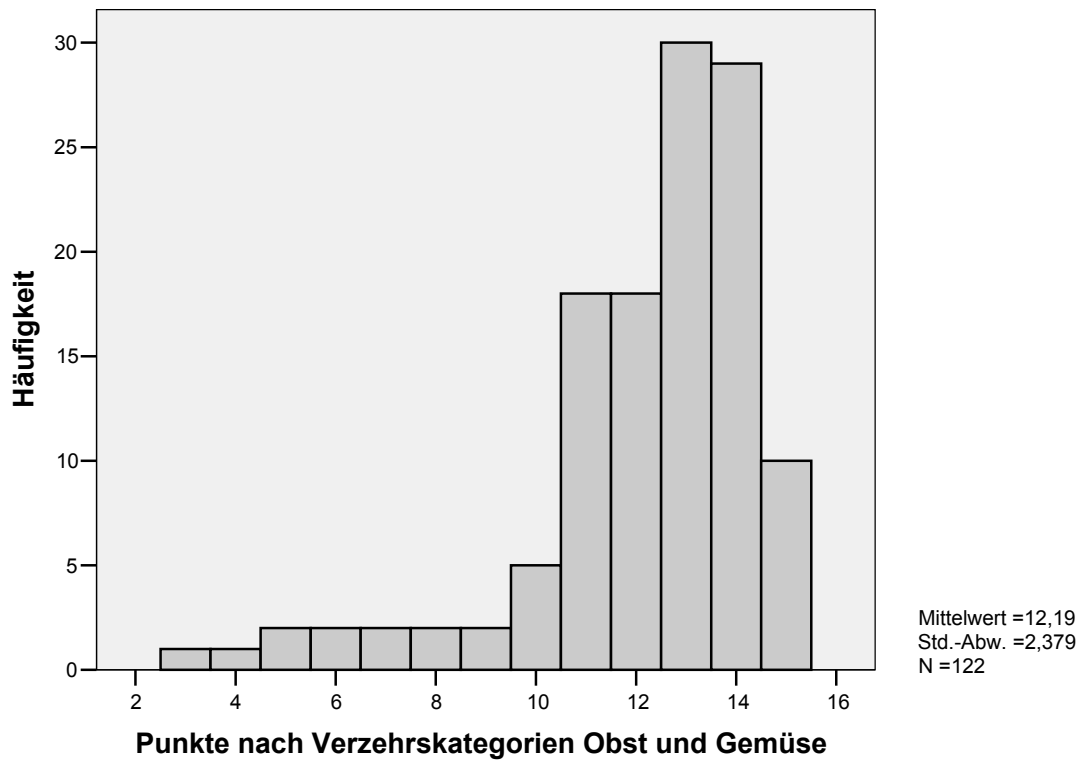


Abbildung 5: Verteilung des Obst- und Gemüseverzehrs im Gesamtkollektiv (n=122)

Zum Zeitpunkt t0 zeigte sich keine Korrelation zwischen der gesamten Verzehrshäufigkeit von Obst und Gemüse (Punkte nach Verzehrshäufigkeit) mit Markern des antioxidativen Stoffwechsels, Versorgungsparametern zu t0 (Zn, Se, Vit. E) oder mit einzelnen kardiovaskulären Risikofaktoren.

Die Probanden wurden nach Punkten für Obst- und Gemüseverzehr in Kategorien eingeteilt und die Ausprägung verschiedener kardiovaskulärer Risikofaktoren zwischen den drei Kategorien verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 13 dargestellt. Es zeigten sich keine Tendenzen zu geringerer Häufigkeit oder Ausprägung kardiovaskulärer Risikofaktoren bei höherem Verzehr von Obst und Gemüse als Marker für einen insgesamt gesundheitsbewussten Lebensstil.

Tabelle 13: Risikofaktoren zum Zeitpunkt t0 stratifiziert nach Obst- und Gemüseverzehr zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (n=122)

Verzehrkatgorie	1 (<11)	2 (11–<13)	3 (13–15)
n	16	36	70
%	13,0	29,3	56,9
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	31,8 ± 4,1	31,6 ± 5,0	32,2 ± 5,4
Taillenumfang [cm]	108,7 ± 12,7	103,9 ± 11,2	107,5 ± 14,4
Blutdruck systolisch [mmHg]	152,9 ± 24,0	147,3 ± 18,9	152,3 ± 19,6
Blutdruck diastolisch [mmHg]	96,4 ± 9,2	96,0 ± 11,3	93,5 ± 9,5
Blutglucose [mmol/l]	6,16 ± 2,3	6,40 ± 1,8	6,75 ± 2,0
Gesamtcholesterol [mmol/l]	6,31 ± 1,2	5,81 ± 1,1	6,09 ± 1,4
LDL [mmol/l]	4,16 ± 0,8	3,91 ± 1,0	3,98 ± 1,0
HDL [mmol/l]	1,47 ± 0,4	1,31 ± 0,3	1,47 ± 0,4 <sup>1</sup>
Gesamtcholesterol/HDL	4,53 ± 1,4	4,57 ± 1,1	4,37 ± 1,3
Triglyceride [mmol/l]	2,17 ± 1,7	1,94 ± 1,2	2,12 ± 1,3

<sup>1</sup> sign. Unterschied zu Kategorie 2 (p=0,020)

Auch die in Tabelle 14 gezeigten Antioxidanzienwerte wurden nicht durch den in dieser Form erfassten und ausgewerteten Obst- und Gemüseverzehr beeinflusst.

Tabelle 14: Antioxidanzienmarker stratifiziert nach Obst- und Gemüseverzehr zu t0 im Gesamtkollektiv (n=122)

Verzehrkatgorie	1 (<11)	2 (11–<13)	3 (13–15)
n	16	36	70
%	13,0	29,3	56,9
Vitamin E [ $\mu\text{mol/l}$ ]	38,7 $\pm$ 13,0	36,0 $\pm$ 12,6	35,3 $\pm$ 9,7
Vit. E / TC+TG [ $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ ]	4,56 $\pm$ 0,7	4,65 $\pm$ 1,2	4,37 $\pm$ 1,0
Zink [ $\mu\text{mol/l}$ ]	13,7 $\pm$ 2,3	13,7 $\pm$ 2,0	13,6 $\pm$ 2,1
Selen [ $\mu\text{mol/l}$ ]	1,06 $\pm$ 0,2	1,08 $\pm$ 0,3	1,02 $\pm$ 0,3
MDA [ $\mu\text{mol/l}$ ]	0,94 $\pm$ 0,3	0,85 $\pm$ 0,2	0,97 $\pm$ 0,3 <sup>1</sup>
TEAC [ $\mu\text{mol/l}$ ]	2271 $\pm$ 103	2280 $\pm$ 94	2296 $\pm$ 96
FRAP [ $\mu\text{mol/l}$ ]	807,5 $\pm$ 92,3	811,0 $\pm$ 175,1	810,7 $\pm$ 142,5
FRAP / Harnsäure	2,21 $\pm$ 0,26	2,23 $\pm$ 0,27	2,24 $\pm$ 0,31
oxLDL [U/l]	71,92 $\pm$ 21,7 (n=13)	66,90 $\pm$ 16,2 (n=30)	69,38 $\pm$ 15,0 (n=58)
oxLDL/LDL [U/mmol]	17,14 $\pm$ 3,81 (n=13)	17,76 $\pm$ 3,49 (n=30)	18,18 $\pm$ 4,08 (n=58)
POX [U/l]	130,0 $\pm$ 75,8	109,6 $\pm$ 63,2	115,4 $\pm$ 72,8
ARY [U/ml]	161,1 $\pm$ 43,0	148,8 $\pm$ 31,6	152,3 $\pm$ 33,0

<sup>1</sup> sign. Unterschied zu Kategorie 2 (p=0,043)

Tabelle 15: Veränderungen von Antioxidanzienmarkern im Studienverlauf stratifiziert nach Obst- und Gemüseverzehr in der Verumgruppe (n=65)

Verzehrkatgorie	1 (<11)	2 (11–<13)	3 (13–15)
n	9	21	35
%	13,8	32,3	53,8
Δ Vitamin E [μmol/l]	+17,3 ± 6,4	+10,7 ± 8,9 <sup>1</sup>	+12,8 ± 9,3
Δ Vit. E / TC+TG [μmol/mmol]	+1,93 ± 0,5	+1,64 ± 1,4	+2,22 ± 0,9
Δ Zink [μmol/l]	–0,01 ± 2,8	+1,71 ± 2,7	+1,13 ± 1,9
Δ Selen [μmol/l]	+0,79 ± 0,4	+0,40 ± 0,4 <sup>2</sup>	+0,52 ± 0,5
Δ MDA [μmol/l]	+0,34 ± 0,4	+0,20 ± 0,3	+0,19 ± 0,4
Δ TEAC [μmol/l]	+29,4 ± 101,1	+19,2 ± 121,8	+53,9 ± 154,8
Δ FRAP [μmol/l]	+58,7 ± 120,7	+3,55 ± 106,6	+5,95 ± 115,3
Δ FRAP / Harnsäure	+0,075 ± 0,22	+0,048 ± 0,30	+0,054 ± 0,33
Δ oxLDL [U/l]	–1,57 ± 16,5 (n=7)	–5,35 ± 9,30 (n=17)	–12,10 ± 11,69 <sup>3,4</sup> (n=30)
Δ oxLDL / LDL [U/mmol]	–0,41 ± 3,85 (n=7)	–0,544 ± 2,08 (n=17)	–1,871 ± 2,79 (n=30)
Δ POX [U/l]	+1,63 ± 37,8	+7,61 ± 20,2	+9,15 ± 17,8
Δ ARY [U/ml]	+10,2 ± 19,0	+12,9 ± 17,9	+11,0 ± 19,1

<sup>1</sup> Unterschied zu Kategorie 1 (p=0,055)

<sup>2</sup> sign. Unterschied zu Kategorie 1 (p=0,015)

<sup>3</sup> Unterschied zu Kategorie 1 (p=0,055)

<sup>4</sup> sign. Unterschied zu Kategorie 2 (p=0,047)

Die Veränderung der absoluten oxLDL-Spiegel in Gruppe 2 korrelierte invers mit den Punkten für den Obst- und Gemüseverzehr (n=54, r=–0,210, p=0,032). Andere signifikante Korrelationen mit Veränderungen von Antioxidanzienmarkern in der Verumgruppe bestanden nicht.

Auch die Verzehrshäufigkeit von Fleisch (mit oder ohne Geflügel) korrelierte nicht mit Antioxidanzien-Markern, Konzentrationen an Zn, Se, Vit. E oder Risikofaktoren.

## 5.2.2 Rauchverhalten

Zum Zeitpunkt t0 zeigten sich im Gesamtkollektiv keine signifikanten Unterschiede zwischen Rauchern, Exrauchern und Nichtrauchern in Bezug auf die gemessenen Statusparameter. In



der Interventionsgruppe zeigte sich nur ein signifikanter Unterschied zwischen aktiven und Exrauchern in Bezug auf die Veränderung der Zinkspiegel ( $-0,62$  vs.  $+1,67 \mu\text{mol/l}$ ).

Wurde das Kollektiv nach Menge der aktuell konsumierten Zigaretten eingeteilt, zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Kategorien in Bezug auf die gemessenen Parameter (Tabelle 16) (ANOVA, Scheffé). Auch die Veränderungen in der Interventionsgruppe zwischen den Messzeitpunkten wurden nicht durch das Rauchverhalten beeinflusst.

Tabelle 16: Antioxidanzien-Parameter nach Rauchverhalten zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (n=123)

Zigaretten/d	Nicht-/Exraucher	1 – <10	10 – <20	>20
n	102	5	7	9
%	82,9	4,1	5,7	7,3
TEAC [ $\mu\text{mol/l}$ ]	2286,9 $\pm$ 93,6	2357,2 $\pm$ 91,0	2271,6 $\pm$ 109,0	2266,2 $\pm$ 111,8
FRAP [ $\mu\text{mol/l}$ ]	817,4 $\pm$ 151,4	767,2 $\pm$ 135,8	881,8 $\pm$ 79,4	710,0 $\pm$ 77,0
Harnsäure [ $\mu\text{mol/l}$ ]	370,1 $\pm$ 81,9	360,0 $\pm$ 65,7	368,3 $\pm$ 60,9	338,0 $\pm$ 49,2
FRAP/Harnsäure	2,24 $\pm$ 0,28	2,14 $\pm$ 0,17	2,45 $\pm$ 0,47	2,13 $\pm$ 0,27
MDA [ $\mu\text{mol/l}$ ]	0,92 $\pm$ 0,30	0,86 $\pm$ 0,33	1,00 $\pm$ 0,34	1,03 $\pm$ 0,11
oxLDL [U/l]	68,73 $\pm$ 15,37 (n=84)	56,20 $\pm$ 16,68 (n=5)	70,60 $\pm$ 28,31 (n=5)	77,88 $\pm$ 11,63 (n=8)
oxLDL/LDL [U/mmol]	18,11 $\pm$ 3,87 (n=84)	15,50 $\pm$ 2,86 (n=5)	18,92 $\pm$ 4,58 (n=5)	17,10 $\pm$ 3,62 (n=8)
POX [U/l]	117,9 $\pm$ 69,7	144,3 $\pm$ 113,2	83,8 $\pm$ 43,2	114,5 $\pm$ 82,1
ARY [U/ml]	151,4 $\pm$ 32,3	141,8 $\pm$ 27,1	161,5 $\pm$ 38,3	161,3 $\pm$ 51,1

## 5.3 Konzentrationen von Antioxidanzien im Blut

### 5.3.1 Vitamin E

Aufgrund der zentralen Bedeutung von Vitamin E im antioxidativen Stoffwechsel war im Rahmen der Studie zunächst von Interesse, inwieweit durch die verabreichte Dosis im Form von  $\alpha$ -Tocopherol über den Zeitraum von sechs Monaten eine Erhöhung des Körperbestandes erzielt werden konnte. Die Serumkonzentrationen zu beiden Messzeitpunkten sind in Tabelle 17 aufgeführt.

Tabelle 17: Serumkonzentrationen von Vitamin E im Studienverlauf [ $\mu\text{mol/l}$ ]

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert $\pm$ SD	n	Mittelwert $\pm$ SD	n	
t0	36,0 $\pm$ 11,3	57	35,8 $\pm$ 10,7	66	0,915
t6	36,9 $\pm$ 8,6	57	48,8 $\pm$ 11,9	66	<b>&lt;0,001</b>
$\Delta$	+0,8 $\pm$ 9,6		+12,9 $\pm$ 9,0		<b>&lt;0,001</b>
p	0,523		<b>&lt;0,001</b>		

Zu Beginn der Studie wiesen beide Gruppen identische Konzentrationen an Vitamin E im Serum auf. In der Placebogruppe zeigte sich keine signifikante Veränderung im Studienverlauf, wohingegen in der Verumgruppe ein signifikanter Anstieg der Vitamin-E-Serumspiegel zu verzeichnen war. In der Folge waren die Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt t6 in der Verumgruppe signifikant höher als in der Placebogruppe.

Um sicherzustellen, dass mögliche Effekte der Intervention nicht auf die Beseitigung eines unentdeckten Mangels zurückzuführen sind, sondern eine diätetische Wirkung der zusätzlichen Nährstoffgabe darstellen, wurde zunächst das Erreichen der als normal angesehenen Konzentrationen geprüft. Die vom Labor angegebene Untergrenze des Normalbereiches von 12  $\mu\text{mol/l}$  Vitamin E im Serum deckt sich mit den in der Literatur verwendeten Werten [DGE et al. 2000, Institute of Medicine 2000, Greiling u. Gressner 1995]. Kein Proband aus dem gesamten Kollektiv lag zu einem der beiden Messzeitpunkte unterhalb dieser Grenze zum klinisch manifesten Vitamin-E-Mangel.

Wurde das Kollektiv in Quintilen der Konzentration zum Zeitpunkt t0 eingeteilt und die jeweilige Veränderung der Vitamin-E-Spiegel berechnet, zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit der Differenzen vom individuellen Ausgangswert (Abbildung 6). Die Mittelwerte der einzelnen Quintilen sowie minimale und maximale Werte sind in Tabelle 18 dargestellt. Bei den Teilnehmern mit der schlechtesten Versorgung erhöhte sich die Konzentration am stärksten; mit zunehmenden Basiswerten wurde ein abnehmender Anstieg beobachtet. Während sich in der Verumgruppe auch bei den Personen mit den höchsten Konzentrationen noch ein Anstieg im Studienverlauf zeigte, fielen die Spiegel in den oberen beiden Quintilen der Placebogruppe ab.

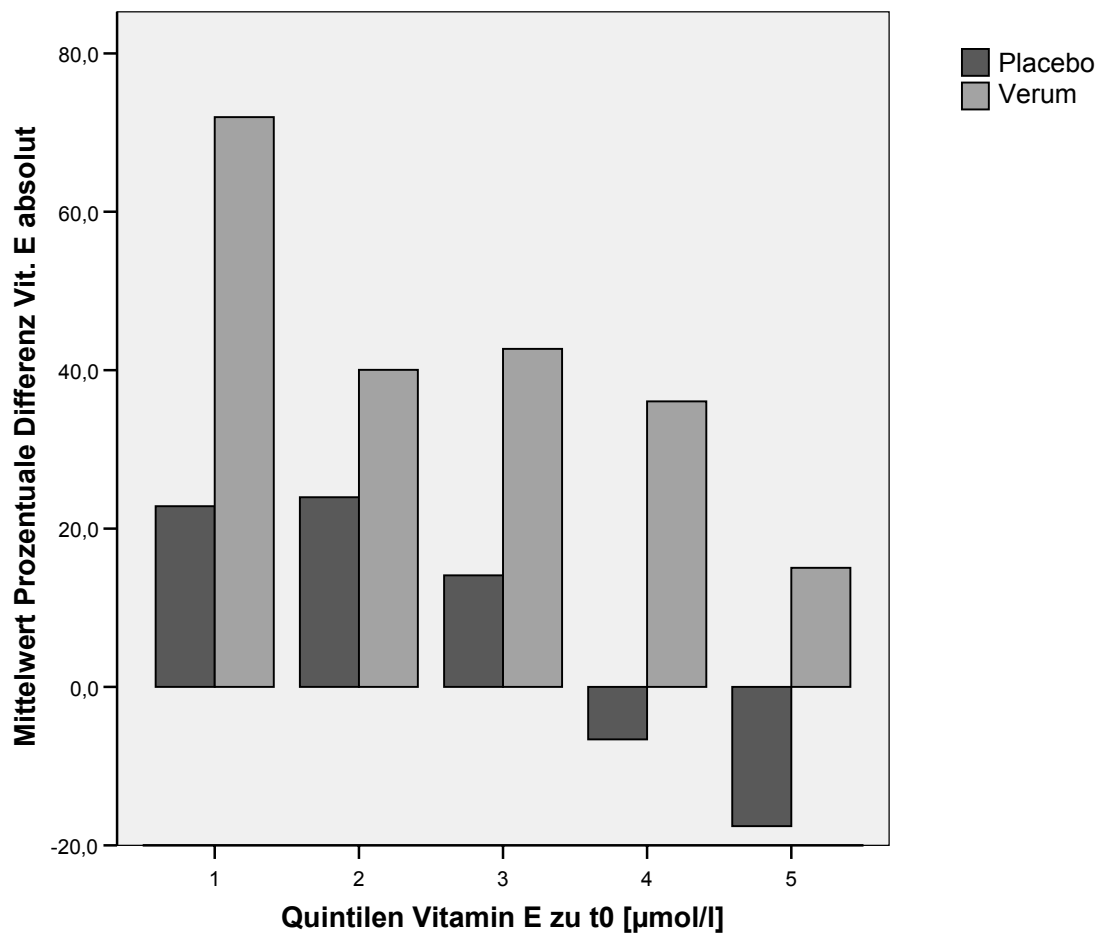


Abbildung 6: Prozentuale Differenz der absoluten Vitamin-E-Konzentration im Studienverlauf nach Quintile der Ausgangswerte zu t0

Tabelle 18: Absolute Konzentrationen an Vitamin E in Quintilen des Gesamtkollektivs (n=123) zum Zeitpunkt t0 [ $\mu\text{mol/l}$ ]

Quintile	1	2	3	4	5
Mittelwert	23,6	28,0	33,8	39,7	52,9
Min.–Max.	20,4–25,5	25,8–30,7	30,9–36,9	37,2–43,7	43,7–68,0

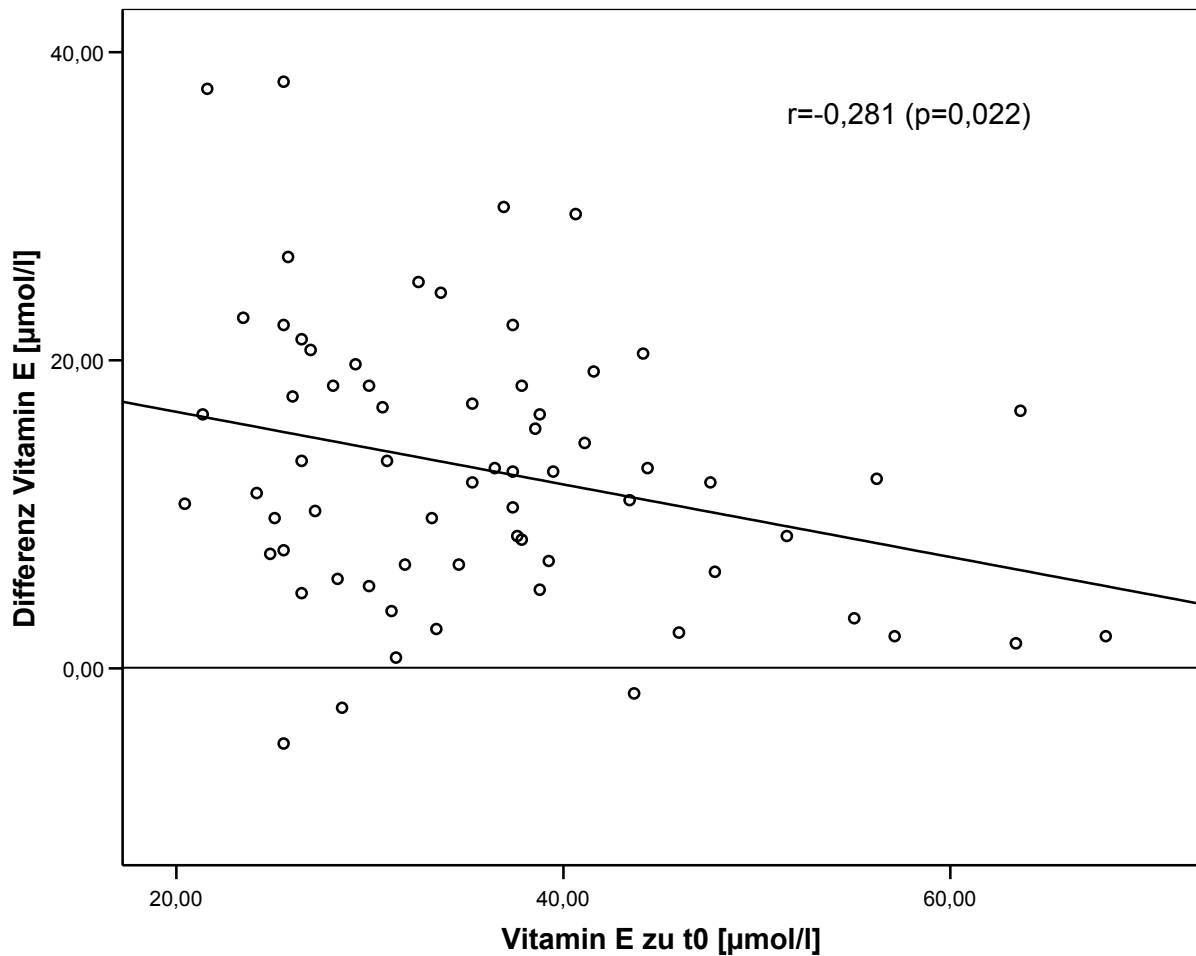


Abbildung 7: Veränderungen der absoluten Vitamin-E-Konzentrationen in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0

Um eine fehlerhafte Beurteilung durch den Einfluss der Blutlipide zu vermeiden, wurden die Vitamin-E-Serumkonzentrationen für beide Untersuchungszeitpunkte zusätzlich lipidadjustiert. Es bestand eine hoch signifikante Korrelation (jeweils  $p < 0,001$ ) zwischen den Vitamin-E-Spiegeln im Gesamtkollektiv und sowohl Gesamtcholesterol ( $r=0,600$ ), LDL-Cholesterol ( $r=0,500$ ) als auch Triglyceriden ( $r=0,463$ ). Der deutlichste Zusammenhang zeigte sich mit der Summe aus Gesamtcholesterol und Triglyceriden ( $r=0,665$ ). Da sowohl die Lipidadjustierung bezogen auf Gesamtcholesterol (Vit. E / TC) als auch auf die Summe von Gesamtcholesterol und Triglyceriden (Vit. E / TC+TG) in der Vergangenheit Verwendung fand, wurden zur besseren Vergleichbarkeit beide Verfahren für die Lipidadjustierung angewendet (Tabelle 19 und Tabelle 20). Im Gesamtkollektiv bestand zum Zeitpunkt t0 eine hochsignifikante Korrelation von  $r=0,825$  zwischen den auf beide Lipidfraktionen bezogenen Werten und den nur auf Cholesterol bezogenen. Auch die jeweiligen Veränderungen in der Verumgruppe zwischen den Messzeitpunkten korrelierten mit  $r=0,814$  hochsignifikant miteinander (Abbildung 8).

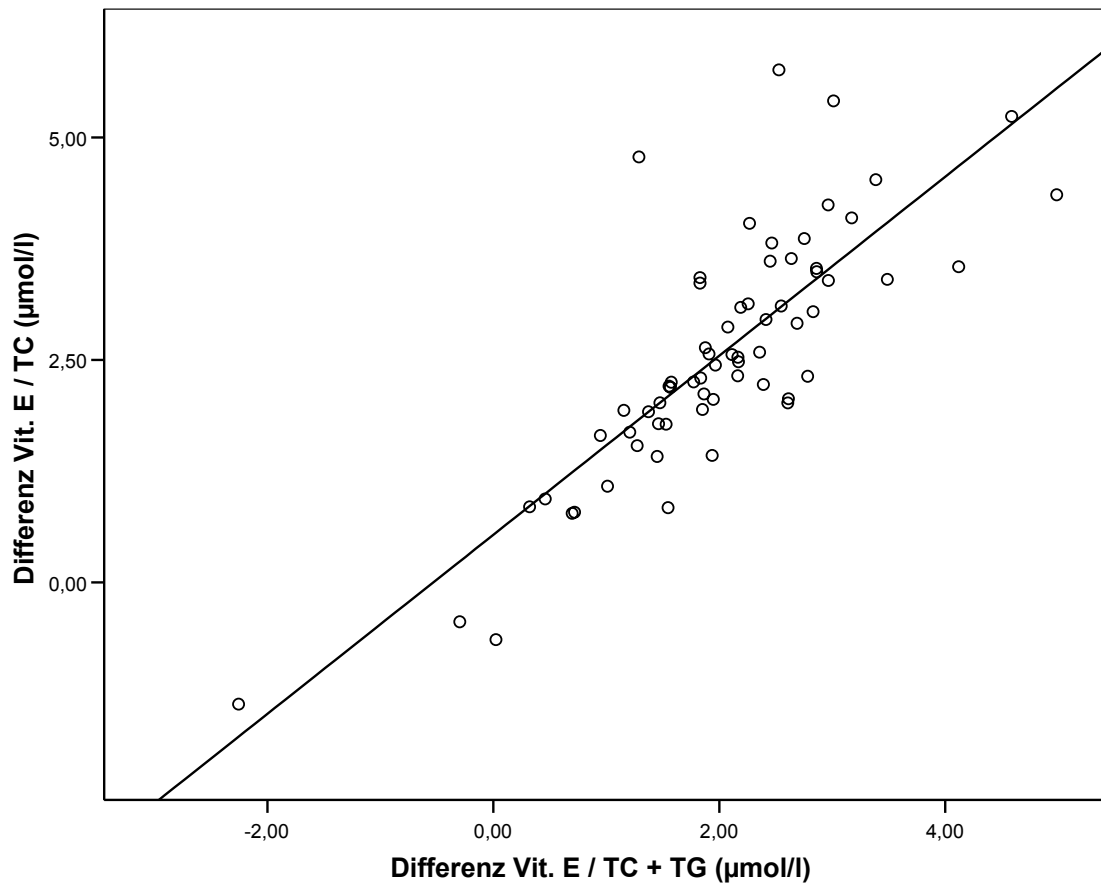


Abbildung 8: Korrelation zwischen den Veränderungen der auf Gesamtcholesterol und auf Gesamtlipide bezogenen lipidadjustierten Konzentrationen von Vitamin E ( $r=0,814$ ,  $p<0,001$ )

Tabelle 19: Auf die Summe aus Gesamtcholesterol und Triglyceriden bezogene lipidadjustierte Vitamin-E-Spiegel [ $\mu\text{mol Vit.E} / \text{mmol TC+TG}$ ] vor und nach Intervention

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert $\pm$ SD	n	Mittelwert $\pm$ SD	n	
t0	4,44 $\pm$ 1,10	57	4,52 $\pm$ 0,94	66	0,656
t6	4,53 $\pm$ 0,59	57	6,53 $\pm$ 1,07	66	<b>&lt;0,001</b>
$\Delta$	+0,09 $\pm$ 1,01		+2,01 $\pm$ 1,09		<b>&lt;0,001</b>
p	0,493		<b>&lt;0,001</b>		

Tabelle 20: Auf Gesamtcholesterol bezogene lipidadjustierte Vitamin-E-Spiegel [ $\mu\text{mol Vit.E} / \text{mmol TC}$ ] vor und nach Intervention

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert $\pm$ SD	n	Mittelwert $\pm$ SD	n	
t0	5,97 $\pm$ 1,49	57	6,00 $\pm$ 1,37	66	0,903
t6	6,17 $\pm$ 1,16	57	8,56 $\pm$ 1,51	66	<b>&lt;0,001</b>
$\Delta$	+0,20 $\pm$ 1,41		+2,56 $\pm$ 1,35		<b>&lt;0,001</b>
p	0,288		<b>&lt;0,001</b>		

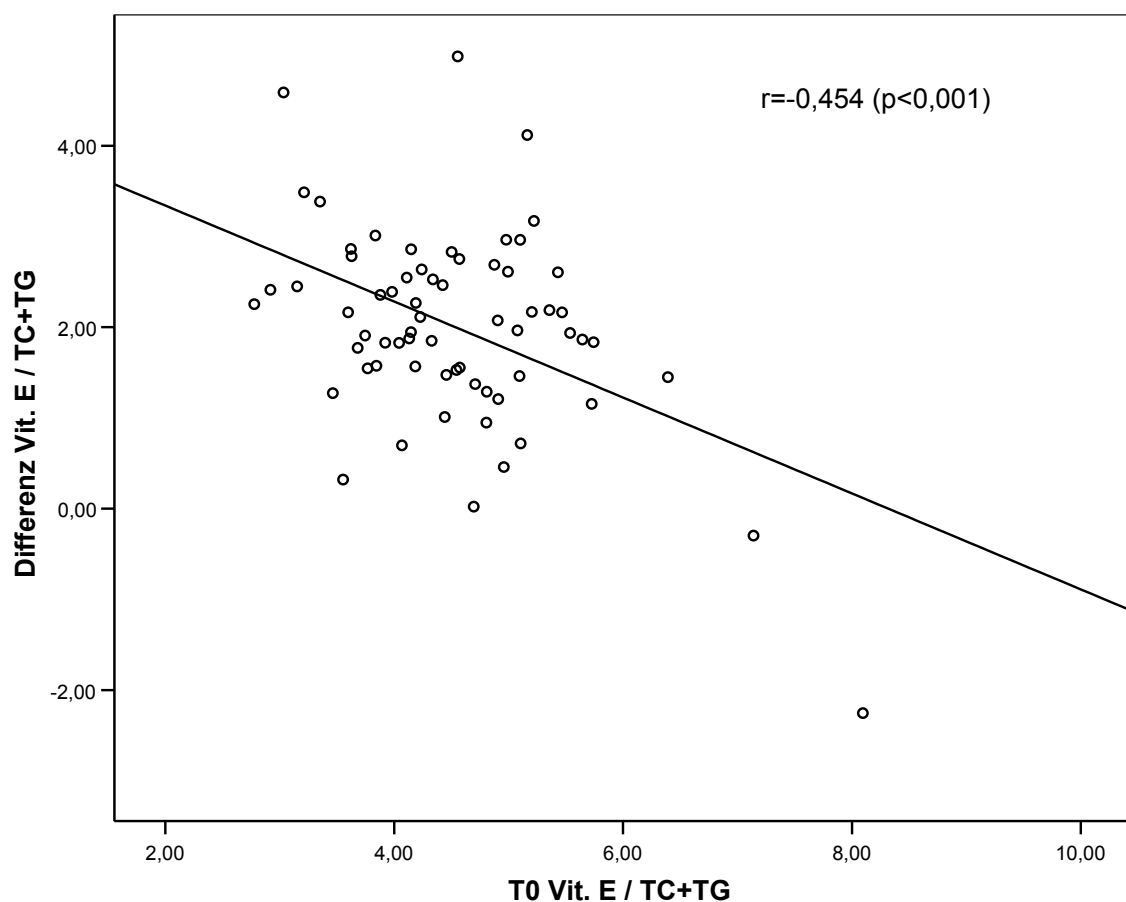


Abbildung 9: Veränderungen der lipidadjustierten Vitamin-E-Konzentrationen in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0

Auch die lipidadjustierten Konzentrationen an Vitamin E unterschieden sich zu Beginn der Studie nicht signifikant voneinander. In der Placebogruppe war keine signifikante Veränderung im Studienverlauf zu verzeichnen, während die Werte in der Verumgruppe hoch signifikant anstiegen. Zum Zeitpunkt t6 ergab sich daraus zwischen beiden Gruppen ein ebenfalls hoch signifikanter Unterschied in Bezug auf die lipidadjustierten Vitamin-E-Spiegel.

In Bezug auf präventive Effekte der Intervention wurde die Zahl der Teilnehmer berechnet, die nicht die als präventiv angesehene Konzentration von 30  $\mu\text{mol/l}$  Vitamin E [Biesalski et al. 1997b, Gey 1998, DGE et al. 2000] erreichten. Wie Tabelle 21 zeigt, wurde dieser Wert zum Zeitpunkt t0 von mehr als einem Drittel der Teilnehmer unterschritten.

Tabelle 21: Verteilung des Studienkollektivs (n=123) auf Referenzbereiche der Vitamin-E-Serumkonzentration

	Gesamtkollektiv N=123		Verumgruppe N=66		Placebogruppe N=57	
	n	[%]	n	[%]	n	[%]
<30 $\mu\text{mol/l}$						
t0	44	35,8	24	36,4	20	35,1
t6	16	13,0	2	3,0	14	24,6
$\geq 30 \mu\text{mol/l}$						
t0	79	64,2	42	63,6	37	64,9
t6	107	87,0	64	97,0	43	75,4

Zum Zeitpunkt t6 erreichten bis auf zwei Personen alle Teilnehmer aus der Verumgruppe den präventiven Bereich der Vitamin-E-Konzentration. In der Placebogruppe nahm diese Zahl nur geringfügig zu.

Aufgrund der insgesamt deutlich erhöhten Lipoproteinkonzentrationen im Kollektiv wurde auch die Einteilung in Bezug auf das Erreichen der angestrebten protektiven Werte lipidkorrigiert vorgenommen. Auf Basis epidemiologischer Daten ist nach Gey [1998] hierbei ein Verhältnis von 5,0  $\mu\text{mol}$   $\alpha$ -Tocopherol pro mmol Gesamtcholesterol anzustreben.

Tabelle 22: Verteilung des Studienkollektivs (n=123) auf lipidkorrigierte Referenzbereiche der Vitamin-E-Serumkonzentration (Vit. E / TC)

	Gesamtkollektiv N=123		Verumgruppe N=66		Placebogruppe N=57	
	n	[%]	n	[%]	n	[%]
<5,0 µmol/ mmol TC						
t0	28	22,8	11	16,7	17	29,8
t6	10	8,1	0	0	10	17,5
≥ 5,0 µmol/ mmol TC						
t0	95	77,2	55	83,3	40	70,2
t6	113	91,9	66	100	47	82,5

Zum Zeitpunkt t6 erreichten alle Probanden der Verumgruppe einen als protektiv angesehenen lipidkorrigierten Serumspiegel an Vitamin E, wohingegen die Zahl in der Placebogruppe nur um sieben Personen abnahm und bei Studienende noch 17,5 % unter diesem Wert lag.

Werden für die Berechnung der lipidkorrigierten Vitamin-E-Spiegel die als wünschenswert angesehenen Konzentrationen an Gesamtlipiden von 5,2 mmol/l Gesamtcholesterol und 1,7 mmol/l Triglyceriden [Hahn et al. 2006, S. 389] zugrunde gelegt, ergibt sich ein anzustrebender Wert von 4,3 µmol α-Tocopherol pro Millimol Lipide (Gesamtcholesterol + Triglyceride). Die Einteilung auf dieser Basis ist in Tabelle 23 dargestellt.



Tabelle 23: Verteilung des Studienkollektivs (n=123) auf lipidkorrigierte Referenzbereiche der Vitamin-E-Serumkonzentration (Vit. E / (TC+TG))

	Gesamtkollektiv N=123		Verumgruppe N=66		Placebogruppe N=57	
	n	[%]	n	[%]	n	[%]
< 4,3 µmol/ mmol TC+TG						
t0	61	49,6	29	43,9	32	56,1
t6	23	18,7	1	1,5	22	38,6
≥ 4,3 µmol/ mmol TC+TG						
t0	62	50,4	37	56,1	25	43,9
t6	100	81,3	65	98,5	35	61,4

Die Zahl der Studienteilnehmer, die nicht die auf Gesamtlipide bezogenen protektiven Spiegel erreichten, war zu beiden Untersuchungszeitpunkten und in beiden Gruppen höher als bei Korrektur nur um Gesamtcholesterol.

### 5.3.2 Zink

Die durchschnittlichen Plasmazinkspiegel des Gesamtkollektivs lagen zu Beginn der Studie mit  $13,6 \pm 2,1$  µmol/l innerhalb des Normalbereiches von 11–23 µmol/l [Greiling u. Gressner 1995]; ein Unterschied zwischen den Gruppen bestand hierbei nicht. Keine signifikante Veränderung im Verlauf des Beobachtungszeitraumes zeigte sich in der Kontrollgruppe, während die durchschnittliche Konzentration in der Verumgruppe signifikant anstieg (Tabelle 24). Aufgrund des parallel erfolgten geringen Anstiegs der Plasmazinkspiegel in der Placebogruppe war der Unterschied zu t6 jedoch nicht signifikant. Die Differenz im Studienverlauf war dagegen zwischen den beiden Gruppen signifikant unterschiedlich.

Tabelle 24: Veränderungen der Zinkspiegel [ $\mu\text{mol/l}$ ] im Studienverlauf

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert $\pm$ SD	n	Mittelwert $\pm$ SD	n	
t0	13,8 $\pm$ 2,3	57	13,5 $\pm$ 1,8	65	0,398
t6	14,0 $\pm$ 1,9	57	14,6 $\pm$ 1,6	65	0,051
	+0,20 $\pm$ 2,72		+1,16 $\pm$ 2,30		<b>0,037</b>
p	0,574		<b>&lt;0,001</b>		

Zum Zeitpunkt t0 wiesen 11 Probanden eine Zinkkonzentration im Plasma unterhalb des Normalbereiches auf. Diese erreichten unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit normale Werte zu t6. Dagegen lag am Ende des Interventionszeitraumes je eine Person aus beiden Gruppen unterhalb des Normalbereiches, die bei Studienbeginn noch normale Werte aufwies.

Eine Person aus der Placebogruppe zeigte zum Zeitpunkt t0 mit 23,8  $\mu\text{mol/l}$  einen erhöhten Wert, der jedoch am Ende des Interventionszeitraumes mit 13,3  $\mu\text{mol/l}$  wieder im Normalbereich lag. Alle anderen Teilnehmer wiesen zu keinem Zeitpunkt über der Norm liegende Werte auf.

Die Veränderung der Werte bei den Probanden der Interventionsgruppe in Abhängigkeit vom Basiswert zu t0 ist in Abbildung 10 dargestellt. Es bestand eine signifikante negative Korrelation zwischen den Ausgangswerten und der Differenz zwischen t0 und t6. Wie aus der Nulllinie ersichtlich, fielen bei einigen Probanden die Werte trotz Supplementierung mit 15 mg/d gegenüber der zu t0 gemessenen Konzentration ab.

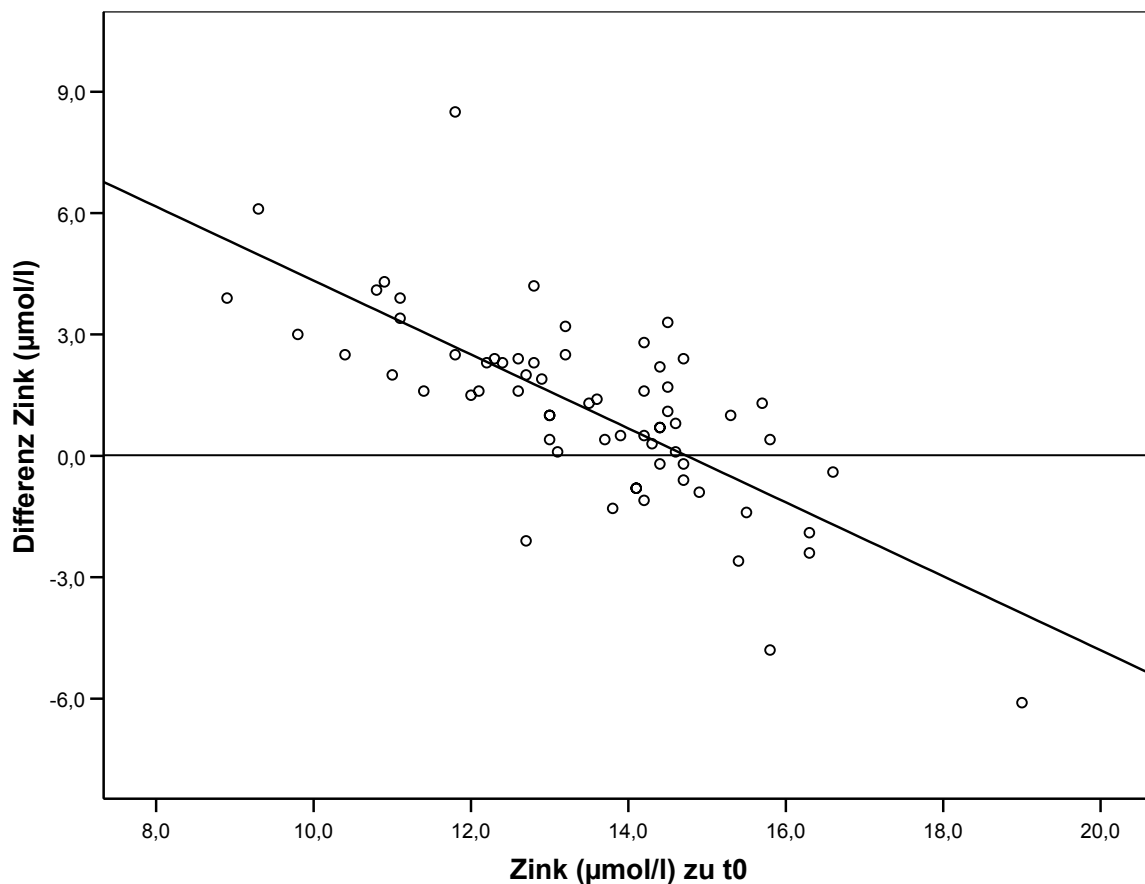


Abbildung 10: Zusammenhang zwischen den Zinkkonzentrationen im Plasma zum Zeitpunkt t0 und der Veränderung im Studienverlauf in der Verumgruppe (n=65)

### 5.3.3 Selen

Der Plasma-Selenspiegel im Gesamtkollektiv lag zur Basisuntersuchung bei  $1,04 \pm 0,30$   $\mu\text{mol/l}$ . Verum- und Placebogruppe unterschieden sich zu diesem Zeitpunkt nicht signifikant voneinander (Tabelle 25). Die durchschnittliche Selenversorgung des Gesamtkollektivs zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung lag im Normalbereich des Labors (Medizinische Hochschule Hannover) von  $0,76$ – $1,46$   $\mu\text{mol/l}$ . Zum Zeitpunkt t6 lagen die Plasmakonzentrationen in beiden Gruppen signifikant höher als zu t0. Allerdings war der mittlere Anstieg in der Verumgruppe signifikant höher als in der Placebogruppe. Zum Zeitpunkt t0 wiesen 23 Teilnehmer (Placebo: 10; Verum: 13) Selenspiegel unterhalb des Normalbereiches auf. Von diesen erreichte lediglich eine Person aus der Placebogruppe am Ende der Studie nicht den unteren Grenzwert. Alle anderen Probanden aus beiden Gruppen lagen oberhalb dieses Wertes.

Tabelle 25: Veränderungen der Selenpiegel [ $\mu\text{mol/l}$ ] im Studienverlauf

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert $\pm$ SD	n	Mittelwert $\pm$ SD	n	
t0	1,04 $\pm$ 0,27	57	1,05 $\pm$ 0,33	65	0,763
t6	1,31 $\pm$ 0,32	57	1,58 $\pm$ 0,31	65	<b>&lt;0,001</b>
	+0,27 $\pm$ 0,35		+0,52 $\pm$ 0,46		<b>0,001</b>
p	<b>&lt;0,001</b>		<b>&lt;0,001</b>		

Die Veränderungen in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten sind in Abbildung 11 dargestellt. Nur bei wenigen Personen wurde nach Gabe von 80  $\mu\text{g/d}$  ein Abfall der Konzentrationen festgestellt.

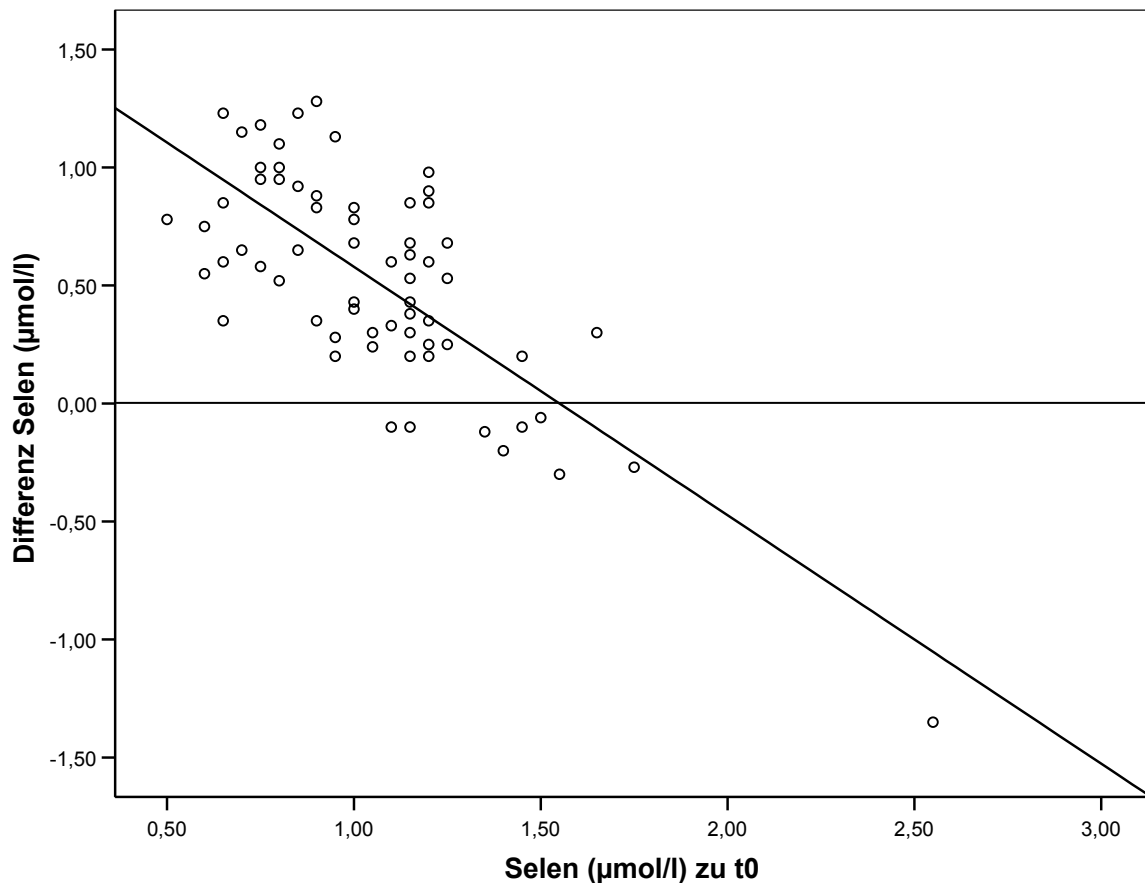


Abbildung 11: Zusammenhang zwischen den Selenkonzentrationen zum Zeitpunkt t0 und der Veränderung im Studienverlauf in der Verumgruppe (n=65)

## 5.4 Marker für den Redoxstatus

### 5.4.1 Funktionelle Marker der antioxidativen Kapazität

#### 5.4.1.1 FRAP-Test

Zum Zeitpunkt t0 bestand in Bezug auf die absoluten FRAP-Werte kein Unterschied zwischen den Gruppen. Im Studienverlauf stiegen die Werte in beiden Gruppen leicht an. Weder die Veränderungen im Zeitverlauf noch die Unterschiede zwischen den Gruppen zu t6 waren jedoch statistisch signifikant.

Wurden die Werte um die jeweiligen Konzentrationen an Harnsäure bereinigt, die einen erheblichen Anteil am FRAP-Wert ausmacht [Benzie u. Strain 1996], zeigte sich aufgrund des leichten Abfalls in der Placebo- und des geringfügigen Anstiegs in der Verumgruppe ein signifikanter Unterschied zu t6 (Tabelle 26).

Tabelle 26: Veränderungen der FRAP-Werte vor und nach Harnsäurekorrektur im Studienverlauf [ $\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$  Harnsäure]

	Placebo (n=57)	Verum (n=66)	
<b>FRAP [<math>\mu\text{mol}/\text{l}</math>]</b>			
	Mittelwert $\pm$ SD	Mittelwert $\pm$ SD	p
t0	800,8 $\pm$ 165	820,2 $\pm$ 128,3	0,467
t6	828,5 $\pm$ 172	832,2 $\pm$ 135,2	0,896
$\Delta$	+27,7 $\pm$ 123,4	+12,0 $\pm$ 112,3	0,463
p	0,096	0,388	
<b>Harnsäure [<math>\mu\text{mol}/\text{l}</math>]</b>			
	Mittelwert $\pm$ SD	Mittelwert $\pm$ SD	p
t0	357,8 $\pm$ 88,5	375,3 $\pm$ 67,7	0,217
t6	378,9 $\pm$ 89,4	369,5 $\pm$ 68,5	0,520
$\Delta$	+21,1 $\pm$ 52,1	-5,82 $\pm$ 59,0	<b>0,009</b>
p	<b>0,003</b>	0,426	
<b>FRAP / Harnsäure</b>			
	Mittelwert $\pm$ SD	Mittelwert $\pm$ SD	p
t0	2,27 $\pm$ 0,27	2,21 $\pm$ 0,30	0,276
t6	2,21 $\pm$ 0,25	2,27 $\pm$ 0,22	0,175
	-0,056 $\pm$ 0,32	+0,059 $\pm$ 0,30	<b>0,042</b>
p	0,189	0,117	

Es bestanden in beiden Gruppen signifikante Zusammenhänge zwischen den absoluten FRAP-Werten vor und nach Intervention (Tabelle 27). Die Differenz im Studienverlauf korrelierte in beiden Gruppen signifikant mit den Ausgangswerten.

Tabelle 27: Korrelation der absoluten FRAP-Werte [ $\mu\text{mol/l}$ ] zu t0 mit den Werten zu t6 sowie den Veränderungen im Studienverlauf

	Placebo t0		Verum t0	
	r	p	r	p
t6	0,734	<b>&lt;0,001</b>	0,638	<b>&lt;0,001</b>
$\Delta$	-0,314	<b>0,018</b>	-0,375	<b>0,002</b>

Die gleichen Zusammenhänge zeigten sich auch für die harnsäurekorrigierten FRAP-Werte. Sowohl zwischen t0 und t6 als auch zwischen den Differenzen im Studienverlauf und den Werten zu t0 bestanden in beiden Gruppen signifikante Korrelationen (Tabelle 28).

Tabelle 28: Korrelation der harnsäurekorrigierten FRAP-Werte [ $\mu\text{mol/l}$ ] zu t0 mit den Werten zu t6 sowie den Veränderungen im Studienverlauf

	Placebo t0		Verum t0	
	r	p	r	p
t6	0,298	<b>0,024</b>	0,335	<b>0,006</b>
$\Delta$	-0,637	<b>&lt;0,001</b>	-0,744	<b>&lt;0,001</b>

Der Zusammenhang zwischen den Ausgangswerten und der Veränderung im Studienverlauf ist für den harnsäurekorrigierten FRAP-Wert in Abbildung 12 grafisch dargestellt.

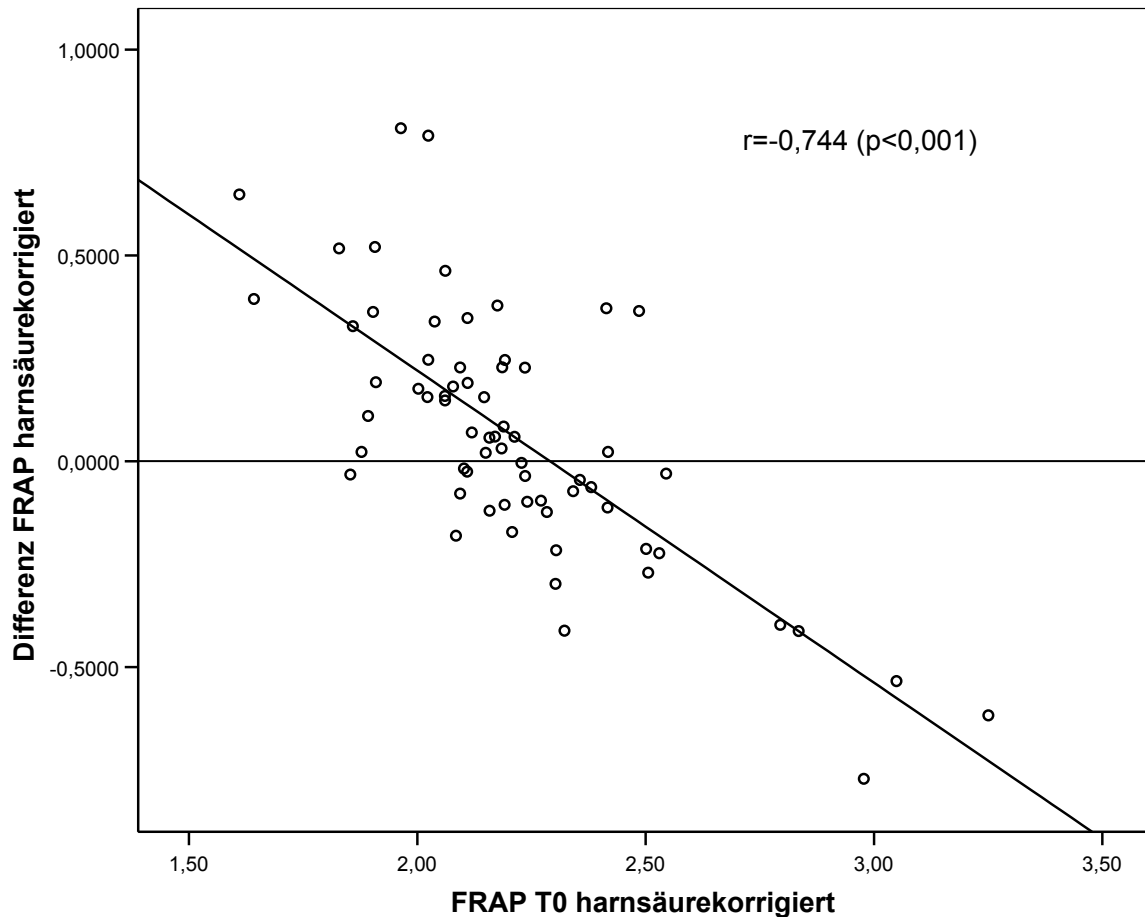


Abbildung 12: Veränderungen der harnsäurekorrigierten FRAP-Werte in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0

#### 5.4.1.2 TEAC

Zu Beginn des Studienzeitraumes zeigte sich in Bezug auf die TEAC-Werte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Tabelle 29). Während es in der Placebogruppe zu einem geringen, nicht signifikanten Anstieg der antioxidativen Kapazität kam, stiegen die Werte in der Verumgruppe im Studienverlauf signifikant um 1,7 % an. Mit  $p=0,064$  wurde jedoch für den Unterschied zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt t6 lediglich ein Trend zu signifikant höheren Werten in der Verumgruppe beobachtet.

Tabelle 29: Veränderungen der TEAC-Werte [ $\mu\text{mol/l}$ ] im Studienverlauf

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert $\pm$ SD	n	Mittelwert $\pm$ SD	n	
t0	2278,5 $\pm$ 90,7	57	2295,0 $\pm$ 99,96	66	0,342
t6	2287,5 $\pm$ 113,6	57	2334,4 $\pm$ 157,4	66	0,064
$\Delta$	+8,98 $\pm$ 97,2		+39,3 $\pm$ 136,5		0,164
p	0,488		<b>0,022</b>		

Die TEAC-Werte zu t0 und t6 waren sowohl in der Verum- als auch in der Placebogruppe signifikant miteinander korreliert (Tabelle 30). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Differenz im Studienverlauf und den Ausgangswerten zu t0 zeigte sich nur in der Placebogruppe, nicht jedoch unter Verumgabe.

Tabelle 30: Korrelation der TEAC-Werte [ $\mu\text{mol/l}$ ] zu t0 mit den Werten zu t6 sowie den Veränderungen im Studienverlauf

	Placebo t0		Verum t0	
	r	p	r	p
t6	0,567	<b>&lt;0,001</b>	0,511	<b>&lt;0,001</b>
$\Delta$	-0,271	<b>0,041</b>	-0,145	0,246

#### 5.4.1.3 PON1-Aktivitäten

Sowohl die Paraoxonase-Aktivität (Tabelle 31) als auch die Arylesterase-Aktivität (Tabelle 32) der PON1 stiegen im Studienverlauf in beiden Gruppen signifikant an. Es zeigte sich weder zu einem der beiden Messzeitpunkte noch in Bezug auf die Veränderung über die Studiendauer ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

Tabelle 31: Veränderungen der Paraoxonase-Aktivität [U/l] im Studienverlauf

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert $\pm$ SD	n	Mittelwert $\pm$ SD	n	
t0	120,5 $\pm$ 74,5	56	111,1 $\pm$ 65,8	66	0,342
t6	135,1 $\pm$ 82,6	56	119,5 $\pm$ 70,7	66	0,263
$\Delta$	+14,6 $\pm$ 24,7		+8,3 $\pm$ 22,6		0,149
p	<b>&lt;0,001</b>		<b>&lt;0,001</b>		



Tabelle 32: Veränderungen der Arylesterase-Aktivität [U/ml] im Studienverlauf

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert ± SD	n	Mittelwert ± SD	n	
t0	150,8 ± 33,2	56	153,5 ± 34,8	66	0,677
t6	163,7 ± 36,1	56	165,1 ± 37,9	66	0,845
Δ	+13,0 ± 21,0		+11,6 ± 18,3		0,702
p	<b>&lt;0,001</b>		<b>&lt;0,001</b>		

Die Arylesterase-Aktivität war bei den weiblichen Probanden zu beiden Messzeitpunkten signifikant höher als bei den männlichen. In Bezug auf die Paraoxonase-Aktivität war der Unterschied nicht signifikant, obwohl auch hier Frauen höhere Werte aufwiesen als Männer. Die Steigerung der Paraoxonase-Aktivität war bei den Männern deutlicher als bei den Frauen, dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant.

Es zeigte sich im Gesamtkollektiv zu t0 kein Einfluss des Rauchverhaltens auf die Aktivitäten der PON1. So fanden sich keine Unterschiede zwischen Nichtrauchern, Exrauchern und aktiven Rauchern in Bezug auf die Aktivität gegenüber beiden Substraten. Innerhalb der Gruppe der aktiven Raucher existierten zudem keine Unterschiede zwischen den 3 Kategorien der Rauchhäufigkeit in Bezug auf POX und ARY. Wurden beide Geschlechter getrennt betrachtet, traten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen auf.

Zum Zeitpunkt t0 korrelierte sowohl die Paraoxonase- ( $r_s=0,241$ ;  $p=0,007$ ) als auch die Arylesterase-Aktivität ( $r=0,371$ ;  $p<0,001$ ) der PON1 mit den HDL-Spiegeln im Gesamtkollektiv. Es bestand jedoch keine Korrelation zwischen den absoluten oder LDL-adjustierten oxLDL-Konzentrationen ( $n=102$ ) und der POX- oder ARY-Aktivität der PON1.

Es zeigte sich kein Unterschied der Paraoxonase- oder Arylesterase-Aktivität in Abhängigkeit von der Einnahme cholesterolsenkender Medikamente. Allerdings stieg die Paraoxonase-Aktivität bei Probanden in der Verumgruppe, die cholesterolsenkende Medikamente einnahmen, signifikant geringer an als bei Personen ohne derartige Medikation.

Innerhalb der Verumgruppe zeigte sich keine Korrelation zwischen den Werten bei Studienbeginn und der Veränderung im Verlauf der Untersuchung für POX (Abbildung 13) und ARY (Abbildung 14). Dagegen bestand für beide Aktivitäten eine hohe Korrelation zwischen den Werten zu t0 und t6 (POX:  $r_s=0,933$ ,  $p<0,001$ ; ARY:  $r=0,877$ ,  $p<0,001$ ).

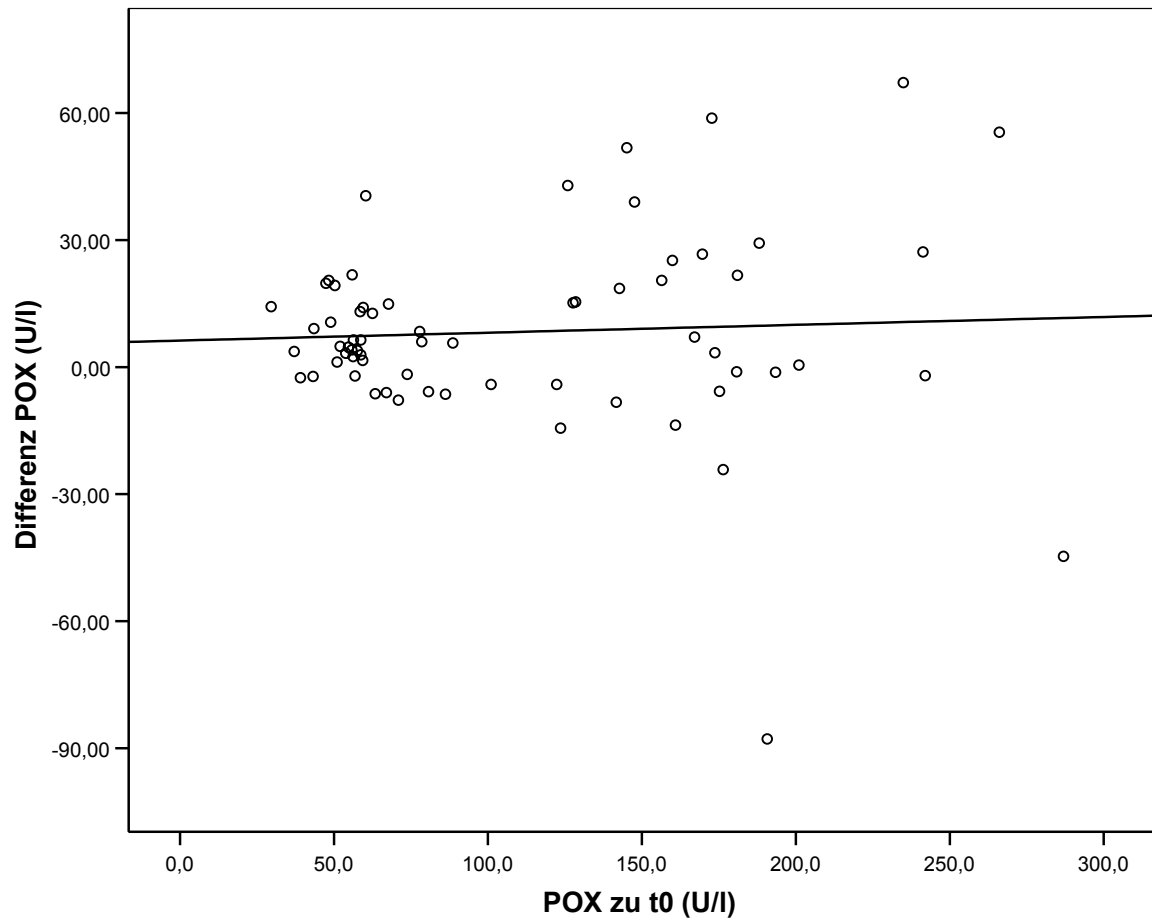


Abbildung 13: Veränderung der Paraoxonase-Aktivität der PON1 in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0 ( $r_s=0,025$ ,  $p=0,842$ )

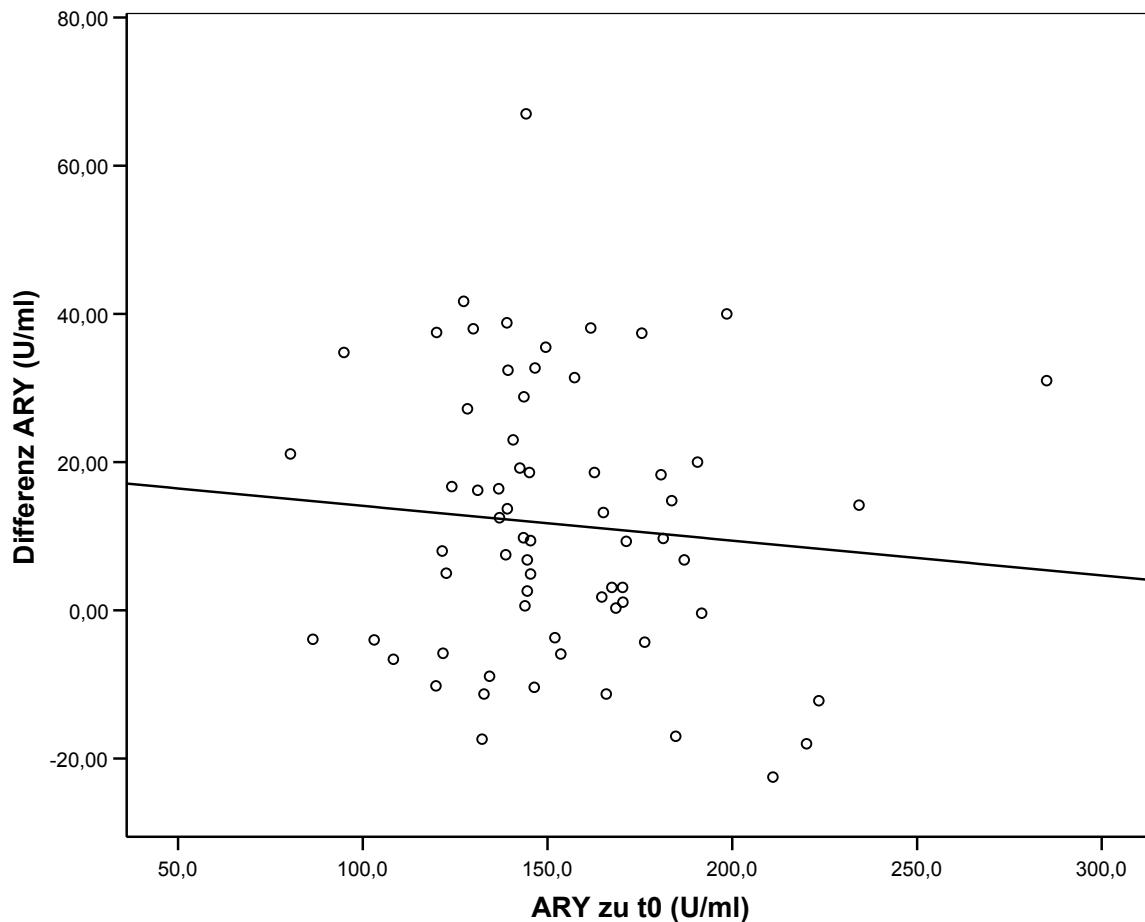


Abbildung 14: Veränderung der Arylesterase-Aktivität der PON1 in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0 ( $r=-0,089$ ,  $p=0,475$ )

## 5.4.2 Konzentrationen von Oxidationsprodukten

### 5.4.2.1 Oxidiertes LDL

Die Konzentrationen von oxidiertem LDL wurden nur in einem Teilkollektiv der Studie bestimmt, so dass diese Auswertung auf den Werten von 102 Personen beruht.

Zum Zeitpunkt t0 zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen in Bezug auf die Konzentration an oxidiertem LDL. Sowohl in der Verum- als auch in der Placebogruppe sanken die Werte über den Studienzeitraum signifikant ab, so dass zum Ende des Beobachtungszeitraumes wiederum kein Unterschied feststellbar war (Tabelle 33).

Tabelle 33: Konzentrationen von oxidiertem LDL [U/l] vor und nach der Intervention (Serie 1-3)

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert ± SD	n	Mittelwert ± SD	n	
t0	70,1 ± 16,3	47	68,0 ± 16,1	55	0,512
t6	61,7 ± 14,3	47	59,2 ± 14,7	55	0,403
Δ	-8,4 ± 11,1		-8,7 ± 12,1		0,895
p	<b>&lt;0,001</b>		<b>&lt;0,001</b>		

Die Konzentrationen von oxLDL korrelierten zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv hochsignifikant mit den LDL-Spiegeln ( $r=0,633$ ;  $p<0,001$ ). Auch innerhalb der beiden Interventionsgruppen zeigte sich dieser Zusammenhang (P:  $r=0,548$ ;  $p<0,001$ ; V:  $r=0,719$ ;  $p<0,001$ ). Deshalb wurde zusätzlich zu den absoluten Werten auch das Verhältnis oxLDL/LDL berechnet (Tabelle 34), um mögliche Einflüsse der LDL-Konzentration auf die Menge an oxLDL zu neutralisieren.

Tabelle 34: Konzentrationen von oxidiertem LDL [U/l] bezogen auf die LDL-Konzentration [mmol/l] vor und nach der Intervention (Serie 1–3)

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert ± SD	n	Mittelwert ± SD	n	
t0	18,46 ± 4,17	47	17,49 ± 3,52	55	0,207
t6	16,86 ± 4,17	47	16,17 ± 3,10	55	0,341
Δ	-1,60 ± 3,66		-1,33 ± 2,80		0,666
p	<b>0,004</b>		<b>0,001</b>		

Zum Zeitpunkt t0 korrelierten die Konzentrationen von oxLDL mit einigen, jedoch nicht allen Risikofaktoren (Tabelle 35). Signifikante Zusammenhänge wurden sowohl für die absoluten als auch die LDL-korrigierten Werte mit den Triglyceridspiegeln festgestellt. Auch die Zahl der Risikofaktoren nach AHA zeigte eine signifikante Korrelation mit beiden Parametern. Ein negativer Zusammenhang existierte zwischen den HDL-Spiegeln und oxLDL/LDL, nicht jedoch zwischen HDL und den absoluten oxLDL-Konzentrationen. Auch mit den übrigen Risikofaktoren Taillenumfang, BMI, Blutdruck systolisch und diastolisch wurde kein signifikanter Zusammenhang festgestellt, weder für absolute noch für LDL-adjustierte oxLDL-Konzentrationen. Lediglich die Nüchtern-glucosewerte zeigten eine schwache Korrelation mit den absoluten oxLDL-Spiegeln.

Tabelle 35: Zusammenhänge zwischen oxLDL [U/l] und Risikofaktoren zum Zeitpunkt t0 (n=102)

	oxLDL t0		oxLDL/LDL t0	
	r	p	r	p
Zahl der RF	0,202 (S)	<b>0,042</b>	0,233 (S)	<b>0,018</b>
Triglyceride	0,442 (S)	<b>&lt;0,001</b>	0,422 (S)	<b>&lt;0,001</b>
HDL	-0,065 (S)	0,518	-0,274 (S)	<b>0,005</b>
Taillenumfang	-0,061	0,543	0,078	0,435
Blutdruck				
systolisch	0,149	0,137	0,012	0,905
diastolisch	0,111	0,268	0,014	0,890
Glucose	0,236	<b>0,017</b>	0,066	0,511

Tabelle 36 zeigt einen Vergleich der LDL- und oxLDL-Konzentrationen von Probanden, die Statine einnahmen, mit denjenigen ohne cholesterolsenkende Therapie. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden hier die Personen mit anderen Lipidsenkern als Statinen nicht einbezogen.

Die Teilnehmer, die keine cholesterolsenkenden Medikamente einnahmen, hatten insgesamt höhere Konzentrationen an LDL und oxLDL, wobei sich nur für die oxLDL-Konzentration zum Zeitpunkt t0 in der Verumgruppe keine Signifikanz ergab. Unter den Statinverwendern lagen die Ausgangswerte der Verumgruppe geringfügig höher als in der Placebogruppe, so dass aus dem Absinken in beiden Gruppen auf vergleichbare Werte nur für Verum eine signifikante Veränderung resultierte. Für den Quotienten aus oxLDL- und LDL-Konzentrationen zeigten sich bei den Personen unter Statintherapie weder Änderungen im Verlauf der Studie noch Unterschiede zwischen den Gruppen.

Unter den Probanden ohne cholesterolsenkende Therapie kam es ebenfalls in beiden Gruppen zu einem Absinken der oxLDL- und LDL-Konzentrationen sowie des Quotienten. Hierbei war jedoch nur der Unterschied zwischen t0 und t6 für oxLDL und den oxLDL/LDL-Quotienten in beiden Gruppen signifikant.

Eine Änderung der Werte im Studienverlauf zeigte sich somit unabhängig von der Nährstoffgabe, da keine diesbezüglichen Unterschiede zwischen den Gruppen vorhanden waren. Auch unter Statintherapie waren diese Effekte sichtbar, wenn auch auf niedrigerem Niveau aufgrund der geringeren Ausgangskonzentrationen.

Tabelle 36: Vergleich der oxLDL-Werte zwischen Personen ohne cholesterolsenkende Medikation und Personen unter Statintherapie

	Placebo (n = 39)			Verum (n = 50)		
	t0	t6	Δ	t0	t6	Δ
Statine	n = 8			n = 11		
LDL-C (mmol/l)	3,20 ± 1,14	3,06 ± 0,82	-0,14 ± 0,52	3,36 ± 0,76	3,06 ± 0,68 <sup>1</sup>	-0,30 ± 0,44
oxLDL (U/l)	58,6 ± 15,6	51,9 ± 17,9	-6,8 ± 10,4	61,6 ± 14,8	52,1 ± 9,1 <sup>1</sup>	-9,5 ± 10,3
oxLDL / LDL-C	19,3 ± 6,2	17,2 ± 5,3	-2,10 ± 5,2	18,7 ± 5,1	17,5 ± 3,8	-1,26 ± 2,9
Keine CholSenker	n = 31			n = 39		
LDL-C (mmol/l)	4,03 ± 0,86 <sup>4</sup>	3,83 ± 0,89 <sup>4</sup>	-0,19 ± 0,58	4,11 ± 1,05 <sup>4</sup>	4,00 ± 0,88 <sup>5</sup>	-0,10 ± 0,63
oxLDL (U/l)	73,7 ± 15,6 <sup>4</sup>	63,9 ± 14,1 <sup>3,4</sup>	-9,8 ± 10,5	68,9 ± 16,6	61,9 ± 15,9 <sup>2,4</sup>	-7,0 ± 12,5
oxLDL / LDL-C	18,6 ± 3,48	17,1 ± 4,15 <sup>1</sup>	-1,51 ± 3,28	17,1 ± 3,09 <sup>6</sup>	15,6 ± 2,73 <sup>2</sup>	-1,51 ± 2,78

<sup>1</sup> Signifikanter Unterschied zu t0, t-test (p < 0,05)

<sup>2</sup> Signifikanter Unterschied zu t0, t-test (p < 0,01)

<sup>3</sup> Signifikanter Unterschied zu t0, t-test (p < 0,001)

<sup>4</sup> Signifikanter Unterschied zu Statinverwendern, t-test (p < 0,05)

<sup>5</sup> Signifikanter Unterschied zu Statinverwendern, t-test (p < 0,01)

<sup>6</sup> Signifikanter Unterschied zu Placebo, t-test (p < 0,05)

#### 5.4.2.2 Malondialdehyd

Auch die Konzentrationen an Malondialdehyd unterschieden sich zum Zeitpunkt t0 nicht signifikant zwischen den Gruppen. Im Studienverlauf kam es statt der erwarteten Absenkung zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration im gesamten Kollektiv, der in beiden Gruppen ähnlich hoch ausfiel, so dass auch zu t6 kein Unterschied zwischen den Gruppen bestand.

Tabelle 37: Konzentrationen von Malondialdehyd (MDA) [ $\mu\text{mol/l}$ ] vor und nach der Intervention

	Placebo		Verum		p
	Mittelwert $\pm$ SD	n	Mittelwert $\pm$ SD	n	
t0	0,960 $\pm$ 0,287	57	0,908 $\pm$ 0,299	66	0,331
t6	1,220 $\pm$ 0,424	56	1,134 $\pm$ 0,378	66	0,241
$\Delta$	+0,256 $\pm$ 0,473		+0,226 $\pm$ 0,371		0,692
p	<b>&lt;0,001</b>		<b>&lt;0,001</b>		

Die Veränderungen in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten sind in Abbildung 15 dargestellt. Trotz der bestehenden Signifikanz zeigte sich eine erhebliche Streuung, die in einem Korrelationskoeffizienten von nur  $-0,379$  resultierte. Nur bei wenigen Probanden wurde eine Abnahme der MDA-Konzentration im Studienverlauf beobachtet.

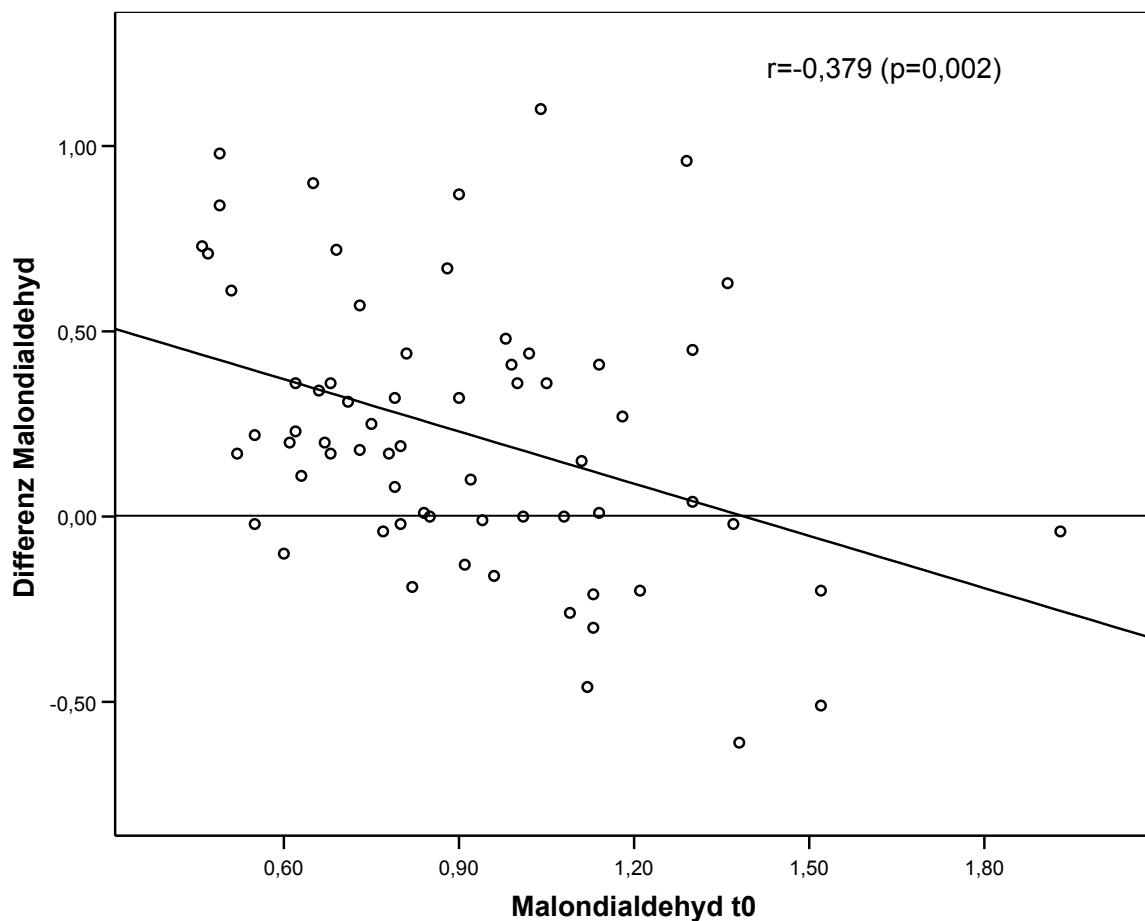


Abbildung 15: Veränderungen der MDA-Konzentration in der Verumgruppe in Abhängigkeit von den Ausgangswerten zu t0

## 5.5 Zusammenhänge zwischen Einflussfaktoren auf den Redoxstatus

### 5.5.1 Oxidationsprodukte und funktionelle Marker

Zum Zeitpunkt t0 existierte ein signifikanter Zusammenhang der Konzentrationen an MDA mit der absoluten Konzentration an oxLDL, nicht jedoch mit der Menge an oxLDL bezogen auf die LDL-Gesamtkonzentration (Tabelle 38). Die Veränderungen im Studienverlauf waren nur in der Placebogruppe zwischen MDA und oxLDL/LDL signifikant miteinander korreliert. In der Verumgruppe bestand ein Trend zu signifikanter Korrelation zwischen den Veränderungen von MDA und den absoluten Konzentrationen an LDL (Tabelle 39).

Obwohl beide Konzentrationen als Marker für den antioxidativen Status verwendet werden, zeigte sich kein klarer Zusammenhang zwischen den Werten, weder für Konzentrationen zu einem Messzeitpunkt noch für Veränderungen im Studienverlauf.

Tabelle 38: Zusammenhänge zwischen Konzentrationen von Oxidationsprodukten zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (oxLDL Serie 1-3, n=102)

	MDA t0	
	r	p
oxLDL t0	0,428	<b>&lt;0,001</b>
oxLDL/LDL t0	0,113	0,258

Tabelle 39: Zusammenhänge zwischen Veränderungen von Oxidationsprodukten im Studienverlauf innerhalb der beiden Gruppen

	Placebo (n=47)		Verum (n=55)	
	ΔMDA		ΔMDA	
	r	p	r	p
Δ oxLDL	0,229	0,125	0,239	0,078
Δ oxLDL/LDL	0,324	<b>0,028</b>	-0,172	0,209

Die TEAC-Werte zum Zeitpunkt t0 korrelierten im Gesamtkollektiv mit keinem der Oxidationsprodukte (Tabelle 40). Für die Konzentration von MDA zeigte sich hingegen ein signifikanter Zusammenhang mit den absoluten und den harnsäurekorrigierten FRAP-Werten. Auch die Veränderung der MDA-Konzentration im Studienverlauf korrelierte innerhalb der Verumgruppe signifikant positiv mit beiden FRAP-Werten (Tabelle 65 im Anhang). Die harnsäurekorrigierten FRAP-Werte korrelierten darüber hinaus mit den lipidadjustierten Konzentrationen von oxLDL.



Tabelle 40: Zusammenhänge zwischen Oxidationsprodukten und funktionellen Antioxidanzien-Parametern zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv

	MDA (n=123)		oxLDL (n=102)		oxLDL/LDL (n=102)	
	r	p	r	p	r	p
TEAC	0,059	0,516	-0,041	0,681	-0,093	0,352
FRAP	0,235	<b>0,009</b>	0,145	0,147	0,125	0,209
FRAP/Harns.	0,189	<b>0,036</b>	r <sub>S</sub> =0,112	0,264	0,214	<b>0,031</b>

Zum Zeitpunkt t0 wurde keine signifikante Korrelation zwischen den TEAC- und den absoluten oder harnsäurekorrigierten FRAP-Werten festgestellt (Tabelle 41).

Tabelle 41: Zusammenhänge zwischen funktionellen Antioxidanzien-Markern zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (n=123)

	TEAC t0	
	r	p
FRAP t0	0,141	0,119
FRAP/Harns. t0	-0,132	0,146

Auch zeigten sich in keiner der beiden Gruppen signifikante Zusammenhänge zwischen den Veränderungen der funktionellen Antioxidanzien-Marker im Studienverlauf (Tabelle 42).

Tabelle 42: Zusammenhänge zwischen Veränderungen der funktionellen Antioxidanzien-Marker im Studienverlauf nach Interventionsgruppe

	Placebo		Verum	
	ΔTEAC		ΔTEAC	
	r	p	r	p
Δ FRAP	-0,170	0,206	-0,073	0,561
Δ FRAP/Harns.	-0,028	0,834	-0,007	0,956

### 5.5.2 Konzentrationen von Antioxidanzien und Oxidationsprodukten

Es zeigte sich zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den absoluten Konzentrationen an Vitamin E und den Markern MDA, absoluten oxLDL-Konzentrationen sowie den FRAP-Werten mit und ohne Harnsäurekorrektur (Tabelle 43). Die lipidadjustierten Vitamin-E-Konzentrationen korrelierten dagegen lediglich mit den absoluten FRAP-Werten signifikant. Keine signifikante Korrelation wurde zwischen den Konzentrationen von Zink und Selen zum Zeitpunkt t0 und den Antioxidanzienmarkern gefunden (Tabelle 44).

Tabelle 43: Zusammenhänge zwischen Vitamin E und Antioxidanzien-Markern im Gesamtkollektiv zum Zeitpunkt t0 (n=123)

	Vit. E		Vit. E / TC+TG	
	r	p	r	p
MDA	0,385	<b>&lt; 0,001</b>	0,007	0,938
oxLDL (n=102)	0,515	<b>&lt; 0,001</b>	-0,054	0,592
oxLDL/LDL (n=102)	-0,037	0,708	-0,127	0,202
TEAC	-0,131	0,148	-0,087	0,337
FRAP	0,330	<b>&lt; 0,001</b>	0,191	<b>0,035</b>
FRAP/Urate	0,209	<b>0,020</b>	0,112	0,219

Tabelle 44: Zusammenhänge zwischen Spurenelementen und Antioxidanzien-Markern im Gesamtkollektiv zu t0 (n=123)

	Zink		Selen	
	r	p	r	p
MDA	0,008	0,933	0,078	0,390
oxLDL (n=102)	0,075	0,456	-0,033	0,745
oxLDL/LDL (n=102)	0,015	0,879	-0,085	0,398
TEAC	0,065	0,473	-0,032	0,723
FRAP	0,035	0,703	0,001	0,992
FRAP/Urate	-0,124	0,170	0,134	0,141

In Bezug auf die Veränderungen der Marker im Studienverlauf zeigte sich sowohl für die lipidadjustierten als auch die absoluten Vitamin-E-Konzentrationen ein signifikanter Zusammenhang mit MDA (Tabelle 45).

Tabelle 45: Zusammenhänge zwischen Veränderungen von MDA-Spiegeln mit den Vitamin-E-Konzentrationen im Studienverlauf

	Placebo		Verum	
	ΔMDA		ΔMDA	
	r	p	r	p
Δ Vit. E	0,468	<b>0,001</b>	0,407	<b>0,002</b>
Δ Vit. E / TC+TG	0,304	<b>0,040</b>	0,084	0,542

### 5.5.3 Ergebnisse nach Zahl der Risikofaktoren

Die Zahl der jeweiligen Risikofaktoren nach AHA [Grundy et al. 2005] hatte nur geringe Einflüsse auf die erfassten Antioxidanzienmarker zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (Tabelle 46). Lediglich für die unkorrigierten FRAP-Werte, die LDL-korrigierten oxLDL-

Konzentrationen sowie die Arylesterase-Aktivität der PON1 ergab die einfaktorielle ANOVA signifikante Unterschiede.

Tabelle 46: Antioxidanzien-Marker in Abhängigkeit von der Zahl der Risikofaktoren nach AHA im Gesamtkollektiv zu t0

	1	2	3	4	5	p-Wert (ANOVA)
N	8	24	41	37	13	
%	6,5	19,5	33,3	30,1	10,6	
Harnsäure	310,63 ± 49,63	348,46 ± 75,55	389,29 ± 86,74	367,11 ± 74,33	367,38 ± 60,15	0,062
MDA	0,7600 ± 0,2492	0,8950 ± 0,2291	0,9393 ± 0,3290	0,9500 ± 0,2984	1,0308 ± 0,2743	0,314
TEAC	2222,6 ± 76,40	2277,5 ± 85,76	2302,9 ± 101,37	2299,1 ± 100,26	2263,0 ± 80,18	0,171
FRAP	659,53 ± 80,00	790,03 ± 141,71	833,41 ± 155,37	816,45 ± 130,83	858,615 ± 152,93	<b>0,020</b>
FRAP/Harns.	2,1417 ± 0,2039	2,2964 ± 0,2727	2,1695 ± -0,2807	2,2549 ± 0,2653	2,3609 ± 0,4049	0,155
oxLDL	69,63 ± 15,747	71,21 ± 19,067	69,85 ± 16,240	72,30 ± 17,437	78,77 ± 12,262	0,564
oxLDL/LDL	16,6808 ± 3,1163	18,5894 ± 4,8628	18,1980 ± 3,2442	17,9394 ± 3,9655	21,6407 ± 4,1853	<b>0,030</b>
POX	146,775 ± 84,3408	104,375 ± 64,6289	119,676 ± 67,8533	121,659 ± 82,2868	98,538 ± 48,6963	0,524
ARY	173,513 ± 49,8786	145,100 ± 32,0465	140,788 ± 25,7811	164,105 ± 32,7302	155,108 ± 38,6941	<b>0,007</b>
Vit. E	31,3180 ± 6,652	36,2039 ± 11,836	34,6828 ± 9,884	36,7692 ± 10,533	39,8491 ± 15,167	0,433
Vit. E/TC+TG	4,2694 ± 0,9664	4,7964 ± 1,1564	4,5410 ± 0,8881	4,3392 ± 0,9400	4,2503 ± 1,3197	0,384
Zink	12,875 ± 1,3199	13,804 ± 1,5544	14,076 ± 2,7431	13,265 ± 1,6221	13,523 ± 2,0175	0,377
Selen	1,0625 ± 0,1188	1,1250 ± 0,3822	0,9890 ± 0,2984	1,0432 ± 0,2888	1,0577 ± 0,2379	0,533

Wurden die Veränderungen im Studienverlauf innerhalb der Interventionsgruppe in Abhängigkeit von der individuellen Anzahl der Risikofaktoren betrachtet, ergaben sich nur für die Konzentrationen von MDA und die Paraoxonase-Aktivität signifikante Unterschiede (Tabelle 47).

Tabelle 47: Veränderung von Antioxidanzien-Markern in Abhängigkeit von der Zahl der Risikofaktoren nach AHA in der Verumgruppe

	1	2	3	4	5	p-Wert (ANOVA)
N	4	13	21	21	7	
%	6,1	19,7	31,8	31,8	10,6	
Δ Harnsäure	-7,50 ± 36,519	+10,38 ± 49,782	-14,90 ± 62,151	-5,48 ± 58,525	-8,71 ± 83,005	0,836
Δ MDA	+0,5850 ± 0,2762	+0,4031 ± 0,3749	+0,1214 ± 0,3137	+0,2052 ± 0,3707	+0,0686 ± 0,3333	<b>0,040</b>
Δ TEAC	-21,7500 ± 90,6803	+87,6923 ± 122,7901	+13,0952 ± 141,2720	+51,5714 ± 133,7190	+26,2857 ± 175,0454	0,497
Δ FRAP	+89,9500 ± 46,3726	+30,5923 ± 72,2086	-15,0571 ± 137,8093	+15,1381 ± 103,3741	+4,8714 ± 136,5840	0,481
Δ FRAP/Harns.	+0,3468 ± 0,3216	+0,0041 ± 0,2485	+0,0374 ± 0,3002	+0,0646 ± 0,2889	+0,0490 ± 0,4329	0,399
Δ oxLDL	-5,0000 ± 6,2716	-7,2308 ± 7,1081	-7,7143 ± 10,4554	-8,2381 ± 15,1621	-11,2857 ± 10,4038	0,921
Δ oxLDL/LDL	+0,0361 ± 2,8548	-1,2403 ± 2,4505	-0,5838 ± 2,7936	-1,7626 ± 3,1706	-0,5995 ± 2,3436	0,606
Δ POX	-26,3250 ± 50,4911	+10,8308 ± 17,0665	+15,2762 ± 20,8201	+9,7190 ± 17,9949	-1,4429 ± 5,5057	<b>0,008</b>
Δ ARY	+15,2000 ± 24,5829	+14,6538 ± 21,8205	+11,5381 ± 16,1743	+8,7476 ± 18,6714	+12,5000 ± 16,6678	0,909
Δ Vit. E	+16,3121 ± 4,4840	+13,0746 ± 7,2165	+12,8042 ± 9,7522	+12,4725 ± 10,2482	+12,3729 ± 9,2051	0,960
Δ Vit.E/TC+TG	+1,9440 ± 0,5074	+2,3126 ± 0,72386	+2,0743 ± 1,01219	+1,8234 ± 1,1679	+1,8355 ± 1,8637	0,771
Δ Zink	+0,725 ± 1,0813	+1,477 ± 1,6922	+0,524 ± 2,4199	+1,319 ± 1,6810	+2,433 ± 4,6237	0,425
Δ Selen	+0,5650 ± 0,2762	+0,3562 ± 0,6457	+0,5905 ± 0,3346	+0,5281 ± 0,4661	+0,6067 ± 0,5204	0,680

## 5.6 PON1-Polymorphismen

### 5.6.1 Einfluss des PON1-Genotyps auf den antioxidativen Stoffwechsel zu t0

Die Häufigkeit der beiden im Rahmen der Studie bestimmten PON1-Polymorphismen im untersuchten Kollektiv ist in Tabelle 48 dargestellt. Aufgrund analytischer Probleme konnte in einer Probe keine Bestimmung vorgenommen werden, so dass nur die Ergebnisse von 122 Personen dargestellt sind.

Tabelle 48: Verteilung der PON1-Polymorphismen auf das Studienkollektiv (n=122)

	Gesamtkollektiv n=122		Verumgruppe n=66		Placebogruppe n=56	
	n	[%]	n	[%]	n	[%]
PON1-55						
LL	43	35,2	21	31,8	22	39,3
LM	60	49,2	35	53,0	25	44,6
MM	19	15,6	10	15,2	9	16,1
PON1-192						
QQ	59	48,4	35	53,0	24	42,9
QR	52	42,6	26	39,4	26	46,4
RR	11	9,0	5	7,6	6	10,5

Aktivitäten bzw. Konzentrationen von Markern des antioxidativen Stoffwechsels zum Zeitpunkt t0 in Abhängigkeit vom PON1-55-Polymorphismus aller Probanden sind in Tabelle 49 dargestellt.

Tabelle 49: Antioxidanzien-Parameter nach PON1-55-Polymorphismus im Gesamtkollektiv zu t0 (n=122)

	LL (n=43)	LM (n=60)	MM (n=19)
TEAC (µmol/l)	2287,4 ± 106,2	2292,5 ± 94,9	2273,7 ± 76,8
FRAP (µmol/l)	827,7 ± 133,3	811,3 ± 153,8	763,7 ± 146,0
FRAP/Harnsäure	2,22 ± 0,23	2,25 ± 0,35	2,26 ± 0,22
MDA (µmol/l)	0,92 ± 0,29	0,93 ± 0,26	0,97 ± 0,40
oxLDL (U/l)	69,2 ± 18,6 (n=32)	66,7 ± 13,9 (n=46)	76,1 ± 18,0 (n=12)
oxLDL/LDL (U/mmol)	18,4 ± 4,6	17,5 ± 3,5	18,6 ± 2,9
POX (U/l)	150,5 ± 82,2	103,4 ± 56,9 <sup>1</sup>	86,9 ± 58,7 <sup>2</sup>
ARY (U/ml)	158,0 ± 29,4	150,8 ± 36,8	144,9 ± 33,6

<sup>1</sup> signifikanter Unterschied zu LL, t-test, p=0,002

<sup>2</sup> signifikanter Unterschied zu LL, t-test, p=0,001

Ein signifikanter Einfluss des PON1-55-Polymorphismus zeigt sich nur in Bezug auf die Paraoxonase-Aktivität. Dabei weisen Personen mit dem LL-Allel höhere Aktivitäten auf als diejenigen mit der LM- oder MM-Variante. Eine ähnliche Tendenz ist für die Arylesterase-Aktivität vorhanden, jedoch liegt keine Signifikanz vor. Auch die FRAP-Werte liegen bei Personen mit dem LL-Genotyp höher, die Unterschiede sind jedoch ebenfalls nicht signifikant (LL vs. MM: p=0,096). Nach Korrektur um die Harnsäurekonzentration zeigen sich keine diesbezüglichen Differenzen mehr.

In Tabelle 50 sind die Werte zum Zeitpunkt t0 in Abhängigkeit vom PON1-192-Polymorphismus gezeigt. Auch hier wurde lediglich in Bezug auf die Paraoxonase-Aktivität der PON1 ein signifikanter Einfluss des Genotyps festgestellt, wobei sich alle drei Gruppen voneinander unterschieden.



Tabelle 50: Antioxidanzien-Parameter nach PON1-192-Polymorphismus im Gesamtkollektiv zu t0 (n=122)

	QQ (n=59)	QR (n=52)	RR (n=11)
TEAC (µmol/l)	2273,4 ± 98,0	2298,8 ± 90,7	2312,8 ± 106,9
FRAP (µmol/l)	822,5 ± 166,3	791,7 ± 132,5	825,7 ± 71,2
FRAP/Harnsäure	2,26 ± 0,29	2,22 ± 0,31	2,23 ± 0,19
MDA (µmol/l)	0,94 ± 0,29	0,93 ± 0,31	0,91 ± 0,30
oxLDL (U/l)	68,3 ± 15,7 (n=43)	69,1 ± 17,9 (n=41)	71,2 ± 11,8 (n=6)
oxLDL/LDL (U/mmol)	17,2 ± 3,0 (n=43)	18,5 ± 4,6 (n=41)	19,6 ± 2,9 (n=6)
POX (U/l)	58,0 ± 11,9	153,3 ± 38,0 <sup>1</sup>	266,5 ± 34,3 <sup>2,3</sup>
ARY (U/ml)	155,5 ± 33,4	149,7 ± 37,1	149,1 ± 18,1

<sup>1</sup> signifikanter Unterschied zu QQ, t-test, p<0,001

<sup>2</sup> signifikanter Unterschied zu QQ, t-test, p<0,001

<sup>3</sup> signifikanter Unterschied zu QR, t-test, p<0,001

### 5.6.2 Einfluss des Genotyps auf die Veränderungen im Studienverlauf

Die Veränderungen der Antioxidanzien-Parameter im Studienverlauf innerhalb der Verumgruppe in Abhängigkeit der beiden PON1-Genotypen sind in Tabelle 51 und Tabelle 52 dargestellt. Es zeigte sich nur für den 192-QR-Genotyp ein signifikant stärkerer Anstieg der MDA-Konzentrationen als bei Personen mit dem QQ-Genotyp. Alle übrigen Veränderungen waren zwischen den Genotypen nicht signifikant verschieden.

Tabelle 51: Veränderungen der Antioxidanzien-Parameter nach PON1-55-Polymorphismus in der Verumgruppe (n=66)

	LL (n=21)	LM (n=35)	MM (n=10)
Δ TEAC (μmol/l)	+54,3 ± 133,8	+39,5 ± 136,5	+7,1 ± 150,5
Δ FRAP (μmol/l)	+25,9 ± 117,4	+3,0 ± 112,2	+14,3 ± 110,0
Δ FRAP/Harnsäure	+0,1 ± 0,2	+0,04 ± 0,4	+0,1 ± 0,2
Δ MDA (μmol/l)	+0,3 ± 0,4	+0,2 ± 0,4	+0,2 ± 0,3
Δ oxLDL (U/l)	-7,4 ± 14,4	-8,9 ± 10,2	-6,0 ± 7,6
Δ oxLDL/LDL (U/mmol)	-0,5 ± 3,4	-1,6 ± 2,4	-0,4 ± 2,7
Δ POX (U/l)	+12,1 ± 25,1	+6,7 ± 24,0	+6,0 ± 7,6
Δ ARY (U/ml)	+9,8 ± 15,8	+13,9 ± 19,8	+7,2 ± 18,4

Tabelle 52: Veränderungen der Antioxidanzien-Parameter nach PON1-192-Polymorphismus in der Verumgruppe (n=66)

	QQ (n=35)	QR (n=26)	RR (n=5)
Δ TEAC (μmol/l)	+45,1 ± 131,9	+39,6 ± 148,5	-3,0 ± 120,0
Δ FRAP (μmol/l)	-9,8 ± 114,5	+41,3 ± 112,8	+12,3 ± 64,8
Δ FRAP/Harnsäure	+0,1 ± 0,3	+0,1 ± 0,4	+0,1 ± 0,2
Δ MDA (μmol/l)	+0,1 ± 0,3	+0,4 ± 0,4 <sup>1</sup>	+0,2 ± 0,4
Δ oxLDL (U/l)	-8,5 ± 12,4	-8,0 ± 10,6	-4,4 ± 5,7
Δ oxLDL/LDL (U/mmol)	-1,2 ± 2,7	-1,2 ± 2,6	+0,8 ± 4,1
Δ POX (U/l)	+6,6 ± 10,1	+8,4 ± 28,7	+20,6 ± 45,3
Δ ARY (U/ml)	+14,6 ± 19,8	+8,3 ± 17,1	+7,6 ± 9,8

<sup>1</sup> signifikanter Unterschied zu QQ, t-test, p=0,003

### 5.6.3 Einfluss des kombinierten PON1-Genotyps

Tabelle 53: Häufigkeiten der Polymorphismen-Kombinationen im Gesamtkollektiv (n = 122)

		PON1-192		
		QQ (n=59)	QR (n=52)	RR (n=11)
PON1-55	LL (n=43)	14	19	10
	LM (n= 60)	32	28	-
	MM (n=19)	13	5	1

In Tabelle 53 und Tabelle 54 ist die Häufigkeit der einzelnen Kombinationen von PON1-55 und PON1-192 im Gesamtkollektiv und den beiden Untersuchungsgruppen dargestellt. Die Kombination MRMR ist im Gesamtkollektiv nur einmal vertreten und kann deshalb in die statistische Auswertung nicht einbezogen werden. Für die Analyse in Bezug auf Unterschiede zwischen den Untergruppen waren somit 121 Probanden in sieben Gruppen verfügbar.

Tabelle 54: Häufigkeiten der Polymorphismen-Kombinationen nach Gruppenzugehörigkeit (n = 122)

Placebogruppe				
		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	5	11	6
	LM	13	11	-
	MM	6	3	-
Verumgruppe				
		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	9	8	4
	LM	19	16	-
	MM	7	2	1

In Tabelle 55 ist die Paraoxonase-Aktivität der PON1 in Abhängigkeit von den kombinierten Genotypen dargestellt.

Tabelle 55: Paraoxonase-Aktivität [U/l] nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122)

POX [U/l]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	61,6 ± 12,4 <sup>1</sup>	153,6 ± 32,7 <sup>2</sup>	268,9 ± 35,1 <sup>3</sup>
	LM	58,5 ± 11,8 <sup>1</sup>	154,7 ± 42,5 <sup>2</sup>	-
	MM	53,0 ± 11,0 <sup>1</sup>	144,2 ± 35,9 <sup>2</sup>	242,0

<sup>1</sup> Signifikanter Unterschied zum LRLR- und zu allen QR-Genotypen (p<0,001)

<sup>2</sup> Signifikanter Unterschied zum LRLR- und zu allen QQ-Genotypen (p<0,001)

<sup>3</sup> Signifikanter Unterschied zu allen QQ- und QR-Genotypen (p<0,001)

Die einfaktorielle ANOVA zeigt, dass nur die PON1-192-Polymorphismen einen signifikanten Einfluss auf die POX ausüben. Innerhalb des QQ- bzw. QR-Allels zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den PON1-55-Genotypen. Da kein Proband das LRMR-Allel aufweist und nur eine Person die Variante MRMR, kann diese Auswertung innerhalb des RR-Allels nicht vorgenommen werden. Allerdings unterscheidet sich die Paraoxonase-Aktivität in der RR-Gruppe signifikant von allen anderen Untergruppen (p<0,001).

In Abbildung 16 ist die Paraoxonase-Aktivität in Abhängigkeit von den kombinierten Genotypen grafisch dargestellt.

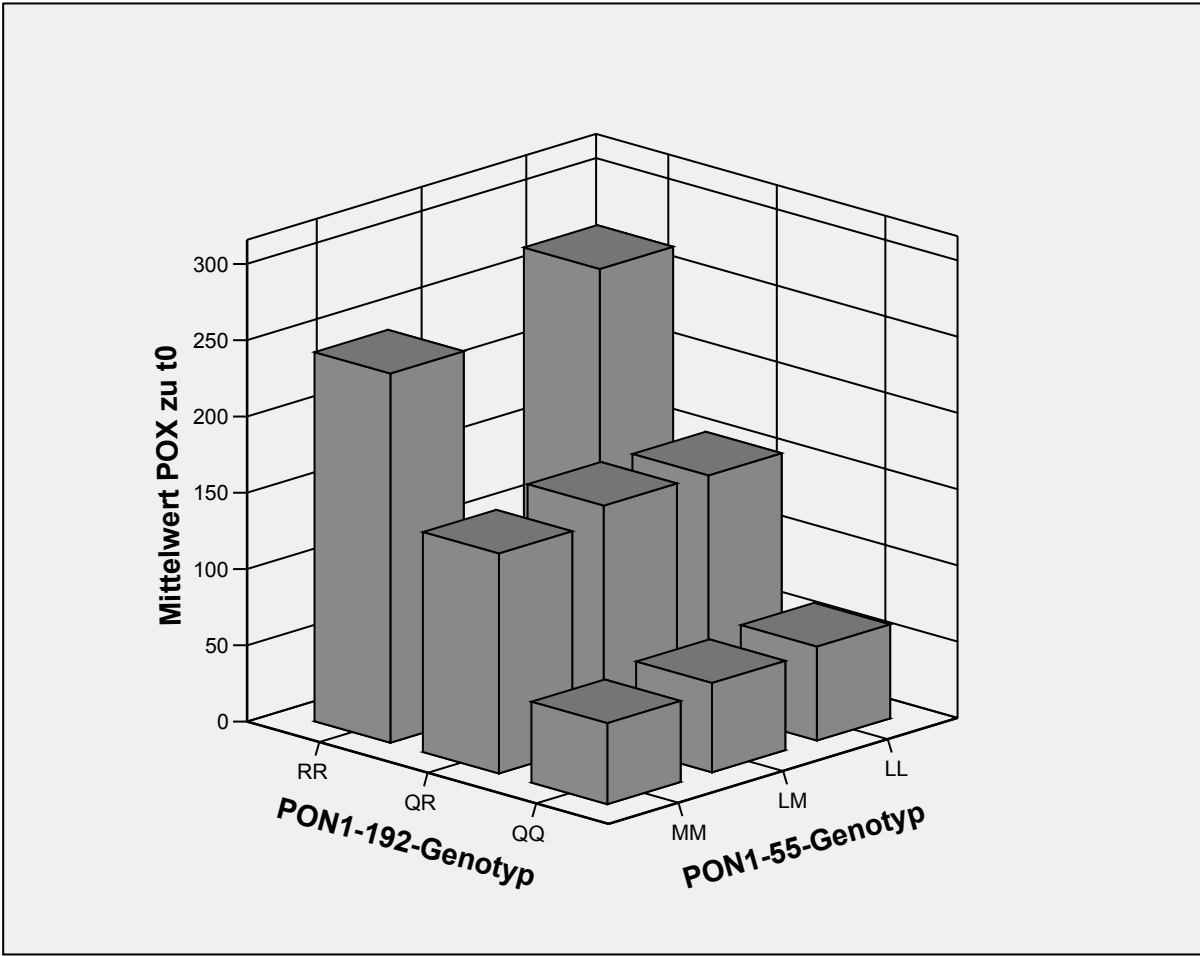


Abbildung 16: Paraoxonase-Aktivität der PON1 [U/l] im Gesamtkollektiv zu t0 nach kombiniertem PON1-Genotyp

Tabelle 56: Veränderungen der Paraoxonase-Aktivität [U/l] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122)

Placebogruppe				
POX [U/l]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+8,86 ± 8,5	+19,35 ± 22,5	+22,75 ± 37,1
	LM	+9,52 ± 12,4	+21,10 ± 39,7	-
	MM	+5,80 ± 16,9	+10,50 ± 2,5	-
Verumgruppe				
POX [U/l]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+9,70 ± 13,9	+7,76 ± 18,8	+26,30 ± 50,2
	LM	+3,98 ± 9,0	+10,02 ± 34,4	-
	MM	+9,56 ± 5,9	-2,60 ± 2,1	-2,00

Tabelle 56 zeigt die Änderungen der Paraoxonase-Aktivität der PON1 in Abhängigkeit vom kombinierten Genotyp. Innerhalb von Verum- bzw. Placebogruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Differenzen während des Interventionszeitraumes.

Tabelle 57: Arylesterase-Aktivität [U/ml] nach kombinierten PON1-Polymorphismen zu t0 (n=122)

ARY [U/ml]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	161,6 ± 36,9	159,3 ± 28,6	150,5 ± 18,4
	LM	155,8 ± 31,0	145,2 ± 42,5	-
	MM	148,4 ± 36,6	138,1 ± 30,4	134,3

In Tabelle 57 ist die Arylesterase-Aktivität der PON1 im Gesamtkollektiv zum Zeitpunkt t0 in Abhängigkeit von der Polymorphismen-Kombination gezeigt. Es sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Untergruppen festzustellen.

Tabelle 58: Veränderungen der Arylesterase-Aktivität [U/ml] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122)

Placebogruppe				
ARY [U/ml]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+6,36 ± 19,8	+19,25 ± 26,4	-0,38 ± 24,9
	LM	+7,76 ± 15,3	+21,33 ± 21,3	-
	MM	+11,33 ± 17,0	+25,93 ± 15,7	-
Verumgruppe				
ARY [U/ml]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+14,01 ± 19,9	+4,01 ± 13,7	+11,70 ± 4,0
	LM	+15,28 ± 21,3	+12,36 ± 18,3	-
	MM	+13,7 ± 18,3	-7,65 ± 5,2	-8,90

Tabelle 58 zeigt die Veränderungen der Arylesterase-Aktivität in Abhängigkeit von der Polymorphismen-Kombination. Innerhalb von Verum- bzw. Placebogruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kombinationen.

In Bezug auf alle weiteren Marker des antioxidativen Stoffwechsels zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den kombinierten PON-1-Polymorphismen. Die Werte sind im Anhang in Tabelle 67 bis Tabelle 79 dargestellt.

## 6 Diskussion

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahrzehnte konnten auf epidemiologischer Ebene einen Zusammenhang zwischen der Zufuhr antioxidativ wirkender Nahrungsinhaltsstoffe und dem Risiko für bestimmte Erkrankungen zeigen. Zu den am häufigsten untersuchten Krankheitsbildern gehören Herz-Kreislauf-Erkrankungen, für die ebenfalls Assoziationen mit dem Ernährungsverhalten gezeigt werden konnten. Aufgrund dieser Ergebnisse und biochemischer Plausibilität, die auch in vitro bestätigt werden konnte, wurden in der Folge verschiedene Interventionsstudien mit Antioxidanzien durchgeführt, um die präventive bzw. therapeutische Wirkung der Substanzen zu untersuchen. Die Ergebnisse konnten jedoch nicht in allen Fällen die vermuteten Zusammenhänge bestätigen. Für die fehlende Effektivität wurden verschiedene Faktoren verantwortlich gemacht. So ist ein wichtiger Faktor für die Wirksamkeit von Antioxidanzien das synergistische Zusammenwirken von Substanzen. Eine geringere oder fehlende Wirksamkeit bei Verabreichung von nur einem oder zwei antioxidativen Stoffen ist deshalb naheliegend. Im Unterschied zu anderen Interventionsstudien sollte deshalb in dieser Untersuchung neben dem Einfluss von Lebensstilfaktoren auf das Risikoprofil der Teilnehmer vor allem der Effekt einer physiologisch dosierten Gabe von Antioxidanzien in einer umfassenden Kombination über den Zeitraum von sechs Monaten untersucht werden. Darüber hinaus wurde im Gegensatz zu den meisten existierenden Veröffentlichungen eine Kombination aus fünf Parametern des antioxidativen Stoffwechsels verwendet, um sowohl die Marker untereinander als auch ihre Zuverlässigkeit in Bezug auf die zu messenden Veränderungen vergleichen zu können. Im Folgenden soll versucht werden, die eigenen Ergebnisse in Relation zu vorliegenden Daten aus anderen Untersuchungen zu bringen, um Aussagen über mögliche Effekte einer derartigen Intervention auf kardiovaskuläre Endpunkte zu ermöglichen.

### 6.1 Einfluss von Lebensstilfaktoren auf den antioxidativen Status

#### 6.1.1 Obst- und Gemüseverzehr

Einer Erhöhung der Aufnahme pflanzlicher Lebensmittel, insbesondere Obst und Gemüse, wird in der Prävention zahlreicher Erkrankungen eine wichtige Rolle zugeschrieben. So konnten zahlreiche Beobachtungsstudien einen Zusammenhang zwischen hoher Obst- und Gemüsezufuhr und dem Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen feststellen. In kombinierten Auswertungen von Nurses' Health Study und Health Professionals' Follow-up Study wurde ein signifikant verringertes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse mit steigendem Konsum von Obst und Gemüse gezeigt [Hung et al. 2004, Joshipura et al. 2001]. Auch für andere



Kollektive konnte dieser Zusammenhang wiederholt bestätigt werden [He et al. 2007, Harriss et al. 2007, Liu et al. 2001]. Ein deutlicher Effekt auf die Gesamt-Mortalität zeigte sich im spanischen Teilkollektiv der EPIC-Studie mit jeweils signifikanten inversen Zusammenhängen von Obst, Wurzel- und Fruchtgemüse [Agudo et al. 2007]. Neben einer erhöhten Aufnahme von Vitaminen und Mineralstoffen wird dieser Effekt auch der antioxidativen Wirkung zahlreicher sekundärer Pflanzenstoffe zugeschrieben. Durch kontrollierte Erhöhung des Verzehrs von bestimmten pflanzlichen Lebensmitteln wurde dementsprechend in verschiedenen Untersuchungen eine Steigerung der antioxidativen Kapazität bzw. eine Senkung von Oxidationsmarkern erreicht [Otaolaurruchi et al. 2007, Bub et al. 2000, Cao et al. 1998]. Vor diesem Hintergrund wurde in der vorliegenden Studie der Zusammenhang zwischen dem mittels Food-Frequency-Befragung ermittelten Verzehr bestimmter Lebensmittelgruppen und den gemessenen Markern des antioxidativen Stoffwechsels untersucht. Dabei wurde keinerlei Einfluss des mit Hilfe der zu t<sub>0</sub> durchgeführten Befragung ermittelten Verzehrs von Obst, rohem und gegartem Gemüse auf sämtliche Statusparameter des antioxidativen Stoffwechsels festgestellt. Auch die Veränderungen im Studienverlauf wurden nicht durch den Obst- und Gemüsekonsum beeinflusst.

Aufgrund der in zahlreichen Untersuchungen bestätigten antioxidativen Wirkung vieler Obst- und Gemüseprodukte wäre ein besserer antioxidativer Status bei Personen mit einem höheren Verzehr zu erwarten gewesen. Allerdings konnte mit dem hier verwendeten Fragebogen innerhalb der drei Lebensmittelkategorien nur zwischen geringem und moderatem Konsum unterschieden werden, wobei „täglich“ die maximale Verzehrshäufigkeit darstellte. Wie viele Portionen pro Tag im letzteren Fall tatsächlich konsumiert wurden, ließ sich nicht feststellen. Möglicherweise treten Effekte auf den antioxidativen Stoffwechsel erst bei regelmäßigem Verzehr mehrerer Portionen pro Tag auf, nicht jedoch bei geringerer Aufnahme. Unterschiede in diesen Größenordnungen ab „einmal täglich“ konnten jedoch nicht erfasst werden. Dies wurde in einer Untersuchung an Typ-2-Diabetikern bestätigt, in der sich ein derartiger Zusammenhang zeigte. Hier korrelierte die Aufnahme von Obst und Gemüse negativ mit der Ausscheidung von 8-iso-PGF<sub>2α</sub> im Urin als Marker für die Lipidperoxidation und dem Comet-Assay als Parameter der DNA-Oxidation. Die Erfassung der Nahrungszufuhr erfolgte in dieser Studie mittels 3-Tage-Protokoll, das quantitativ ausgewertet wurde. Die Teilnehmer hatten im Mittel eine angesichts des Risikoprofils hohe Aufnahme von 502 g/d Obst und Gemüse [Asgard et al. 2007].

Allerdings konnten auch Interventionsstudien nicht immer Auswirkungen des Obst- und Gemüsekonsums auf die gemessenen Antioxidanzien-Parameter zeigen. So hatte eine kontrollierte Diät mit 0 oder 600 g/d Obst und Gemüse über 24 Tage keinerlei Unterschied zwischen den Gruppen in Bezug auf oxidative DNA-Schäden zur Folge [Moller et al. 2003].

Auch die Aufnahme von 330 ml/d Karotten- oder Tomatensaft hatte keinen Effekt auf die FRAP-Werte der Probanden. Eine erhöhte Oxidationsbeständigkeit von LDL und eine Senkung von TBARS zeigte sich nur in der Tomatensaftgruppe [Bub et al. 2000]. Verschiedene Untersuchungen mit Tomaten in roher oder verarbeiteter Form als Püree oder Saft konnten in einigen Fällen ebenfalls keinen Effekt auf den antioxidativen Status zeigen [Tyssandier et al. 2004, Pellegrini et al. 2000, Böhm u. Bitsch 1999].

Innerhalb des hier untersuchten Kollektivs zeigte sich der Konsum von Obst und Gemüse auch nicht als Marker für einen insgesamt gesünderen Lebensstil, da zwischen den drei Verzehrskategorien keine Unterschiede in Bezug auf die Ausprägung von kardiovaskulären Risikofaktoren bestanden. Auch der Konsum von Fleisch zeigte keinen Einfluss auf die genannten Marker, so dass aus der Verzehrshäufigkeit nicht auf einen ungesünderen Lebensstil geschlossen werden kann.

Ungeachtet widersprüchlicher Ergebnisse zum Einfluss von Obst und Gemüse auf den antioxidativen Status besteht ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Verzehr dieser Lebensmittel und dem kardiovaskulären Risiko [Padayatty u. Levine 2008]. So zeigen große epidemiologische Studien übereinstimmend ein geringeres Risiko bei höherem Verzehr von Obst und Gemüse mit Ausnahme von Kartoffeln [He et al. 2007, Hu u. Willett 2002, Harriss et al. 2007]. Die allgemeine Empfehlung, den Verzehr von Obst und Gemüse zu steigern, ist somit trotz fehlender messbarer Wirkungen durch die hier vorliegenden Daten nicht widerlegt. Angesichts einer durchschnittlichen Aufnahme von etwa 320 g/d bei Männern und 380 g/d bei Frauen<sup>6</sup> bei insgesamt zu hoher Energiezufuhr [DGE 2004, S. 27f.] besteht hier durchaus Potenzial für eine Modifikation des Ernährungsmusters in Richtung präventiver Wirkungen.

### 6.1.2 Rauchverhalten

In Bezug auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen stellt Rauchen einen der wichtigsten Risikofaktoren dar. Die negativen Auswirkungen auf den Organismus werden zum Teil auf die hohe oxidative Belastung durch Bestandteile des Tabakrauchs zurückgeführt. Um festzustellen, ob Zusammenhänge zwischen der Rauchexposition und Markern des Redoxstatus existieren und ob sich die Reaktion auf eine Nährstoffgabe zwischen Rauchern und Nichtrauchern unterscheidet, wurde in den Befragungen der Probanden auch das Rauchverhalten ermittelt. Es zeigte sich eine Prävalenz von nur 17,1 % aktiver Raucher im untersuchten Kollektiv. Damit war der Anteil deutlich geringer als in der deutschen Gesamtbevölkerung ab 18 Jahren, wo er mit 28 % unter Frauen und 37,3 % unter Männern im europäischen Mittelfeld liegt [Robert Koch-Institut 2006, S. 107ff]. Die deutsche CORA-Studie, deren Teilnehmerinnen aus einem städtischen Umfeld stammten, ergab sogar eine

---

<sup>6</sup> Berechnet wurde die Summe der Lebensmittelgruppen 11–15 für die Altersgruppen 19–>65 Jahre

Prävalenz von 41 % bei den KHK-Fällen und 29 % bei den Kontrollpersonen [Zyriax et al. 2007] und damit noch höhere Werte als im Bevölkerungsdurchschnitt.

Zum Zeitpunkt  $t_0$  zeigte sich keinerlei Einfluss des aktuellen oder vergangenen Rauchverhaltens auf die erfassten Parameter des antioxidativen Stoffwechsels. Auch die Veränderungen im Studienverlauf wurden nicht durch das Rauchverhalten beeinflusst. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu einigen, jedoch nicht allen Untersuchungen zur oxidativen Belastung von aktiven Rauchern. So wurden bei männlichen japanischen Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern höhere Serumkonzentrationen an 8-OHdG in Verbindung mit niedrigeren Carotinoidspiegeln gemessen. Zudem fand sich zwischen den Konzentrationen von oxLDL-Antikörpern und der Zahl gerauchter Zigaretten pro Tag eine signifikante Korrelation [Suzuki et al. 2003]. Nach Beendigung des Rauchens sanken innerhalb von vier Wochen die Konzentrationen von MDA und die Oxidationsempfindlichkeit des Plasmas von gesunden Personen ab [Polidori et al. 2003]. Dagegen war die Oxidationsbeständigkeit von LDL in einer Untersuchung aus den Niederlanden nicht nur zwischen Rauchern und Nichtrauchern identisch, es zeigte sich auch keine Veränderung bei Personen, die das Rauchen aufgaben. Lediglich die Konzentrationen an TBARS waren nach einem rauchfreien Monat abgesunken [van den Bergmortel et al. 2000]. Auch in einem deutschen Kollektiv war die Oxidationsempfindlichkeit von LDL bei Rauchern und Nichtrauchern nicht signifikant unterschiedlich, wobei die Raucher sogar eine etwas geringere Oxidation zeigten [Siekmeier et al. 1996]. Eine signifikant höhere Beständigkeit gegen Oxidation wurde in Finnland bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern festgestellt [Seppo et al. 2005].

Unter den Antioxidanzien scheint Vitamin C bei Rauchern eine besondere Bedeutung zuzukommen. So fanden sich in verschiedenen rauchenden Kollektiven vor allem erniedrigte Vitamin-C-Konzentrationen im Vergleich zu Nichtrauchern [Lykkesfeldt et al. 2000, Porkkala-Sarataho et al. 2000, Schectman et al. 1991]. Wie Tabelle 59 zeigt, konnten Interventionsstudien in den meisten Fällen allerdings keine Verbesserung des antioxidativen Status durch die ausschließliche Gabe von Vitamin C zeigen. Nur nach Depletion bzw. mit einer sehr hohen Dosierung von 2000 mg/d wurden entsprechende Wirkungen festgestellt [Fuller et al. 1996, Reilly et al. 1996]. Nach Einnahme von 400 I.E./d Vitamin E und/oder 1000 mg/d Vitamin C verbesserte sich bei jungen Rauchern die Oxidationsbeständigkeit der LDL-Partikel im Kupfer-katalysierten Versuchsansatz, nicht jedoch bei Oxidation durch neutrophile Granulozyten, der physiologischen Oxidationsvorgängen ähnlicher ist [Fuller et al. 2000]. Allerdings reichte bereits die Gabe von 60 mg/d mit oder ohne einen flavonoidreichen Pflanzenextrakt, um die Gefäßfunktion von starken Rauchern signifikant zu verbessern [Young et al. 2006]. Protektive Effekte von Antioxidanzien könnten also unabhängig von messbaren Auswirkungen auf Redoxmarker zum Tragen kommen.

Tabelle 59: Ergebnisse placebokontrollierter Studien zur antioxidativen Wirkung von Vitamin C bei Rauchern

Quelle	n	Dosierung [mg/d]	Dauer	Ergebnis
Fuller et al. 2000	30	1000	8 Wochen	Kein Einfluss auf LDL-Oxidierbarkeit
Nyysönen et al. 1997b	59	500 (slow-release)	2 Monate	Kein Einfluss auf LDL-Oxidierbarkeit
Samman et al. 1997	8	1000	2 Wochen	Kein Einfluss auf LDL-Oxidierbarkeit
Fuller et al. 1996	19	2000	4 Wochen	Reduktion der LDL-Oxidierbarkeit
Mulholland et al. 1996	16	1000	2 Wochen	Kein Einfluss auf MDA und antioxidatives Potential des Serums

Die Ergebnisse in Bezug auf DNA-Schädigung durch Rauchen und mögliche protektive Wirkungen von Antioxidanzien sind ebenfalls widersprüchlich. So wurde bei Rauchern zu Beginn einer Interventionsstudie nur eine geringfügig höhere Zahl von Strangbrüchen in Lymphozyten als bei Nichtrauchern festgestellt. Die folgende Supplementierung mit Tomatenextrakt hatte in beiden Gruppen vergleichbare moderate Effekte auf diesen Marker zur Folge [Briviba et al. 2004]. Die Anzahl von Lymphozyten mit Chromosomenschäden war in einem anderen Kollektiv bei Rauchern und Nichtrauchern ebenfalls gleich, allerdings bewirkte die kombinierte Gabe moderater Dosierungen von Antioxidanzien bei Rauchern eine signifikant verringerte Anzahl von Schäden nach 12 Wochen, wohingegen bei Nichtrauchern keine Veränderung auftrat und Raucher in der Placebogruppe einen signifikanten Anstieg zeigten [Volkovova et al. 2005]. In einem Kollektiv, das nur aus Rauchern bestand, zeigte sich nach vier Wochen Supplementation mit 500 mg/d Vitamin C und 182 mg/d Vitamin E nur bei Verwendung von zeitverzögert freigesetztem Vitamin C eine Reduktion von DNA-Schäden, nicht jedoch bei normaler Freisetzung [Moller et al. 2004].

Auch der Bedarf an Vitamin E scheint bei Rauchern indirekt durch die stärkere oxidative Belastung erhöht zu sein. So wurde mit Deuterium-markiertem  $\alpha$ -Tocopherol eine höhere Abbaurate im Vergleich zu Nichtrauchern festgestellt. Diese war invers mit den Plasmakonzentrationen von Vitamin C korreliert und konnte durch die Gabe von 1000 mg/d Vitamin C normalisiert werden [Bruno et al. 2005 u. 2006].

Unabhängig von den Ergebnissen in Bezug auf den antioxidativen Status kann dennoch kein Zweifel daran bestehen, dass Rauchen einen der bedeutendsten Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen darstellt. Neben epidemiologischen Daten zum Zusammenhang von Rauchen und klinischen Endpunkten weisen zahlreiche Studien auf eine schlechtere Gefäßfunktion, erhöhte Gerinnung und oxidative Belastung bei Rauchern hin [Ambrose u. Barua 2004]. So wurde in der Atherosclerosis Risk in Communities Study an insgesamt 10.914 Personen ein klarer Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber Tabakrauch und der Dicke der Intima media festgestellt. Dabei wiesen aktuelle Raucher höhere Werte als Exraucher auf, gefolgt von Nichtrauchern. Der Einfluss des Rauchens wurde noch durch zusätzliche Risikofaktoren wie Diabetes und Bluthochdruck verstärkt. Selbst unter den nicht aktiv rauchenden Personen zeigte sich eine größere Dicke der Intima media (IMT) bei Passivrauchern gegenüber völlig rauchfreien Teilnehmern, wobei die Werte positiv mit der Exposition assoziiert waren [Howard et al. 1998]. Die Gabe von 500 I.E./d Vitamin E an aktive Raucher hatte nach vier Jahren eine geringfügig höhere Zunahme der IMT zur Folge als die Placebogabe. Da gleichzeitig eine signifikant verringerte Oxidationsempfindlichkeit der LDL-Partikel in der Vitamingruppe beobachtet wurde, ist der Zusammenhang zwischen Oxidationsmarkern und Atherogenese zumindest bei Rauchern in Frage zu stellen [Magliano et al. 2006].

Vor dem Hintergrund der genannten Ergebnisse ist nicht zu erwarten, dass negative Folgen des Rauchens in Bezug auf das kardiovaskuläre Risiko durch die Einnahme von Antioxidanzien vermindert oder gar neutralisiert werden können. Nach wie vor ist die einzige etablierte effektive Maßnahme in dieser Hinsicht das Vermeiden der Rauchexposition sowohl aktiv als auch passiv.

## 6.2 Effekt der Intervention auf den Versorgungsstatus

### 6.2.1 Vitamin E

#### 6.2.1.1 Absolute Konzentrationen

Die durchschnittlichen absoluten Vitamin-E-Konzentrationen von 35,9  $\mu\text{mol/l}$  im untersuchten Kollektiv waren im Vergleich mit den in anderen Gruppen gemessenen Werten hoch. So wiesen in Kollektiven gesunder älterer Personen mit einer hohen Zufuhr über die Nahrung die teilnehmenden Frauen durchschnittliche Konzentrationen von 34,7 bzw. 34,8  $\mu\text{mol/l}$  auf, die Männer nur 30,0  $\mu\text{mol/l}$  [Wolters et al. 2004, Gritschneider et al. 1998]. Im Gesamtkollektiv der VERA-Studie lagen die mittleren Konzentrationen bei 30,6  $\mu\text{mol/l}$  [Heseker et al. 1993]. Mit 28,3 bzw. 29,2  $\mu\text{mol/l}$  wurden bei älteren Heimbewohnern etwas niedrigere Werte gemessen [Wouters-Wesseling et al. 2003, Girodon et al. 1999]. Eine Vergleichsstudie zum Versorgungsstatus in fünf europäischen Ländern ergab bei gesunden, nicht rauchenden Erwachsenen ohne Supplementeinnahme eine mittlere Serumkonzentration von 26,1  $\mu\text{mol/l}$  für Männer und 26,8  $\mu\text{mol/l}$  für Frauen [Olmedilla et al. 2001]. In einem schwedischen Kollektiv, in dem 29 % der Frauen und 19 % der Männer Vitamin-E-Präparate einnahmen, wurden vergleichbare Konzentrationen von 26,6  $\mu\text{mol/l}$  bei Männern und 27,6  $\mu\text{mol/l}$  bei Frauen gemessen [Wallström et al. 2001].

In der vorliegenden Studie stiegen die absoluten Konzentrationen von Vitamin E in der Verumgruppe nach Gabe von 80 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol um 36 % an. Diese Veränderung ist mit den in anderen Untersuchungen beobachteten vergleichbar. So führte die Gabe von 67 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol in Kombination mit Vitamin C und  $\beta$ -Carotin nach acht Wochen zu einem Anstieg der absoluten Konzentrationen ausgehend von nur 29,2  $\mu\text{mol/l}$  um 50 %, so dass die Werte bei Studienende auf ähnlicher Höhe wie bei den hier untersuchten Personen lagen [Woodside et al. 1999]. Bei gesunden älteren Frauen mit bereits hohen Ausgangswerten stiegen die absoluten Konzentrationen um 17 % an, nachdem sie sechs Monate lang eine Nährstoffmischung mit 36 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol eingenommen hatten [Wolters et al. 2004]. Ein identischer prozentualer Anstieg wurde in einem insgesamt schlecht versorgten Kollektiv älterer Personen durch die Gabe von nur 15 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol gemeinsam mit weiteren Nährstoffen erreicht [Monget et al. 1996]. Nur um 11 % stiegen die absoluten Konzentrationen ausgehend von normalen Basiswerten bei gesunden Erwachsenen durch eine Dosierung von 30 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol in Kombination mit weiteren Antioxidanzien [Preziosi et al. 1998]. Die gleiche Nährstoffkombination führte später in der SU.VI.MAX-Studie nach zwei Jahren Interventionsdauer nur zu einer Erhöhung der absoluten Konzentration um

4 % [Hercberg et al. 2005]. Um eine Verbesserung des Vitamin-E-Status zu erreichen, ist somit eine Dosierung von nur 30 mg/d offenbar zu niedrig. Dagegen war im hier untersuchten Kollektiv ausgehend von hohen absoluten Konzentrationen bei Studienbeginn die Verabreichung von 80 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol ausreichend, um einen deutlichen Anstieg der Serumkonzentrationen zu bewirken.

Zu beiden Untersuchungszeitpunkten und in beiden Gruppen erreichten oder überschritten alle Teilnehmer den unteren Grenzwert des Normalbereiches für die absoluten Vitamin-E-Spiegel von 12  $\mu\text{mol/l}$  [DGE et al. 2000, Institute of Medicine 2000, Greiling u. Gressner 1995]. Nach den US-amerikanischen Zufuhrempfehlungen wäre für das Erreichen dieser Konzentration eine dauerhafte Aufnahme von 12 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol nötig [Institute of Medicine 2000, 234]. Eine Zufuhr in dieser Höhe wird jedoch nur von etwa 50 % der deutschen Bevölkerung erreicht oder überschritten [Schulze et al. 2001]. Da angesichts des Risikoprofils der hier untersuchten Personen nicht anzunehmen ist, dass diese ein überdurchschnittlich gesundheitsbewusstes Ernährungsverhalten besitzen, dürfte die Diskrepanz auf die erhöhten durchschnittlichen Lipidwerte des Kollektivs zurückzuführen sein. Die lipidadjustierten Werte besitzen deshalb in dieser Gruppe eine deutlich größere Aussagekraft als die absoluten Werte.

#### **6.2.1.2 Lipidadjustierte Konzentrationen**

Zum Zeitpunkt t0 bestand im Gesamtkollektiv eine hohe Korrelation zwischen den Vitamin-E-Spiegeln und Gesamtcholesterol, LDL-Cholesterol sowie Triglyceriden. Eine vergleichbare Rangfolge der Korrelationen wurde bereits aus Daten der VERA-Studie [Heseker et al. 1993] sowie von Thurnham et al. [1986] ermittelt. Auch in einem schwedischen Kollektiv zeigte sich die Konzentration an Gesamtcholesterol als stärkster Prädiktor für die  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration. Zwischen beiden Werten wurde ein Korrelationskoeffizient von 0,653 bzw. 0,676 ( $p < 0,001$ ) bei Männern und Frauen gefunden [Wallström et al. 2001]. Eine streng lineare Korrelation zwischen verschiedenen Carotinoiden sowie  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Tocopherol mit Gesamtcholesterol und Triglyceriden zeigte sich auch in der YALTA-Studie, wobei auch in den oberen und unteren Extrembereichen die Linearität bestehen blieb [Gross et al. 2003]. In einigen Untersuchungen fand dementsprechend die Lipidadjustierung bezogen auf Gesamtcholesterol ausschließlich [Tesoriere et al. 2004, Porkkala-Sarataho et al. 2000] oder zusätzlich zur Summe mit Triglyceriden [Viroonudomphol et al. 2005] Verwendung. Um die vorliegenden Ergebnisse mit diesen vergleichen zu können, wurde der Quotient von Tocopherol zu Cholesterol berechnet.

Ein deutlicherer Zusammenhang als mit einzelnen Lipidfraktionen zeigte sich in der vorliegenden Untersuchung jedoch mit der Summe aus Gesamtcholesterol und Triglyceriden

( $r=0,665$ ). Auch Thurnham et al. [1986] sowie Gross et al. [2003] fanden für die Summe aus Cholesterol und Triglyceriden deutlichere Zusammenhänge als für Cholesterol alleine. Diese Methode wird bereits seit geraumer Zeit mit geringen Variationen in zahlreichen Studien als reine Statusbestimmung [Viroonudomphol et al. 2005, Panemangalore u. Lee 1992, Huerta et al. 2006] und im Verlauf von Interventionsstudien [Tam et al. 2005, Earnest et al. 2003, Jialal u. Grundy 1993, Jialal et al. 1995] angewendet. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurden die Konzentrationen an Vitamin E deshalb zur weiteren Beurteilung auf die Summe von Gesamtcholesterol und Triglyceriden bezogen. Wie eine Studie an gesunden Personen zeigte, erfolgt die Anreicherung exogenen  $\alpha$ -Tocopherols (150 mg  $\alpha$ -Tocopherolacetat) am ausgeprägtesten und schnellsten in VLDL und LDL. Chylomikronen lagerten Vitamin E nur vorübergehend bis 6 h nach Aufnahme ein. In VLDL zeigte sich ein Maximum von 125 % der Ausgangswerte nach etwa 12 h und in LDL ein Plateau bei 115 % in der Zeit von 12–24 h [Jeanes et al. 2005]. Somit ist davon auszugehen, dass sich die Auswirkung der Supplementation in dieser Form der adjustierten Vitamin-E-Konzentration am besten widerspiegelt.

Sowohl die Werte im Gesamtkollektiv zum Zeitpunkt  $t_0$  als auch die Veränderungen im Studienverlauf innerhalb der Verumgruppe korrelierten zwischen beiden Verfahren der Lipidadjustierung hochsignifikant miteinander (Abbildung 8, S. 81). Zur Statusbeurteilung und zur Messung von Veränderungen im Studienverlauf scheinen beide Bezugsgrößen somit gleichermaßen geeignet und den absoluten Werten überlegen zu sein.

Als präventiv in Bezug auf chronische Erkrankungen werden absolute Plasmaspiegel von 30  $\mu\text{mol/l}$  Vitamin E angesehen [Gey 1998, Biesalski et al. 1997b, DGE et al. 2000]. Da die obere Grenze des Normalbereiches der Blutlipide heute mit 5,2 mmol/l (200 mg/dl) Gesamtcholesterol und 1,7 mmol/l (150 mg/dl) Triglyceriden [Grundy et al. 2005, Hahn et al. 2006, S. 389] angegeben wird, ergibt sich daraus eine wünschenswerte lipidadjustierte Vitamin-E-Konzentration von 4,3  $\mu\text{mol}$  pro mmol Gesamtlipide. In der französischen SU.VI.MAX-Studie wurden dagegen noch höhere Grenzwerte von 6,5 mmol/l Gesamtcholesterol und 2,3 mmol/l Triglyceride verwendet, so dass sich in diesem Kollektiv als präventiver Wert eine absolute Vitamin-E-Konzentration von 37,8  $\mu\text{mol/l}$  errechnen würde [Hercberg et al. 2005].

Neben physiologischer Plausibilität aufgrund der lipophilen Eigenschaften von Vitamin E, die eine Lipidadjustierung nahelegen, konnte auch in Interventionsstudien die Notwendigkeit des Verfahrens gezeigt werden. So wurde bei Dialyse-Patienten nach Gabe von 800 I.E./d Vitamin E über 12 Wochen eine signifikant verringerte Oxidationsempfindlichkeit der LDL-Partikel beobachtet, wobei eine signifikante Korrelation zwischen der lipidadjustierten  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration und der Oxidationsbeständigkeit der LDL-Partikel ex vivo bestand



[Islam et al. 2000]. Bei Patienten mit rheumatoider Arthritis ergab sich zu Beginn einer Untersuchung eine hohe Korrelation von  $\alpha$ -Tocopherol im Plasma mit Gesamtcholesterol ( $r=0,402$ ,  $p<0,01$ ) und Triglyceriden ( $r= 0,591$ ,  $p<0,01$ ). Die zwölfwöchige Intervention mit einer mediterranen Kost führte trotz erhöhter Aufnahme mit der kontrollierten Diät zu einem signifikanten Abfall der absoluten Vitamin-E-Spiegel. Da die Konzentrationen von Gesamtcholesterol ebenfalls signifikant und in geringerem Ausmaß auch die Triglyceridspiegel sanken, wurden die Vitamin-E-Konzentrationen wie in der vorliegenden Untersuchung auf die Summe aus Gesamtcholesterol und Triglyceriden bezogen. Nach der Adjustierung zeigte sich keine signifikante Veränderung der Vitamin-E-Spiegel mehr [Hagfors et al. 2003]. Die ausschließliche Betrachtung der absoluten Werte hätte möglicherweise zu einer negativen Beurteilung der Ernährungsintervention geführt, die jedoch deutliche positive Effekte auf das Risikoprofil hatte.

Die Sinnhaftigkeit der Lipidadjustierung wird auch aus epidemiologischen Daten in Bezug auf kardiovaskuläre Endpunkte deutlich. So fand eine kleinere Studie an 395 Männern in vier verschiedenen Regionen Europas eine höhere Häufigkeit koronarer Herzerkrankungen bei niedrigen Cholesterol-adjustierten Vitamin-E-Spiegeln. Es zeigte sich jedoch kein Einfluss der absoluten Konzentrationen an Vitamin E [Riemersma et al. 1990]. Auch Gey et al. [1991] konnten einen Zusammenhang zwischen niedrigen Cholesterol-adjustierten Konzentrationen an Vitamin E und höherer Mortalität an ischämischen Herzerkrankungen zeigen. Dementsprechend wird für Personen mit erhöhten Lipidwerten auch in den US-amerikanischen Zufuhrempfehlungen zur Beurteilung des Vitamin-E-Status eine Lipidadjustierung empfohlen, allerdings ohne einen anzustrebenden Wert vorzuschlagen [Institute of Medicine 2000, S. 235].

Bezogen auf das Gesamtcholesterol erhöhten sich in der Verumgruppe die Vitamin-E-Konzentrationen im Studienverlauf um 43 % und bezogen auf die Summe aus Triglyceriden und Gesamtcholesterol um 44 %. Der Anstieg war aufgrund der im Studienverlauf gesunkenen Lipidwerte des Kollektivs höher als bei den absoluten Konzentrationen mit 36 %. Diese Veränderungen sind mit den in anderen Studien gemessenen vergleichbar. Die Gabe von 67 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol in Kombination mit Vitamin C und  $\beta$ -Carotin führte nach acht Wochen zu einem Anstieg der lipidstandardisierten  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentrationen um 50 %, wobei die Änderung der  $\beta$ -Carotin- und  $\alpha$ -Tocopherol-Spiegel mit der Erhöhung der LDL-Oxidationsbeständigkeit korrelierte [Woodside et al. 1999]. Eine Dosierung von nur 30 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol in Kombination mit weiteren Antioxidanzien bewirkte bei gesunden Erwachsenen eine Erhöhung der absoluten und lipidstandardisierten Konzentrationen um 11 % bzw. 12 %. Bezogen auf das Gesamtcholesterol waren die Werte mit 6,6  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Cholesterol aufgrund der niedrigen Lipidwerte der Teilnehmer bei Studienbeginn höher als in

der vorliegenden Untersuchung [Preziosi et al. 1998]. Die gleiche Nährstoffkombination führte in der SU.VI.MAX-Studie nach zwei Jahren Interventionsdauer nur zu einer Erhöhung der absoluten Konzentrationen um 4 %. Aufgrund der im Studienverlauf gesunkenen Konzentrationen an Gesamtcholesterol ergab sich jedoch ein Anstieg der darauf bezogenen Vitamin-E-Spiegel um 15 % bei den Männern und um 9 % bei den Frauen [Hercberg et al. 2005]. In einem insgesamt schlecht versorgten Kollektiv älterer Personen stiegen die absoluten und die auf Cholesterol bezogenen Werte nach Gabe von nur 15 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol gemeinsam mit weiteren Nährstoffen um 17 % an [Monget et al. 1996]. Höhere Anstiege über 100 % wurden in der Regel erst mit erheblich höheren Dosierungen erreicht. So stiegen in Kombination mit weiteren Antioxidanzien die auf Cholesterol und Triglyceride adjustierten Vitamin-E-Konzentrationen nach Gabe von 800 I.E./d um 100–300 % [Earnest et al. 2003, Jialal u. Grundy 1993].

Zwischen der anhand von Zufuhrdaten ermittelten Vitamin-E-Aufnahme und den Plasmakonzentrationen wurde in verschiedenen Studien keine Korrelation gefunden [Ford u. Sowell 1999, Gritschneider et al. 1998]. Da das Fettgewebe zwar Vitamin E speichert, jedoch nicht bei Bedarf wieder freisetzen kann [Hahn et al. 2006, S. 86], ist auch hier trotz der lipophilen Eigenschaften und damit fehlender renaler Elimination die regelmäßige Aufnahme erforderlich. So zeigte sich zwölf Stunden nach Einnahme von 150 mg  $\alpha$ -Tocopherylacetat die maximale Plasmakonzentration, wobei 45 % aus der Einmaldosis stammten. Die Anreicherung von Vitamin E erfolgt vor allem in VLDL und LDL, wo ihre Konzentration jedoch bereits nach 24 h wieder deutlich abfällt. Dennoch ist selbst nach 48 h der Ausgangswert noch nicht wieder erreicht; die Halbwertszeit für Vitamin E aus der Einmaldosis wurde mit 43 h berechnet [Jeanes et al. 2005]. Aufgrund der Speicherfunktion des Fettgewebes besteht nur ein schwacher Zusammenhang mit den Konzentrationen im Plasma [Su et al. 1998].

Die Aufnahme von  $\alpha$ -Tocopherol mit der Nahrung korreliert negativ mit den Plasmaspiegeln an  $\gamma$ -Tocopherol, die physiologische Konsequenz dieser Konkurrenz ist jedoch unklar [Ascherio et al. 1992]. Durch die Supplementation mit isoliertem  $\alpha$ -Tocopherol wird dieser inverse Zusammenhang noch verstärkt. So wurde bei Gesunden und Typ-2-Diabetikern nach kurzfristiger Einnahme von 100 bzw. 500 mg/d ein deutlicher Abfall der Konzentrationen an  $\gamma$ -Tocopherol beobachtet [Olmedilla et al. 2002, Wu et al. 2007]. Der Effekt auf Redoxmarker war jedoch nach Gabe von  $\alpha$ -Tocopherol oder gemischten Tocopherolen mit hohem Gehalt an  $\gamma$ -Tocopherol vergleichbar [Wu et al. 2007].

### 6.2.2 Zink

Die durchschnittliche Plasmakonzentration an Zink im Gesamtkollektiv lag bei Studienbeginn mit 13,6  $\mu\text{mol/l}$  innerhalb des Normalbereiches. Ein vergleichbarer Wert wurde von

männlichen Teilnehmern der SU.VI.MAX-Studie mit 13,5 µmol/l erreicht, nicht jedoch von den weiblichen, die mit 12,9 µmol/l signifikant niedrigere Konzentrationen aufwiesen. Dementsprechend zeigten die Frauen 9,5 % häufiger erniedrigte Konzentrationen im Serum als Männer mit nur 4,5 %. Es wurde in beiden Geschlechtern eine leichte Zunahme der Häufigkeit erniedrigter Zinkspiegel mit steigendem Alter festgestellt, zusätzlich bei den Frauen eine Abnahme mit steigendem BMI. Diese Unterschiede erreichten jedoch keine statistische Signifikanz [Galan et al. 2005b]. Bei einem vergleichbaren Kollektiv in Frankreich wurden in einer älteren Untersuchung derselben Arbeitsgruppe mit 12,2 µmol/l dagegen insgesamt niedrigere Werte gefunden, wobei die Männer nur geringfügig höhere Spiegel zeigten als die Frauen. Dabei fanden sich erniedrigte Konzentrationen von Zink im Serum (<10,7 µmol/l) bei 15,1 % der Männer und 23,8 % der Frauen [Preziosi et al. 1998]. Altenheimbewohner zwischen 65 und 103 Jahren wiesen mit 10,8 µmol/l noch deutlich niedrigere Konzentrationen an Zink auf als die beiden jüngeren Gruppen. Dabei hatten die Frauen signifikant höhere Zinkspiegel als die Männer. Obwohl in dieser Untersuchung die Untergrenze des Normalbereiches mit 10 µmol/l ungewöhnlich niedrig definiert wurde, lagen bei Studienbeginn 39,5 % der Teilnehmer unterhalb dieses Wertes [Monget et al. 1996].

In der vorliegenden Studie war die Supplementation mit 15 mg/d Zink ausreichend, um die Plasmakonzentration bei den Teilnehmern signifikant um durchschnittlich 8,6 % zu erhöhen. Bei gesunden Männern und Frauen mittleren Alters führte die Gabe von 20 mg/d Zink in Form von Gluconat nach drei Monaten zu einem Anstieg der Serumkonzentrationen von 25,6 %. Allerdings waren die Werte bei Studienbeginn mit 12,1 µmol/l in der Verumgruppe deutlich niedriger als in der vorliegenden Untersuchung. Nach sechs Monaten waren die Konzentrationen wieder leicht abgesunken, so dass zum Ende der Studie nur ein Anstieg um 14,0 % zu verzeichnen war [Preziosi et al. 1998]. Da auch die Konzentrationen der übrigen wasserlöslichen Nährstoffe zwischen diesen beiden Messzeitpunkten wieder abnahmen, kann eine sinkende Compliance als Ursache vermutet werden. In der SU.VI.MAX-Studie wurde dagegen mit einer identischen Nährstoffgabe nach zwei Jahren ein Anstieg von 14,8 % bei den Frauen und von 27,5 % bei den Männern beobachtet. Nach sieben Jahren waren die Werte jeweils wieder auf das Ausgangsniveau gesunken, bei den Frauen lagen sie sogar 4,9 % niedriger. Eine mangelhafte Compliance war in diesem Fall als Ursache jedoch unwahrscheinlich, da die Konzentrationen von Zink in der Placebogruppe zwischen den beiden letzten Messzeitpunkten ebenfalls erheblich absanken und die der übrigen verabreichten Nährstoffe in der Verumgruppe konstant blieben oder weiter anstiegen. Eine mögliche Begründung für diese Verläufe wurde von den Autoren nicht gegeben [Hercberg et al. 2004]. Heimbewohner mit einem Durchschnittsalter >80 Jahren zeigten ausgehend von niedrigen Werten bei Studienbeginn signifikante Anstiege der Serumkonzentration an Zink nach Gabe von 20 mg/d in Kombination mit weiteren Nährstoffen über sechs Monate.

Allerdings waren die Veränderungen mit +2,8 % bzw. +1,6 % bei kombinierter Gabe mit Vitaminen gering [Monget et al. 1996].

Möglicherweise hat das hohe Körpergewicht des hier untersuchten Kollektivs mit einem durchschnittlichen BMI von 31,9 kg/m<sup>2</sup> für den moderaten Anstieg der Zinkspiegel eine Rolle gespielt. So führte die Gabe von 20 mg/d in einem älteren Kollektiv bei Personen mit einem BMI  $\leq 21$  kg/m<sup>2</sup> zu einem Anstieg um 21 % und bei den Teilnehmern mit einem Wert  $\geq 24$  kg/m<sup>2</sup> nur um 19 % [Boukaiba et al. 1993]. Vor dem Hintergrund eines höheren Verteilungsvolumens ist ein geringerer Anstieg von Plasmakonzentrationen bei einem höheren Körpergewicht plausibel, wenn davon ausgegangen wird, dass die zusätzliche Masse nicht ausschließlich aus Fettgewebe besteht. Gewichtsbezogene Empfehlungen existieren jedoch bis jetzt weder im Rahmen der Referenzwerte für gesunde Personen noch mit Bezug auf bestimmte Krankheitsbilder bzw. Risikofaktoren. Ob stark übergewichtige Personen über ihre höhere Nahrungszufuhr hinaus von einer Zinkgabe profitieren, kann deshalb nicht abschließend beurteilt werden.

### 6.2.3 Selen

In der vorliegenden Studie lag die durchschnittliche Konzentration von Selen im Plasma zum Zeitpunkt t<sub>0</sub> im Gesamtkollektiv mit 1,04  $\mu\text{mol/l}$  innerhalb des vom Labor verwendeten Normalbereiches. Dabei erreichten 18,8 % der Teilnehmer nicht den unteren Grenzwert von 0,76  $\mu\text{mol/l}$ . Die Werte stimmen mit den in der VERA-Studie gemessenen Selenkonzentrationen im Serum überein, in der ein Median von 1,03 für Männer bzw. 1,04  $\mu\text{mol/l}$  für Frauen (entsprechend 81,4 bzw. 82,2  $\mu\text{g/l}$ ) beobachtet wurde. Kein Teilnehmer wies Werte unterhalb des in dieser Untersuchung verwendeten Normalbereiches von 0,4  $\mu\text{mol/l}$  auf, nur bei 3,2 % der Personen wurden Konzentrationen  $< 0,72$   $\mu\text{mol/l}$  (entsprechend 56,9  $\mu\text{g/l}$ ) gemessen [Kohlmeier et al. 1995, C9]. Die 75. Perzentile lag für beide Geschlechter bei 1,16  $\mu\text{mol/l}$ , dieser Wert wurde also nur von 25 % der Personen erreicht bzw. überschritten [Kohlmeier et al. 1995, C41]. Die Untergrenze von 50  $\mu\text{g/l}$  (0,4  $\mu\text{mol/l}$ ) soll mit einer Zufuhr von 0,67  $\mu\text{g/kg}$  Körpergewicht und Tag erreicht werden [Biesalski et al. 1997a, DGE et al. 2000]. In der VERA-Studie wurde für Frauen eine mittlere tägliche Selenaufnahme von 38  $\mu\text{g/d}$  und für Männer eine Zufuhr von 47  $\mu\text{g/d}$  errechnet [Oster u. Prellwitz 1989], neuere Duplikatstudien ergaben eine Zufuhr von 30  $\mu\text{g/d}$  bei Frauen und 41  $\mu\text{g/d}$  bei Männern [Drobner et al. 1996].

Deutlich niedrigere Werte als die Probanden der vorliegenden Untersuchung wies ein gesundes älteres Kollektiv in Deutschland auf. Bei den weiblichen Probanden wurde ein durchschnittlicher Wert von 0,85  $\mu\text{mol/l}$  und bei den männlichen von 0,72  $\mu\text{mol/l}$  ermittelt [Gritschneider et al. 1998]. Höhere Durchschnittswerte fanden sich in Untersuchungen aus

anderen europäischen Ländern. So wies ein französisches Kollektiv Konzentrationen von 1,12  $\mu\text{mol/l}$  auf, wobei nur 6,2 % der Personen unterhalb der verwendeten Grenze von 0,75  $\mu\text{mol/l}$  lagen [Preziosi et al. 1998]. Männliche Teilnehmer der SU.VI.MAX-Studie erreichten mit 1,13  $\mu\text{mol/l}$  identische Selenspiegel, die weiblichen Probanden wiesen dagegen mit 1,08  $\mu\text{mol/l}$  signifikant niedrigere Konzentrationen auf. Dennoch lagen nur 1,6 % der Teilnehmerinnen unterhalb des Normalwertes von 0,75  $\mu\text{mol/l}$ ; bei den Männern waren es trotz der höheren Gesamtwerte mit 1,3 % ähnlich viele [Galan et al. 2005]. Bei Altenheimbewohnern lagen die Werte mit 0,7  $\mu\text{mol/l}$  noch erheblich niedriger, so dass 80,1 % der Personen unterhalb des hier verwendeten Grenzwertes von 0,86  $\mu\text{mol/l}$  lagen [Monget et al. 1996].

Die Plasmakonzentrationen an Selen stiegen in der Verumgruppe um 50,4 % und in der Placebogruppe um 26,0 % signifikant an. Da in der Verumgruppe sowohl die Spiegel zum Zeitpunkt t6 als auch die Veränderungen im Studienverlauf signifikant höher waren als mit Placebo, kann die Selengabe dennoch als ausreichend hoch für einen Interventionseffekt angesehen werden. Ausgehend von höheren Basiswerten wurde bei gesunden Personen mittleren Alters nach drei Monaten einer kombinierten Antioxidanziengabe mit 100  $\mu\text{g/d}$  Selen ein Anstieg der Serumspiegel um 56 % beobachtet. Im Verlauf weiterer drei Monate fielen die Konzentrationen jedoch wieder, so dass bei Studienende lediglich eine Erhöhung um 42 % zu verzeichnen war [Preziosi et al. 1998]. Eine ähnliche Nährstoffkombination hatte vorher bereits bei älteren Personen über den Zeitraum von sechs Monaten zu einem Anstieg von 60 % ausgehend von sehr niedrigen Ausgangswerten geführt [Monget et al. 1996]. Mit einer Dosierung von 100  $\mu\text{g/d}$  Selen stiegen die Konzentrationen in der SU.VI.MAX-Studie um 73 % bzw. 74 % bei Männern und Frauen, so dass nach sieben Jahren Durchschnittswerte von 2,17 bzw. 1,86  $\mu\text{mol/l}$  erreicht wurden [Hercberg et al. 2004]. Ausgehend von ebenfalls hohen Basiswerten (1,4  $\mu\text{mol/l}$ ) stiegen die Konzentrationen in einem Kollektiv von Rauchern durch die Gabe von 100  $\mu\text{g/d}$  Selen gemeinsam mit weiteren Antioxidanzien für drei Monate dagegen nur um 20 % an [Nyssönen et al. 1994]. Über den gleichen Zeitraum reichte die Gabe von nur 50  $\mu\text{g/d}$  Selen aus, um bei gesunden Männern die Plasmakonzentration von 1,1  $\mu\text{mol/l}$  um 32 % zu erhöhen [Volkovova et al. 2005].

Der Anstieg in der Placebogruppe könnte auf saisonale Einflüsse zurückzuführen sein. Vergleichbare Verläufe der Selenkonzentrationen im Jahresverlauf wurden in der VERA-Studie [Kohlmeier et al. 1995, C48f.] beobachtet. Dabei zeigten sich die niedrigsten Werte im Herbst und die höchsten im Frühjahr, so dass die Häufigkeit erniedrigter Werte ebenfalls im Herbst am höchsten war. Auch in einer früheren Studie an älteren Frauen hatte sich in der Placebogruppe ein signifikanter Anstieg der Selenspiegel im Studienzeitraum zwischen November und Mai gezeigt [Wolters 2001]. Ein signifikanter Anstieg der Serum-Selenspiegel

in der Placebogruppe wurde auch in einer Interventionsstudie an männlichen Rauchern und Nichtrauchern beobachtet. Diese erhielten während des Frühjahrs über 12 Wochen eine Antioxidanzienmischung mit 50 µg/d Selen oder Placebo. Mit 11 % war der Anstieg bei den Rauchern, die Placebo erhielten, aufgrund niedrigerer Ausgangswerte deutlicher als in der gesamten Placebogruppe mit 5 % [Volkovova et al. 2005]. In der Placebogruppe der SU.VI.MAX-Studie blieben die Selenspiegel vom Studienbeginn bis zum Untersuchungszeitpunkt nach zwei Jahren konstant, im Verlauf der folgenden fünf Jahre stiegen sie jedoch bei den Frauen um mehr als 100 % an. Der Anstieg bei den Männern der Placebogruppe lag dagegen nur bei 10 %. Die Autoren gaben für diese Änderungen keine Erklärung [Hercberg et al. 2004]. Nur geringe Schwankungen im Verlauf von zwölf Monaten zeigten die Probanden der Placebogruppe einer US-amerikanischen Interventionsstudie [El-Bayoumy et al. 2002]. Allerdings waren hier die durchschnittlichen Konzentrationen mit etwa 1,4 µmol/l erheblich höher als in der vorliegenden Untersuchung.

## 6.3 Effekt der Intervention auf Antioxidanzien-Marker

### 6.3.1 FRAP

Die absoluten FRAP-Werte stiegen im Studienverlauf in beiden Gruppen leicht an, so dass sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ergab. Verschiedene andere Untersuchungen konnten ebenfalls keine Effekte einer Antioxidanzienaufnahme auf diesen Parameter zeigen. Bei gesunden Frauen wurde nach zweiwöchiger Einnahme von Cranberry-Saft keine Veränderung der absoluten FRAP-Werte beobachtet, obwohl der Saft *in vitro* ein erhebliches antioxidatives Potenzial aufwies. Die Vitamin-C-Konzentrationen stiegen zwar signifikant an, es wurden jedoch trotz hohem Polyphenolgehalt des Saftes keine Anthocyane oder Catechine im Plasma festgestellt. Die Verfügbarkeit aus dem Saft ist deshalb fraglich, zumal auch keiner der anderen Antioxidanzienmarker einen Effekt zeigte [Duthie et al. 2006]. Allerdings hatte auch die Aufnahme carotinoidreicher Säfte über zwei bis vier Wochen keinen Einfluss auf die FRAP-Werte gesunder Probanden, obwohl die Plasmakonzentrationen von Carotinoiden und die Oxidationsbeständigkeit von LDL anstiegen [Bub et al. 2000, Collins et al. 2004, Paterson et al. 2006].

Kein Effekt wurde auch nach einer Intervention über 25 Tage an jungen, gesunden Probanden festgestellt, die entweder 600 g Obst und Gemüse, Tabletten mit den gleichen Mengen an Vitaminen und Mineralstoffen oder Placebo erhielten. Am Ende der Intervention wurde in keiner der Gruppen eine Änderung der FRAP-Werte oder ein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt. Lediglich die postprandialen FRAP-Werte fielen in der Placebogruppe leicht ab, wohingegen sie in den beiden Interventionsgruppen stabil blieben [Dragsted et al. 2004]. Mit einem ähnlichen Studiendesign wurde nach Gabe von 400 g/d Obst und Gemüse über vier Wochen zusätzlich zur üblichen Ernährung ebenfalls kein Effekt auf die FRAP-Werte von gesunden Personen festgestellt. Die Intervention bewirkte eine Verdoppelung der Plasmaspiegel an Carotinoiden, hatte jedoch keine Erhöhung von Vitamin C und E zur Folge [Paterson et al. 2006]. In beiden Studien wiesen die Teilnehmer mit durchschnittlich etwa 290 g bzw. 2,8 Portionen Obst und Gemüse pro Tag bereits eine hohe Zufuhr auf; eine Depletionsphase vor Beginn der Intervention fand nicht statt. Um einen zusätzlichen Effekt messen zu können, war hier die Studiendauer möglicherweise zu kurz, auch erfolgte in beiden Fällen keine Korrektur um die Harnsäurekonzentrationen.

Ein signifikanter Anstieg der FRAP-Werte wurde in einer Intervention mit Antioxidanzien sowohl in der Verum- als auch in der Placebogruppe beobachtet. Allerdings war der Anstieg in der Verumgruppe mit 20 % signifikant höher als mit Placebo. Die Probanden erhielten über

einen Zeitraum von zwölf Wochen eine moderat dosierte Nährstoffkombination mit täglich 100 mg Vitamin C, 100 mg Vitamin E<sup>7</sup>, 6 mg  $\beta$ -Carotin und 50  $\mu$ g Selen [Volkovova et al. 2005].

Der FRAP-Test reagiert insbesondere auf hydrophile, weniger auf lipophile Antioxidanzien. So wurde bei gesunden Probanden im Verlauf von drei Stunden nach Aufnahme von 500 mg Vitamin C ein deutlicher Anstieg der FRAP-Werte beobachtet. Der Verlauf folgte dabei den Plasmakonzentrationen von Vitamin C. Die Gabe von 400 I.E. Vitamin E alleine oder in Kombination hatte keinerlei Einfluss auf das Ergebnis. Die Plasmakonzentrationen von  $\alpha$ -Tocopherol stiegen erst zur letzten Messung nach 24 Stunden deutlich an; die FRAP-Werte waren zu diesem Zeitpunkt bereits wieder auf das Ausgangsniveau zurückgekehrt [Choi et al. 2004].

Aufgrund der uneinheitlichen Ergebnisse von Interventionsstudien muss die Aussagekraft der absoluten FRAP-Werte in Bezug auf den antioxidativen Status in Frage gestellt werden. Insbesondere die fehlenden Wirkungen hoher Mengen an Obst und Gemüse, die zweifelsohne antioxidative Effekte ausüben, deuten auf eine geringe Sensibilität dieses Markers hin. Aus diesem Grund wurden in der hier vorliegenden Studie zusätzlich die um Harnsäure bereinigten FRAP-Werte berechnet. Diese stiegen in der Verumgruppe an, wohingegen sie in der Placebogruppe im Studienverlauf absanken. Hieraus ergab sich zum Ende der Studie ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Interventionen, die mit der vorliegenden vergleichbar sind und ebenfalls eine Korrektur der FRAP-Werte um die Harnsäure vorgenommen haben, sind nicht bekannt. Dennoch sollte grundsätzlich eine Korrektur erfolgen, da Harnsäure bis zu 60 % der mittels FRAP-Test ermittelten antioxidativen Kapazität des Plasmas ausmachen kann [Benzie u. Strain 1996]. In einer Fall-Kontroll-Studie wiesen Personen mit erhöhter Dicke der Intima media eine signifikant höhere antioxidative Kapazität des Plasmas auf als gesunde Vergleichspersonen. Dieser Unterschied war auf erhöhte Konzentrationen an Harnsäure zurückzuführen [Nieto et al. 2000]. Der Zusammenhang der FRAP-Werte mit der Konzentration an Harnsäure konnte in verschiedenen Studien an gesunden Männern und Frauen [Habdous et al. 2003], Herz-Kreislauf-Patienten [Nojiri et al. 2001] und Diabetikern [Maxwell et al. 1997] bestätigt werden. Die Verabreichung von Harnsäure erhöhte die antioxidative Kapazität in Ruhe [Waring et al. 2001] und verminderte belastungsinduzierten oxidativen Stress [Waring et al. 2003]. Im Verlauf der Behandlung von Patienten mit Hypertonie stieg die antioxidative Kapazität der Personen an, was einer Erhöhung der Harnsäurekonzentrationen aufgrund von Diuretika und Aspirin zugeschrieben wurde [Ward et al. 2002]. Für eine Korrektur um die Harnsäurekonzentration spricht auch der Zusammenhang zwischen den FRAP-Werten bei Studienbeginn und den Veränderungen im Studienverlauf, der für absolute und korrigierte

---

<sup>7</sup> Chemische Form oder Gehalt in TÄ nicht berichtet



Werte signifikant war. Für die um Harnsäure bereinigten Werte war der Korrelationskoeffizient jedoch deutlich höher (Tabelle 27 und Tabelle 28).

Vor allem Interventionen, die eine umfassende Änderung der Verzehrsgewohnheiten beinhalten, könnten über einen Einfluss auf die Harnsäurekonzentration die Ergebnisse verfälschen. Möglicherweise sind so die fehlenden Effekte der Interventionsstudien mit verschiedenen Säften zu erklären [Duthie et al. 2006, Bub et al. 2000, Collins et al. 2004], wenn diese im Austausch gegen purinreiche Lebensmittel verzehrt wurden.

Sowohl die absoluten als auch die harnsäurekorrigierten FRAP-Werte zum Zeitpunkt t6 korrelierten in beiden Gruppen signifikant mit den Ausgangswerten zu Beginn der Studie. Obwohl auch die Veränderungen im Studienverlauf invers mit den Basiswerten korrelierten und damit schlechter versorgte Personen deutlicher profitierten als gut versorgte, war die verabreichte Nährstoffkombination nicht ausreichend, um die Unterschiede bei Studienbeginn vollständig auszugleichen.

### 6.3.2 TEAC

Die TEAC-Werte stiegen unter Verum im Studienverlauf signifikant um 1,7 % an, was auf eine Verbesserung des antioxidativen Status hindeutet. Aufgrund des gleichzeitigen Anstiegs um 0,4 % in der Placebogruppe ergab sich keine Signifikanz für einen Unterschied zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt t6, es zeigte sich jedoch ein Trend zu höheren Werten in der Verumgruppe ( $p=0,064$ ). In beiden Gruppen korrelierten die Werte zum Zeitpunkt t6 hochsignifikant positiv mit den Werten bei Studienbeginn. Somit hatte die Verabreichung beider Präparate trotz des Anstiegs unter Verum nur einen geringen Einfluss auf den jeweiligen antioxidativen Status. Ein Zusammenhang zwischen der Veränderung im Studienverlauf und dem TEAC-Wert zu t0 wurde nur in der Placebogruppe festgestellt ( $r=-0,271$ ,  $p=0,041$ ). Vermutlich wurde dieser Effekt durch Teilnehmer verursacht, die vor der Studie regelmäßig Antioxidanzien einnahmen und vorher nicht ausreichend lange depletiert wurden. Hierfür sprechen auch die Veränderungen der Vitamin-E-Konzentration in der Placebogruppe, wenn die Teilnehmer nach Quintilen ihrer Ausgangswerte zu t0 eingeteilt wurden. In den beiden oberen Quintilen war ein deutlicher Abfall im Studienverlauf zu beobachten, wobei die oberste Gruppe die höchste Differenz aufwies (Abbildung 6, S. 79).

Vor allem zur Ermittlung der antioxidativen Kapazität von Lebensmitteln und Einzelstoffen wurde der TEAC-Test in der Vergangenheit verbreitet eingesetzt. So wurden die antioxidativen Eigenschaften von Getreideprodukten [Martinez-Tome et al. 2004], Fruchtsäften [Weisel et al. 2006, Cerda et al. 2006] und isolierten Carotinoiden [Böhm et al. 2002] mittels TEAC-Test verglichen. Hierbei zeigt sich, dass insbesondere ein hoher Gehalt an phenolischen Strukturen zu hohen TEAC-Werten führt. So wurden für Catechine aus

grünem Tee oder Anthocyanidine aus Beeren deutlich höhere Werte gemessen als für Carotinoide oder Vitamin C in isolierter Form [Rice-Evans u. Miller 1996]. Aufgrund der Molekülgröße ist fraglich, ob ein messbarer Anteil der zugeführten Polyphenole intakt aufgenommen wird, so dass hier ein deutlicher Unsicherheitsfaktor in Bezug auf die Aussagekraft des Parameters besteht.

Die festgestellten Effekte der vorliegenden Intervention auf die TEAC-Werte sind vergleichbar mit anderen Studien. So wurden bei HIV-positiven Personen nach Gabe von Fruchtsaft bzw. Fruchtsirup nach 16 Wochen Anstiege um 2,8 % bzw. 4,3 % beobachtet. Obwohl HIV-negative Personen in dieser Untersuchung ähnliche Werte bei Studienbeginn aufwiesen wie die HIV-positiven, zeigte sich bei diesen kein Effekt der Intervention [Arendt et al. 2001]. Bei Altenheimbewohnern mit einer niedrigen Aufnahme von Energie und Nährstoffen führte der zusätzliche Konsum eines angereicherten Getränks mit einer täglichen Dosierung von 250 mg Vitamin C, 70 mg Vitamin E, 3 mg Carotinoiden, 19 mg Flavonoiden sowie weiteren Nährstoffen zu einem deutlichen Anstieg der TEAC-Werte von 7 %, während in der Placebogruppe nach sechs Monaten ein Absinken um 2 % beobachtet wurde [Wouters-Wesseling et al. 2003].

Studien an gesunden, meist jungen Probanden konnten mit einer kürzeren Interventionsdauer von bis zu sechs Wochen mit unterschiedlichen Antioxidanzangaben keine Effekte auf die TEAC-Werte erzielen. So hatte bei gesunden Probanden die Aufnahme von Kaktusfeigen oder Vitamin C (150 mg/d) über zwei Wochen trotz signifikanter Anstiege der Konzentrationen von Vitamin C sowie absolutem und lipidadjustiertem Vitamin E keinen Einfluss auf die TEAC-Werte [Tesoriere et al. 2004]. Gesunde junge Frauen wiesen nach Aufnahme von 5 mg/d Lycopin in Form von frischen Tomaten, Tomatensaft oder Kapseln mit Tomatenextrakt über sechs Wochen in allen drei Gruppen identische TEAC-Werte auf. Obwohl in den Gruppen mit Saft und Kapseln die Lycopinkonzentrationen signifikant anstiegen, in der Tomatengruppe jedoch nicht, zeigten sich keine Veränderungen der TEAC-Werte im Studienverlauf oder Unterschiede zwischen den Gruppen bei Studienende [Böhm u. Bitsch 1999]. Kein Effekt wurde auch nach einer Intervention über 25 Tage an jungen, gesunden Probanden festgestellt, die entweder 600 g Obst und Gemüse, Tabletten mit Vitaminen und Mineralstoffen oder Placebo erhielten. Am Ende der Intervention wurde in keiner der Gruppen eine Änderung der TEAC-Werte oder ein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt. Lediglich die postprandialen Werte fielen in der Placebogruppe leicht ab, wohingegen sie in den beiden Interventionsgruppen stabil blieben. Allerdings wiesen die Teilnehmer mit durchschnittlich etwa 290 g Obst und Gemüse pro Tag bereits eine hohe Zufuhr auf; eine Depletionsphase vor Beginn der Intervention fand nicht statt. Um einen zusätzlichen Effekt messen zu können, war hier die Studiendauer möglicherweise zu kurz

[Dragsted et al. 2004]. Mit einem ähnlichen Studiendesign wurde nach Gabe von 400 g/d Obst und Gemüse über vier Wochen zusätzlich zur üblichen Ernährung kein Effekt auf die TEAC-Werte von gesunden Personen festgestellt. Diese nahmen im Durchschnitt mit ihrer Kost 2,8 Portionen Obst und Gemüse auf; auch bewirkte die Intervention lediglich Anstiege der Plasmaspiegel an Carotinoiden, nicht jedoch an Vitamin C und E [Paterson et al. 2006].

Ob der beobachtete Anstieg der TEAC-Werte mit 1,7 % als klinisch relevant im Sinne einer Reduktion des kardiovaskulären Risikos anzusehen ist, lässt sich auf Basis der vorhandenen Studienlage nicht beurteilen.

### 6.3.3 Oxidiertes LDL

Die Konzentrationen von oxLDL sanken in beiden Studiengruppen signifikant ab. Mit 13 % bzw. 12 % war die Senkung in Verum- und Placebogruppe identisch. Auch die auf LDL-Cholesterol bezogenen Werte sanken mit 8 bzw. 9 % in beiden Gruppen gleich stark ab. Da sich nur der TEAC-Wert in der Placebogruppe geringfügig verbesserte, nicht jedoch der harnsäurekorrigierte FRAP-Wert, Vitamin E oder Zink, ist die Ursache unklar. Lediglich die Selenspiegel stiegen in der Placebogruppe signifikant an. Ein Einfluss der Selenkonzentration auf die Konzentrationen an oxidiertem LDL ohne Einfluss weiterer Parameter ist jedoch unwahrscheinlich, da weder die Selenspiegel zum Zeitpunkt t<sub>0</sub> im Gesamtkollektiv noch die Veränderungen innerhalb der Verumgruppe signifikant mit den oxLDL-Konzentrationen korreliert waren (Tabelle 64 und Tabelle 66). Zudem stiegen die Konzentrationen an Malondialdehyd, das zum Zeitpunkt t<sub>0</sub> signifikant mit oxLDL korreliert war, in der Placebogruppe signifikant an.

Ein weiterer Faktor mit Einfluss auf die LDL-Oxidation ist die Einnahme von Statinen. Diese senken neben den Konzentrationen an nativem LDL-Cholesterol auch die Empfindlichkeit der LDL-Partikel gegenüber Oxidation [Aviram et al. 1998a]. Da jedoch die Medikation im Studienverlauf konstant blieb, ist ein Einfluss der Statineinnahme unwahrscheinlich.

Die Bedeutung von oxidiertem LDL-Cholesterol wird aus epidemiologischen Untersuchungen deutlich. Bei Personen, die sich einer koronaren Angiographie unterzogen, wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Konzentrationen an oxLDL und Anzahl bzw. Ausmaß von Stenosierungen festgestellt. Insbesondere in Kombination mit erhöhten Spiegeln an Lp(a) und bei Personen unter 60 Jahren zeigte sich eine deutliche Erhöhung des Risikos. Die höchsten Odds Ratios zeigten sich jeweils in der höchsten Quartile der oxLDL-Konzentrationen bei gleichzeitiger Hypercholesterolämie; hier betrug das OR für Personen unter 60 Jahren 16,8 im Vergleich zur niedrigsten Quartile ohne Hypercholesterolämie [Tsimikas et al. 2005]. Auch zeigten sich Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen an oxLDL und der Dicke der Intima in großen Arterien, der Zahl von Plaques und den CRP-

Konzentrationen [Hulthe u. Fagerberg 2002]. Personen mit angiographisch bestätigter koronarer Herzkrankheit wiesen signifikant höhere oxLDL-Spiegel auf als gesunde Kontrollpersonen. Dabei erwies sich eine Konzentration oberhalb der 90. Perzentile von Gesunden als zuverlässiger in der Prognose als die Einstufung nach etablierten Risikofaktoren wie Blutdruck, Lipidkonzentrationen oder Diabetes [Holvoet et al. 2001]. Langfristig wird der prognostische Wert von oxLDL allerdings durch Ergebnisse aus der Nurses' Health Study und der Health Professionals Follow-Up Study in Frage gestellt. Zwar ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen den oxLDL-Spiegeln bei der Basisuntersuchung und dem kardiovaskulären Risiko in den Folgejahren, nach Adjustierung auf die Lipoproteinkonzentrationen verschwand diese Assoziation jedoch [Wu et al. 2006].

#### **6.3.4 Malondialdehyd**

Die Konzentrationen von Malondialdehyd stiegen im Studienverlauf in Placebo- und Verumgruppe signifikant um 27 bzw. 25 % an. Es zeigte sich somit keinerlei Auswirkung der sechsmonatigen Supplementation auf diesen Parameter.

Zahlreiche Untersuchungen konnten ebenfalls keine Effekte der Antioxidanzienzufuhr auf die MDA-Konzentrationen der Probanden zeigen, so dass die Eignung dieses Markers zur Bestimmung des antioxidativen Status grundsätzlich in Frage zu stellen ist. So hatte eine insgesamt hohe Zufuhr an Obst und Gemüse bei Typ-2-Diabetikern, die mittels Ernährungsprotokollen erfasst wurde, keinerlei Auswirkung auf die MDA-Spiegel, obwohl die übrigen Marker wie der Comet-Assay oder die Ausscheidung von 8-iso-PGF<sub>2α</sub> im Urin signifikante negative Korrelationen zeigten [Asgard et al. 2007]. Selbst bei Rauchern erwies sich der Marker nicht als sensibel in Bezug auf die Erfassung der vorliegenden oxidativen Belastung. Bei einem rauchenden Kollektiv (mind. 10 Zigaretten pro Tag für mindestens 5 Jahre) wurden gleich hohe Konzentrationen an MDA gemessen wie bei Nichtrauchern. Der zusätzliche Verzehr von 650 g/d Gemüse mit 30 mg/d Carotinoiden für zwei Wochen hatte in beiden Gruppen trotz z. T. deutlich angestiegener Carotinoidkonzentrationen keinen signifikanten Einfluss auf die MDA-Spiegel [Hininger et al. 1997]. Auch in einer Untersuchung über 25 Tage an jungen, gesunden Probanden, die entweder 600 g Obst und Gemüse, isolierte Vitamine und Mineralstoffe oder Placebo erhielten, wurde kein Einfluss auf die MDA-Werte festgestellt. Am Ende der Intervention wurde in keiner der Gruppen eine Änderung der Konzentrationen oder ein Unterschied zwischen den Gruppen gefunden. Allerdings wurde keine Depletionsphase vor Studienbeginn durchgeführt, auch wiesen die Teilnehmer mit durchschnittlich etwa 290 g Obst und Gemüse pro Tag eine hohe Zufuhr auf. Damit konnte der antioxidative Status durch die Intervention möglicherweise nicht mehr beeinflusst werden [Dragsted et al. 2004]. Keinerlei Effekt wurde auch nach einer Intervention über zwei Wochen

mit Tomaten- oder Karottensaft festgestellt, die zusätzlich zu einer carotinoidarmen Kost konsumiert wurden [Briviba et al. 2004]. Die Gabe von 20 mg/d Lycopin in Form von Tomaten- oder Melonensaft über drei Wochen hatte keinen Einfluss auf die MDA-Konzentration der Probanden. MDA war signifikant mit den FRAP-Werten, Gesamt- und HDL-Cholesterol, nicht jedoch mit den Konzentrationen von Triglyceriden korreliert [Collins et al. 2004]. Auch die Verabreichung von 500 mg/d Vitamin C in zwei Einzelgaben hatte bei Rauchern nach vier Wochen keine Veränderung der MDA-Konzentrationen zur Folge, obwohl die Plasmaspiegel an Vitamin C signifikant anstiegen [Van Hoydonck et al. 2004]. Bei gesunden Probanden, die sechs Monate lang eine Kombination von täglich 120 mg Vitamin C, 30 mg Vitamin E, 6 mg  $\beta$ -Carotin, 20 mg Zink und 100  $\mu$ g Selen erhielten, zeigte sich keine Veränderung der MDA-Konzentrationen im Studienverlauf oder gegenüber Placebo [Preziosi et al. 1998]. Bei schlecht mit Nährstoffen versorgten Altenheimbewohnern bewirkte die Gabe einer vergleichbaren Antioxidanzienkombination keine Änderung der TBARS-Konzentrationen, obwohl die jeweiligen Plasmakonzentrationen der verabreichten Nährstoffe und die Aktivität der Glutathionperoxidase anstiegen [Galan et al. 1997].

Nur wenige Untersuchungen konnten bei gesunden Probanden Effekte einer Antioxidanziengabe auf die MDA-Konzentrationen zeigen. So führte die Aufnahme von 500 g Kaktusfeigen über zwei Wochen zu einer Senkung der MDA-Werte im Vergleich zu t<sub>0</sub> und zu einer Vitamin-C-Gabe von 150 mg/d. Gleichzeitig verbesserten sich weitere Marker für den Redoxstatus [Tesoriere et al. 2004]. Die kombinierte Gabe von 106 I.E./d Vitamin E, 10 mg/d  $\beta$ -Carotin, 60 mg/d Coenzym Q<sub>10</sub> und 40  $\mu$ g/d Selen über 30 Tage führte zu einer Senkung von MDA um 32 % und von TBARS um 11 % [Actis-Goretta et al. 2004]. Die Gabe von  $\beta$ -Carotin alleine hatte jedoch nur geringe Effekte. Nach jeweils fünf Wochen mit Dosierungen von 5, 10, 20 oder 40 mg/d  $\beta$ -Carotin wurde nur in der Gruppe mit der höchsten Dosis eine Senkung der MDA-Konzentrationen erreicht [Elmadfa et al. 2004]. Zu Beginn einer Interventionsstudie mit Antioxidanzien wiesen Nichtraucher in der Verumgruppe signifikant höhere MDA-Spiegel auf als Raucher. Nach Einnahme von 100 mg/d Vitamin C, 100 mg/d Vitamin E<sup>8</sup>, 6 mg/d  $\beta$ -Carotin und 50  $\mu$ g/d Selen waren die Werte auf das Niveau der Raucher gesunken [Volkovova et al. 2005]. Dagegen wurde in einer Vergleichsstudie eine höhere Konzentration an MDA bei den relativ jungen Rauchern im Vergleich zu nichtrauchenden Personen gleichen Alters gefunden. Dabei war die durchschnittliche Dauer mit 3 „pack-years“ noch gering, so dass hier möglicherweise noch keine langfristige Anpassung an eine höhere oxidative Belastung stattfinden konnte [Bloomer 2007].

Möglicherweise befindet sich die Konzentration von MDA bei gesunden Personen in einem Bereich, der durch – zumindest kurzfristige – Änderungen des oxidativen Gleichgewichtes in

---

<sup>8</sup> Chemische Form bzw. Gehalt in TÄ nicht berichtet

die eine oder andere Richtung kaum zu beeinflussen ist. Dagegen könnte der Marker bei manifesten koronaren Erkrankungen eine Rolle spielen. So fanden sich bei Personen mit diagnostizierter KHK bzw. Metabolischem Syndrom etwa doppelt so hohe Konzentrationen an TBARS wie bei gesunden Vergleichspersonen [Bose u. Agrawal 2007, Palmieri et al. 2006]. Auch zeigten sich bei Männern, die sich einer diagnostischen Angiographie unterzogen, signifikant erhöhte MDA-Konzentrationen bei höherem Stenosegrad der Koronararterien [Sakuma et al. 1997]. Patienten mit neu diagnostizierter Angina pectoris wiesen höhere Spiegel an MDA auf als eine Vergleichsgruppe, wobei sich keine Unterschiede in Bezug auf die Konzentrationen von Vitamin C und E sowie  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin zeigten [Meraji et al. 2000]. Dagegen konnte an Patienten mit erhöhter Dicke der Intima media eine erhöhte MDA-Konzentration bei erniedrigten Plasmaspiegeln von  $\alpha$ -Tocopherol und Carotinoiden festgestellt werden [Polidori et al. 2007].

Im Gegensatz zu Gesunden konnte in Fällen hoher Spiegel bei Patienten mit diagnostizierter KHK eine deutliche Verringerung der Konzentrationen an TBARS durch eine Antioxidanzengabe erzielt werden. So zeigte sich eine signifikante Senkung der Konzentrationen in allen Verumgruppen, nachdem die Probanden entweder 400 I.E./d Vitamin E, 1000 mg/d Vitamin C, 25.000 I.E./d Vitamin A, 400 g/d Obst oder Placebo erhalten hatten. Dabei war der Effekt in der Vitamin-E-Gruppe mit -36 % größer als mit Vitamin C (-20 %), Obst (-13 %) und Vitamin A (-5,4 %) [Singhal et al. 2001]. Personen mit KHK, die durch EKG-Untersuchung festgestellt worden war, zeigten eine signifikante Senkung der TBARS-Konzentrationen nach täglicher Einnahme von Tomatenpüree mit etwa 25 mg/d Lycopin über 60 Tage [Bose u. Agrawal 2007]. Auch bei Patienten mit Lupus Erythematosus konnten die MDA-Spiegel durch zwölfwöchige Verabreichung von 500 mg/d Vitamin C und 800 I.E./d Vitamin E gesenkt werden [Tam et al. 2005].

Ob allerdings die Konzentrationen von MDA oder TBARS langfristig in Bezug auf kardiovaskuläre Erkrankungen eine hohe Aussagekraft besitzen und ob ihre Beeinflussung durch Antioxidanzengabe, die in einigen Studien möglich war, eine Risikosenkung zur Folge hat, muss zurzeit noch in Frage gestellt werden. So wurde in einer Fall-Kontroll-Studie an älteren Personen kein Zusammenhang zwischen den MDA-Konzentrationen und der Gesamt- oder KHK-Mortalität im Verlauf von 13 Jahren festgestellt [Marniemi et al. 1998].

### **6.3.5 PON1-Aktivitäten**

Die beiden im Rahmen der Studie gemessenen Aktivitäten der PON1 stiegen in den Versuchsgruppen signifikant an. Dabei ergab sich kein Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe zu einem der beiden Messzeitpunkte oder in Bezug auf die Differenz im

Studienverlauf. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu anderen Untersuchungen mit unterschiedlichen Interventionen.

Der Konsum von Granatapfelsaft führte bei gesunden Probanden zu einer erhöhten antioxidativen Kapazität und verringerten Konzentration an Lipidperoxiden. Damit einher ging eine 18 %ige Erhöhung der Arylesterase-Aktivität im Serum [Aviram et al. 2000a]. Die dauerhafte Einnahme über ein Jahr durch Patienten mit Koronarstenosen bewirkte eine Reduktion der Intima-media-Dicke und Verbesserung des antioxidativen Status bei gleichzeitiger Erhöhung der Paraoxonase-Aktivität um 83 % [Aviram et al. 2004]. Apo-E-Knockout-Mäuse wiesen verringerte Paraoxonase-Aktivitäten im Vergleich zu Kontrolltieren auf. Die Gabe von Rotwein oder Quercetin im Trinkwasser führte zu einem Anstieg über das Niveau der Kontrolltiere hinaus [Fuhrman u. Aviram 2002]. Bei gesunden Personen bewirkte ein erhöhter Rotweinkonsum für drei Wochen keine Veränderung der PON1-Aktivität gegenüber Paraoxon, jedoch eine verringerte Arylesterase-Aktivität. Die Oxidationsbeständigkeit der Lipoproteine war dennoch am Ende des Versuchszeitraumes signifikant erhöht [Sarandöl et al. 2003]. Die Inaktivierung von PON1 durch oxidierte LDL bzw. Lipoproteine konnte durch die Flavonoide Quercetin und Glabridin verhindert werden. Diese binden an der freien Sulfhydrylgruppe der PON1 und verhindern so die Reaktion mit oxidierten Metaboliten wie LDL mit resultierender Deaktivierung [Aviram et al. 1999]. Zwischen der PON1-Aktivität und der Zufuhr an Vitamin C und E wurden signifikante Korrelationen gefunden [Jarvik et al. 2002]. Möglicherweise sind diese ebenfalls in der Lage, eine Deaktivierung des Enzyms durch oxidative Veränderung zu verhindern. Da allerdings weder Daten zur Höhe der Zufuhr noch zur Einnahmeprävalenz von Vitaminpräparaten bzw. zum Effekt einer Supplementeinnahme angegeben waren, ist ein möglicher Plateau-effekt in Bezug auf eine optimale Dosierung nicht abzuleiten. Bei den teilnehmenden Rauchern wurden erniedrigte Aktivitäten in Bezug auf die Hydrolyse von Paraoxon, nicht jedoch von Diazoxon gefunden [Jarvik et al. 2002]. Ein Einfluss oxidativer Prozesse liegt somit nahe und wird auch durch in-vitro-Experimente gestützt [Nishio u. Watanabe 1997]. Dennoch wurde bei gesunden jungen und älteren Personen keine Auswirkung eines hohen Konsums von Tomaten- oder Karottensaft auf die Aktivität der PON1 gegenüber Paraoxon oder Phenylacetat festgestellt [Bub et al. 2002, 2005]. Möglicherweise waren die Personen beider Kollektive aufgrund ihrer Ernährungs- und Lebensweise gut mit Antioxidanzien versorgt und wiesen nur ein geringes kardiovaskuläres Risiko auf. So hatten die jüngeren Personen bei Studienbeginn eine durchschnittliche Paraoxonase-Aktivität der PON1 von 185 U/l bzw. 190 U/l (Tomate und Karotte); die Arylesterase-Aktivität betrug 147 und 146 U/ml [Bub et al. 2005]. Die Älteren wiesen vor der Intervention eine Arylesterase-Aktivität von 101 bzw. 102 U/l (Tomate und Wasser) auf, es zeigte sich hier jedoch ein signifikanter Anstieg in beiden Gruppen [Bub et al. 2002]. Möglicherweise wurde ein Interventionseffekt hier durch

saisonale Einflüsse überdeckt. Auch konnte bei Mäusen ein Absinken der PON1-Aktivität (gegenüber Paraoxon) mit steigendem Lebensalter bei gleichzeitig erhöhter Lipidperoxidation und Läsionsbildung gezeigt werden [Aviram et al. 1998b]. Eine erhöhte Zufuhr von Antioxidanzien könnte dieses Absinken verhindern bzw. reduzieren und so die protektiven Wirkungen des HDL aufrechterhalten.

Verschiedene epidemiologische Untersuchungen weisen auf einen Zusammenhang zwischen Aktivitäten der PON1 und dem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen hin. So wurden bei Personen mit diagnostizierter koronarer Herzkrankheit (CAD) um 25–40 % niedrigere POX-Aktivitäten als bei Vergleichspersonen festgestellt [Jarvik et al. 2000, Mackness et al. 2001]. In einer prospektiven Kohortenstudie an 1353 Männern wiesen diejenigen Teilnehmer, die im weiteren Verlauf von 15 Jahren einen Herzinfarkt erlitten, um 20 % niedrigere PON1-Aktivitäten gegenüber Paraoxon auf als die übrigen. Dabei war ein deutlicher Trend zu steigendem KHK-Risiko mit sinkenden Paraoxonase-Aktivitäten zu beobachten [Mackness et al. 2003]. Eine Erhöhung der Aktivität zeigte dagegen in einem Tiermodell des metabolischen Syndroms protektive Effekte. Es konnte gezeigt werden, dass die Überexpression der PON1 zu einer Reduktion des Plaque-Volumens und der Makrophagen in den Plaques sowie oxidativ modifizierter LDL im Vergleich zu Mäusen mit normaler Aktivität der PON1 führte [Mackness et al. 2006].

Unklar bleibt, ob die Paraoxonase-Aktivität als funktioneller Marker für das kardiovaskuläre Risiko oder als kausaler Faktor anzusehen ist. So könnten erniedrigte Aktivitäten bei Patienten mit bestehender koronarer Herzkrankheit oder akutem Myocardinfarkt auch auf inflammatorische oder oxidative Prozesse zurückzuführen sein. Bei Personen mit angiographisch bestätigter CAD wurden niedrigere PON1-Aktivitäten gegenüber Paraoxon und Phenylacetat gemessen als bei Gesunden. Dabei waren mit steigender Anzahl betroffener Gefäße höhere Konzentrationen an Lipidperoxiden und niedrigere Aktivitäten der PON1 zu beobachten [Gur et al. 2006]. Bei Patienten mit akutem MI stiegen die Aktivitäten, die am Tag der Einlieferung erniedrigt waren, im Verlauf der sechswöchigen Regeneration auf annähernd normale Werte an [Ayub et al. 1999]. Die Bedeutung von Oxidationsvorgängen in diesem Zusammenhang wird durch die Effekte von Prooxidanzien gestützt. So werden die PON1-Aktivitäten durch Rauchen dosisabhängig gesenkt, wobei die Werte nach Beendigung des Rauchens innerhalb von zwei Jahren auf ein normales Niveau ansteigen [James et al. 2000]. Auch die orale Aufnahme zeigte einen Einfluss auf die PON1. So wurde bei gesunden Männern, die mit einer Mahlzeit stark oxidiertes Fett aufnahmen, ein Absinken der PON1-Aktivität beobachtet. Diese war über einen Zeitraum von bis zu acht Stunden erniedrigt, wohingegen nach Konsum des gleichen, nicht oxidierten Fettes, ein Anstieg zu verzeichnen war [Sutherland et al. 1999]. Für die Inaktivierung des Enzyms wurde



eine Reaktion zwischen seiner einzigen freien Sulfhydrylgruppe und Lipidperoxiden verantwortlich gemacht. Diese kann in vitro durch die Zugabe von Antioxidanzien verhindert werden [Aviram et al. 1999].

## 6.4 Auswirkungen des PON1-Genotyps

Die Verteilung des hier untersuchten Kollektivs auf die verschiedenen PON1-Genotypen stimmt mit der in anderen Gruppen aus Europa [Mackness et al. 1997, Rantala et al. 2002] und den USA [Jarvik et al. 2000] gefundenen überein. Generell überwiegt in kaukasischen Populationen der PON1 192 Q Genotyp, wohingegen bei Orientalen das R-Allel häufiger vorkommt [Imai et al. 2000, Martinelli et al. 2005].

Der Einfluss des PON1-192-Genotyps auf das kardiovaskuläre Risiko wird kontrovers diskutiert. Einige Befunde aus Bevölkerungsstudien weisen auf ein erhöhtes Risiko bei Vorhandensein des R-Allels hin [Mackness et al. 2001, Voetsch et al. 2002], andere konnten hingegen keinen derartigen Zusammenhang feststellen [Fortunato et al. 2003, Malin et al. 2001a]. Ebenso widersprüchlich sind die Ergebnisse in Bezug auf den PON1-55-Genotyp. Einige Untersuchungen konnten eine geringere Zahl von Plaques und Stenosierungen bei Trägern des MM-Allels zeigen [Fortunato et al. 2003, Malin et al. 2001a], dennoch war in einer anderen Studie das Herzinfarktrisiko in dieser Gruppe signifikant erhöht gegenüber den anderen Varianten [Salonen et al. 1999]. Andere Arbeitsgruppen fanden keinerlei Zusammenhang von kardiovaskulären Risikofaktoren oder Ereignissen mit dem PON1-55-Genotyp [Imai et al. 2000, Voetsch et al. 2002]. Angesichts dieser widersprüchlichen Daten kann der Einfluss von Polymorphismen der PON1 auf das KHK-Risiko zurzeit nicht abschließend beurteilt werden [Wheeler et al. 2004].

Die beiden Polymorphismen der PON1 beeinflussen die Aktivität des Enzyms gegenüber Paraoxonase unterschiedlich stark, wobei die größten Unterschiede in Abhängigkeit vom PON1-192-Genotyp zu beobachten sind. In dem hier untersuchten Kollektiv weisen Personen mit dem RR-Allel eine mehr als vierfache Aktivität im Vergleich zu QQ-Trägern auf (Tabelle 50). Eine größere Aktivität gegenüber Paraoxon, dem in Studien üblicherweise verwendeten Substrat zur Ermittlung der PON1-Aktivität, wurde bei Trägern des R-Allels auch in anderen Studien festgestellt [Mackness et al. 2001, Jarvik et al. 2000]. Veränderungen an der 55-Position hatten einen geringeren Einfluss auf das Enzym. Zwar ergab sich eine signifikant höhere Aktivität für das LL-Allel im Vergleich zu den beiden anderen Varianten, jedoch war diese weniger als doppelt so hoch wie bei MM-Trägern (Tabelle 49). Dementsprechend fanden sich auch für die kombinierten PON1-Genotypen nur Unterschiede in Abhängigkeit vom 192-Allel, nicht vom 55-Allel (Tabelle 55). Die Aktivitäten gegenüber Paraoxonase in Abhängigkeit vom kombinierten Genotyp wurden in dieser Form bereits in anderen

Kollektiven beobachtet [Mackness et al. 1997, Rantala et al. 2002, Jarvik et al. 2000]. Kein signifikanter Einfluss der beiden Varianten zeigte sich im Hinblick auf die Arylesterase-Aktivität. Weder die getrennte Auswertung noch die Betrachtung der kombinierten Genotypen ergab Unterschiede der Aktivität in Abhängigkeit vom PON1-Genotyp (Tabelle 57). Dieses Ergebnis stimmt mit anderen überein [Davies et al. 1996].

Erschwert wird die Suche nach Zusammenhängen mit klinischen Manifestationen durch die Tatsache, dass die Reaktion mit verschiedenen Substraten durch die Substitution unterschiedlich beeinflusst wird. So kann das R-Enzym die Oxidation von LDL-Partikeln weniger stark hemmen als das Q-Enzym, da die Hydrolyse von Lipidperoxiden langsamer verläuft [Mackness et al. 2003, Aviram 1998b]. In atherosklerotischen Plaques wurde die Menge an Lipidperoxiden durch Zugabe der Q-Isoform *in vitro* stärker reduziert als durch die R-Variante, wobei letztere mehr Aktivität einbüßte [Aviram et al. 2000]. Allgemein wird die PON1R-Isoform durch oxidierte Lipide in HDL oder LDL stärker inaktiviert als die PON1Q-Variante [Aviram u. Rosenblat 2004]. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Wirksamkeit der zwei Isoformen gegenüber Lipidperoxidation entgegengesetzt zur Hydrolyse des in Studien am häufigsten eingesetzten Substrates Paraoxon verläuft [Mackness et al. 2001]. Dementsprechend konnten Interventionen mit erhöhter Zufuhr an Antioxidanzien bei Trägern des R-Allels eine Verbesserung des antioxidativen Status erzielen, während sich bei Personen mit dem QQ-Genotyp keine Effekte zeigten [Bub et al. 2002 u. 2005]. Synergistische Effekte von PON1 und Glutathionperoxidase beim Schutz von LDL-Partikeln gegenüber kupferkatalysierter Oxidation *in vitro* wurden nur für die R-Variante beobachtet [Aviram et al. 1998c]. Dagegen verstärkt das Vorhandensein des R-Allels die Auswirkungen anderer Risikofaktoren. So wiesen in einer Gruppe von Diabetikern Träger des R-Allels ein um den Faktor 1,8 erhöhtes Risiko einer angiographisch bestätigten Atherosklerose im Vergleich zu QQ-Trägern auf. Rauchen erhöhte den Faktor auf 3,58 [Pfohl et al. 1999]. Umgekehrt zeigt körperliche Aktivität einen stärkeren inversen Zusammenhang mit kardiovaskulären Risikofaktoren bei Trägern des R-Allels [Senti et al. 2000]. Diese Ergebnisse weisen auf eine größere Beeinflussbarkeit des kardiovaskulären Risikos bei Personen mit dem PON1-192R-Allel hin. In der vorliegenden Untersuchung konnte jedoch kein signifikant unterschiedlicher Effekt auf Marker des antioxidativen Stoffwechsels in Abhängigkeit vom PON1-Genotyp gezeigt werden. Auch wenn aufgrund der geringen Anzahl von Personen mit der RR-Variante alle Probanden mit einem R zusammengefasst werden, zeigen sich keine Unterschiede zum QQ-Genotyp (Tabelle 52). Positive Effekte einer erhöhten Zufuhr von Antioxidanzien bei Vorhandensein des PON1-192R-Allels sind dennoch nicht ausgeschlossen. So ist die Aussagekraft der üblicherweise verwendeten Marker des Redoxstatus in Frage zu stellen (Kapitel 6.3). Auch wurde im Zusammenhang mit Polymorphismen des Haptoglobins bei Typ-2-Diabetikern eine signifikante Senkung

kardiovaskulärer Ereignisse durch die Gabe von 400 I.E./d Vitamin E nach nur 18 Monaten im Vergleich zu Placebo erreicht [Milman et al. 2007]. Auch wenn Antioxidanzienmarker in dieser Untersuchung nicht erhoben wurden, konnte durch eine derartige Intervention selten eine Veränderung dieser Parameter erreicht werden. Effekte auf Endpunkte ohne messbare Einflüsse auf die zur Verfügung stehenden Marker sind demnach möglich.

## 6.5 Protektive Konzentrationen von Antioxidanzien

In Bezug auf isolierte antioxidative Substanzen existieren gegensätzliche Schlussfolgerungen aus den vorliegenden Studien. So wurden von Biesalski et al. [1997b] konkrete Dosierungsempfehlungen für Vitamin C und E sowie  $\beta$ -Carotin ausgesprochen. Auch Weber et al. [1997] sehen zur KHK-Prävention eine tägliche Zufuhr von 135–150 I.E. Vitamin E als sinnvoll an. Dagegen empfehlen weder die U.S. Preventive Services Task Force [2003] noch die American Heart Association [Tribble 1999] die Verwendung von Supplementen in der Primärprävention der KHK. Zumindest für Vitamin E in der Sekundärprävention zieht die AHA jedoch mögliche protektive Effekte in Betracht, die weiterer Untersuchung bedürfen.

In Bezug auf die Frage, ob eine Supplementation mit Antioxidanzien in der Prävention der KHK eine Rolle spielen könnte, ist auch die Einnahmedauer zu beachten. Beobachtungsstudien, die positive Effekte zeigen, wurden über längere Zeiträume durchgeführt als Interventionsstudien mit negativen Ergebnissen. So war sowohl in der Nurses' Health Study [Stampfer et al. 1993] als auch in der Health Professionals' Follow-Up Study [Rimm et al. 1993] eine Risikoreduktion erst bei Einnahme von Vitamin E über mindestens zwei Jahre feststellbar. Dabei zeigte sich ein (nicht signifikanter) Trend zu weiterer Senkung des Risikos mit steigender Dauer der Einnahme.

### 6.5.1 Vitamin C

Eine in Bezug auf den Schutz vor chronischen Erkrankungen optimale Plasmakonzentration von Vitamin C wird mit  $>50 \mu\text{mol/l}$  angegeben [Biesalski et al. 1997b, Gey 1998]. Dieser Wert wird durch die Ergebnisse verschiedener epidemiologischer Untersuchungen gestützt. So wurde in einem großen Teilkollektiv der EPIC-Studie in Norfolk eine sinkende Gesamt- und KHK-Sterblichkeit mit steigenden Plasmaspiegeln an Vitamin C beobachtet. Das niedrigste Risiko war ab einem Grenzwert von etwa  $52 \mu\text{mol/l}$  für Männer und von etwa  $40 \mu\text{mol/l}$  für Frauen gegeben [Khaw et al. 2001]. In einem älteren Kollektiv in Italien wiesen Personen in der höchsten Quartile der Vitamin-C-Konzentration verglichen mit denen in der niedrigsten nur ein relatives kardiovaskuläres Risiko von 0,46 auf. Es zeigte sich allerdings kein signifikanter Trend in Bezug auf das Risiko über den gesamten Versorgungsbereich, möglicherweise lagen die Quartilen mit Grenzwerten von  $20,7 \mu\text{mol/l}$  und  $30,4 \mu\text{mol/l}$  für die

erste bzw. die vierte nicht weit genug auseinander [Mezzetti et al. 2001]. Aus diesen Ergebnissen wird deutlich, dass eine Ernährungsweise, die zu hohen Plasmakonzentrationen von Vitamin C führt, eine Risikosenkung gegenüber kardiovaskulären Erkrankungen zur Folge hat. Eine Kausalität für Vitamin C alleine, die vergleichbare Effekte auch durch die isolierte Gabe erwarten ließe, ist mit diesen Daten jedoch nicht belegt. Eine bestimmte Ernährungs- oder Lebensweise, die beispielsweise über einen höheren Obst- und Gemüsekonsum zu höheren Vitamin-C-Spiegeln führen würde, kann aufgrund anderer Faktoren die beobachteten Wirkungen gehabt bzw. zu diesen beigetragen haben. So ist die protektive Wirkung einer derartigen Ernährungsweise gut belegt, ohne dass die wirksamen Substanzen im Einzelnen bekannt wären. Auch wurde beispielsweise ein positiver Zusammenhang zwischen den Plasmaspiegeln von Ascorbinsäure und von HDL-Cholesterol festgestellt [Gatto et al. 1996, Hallfrisch et al. 1994b], was als weiterer Hinweis auf einen insgesamt gesundheitsbewussteren Lebensstil in Verbindung mit hoher Aufnahme von Vitamin C angesehen werden kann.

Zum Erreichen der als protektiv bezeichneten Plasmakonzentrationen von  $>50 \mu\text{mol/l}$  Vitamin C wird die tägliche Aufnahme von 75 bis 150 mg als notwendig angesehen [Biesalski et al. 1997b, Gey 1998]. Der Anstieg der Konzentrationen verläuft nur im Zufuhrbereich bis etwa 90 mg/d linear und nimmt danach mit steigenden Mengen ab, so dass eine Zufuhr von mehr als 200 mg/d aufgrund hoher renaler Clearance zu keiner weiteren dauerhaften Erhöhung führt [Levine et al. 1996]. Mit dieser Vitamin-C-Aufnahme, die im Allgemeinen mit täglich fünf Portionen Obst und Gemüse erreicht wird, liegen Plasmaspiegel von etwa  $70 \mu\text{mol/l}$  vor [Padayatty u. Levine 2008]. Aufgrund dieses Zusammenhanges ist es nicht überraschend, dass in verschiedenen gut versorgten Kollektiven keine oder nur schwache Korrelationen zwischen den Serum- oder Plasmaspiegeln an Vitamin C und der Zufuhr von Obst und Gemüse gefunden wurden [Drewnowski et al. 1997, Gritschneider et al. 1998]. In einem gesunden Kollektiv führte die Erhöhung der Obst- und Gemüsezufuhr von 2 auf 7 Portionen pro Tag (380 auf 1000 g/d), die mit einer Steigerung der Vitamin-C-Zufuhr von 85 auf 257 mg/d verbunden war, innerhalb von zwei Wochen zu einem deutlichen Anstieg der Plasmakonzentrationen an Vitamin C auf  $57,9 \mu\text{mol/l}$ . Allerdings wiesen die Teilnehmer dieser Untersuchung zu Beginn nur durchschnittliche Vitamin-C-Spiegel von  $33,5 \mu\text{mol/l}$  auf [Zino et al. 1997]. In einem besser versorgten Kollektiv mit Ausgangswerten von  $78,3 \mu\text{mol/l}$ , das über vier Wochen zusätzlich zur normalen Kost 400 g/d Obst und Gemüse erhielt, wurde dagegen kein Anstieg der Plasmaspiegel von Vitamin C beobachtet, obwohl die Gesamtzufuhr von 116 auf 286 mg/d anstieg [Paterson et al. 2006].

Ergebnisse von Interventionsstudien in Bezug auf die Konzentrationsanstiege nach isolierter Vitamin-C-Gabe sind uneinheitlich. Bei Typ-2-Diabetikern mit niedrigen Plasmaspiegeln

fürte die kurzfristige Gabe von 800 mg/d Vitamin C zu einem Anstieg von 23 auf 48 µmol/l [Chen et al. 2006] bzw. von 500 mg/d zu einer Erhöhung von 37,7 auf 64,7 µmol/l [Upritchard et al. 2000]. Bei einem gut versorgten KHK-Risikokollektiv mit einer Vitamin-C-Aufnahme von 75–109 mg/d verhinderte die zusätzliche Gabe von 500 mg/d lediglich den Abfall der Plasmakonzentrationen nach 12 Monaten, der in den Vergleichsgruppen beobachtet wurde. Nach 36 Monaten waren die Werte von 60,3 auf 112,5 µmol/l angestiegen; in Kombination mit Vitamin E fiel der Anstieg von 68,9 auf 100,2 µmol/l etwas geringer aus. Der deutlichste Effekt in Bezug auf die Vitamin-C-Konzentration wurde bei den teilnehmenden Rauchern festgestellt, die ausgehend von niedrigeren Spiegeln durch die Vitamingabe ähnliche Werte wie die Nichtraucher erreichten [Porkkala-Sarataho et al. 2000]. Ein höherer Bedarf von Rauchern wurde auch in einer kürzeren Studie bestätigt, in der die Teilnehmer über vier Wochen zwei Mal pro Tag 250 mg Vitamin C erhielten. Die Plasmakonzentrationen stiegen von 46,6 auf 70,1 µmol/l. Damit war der Anstieg im Vergleich zu nichtrauchenden Kollektiven gering [Van Hoydonck et al. 2004]. Bei schlecht mit Vitamin C versorgten Gruppen bzw. erhöhtem Bedarf, z. B. bei Rauchern zeigen sich somit deutliche Effekte einer Supplementation mit Dosierungen von mindestens 500 mg/d. Bei gesunden bzw. gut versorgten Kollektiven sind die Auswirkungen einer Vitamin-C-Gabe geringer. So hatten unterschiedliche Dosierungen von bis zu 400 mg/d über 15 Wochen bei gesunden Probanden keinen Einfluss auf die Vitamin-C- oder 8-OHdG-Konzentration in Monozyten [Herbert et al. 2006]. Eine Dosierung von 50 mg/d zusätzlich zur normalen Kost führte bei Personen mit atrophischer Gastritis ausgehend von einer Konzentration von 80 µmol/l nur zu einem geringen, nicht signifikanten Anstieg der Serumkonzentration, während sich mit einer Dosierung von 1000 mg/d die Spiegel fast verdoppelten [Sasaki et al. 2000]. Ebenfalls mit 1000 mg/d Vitamin C und weiteren Antioxidanzien über sechs Monate wurde ein signifikanter Anstieg der Vitamin-C-Plasmaspiegel von 61 auf 98 µmol/l erzielt [Earnest et al. 2003].

Die Ergebnisse der ARIC-Studie (Atherosclerosis Risk in Communities) an 11.307 männlichen und weiblichen Personen sprechen ebenfalls für einen Nutzen hoher Vitamin-C-Zufuhr. Bei den 55–64jährigen Teilnehmern zeigte sich eine signifikante inverse Beziehung zwischen der Wanddicke der Karotis-Arterie und der Vitamin-C-Aufnahme aus Nahrung und Supplementen. In der höchsten Quintile mit der niedrigsten Wanddicke betrug die Zufuhr der Frauen 957 mg/d und die der Männer 728 mg/d [Kritchevsky et al. 1995].

Die Frage eines möglichen Nutzens ergänzender Vitamin-C-Gaben ist auch vor dem Hintergrund der allgemeinen Versorgungslage zu betrachten. So wurde für die deutschen Kollektive der EPIC-Studie zwar eine durchschnittliche Aufnahme mit der Nahrung von 120–130 mg/d und somit ein Überschreiten der Zufuhrempfehlungen festgestellt. Allerdings gab es bei Männern und Frauen an beiden Untersuchungsorten Personen, die laut

Ernährungsprotokoll kein Vitamin C aufnahmen. Auch wenn das vollständige Fehlen von Vitamin C in der Ernährung angesichts der allgemeinen Versorgungslage mit Lebensmitteln in Deutschland unwahrscheinlich ist und der ermittelte Wert eher auf Ungenauigkeit der Protokolle bzw. der Datenbanken zurückzuführen sein dürfte, zeigt dies doch eine suboptimale Versorgung mancher Bevölkerungsgruppen. So lag die 50. Perzentile der Zufuhr in allen Teilkollektiven bei etwa 100 mg/d, somit erreichte die Hälfte aller Teilnehmer nicht die empfohlene Zufuhr an Vitamin C [Schulze et al. 2001]. Eine ergänzende Gabe könnte bei diesen Personen somit durchaus positive Effekte zeigen.

### **6.5.2 Vitamin E**

Die Bedeutung von Vitamin E in der Prävention und Therapie von kardiovaskulären Erkrankungen ist auch nach Jahren intensiver Forschung nicht endgültig geklärt. Biochemischer Plausibilität und positiven in-vitro-Befunden stehen ernüchternde Ergebnisse von Interventionsstudien gegenüber. Lediglich Kohortenstudien konnten für die Einnahme von Vitamin E positive Effekte belegen [Rimm et al. 1993, Stampfer et al. 1993]. Angesichts der Widersprüche zu großen Interventionen stellt sich hier allerdings einmal mehr die Frage, ob die Auswirkungen einer selbstgewählten Supplementation nicht vielmehr Folgen eines insgesamt gesünderen Lebensstils von Verwendern gegenüber Nichtverwendern sind [Wolters u. Hahn 2001]. Trotz Einbeziehung zahlreicher Lebensstilfaktoren in komplexe Rechenmodelle ist die Diskrepanz zu kontrollierten Studien offensichtlich, so dass weitere Faktoren eine Rolle zu spielen scheinen. Hierzu gehört der Versorgungsstatus zu Beginn einer Supplementation, der nur in wenigen Fällen erfasst wurde. So ergab sich für die deutschen Kollektive der EPIC-Studie zwar eine durchschnittliche Aufnahme mit der Nahrung von 11–12 mg/d bei Frauen und 14–15 mg/d bei Männern und somit ein Überschreiten der Zufuhrempfehlungen, allerdings lag die 50. Perzentile beider Geschlechter unterhalb der Empfehlung. Damit erreichte mehr als die Hälfte aller Teilnehmer nicht die empfohlene Zufuhr an Vitamin E [Schulze et al. 2001]. Im Gegensatz zu Interventionsstudien zur Primärprävention konnte für Vitamin E in der Sekundärprävention ein Effekt gezeigt werden. In einem großen Kollektiv von Frauen mit mindestens drei Risikofaktoren oder einem bereits überlebten kardiovaskulären Ereignis wurde nach einer durchschnittlichen Interventionszeit von 9,4 Jahren eine signifikante Senkung des relativen Risikos um 11 % beobachtet. Die Frauen erhielten 600 I.E. Vitamin E jeden zweiten Tag mit oder ohne zusätzliche Gabe von Vitamin C und/oder  $\beta$ -Carotin. Die Kombination mit  $\beta$ -Carotin hatte in dieser Untersuchung keinen Effekt, eine zusätzliche Einnahme von Vitamin C reduzierte jedoch die Zahl von Schlaganfällen [Cook et al. 2007].

Über die Höhe der wünschenswerten Konzentration von Vitamin E besteht keine Einigkeit. Verschiedene Bevölkerungsstudien ergaben Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der Vitamin-E-Versorgung und der Häufigkeit verschiedener Manifestationen der KHK. So hatte in einer Fall-Kontroll-Studie die Plasmakonzentration von Vitamin E den größten Einfluss auf das Risiko für Angina pectoris, wobei die niedrigsten Werte mit einem relativen Risiko von 2,68 im Vergleich zu den höchsten verbunden waren<sup>9</sup>. Für Vitamin A und C sowie  $\beta$ -Carotin zeigten sich keine signifikanten Trends über die Quintilen, jedoch waren die durchschnittlichen Konzentrationen an  $\beta$ -Carotin, Vitamin C und Vitamin E (bezogen auf TC) bei den Patienten signifikant niedriger als bei Kontrollpersonen [Riemersma et al. 1991]. Bei einem älteren Kollektiv (mind. 80 Jahre) sank das KHK-Risiko mit steigenden Plasmakonzentrationen an Vitamin E, wobei das relative Risiko in der obersten Quartile ( $>43,9 \mu\text{mol/l}$ ) nur 0,10 im Vergleich zur untersten ( $<23,9 \mu\text{mol/l}$ ) betrug [Mezzetti et al. 2001]. Eine aktuelle Auswertung der ATBC-Studie konnte eine sinkende Gesamt- und KHK-Mortalität mit steigenden Serumkonzentrationen an Vitamin E zeigen. Das niedrigste relative Risiko wurde für alle Ursachen bei einer Cholesterol-adjustierten Konzentration von 30–32  $\mu\text{mol/l}$  berechnet [Wright et al. 2006]. In einem älteren Kollektiv zeigte sich ebenfalls eine geringere Gesamtsterblichkeit mit steigenden lipidadjustierten Serumspiegeln an  $\alpha$ -Tocopherol [Huerta et al. 2006].

Die Untergrenze des Normalbereiches wurde vom untersuchenden Labor mit 12  $\mu\text{mol/l}$  angegeben. In Bezug auf präventive Wirkungen werden jedoch z. T. deutlich höhere Konzentrationen diskutiert. So fand sich in der SU.VI.MAX-Studie bei Männern, die mindestens einen Wert von 15  $\mu\text{mol/l}$  aufwiesen, ein signifikant geringeres Krebsrisiko als bei denjenigen mit niedrigeren Konzentrationen. Da jedoch auch bei den Männern mit darüber liegenden Werten eine signifikante Senkung des Krebsrisikos durch die Supplementation mit Antioxidanzien beobachtet wurde [Galan et al. 2005], könnte dieser Wert möglicherweise noch zu niedrig sein. Eine Vitamin-E-Konzentration von mindestens 30  $\mu\text{mol/l}$  wurde von Biesalski et al. [1997b] vorgeschlagen, um das Risiko chronischer Erkrankungen wie Krebs und KHK zu minimieren. In der vorliegenden Studie wurde dieser Wert von den Probanden der Verumgruppe nach sechs Monaten Interventionsdauer mit Ausnahme von nur von zwei Personen erreicht bzw. überschritten (Tabelle 21). Die auf Gesamtcholesterol bezogenen Konzentrationen von mindestens 5,0  $\mu\text{mol/mmol}$  wurden dagegen von allen Teilnehmern, die das Verumpräparat erhalten hatten, erreicht (Tabelle 22). Bezogen auf die Summe aus Gesamtcholesterol und Triglyceriden unterschritt nur eine Person aus der Verumgruppe zum Zeitpunkt t6 den als präventiv angesehenen Wert von 4,3  $\mu\text{mol/mmol}$  (Tabelle 23). Bei dieser Teilnehmerin kam es im Studienverlauf zu einem erheblichen Anstieg der Triglyceridwerte

---

<sup>9</sup> Konzentrationen in der 1. Quintile:  $<18,9 \mu\text{mol/l}$ ; 5. Quintile:  $\geq 28,2 \mu\text{mol/l}$

von 1,53 auf 2,31 mmol/l, so dass der relative Anstieg der Vitamin-E-Spiegel in der Folge niedriger ausfallen musste. Somit kann die Gabe von 80 mg/d  $\alpha$ -Tocopherol als ausreichend angesehen werden, um in einem Kollektiv mit hohem durchschnittlichem Körpergewicht und hoher Fettmasse protektive Serumkonzentrationen von Vitamin E zu erreichen.

Ob die zur Ermittlung der als protektiv geltenden Konzentrationen von Antioxidanzien verwendeten epidemiologischen Daten allerdings auf die isolierte Gabe von Vitamin E in Form von Präparaten übertragbar sind, lässt sich noch nicht abschließend beurteilen. So folgert auch die American Heart Association:

“A few recent observational studies have suggested the importance of levels of vitamin E intake achievable only by supplementation (...), but this has not always been observed (...). Moreover, there is currently no such evidence from primary prevention trials. Thus, although diet alone may not provide levels of vitamin E intake associated with the lowest risk in a few observational studies, the absence of efficacy and safety data from randomized trials precludes the establishment of population-wide recommendations regarding vitamin E supplementation.” [Krauss et al. 2000].

Möglicherweise sind die Vitamin-E-Konzentrationen ähnlich wie die von  $\beta$ -Carotin lediglich als Marker einer insgesamt gesünderen Ernährungsweise mit höherem Verzehr von pflanzlichen Ölen und Nüssen zu sehen. Dieses Ernährungsmuster wiederum ist allgemein mit einem gesundheitsbewussteren Lebensstil verbunden, der durch niedrigeren Nikotinkonsum und höhere körperliche Aktivität gekennzeichnet ist. So wiesen Patienten mit dem Metabolischen Syndrom signifikant niedrigere absolute und lipidadjustierte Vitamin-E-Konzentrationen auf als gesunde Vergleichspersonen [Palmieri et al. 2006]. Die beobachteten Effekte der Antioxidanzigabe auf die Krebsinzidenz in der SU.VI.MAX-Studie [Hercberg et al. 2004, Galan et al. 2005] oder der Linxian-Studie [Blot et al. 1993] lassen sich nicht einzelnen Bestandteilen der verabreichten Nährstoffkombination zuordnen, so dass sich auch hieraus keine klare Empfehlung ableiten lässt. So wurde eine Senkung der Krebshäufigkeit auch durch alleinige Selengabe bei einem insgesamt bereits gut mit Selen versorgten Kollektiv gezeigt [Clark et al. 1996, Combs et al. 2001].

Vor dem Hintergrund der überwiegend negativen Ergebnisse von Interventionsstudien wurde die Frage gestellt, ob die verabreichten Mengen an Vitamin E möglicherweise zu niedrig waren, um protektive Wirkungen auszuüben. Eine Dosisfindungsstudie, die dieser Frage nachging, zeigte bei KHK-Risikopatienten erst für Dosierungen von 1600 und 3200 I.E./d nach 16 Wochen eine signifikante Senkung des Markers  $F_2$ -Isoprostan im Plasma. Niedrigere Gaben sowie kürzere Zeiträume mit der höchsten Dosierung von 3200 I.E./d hatten keinen derartigen Effekt [Roberts et al. 2007]. Allerdings wurde für Risikokollektive mit verschiedenen Grunderkrankungen in einer Meta-Analyse eine Erhöhung der Mortalität durch



hochdosierte Gabe von Vitamin E berechnet [Miller et al. 2005]. Dabei zeigte sich in Studien mit einer Dosierung von mindestens 400 I.E./d ein erhöhtes Risiko, wohingegen für Interventionen mit geringeren Mengen ein protektiver Effekt ermittelt wurde. Im Nachhinein wurde diese Auswertung nicht nur von Industrieseite massiv kritisiert. Zu den Gründen gehörten die Studiauswahl, die heterogene Zusammensetzung des Probanden-Pools, unterschiedliche Nährstoffkombinationen – insbesondere die begleitende Gabe von  $\beta$ -Carotin – und Gleichsetzung der verschiedenen Formen von Vitamin E [Jialal u. Devaraj 2005, Blatt u. Pryor 2005, Campbell u. Stone 2005]. Trotz der methodischen Kritik wurde jedoch insgesamt bestätigt, dass für die hochdosierte Gabe nach wie vor kein Wirksamkeitsbeleg aus Interventionsstudien am Menschen vorliegt. Der Nutzen einer Gabe von mindestens 1600 I.E./d Vitamin E, wie von Roberts et al. [2007] vorgeschlagen, ist aufgrund des möglicherweise erhöhten Mortalitätsrisikos demnach in Frage zu stellen. Eine niedrigere Dosierung scheint jedoch nach den Daten von Miller et al. [2005] nicht nur sicher, sondern in Bezug auf die Gesamtmortalität auch risikomindernd zu sein.

Übersichtsarbeiten kommen in der Mehrzahl zu der Schlussfolgerung, dass für eine Empfehlung zur Einnahme von Vitamin E in der Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen keine ausreichenden Belege vorhanden sind [NIH 2006, Huang et al. 2006, Pham u. Plakogiannis 2005, Eidelman et al. 2004].

### 6.5.3 Zink

Epidemiologische Studien zum Zusammenhang der Zinkversorgung mit dem kardiovaskulären Risiko zeigten widersprüchliche Ergebnisse. Diese könnten auf mehrere Ursachen zurückzuführen sein. Zum einen ist die Aussagekraft der in Untersuchungen verwendeten Marker wie Konzentrationen in Serum, Plasma oder Haaren gering. So konnten weder epidemiologische Studien noch Interventionen durchgängig eine Korrelation dieser Messwerte mit der Zufuhr an Zink belegen [Hughes u. Samman 2006, Maret u. Sandstead 2006]. Zum anderen wird die Zinkzufuhr über die Ernährung zu einem erheblichen Teil durch Nahrungsmittel realisiert, die aufgrund ihrer Begleitsubstanzen negative Effekte haben könnten. So weisen die Lebensmittel mit den höchsten Gehalten und der größten Verfügbarkeit von Zink wie Innereien und rotes Fleisch gleichzeitig hohe Gehalte an gesättigten Fettsäuren auf, die das Lipidprofil und das KHK-Risiko negativ beeinflussen. In einer Interventionsstudie zum Effekt einer Zinksupplementation wurde festgestellt, dass übergewichtige im Vergleich zu schlanken Teilnehmern in Verbindung mit einer höheren Fett- und Energiezufuhr signifikant höhere Zinkzufuhren und -konzentrationen aufwiesen; die Serumkonzentration korrelierte dabei mit der Energiezufuhr, dem BMI und dem Gesamtcholesterol [Boukaiba et al. 1993].

Zu Konzentrationen an Zink, die protektive Effekte im Hinblick auf die Atherogenese haben könnten, liegen keine Daten vor. Auch lassen sich diese aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse nicht aus epidemiologischen Beobachtungen ableiten. In den amerikanischen Zufuhrempfehlungen wird eine Serumkonzentration von 70 µg/dl (10,7 µmol/l) als untere Grenze für die Nüchternwerte angegeben [Institute of Medicine 2002]. Diese wird von den meisten Personen ohne Supplementierung erreicht, wie die Werte des hier betrachteten Gesamtkollektivs zum Zeitpunkt t<sub>0</sub> zeigen. Allerdings erlaubt die Messung der Zinkkonzentration in Serum oder Plasma keine zuverlässige Aussage über den Versorgungsstatus des Körpers, so dass eine endgültige Beurteilung der Studieneffekte nicht möglich ist.

#### **6.5.4 Selen**

Es besteht keine Einigkeit über die optimale Höhe der Selenkonzentrationen im Hinblick auf die Protektion gegenüber Atherosklerose. Aufgrund epidemiologischer Daten zum Zusammenhang der Selenkonzentrationen mit der KHK-Inzidenz (Kapitel 3.2.4 und 6.2.3) scheint ein Plateau zu existieren, oberhalb dessen eine Erhöhung der Zufuhr keinen Nutzen hat. So wurde in Kollektiven mit insgesamt hohen Plasmaspiegeln kein Unterschied innerhalb der untersuchten Gruppe in Bezug auf das kardiovaskuläre Risiko festgestellt [Stranges et al. 2006, Kok et al. 1987, Salvini et al. 1995], jedoch in Gruppen mit niedrigen Werten [Suadicani et al. 1992, Salonen et al. 1982, Virtamo et al. 1985]. Entsprechend hatte die Gabe von 200 µg/d Selen über durchschnittlich 7,6 Jahre in der US-amerikanischen „Clark-Study“ keinen Einfluss auf kardiovaskuläre Endpunkte. Das Kollektiv wies bei Studienbeginn bereits eine mittlere Konzentration von 1,44 µmol/l auf, die unterste Tertile reichte bis zu einem Wert von 1,33 µmol/l [Stranges et al. 2006, Duffield-Lillico et al. 2002].

Die Aktivität der GPx in Plasma und Erythrozyten erreicht bei Selenkonzentrationen von 1,1–1,2 µmol/l ihr Maximum [Brown u. Arthur 2001, Duffield et al. 1999, Thomson et al. 1993, Thomson u. Robinson 1996, Alfthan et al. 1991]. Entsprechend zeigte die durchschnittliche Aktivität der GPx keine Veränderung nach Gabe von 200 µg/d bei Ausgangswerten von 1,39 µmol/l [Alfthan et al. 1991] bzw. durch 100 µg/d bei Personen mit Konzentrationen von durchschnittlich 1,1 µmol/l [Neve et al. 1988, Preziosi et al. 1998]. An Personen mit niedrigeren Werten wurde jedoch eine Erhöhung der Aktivität nach Selengabe beobachtet. Bei Altenheimbewohnern mit Ausgangswerten im Serum von 0,7 µmol/l stieg die Aktivität der erythrozytären GPx durch die Verabreichung von 100 µg/d Selen über sechs Monate signifikant an; die Selenspiegel lagen bei Studienende zwischen 1,11 und 1,18 µmol/l [Monget et al. 1996]. In der Placebogruppe einer Interventionsstudie an gesunden Personen wurde im Verlauf von sechs Monaten ein Abfall der Selenspiegel von 1,12 auf 1,04 µmol/l

beobachtet. Obwohl die Veränderung nicht signifikant war, zeigte die GPx in Plasma und Erythrozyten einen parallelen Verlauf, so dass sich ein signifikanter Unterschied zur Interventionsgruppe ergab, in der die Aktivitäten trotz gesteigerter Selenspiegel konstant blieben [Preziosi et al. 1998]. So wird auch in den amerikanischen Dietary Reference Intakes von einer Sättigung der Plasmaproteine bei 1,1  $\mu\text{mol/l}$  ausgegangen [Institute of Medicine 2000].

Die Aktivität der GPx in anderen Blutzellen als Erythrozyten scheint dagegen erst bei höheren Konzentrationen ihr Maximum zu erreichen. So zeigte sich bei Personen mit einer Ausgangskonzentration von 1  $\mu\text{mol/l}$  Plasma eine signifikante Erhöhung der Aktivität in Lymphozyten und Granulozyten nach Gabe von 100  $\mu\text{g/d}$  Selen über 15 Wochen [Broome et al. 2004]. In einer belgischen Untersuchung stieg die Enzymaktivität in Thrombozyten durch die Gabe von 100  $\mu\text{g/d}$  signifikant an, obwohl die Probanden bei Studienbeginn bereits einen Durchschnittswert von 1,15  $\mu\text{mol/l}$  aufwiesen. Sie erreichte erst bei einer Plasmakonzentration von 1,4  $\mu\text{mol/l}$  ihr Maximum, wohingegen keine Änderung der GPx in Plasma und Erythrozyten zu beobachten war [Neve et al. 1988]. Eine Berechnung auf Basis mehrerer Interventionsstudien ergab eine maximale Aktivität der GPx in Thrombozyten bei Plasmakonzentrationen von 1,25-1,45  $\mu\text{mol/l}$  [Alfthan et al. 1991].

Ob in der Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen eine maximale Aktivität der GPx in Thrombozyten und anderen Zellen sinnvoll ist, kann auf Basis der vorliegenden Daten nicht beantwortet werden. Aufgrund epidemiologischer Ergebnisse kann allerdings davon ausgegangen werden, dass zumindest die Optimierung der Plasma-GPx protektive Effekte hat. Da dieses Optimum bei Plasmakonzentrationen von 1,1  $\mu\text{mol/l}$  erreicht zu sein scheint, wurde das Kollektiv auch noch in Bezug auf das Erreichen dieses Wertes untersucht (Tabelle 60). In der Verumgruppe erreichten oder überschritten bis auf drei Personen alle Teilnehmer nach Einnahme von 80  $\mu\text{g/d}$  Selen diesen Wert, wohingegen in der Placebogruppe nur eine geringe Steigerung zu beobachten war.

Tabelle 60: Verteilung des Studienkollektivs (n=122) auf Referenzbereiche der Selen-Plasmakonzentration

	Gesamtkollektiv (n=122)		Verumgruppe (n=65)		Placebogruppe (n=57)	
	n	[%]	n	[%]	n	[%]
<1,1 µmol/l						
t0	63	51,6	34	52,3	29	50,9
t6	20	16,4	3	4,6	17	29,8
≥ 1,1 µmol/l						
t0	59	48,4	31	47,7	28	49,1
t6	102	83,6	62	95,4	40	70,2

Das in der vorliegenden Studie untersuchte Kollektiv wies mit einer durchschnittlichen Konzentration von 1,04 µmol/l bereits hohe Werte auf (Kap. 6.2.3, S. 128), so dass für das Erreichen der hier als protektiv ermittelten Plasmaspiegel nur eine geringe Erhöhung der Zufuhr notwendig wäre. So führte die Gabe von 50 oder 100 µg/d an Personen mit Ausgangskonzentrationen von 1 µmol/l zu Plasmaspiegeln von 1,20 bzw. 1,35 µmol/l nach sechs Wochen [Broome et al. 2004]. Da jedoch in anderen Studien bei Kollektiven aus Deutschland niedrigere Konzentrationen ermittelt wurden, ist die hier beobachtete Versorgungslage nicht direkt auf die Allgemeinbevölkerung übertragbar. So wurde mittels Duplikatstudien eine durchschnittliche Zufuhr von lediglich 30 µg/d bei Frauen und 41 µg/d bei Männern ermittelt [Drobner et al. 1996]. Diese Zufuhr resultiert in deutlich niedrigeren Konzentrationen. So ist in Polen eine durchschnittliche Selenzufuhr von 30–40 µg/d mit Plasmakonzentrationen von lediglich 0,58 bis 0,84 µmol/l verbunden [Borawska et al. 2004]. In Finnland wurde vor Beginn der Anreicherung von Düngemitteln im Jahr 1984 eine durchschnittliche Zufuhr von 40 µg/d ermittelt, wobei die Serumkonzentrationen Werte von 0,82–0,89 µmol/l erreichten. Die Anreicherung führte zu einem Anstieg der Zufuhr auf 110–120 µg/10 MJ in den Jahren bis 1991. Parallel stiegen die Konzentrationen auf 1,52 µmol/l an. Nachdem die Anreicherung reduziert wurde, sank die Zufuhr auf 85 µg/10 MJ und die Serumspiegel auf 1,27 µmol/l [Aro et al. 1995]. Bei einem Kollektiv in Neuseeland mit Ausgangswerten von 0,82 µmol/l resultierte die Gabe von 10, 20, 30 oder 40 µg/d über 20 Wochen in Anstiegen auf 0,93 (14 %), 1,01 (23 %), 1,03 (26 %) und 1,16 (41 %) µmol/l. Hieraus wurde eine optimale Gesamtzufuhr von 90 µg/d abgeleitet [Duffield et al. 1999].

Dosierungen von 200 µg/d zusätzlich zur normalen Kost, die für die USA trotz hoher Zufuhr über die Ernährung im Hinblick auf anticancerogene Wirkungen empfohlen wurden [Schrauzer 2001], müssen als zu hoch bewertet werden. In der „Clark-Study“ zeigte sich ein

protektiver Effekt nur bei Personen mit Plasmakonzentrationen von  $\leq 1,53 \mu\text{mol/l}$ , so dass dieser Wert in Bezug auf die krebsprotektive Wirkung als optimal bezeichnet wurde. Die hierfür notwendige Zufuhr wurde mit  $1,5 \mu\text{g/kg}$  Körpergewicht und Tag berechnet [Combs et al. 2001]; diese ist auch vor dem Hintergrund toxikologischer Grenzen als sinnvoll anzusehen. Mit einem durchschnittlichen Wert von  $1,58 \mu\text{mol/l}$  wurde diese Konzentration von den Probanden in der Verumgruppe durch die Gabe von  $80 \mu\text{g/d}$  erreicht. Bestätigt wird diese Dosierung durch Ergebnisse aus Finnland, wo die Anreicherung von Düngemitteln zu einem Anstieg der durchschnittlichen Zufuhr von 40 auf  $110\text{--}120 \mu\text{g/10 MJ}$  führte. Parallel stiegen die Serumkonzentrationen auf  $1,52 \mu\text{mol/l}$  an. Nach einer Reduzierung der Anreicherung sank die Zufuhr auf  $85 \mu\text{g/10 MJ}$  und die Serumspiegel auf  $1,27 \mu\text{mol/l}$  [Aro et al. 1995]. Bei Personen mit Ausgangskonzentrationen von  $1 \mu\text{mol/l}$  führte die Gabe von  $50 \mu\text{g/d}$  zu Plasmaspiegeln von  $1,20 \mu\text{mol/l}$  [Broome et al. 2004]. Somit wären im Hinblick auf kardiovaskuläre Erkrankungen optimale Konzentrationen von mindestens  $1,1 \mu\text{mol/l}$  ausgehend von den Ergebnissen der genannten Dosisfindungsstudien bereits mit einer niedrigeren als der hier verwendeten Supplementation in Höhe von  $40\text{--}50 \mu\text{g/d}$  zu erreichen.

### 6.5.5 Carotinoide

Epidemiologische Untersuchungen zeigen ein vermindertes kardiovaskuläres Risiko bei Personen mit einer regelmäßig hohen Aufnahme von Obst und Gemüse [Padayatty u. Levine 2008]. Hierfür wird neben anderen Faktoren auch der Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen verantwortlich gemacht. Trotz zahlreicher Studien zu dieser Fragestellung konnten bis jetzt jedoch keine einzelnen Substanzen mit den entsprechenden protektiven Wirkungen identifiziert werden. Vielmehr gilt heute eine hohe Konzentration z. B. von Carotinoiden als Marker für einen insgesamt hohen Verzehr von pflanzlichen Lebensmitteln, der wiederum unzweifelhaft als positiv zu bewerten ist. Neben sekundären Pflanzenstoffen enthalten Obst und Gemüse beispielsweise Ballaststoffe, Kalium, Vitamin C oder Folsäure, für die ebenfalls protektive Wirkungen auf kardiovaskuläre Erkrankungen belegt sind [Padayatty u. Levine 2008, Hak et al. 2004]. Da hohe Carotinoidspiegel jedoch auch invers mit verschiedenen Risikofaktoren für chronische Erkrankungen wie Übergewicht, Rauchen und höherem Alkoholkonsum assoziiert sind [Brady et al. 1996], können sie als Marker für einen insgesamt gesundheitsbewussten Lebensstil gelten.

Eine Konsensuskonferenz zu protektiven Wirkungen von Antioxidanzien ergab auf Basis epidemiologischer Daten eine anzustrebende Plasmakonzentration von  $0,4 \mu\text{mol/l}$   $\beta$ -Carotin [Biesalski et al. 1997b]. Diese soll mit einer täglichen Zufuhr von etwa  $2\text{--}4 \text{ mg}$   $\beta$ -Carotin erreicht werden, was sich bei entsprechender Lebensmittelauswahl mit  $200\text{--}250 \text{ g}$  Gemüse pro Tag leicht realisieren ließe [DGE et al. 2000, Biesalski et al. 1997b]. So liegt die

berechnete Aufnahme an  $\beta$ -Carotin laut Ernährungsbericht 2004 für erwachsene Männer und Frauen bei 2,6 bzw. 3,4 mg/d [DGE 2004, S. 38f.]. In einem Kollektiv, dessen Obst- und Gemüseverzehr bereits über dieser Forderung lag, führte die Erhöhung von zwei auf sieben Portionen pro Tag (380 auf 1000 g/d) innerhalb von zwei Wochen dennoch zu einem weiteren Anstieg der Plasmakonzentration an  $\beta$ -Carotin. Die Erhöhung der  $\beta$ -Carotin-Zufuhr in der Interventionsgruppe von 2,0 auf 4,7 mg/d bewirkte nach acht Wochen Studiendauer einen Anstieg der Plasmaspiegel von 0,34 auf 0,52  $\mu\text{mol/l}$  [Zino et al. 1997]. Somit war eine  $\beta$ -Carotinaufnahme über die Nahrung von 2 mg/d nicht ausreichend, um die angestrebten Plasmaspiegel zu erreichen. Eine durchschnittliche Konzentration von 0,4  $\mu\text{mol/l}$  ist nach diesem Ergebnis erst bei einer täglichen Zufuhr von etwa 4 mg/d  $\beta$ -Carotin zu erwarten, was bei der hier praktizierten Lebensmittelauswahl mit fünf bis sechs Portionen Obst und Gemüse gegeben sein dürfte.

Neben der Höhe der zum Erreichen bestimmter Konzentrationen erforderlichen Zufuhr von Carotinoiden ist auch die Festlegung der als protektiv angesehenen Werte aus heutiger Sicht in Frage zu stellen. Denn insbesondere neuere Ergebnisse aus Beobachtungsstudien zum Zusammenhang zwischen Carotinoidkonzentrationen und kardiovaskulärem Risiko ergeben kein klares Bild. So konnten einige Untersuchungen inverse Zusammenhänge zwischen den Gesamtkonzentrationen an Carotinoiden und dem kardiovaskulären Risiko zeigen [Ray et al. 2006, De Waart et al. 2001, Morris et al. 1994]. In Bezug auf einzelne Carotinoide sind die Daten jedoch widersprüchlich. Für  $\beta$ -Carotin ergaben neuere Beobachtungsstudien keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen hohen Plasma- oder Serumkonzentrationen und einem geringeren kardiovaskulären Risiko [Ray et al. 2006, Hak et al. 2003, Rissanen et al. 2001, Mezzetti et al. 2001]. In zwei Auswertungen der Physicians' Health Study in Bezug auf Schlaganfall und Myocardinfarkt fand sich ein geringeres Risiko bereits ab der zweiten Quintile der Plasmakonzentrationen an Beta-Carotin, das mit steigenden Werten nicht weiter absank. Hier lag die Grenze zwischen erster und zweiter Quintile bei ca. 0,26  $\mu\text{mol/l}$  [Hak et al. 2003, 2004]. Die Lycopinspiegel zeigten sich zumindest in einigen Studien als Einflussfaktor auf das KHK-Risiko [Sesso et al. 2004, Rissanen et al. 2001, Kristenson et al. 1997, Klipstein-Grobusch et al. 2000]. Kein Zusammenhang mit Lycopin wurde allerdings in den großen Studien NHANES III und Physicians' Health Study festgestellt, die in den USA durchgeführt wurden [Sesso et al. 2005, Ford u. Giles 2000, Hak et al. 2003]. Nur in Bezug auf das Schlaganfall-Risiko zeigte sich ein protektiver Effekt höherer Lycopinkonzentrationen. Dieser wurde jedoch bereits ab der zweiten Quintile der Plasmaspiegel beobachtet. Die Grenze zwischen den Gruppen lag hier bei 0,5  $\mu\text{mol/l}$  [Hak et al. 2004]. Bei den Ergebnissen der US-amerikanischen Untersuchungen spielt möglicherweise das Verzehrsmuster eine Rolle, insbesondere bei Männern. Denn Hauptquellen für Lycopin in der Nahrung sind in

westlichen Kulturen allgemein Tomaten und daraus hergestellte Produkte [Talegawkar et al. 2007, Giovannucci 2002, Tucker et al. 1999]. Ein Ernährungsverhalten, das eine hohe Lycopinzufuhr durch den Verzehr von Ketchup und Pizza bewirkt, könnte mögliche protektive Wirkungen des Carotinoids durch hohe Aufnahme von Energie, vor allem durch gesättigte Fette, im negativen Sinne ausgleichen. Aus den vorliegenden Daten generelle Aussagen zu protektiven Konzentrationen einzelner Carotinoide – insbesondere ohne Berücksichtigung des Verzehrsmusters – abzuleiten, ist somit nicht möglich.

Auch die Ergebnisse zum Einfluss der Zufuhr einzelner Carotinoide auf die Atherosklerose sind höchst widersprüchlich. Einige Studien konnten positive Effekte einzelner Carotinoide zeigen. So wurde für eine hohe Aufnahme von  $\beta$ -Carotin mit der Nahrung ein vermindertes Risiko gefunden [Tavani et al. 2006, Osganian et al. 2003, Gaziano et al. 1995b, Klipstein-Grobusch et al. 1999]. Für Lycopin sind die Ergebnisse uneinheitlich. So wurde bei den Teilnehmerinnen der Women's Health Study ein geringeres KHK-Risiko mit steigender Zufuhr gezeigt, obwohl das Kollektiv insgesamt mit etwa 9 mg/d eine sehr hohe Zufuhr aufwies [Sesso et al. 2004]. Kein Einfluss zeigte sich dagegen in einer italienischen Fall-Kontroll-Studie mit einer durchschnittlichen Lycopinaufnahme von 7,2 mg/d [Tavani et al. 2006]. Auch in der Nurses' Health Study wurde keine protektive Wirkung einer hohen Lycopinaufnahme festgestellt [Osganian et al. 2003].

Für die deutsche Bevölkerung wurde in der Nationalen Verzehrsstudie eine Gesamtaufnahme an Carotinoiden von nur 5,3 mg/d berechnet. Den größten Anteil machten dabei Lutein mit 1,9 mg/d und  $\beta$ -Carotin mit 1,8 mg/d aus. Die Lycopinzufuhr war mit 1,3 mg/d vergleichsweise niedrig [Pelz et al. 1998]. Eine multizentrische Untersuchung fand in anderen europäischen Ländern Mediane für die Zufuhr an  $\beta$ -Carotin von 2,96–5,84 mg/d, an Lutein von 1,56–3,25 mg/d und an Lycopin von 1,64–5,01 mg/d [O'Neill et al. 2001].

Die Ermittlung protektiver Werte für die Zufuhr bzw. Konzentration eines Carotinoids wird durch den geringen Zusammenhang zwischen berechneter Aufnahme und gemessener Konzentration erschwert. So zeigte sich in verschiedenen Untersuchungen nur eine schwache Korrelation zwischen der mittels Protokollen bzw. Befragungen ermittelten Zufuhr von Carotinoiden und deren Konzentrationen im Plasma [Talegawkar et al. 2007, Thomson et al. 2007, Forman et al. 1993, Yong et al. 1994, Scott et al. 1996]. In einem rein weiblichen Kollektiv wurde ein Zusammenhang der Plasmaspiegel mit der anhand von Verzehrsprotokollen ermittelten Zufuhr beobachtet, jedoch nicht mit der Aufnahme bestimmter Obst- und Gemüsesorten als Hauptquellen der entsprechenden Substanzen [Pollard et al. 2003]. Dagegen ergab sich in der Physicians' Health Study ein Zusammenhang zwischen den Plasmakonzentrationen an Lycopin, Lutein,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie  $\beta$ -Cryptoxanthin und dem Verzehr bestimmter Obst- und Gemüsesorten [Hak et al. 2003].

Möglicherweise spielen hier Faktoren wie geringe Verfügbarkeit von Daten in Lebensmitteltabellen, Schwankungen der Gehalte im Jahresverlauf, Lager- und Transportzeiten sowie die Bioverfügbarkeit der Substanzen aufgrund der Verarbeitung von Lebensmitteln und individueller Schwankungen eine Rolle. So wird die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden durch thermische und mechanische Behandlung erhöht [Stahl u. Sies 1992, Gärtner et al. 1997]. Nach Aufnahme von 5 mg/d Lycopin in Form von Kapseln (Oleoresin), Tomaten oder Tomatensaft zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Plasmaspiegel mit Saft und Kapseln, nicht jedoch durch den Tomatenkonsum. Dabei ergaben sich in der Supplementgruppe die höchsten Konzentrationen mit den geringsten Schwankungen [Böhm u. Bitsch 1999]. Auch die gleichzeitige Aufnahme von Fett erhöht die Absorption der meisten Carotinoide aufgrund ihrer Lipophilie [Unlu et al. 2005].

Unabhängig von der Frage, welche Plasmakonzentrationen von Carotinoiden anzustreben sind, um das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen zu minimieren, ist trotz zahlreicher Interventionsstudien mit erhöhter Zufuhr bestimmter Lebensmittel oder isolierter Substanzen aus den vorliegenden Daten auch keine klare Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Carotinoidaufnahme und Konzentrationen in Serum oder Plasma abzuleiten. Die Schwankungsbreite der gemessenen Anstiege bei gleichen Dosierungen ist sowohl bei Lebensmitteln als auch bei isolierten Substanzen erheblich. So hatte die Aufnahme von 14 mg/d Lycopin in Form von Tomatenpüree über drei Wochen bei gesunden Frauen einen Anstieg der Lycopinkonzentration von 0,46 auf 0,60  $\mu\text{mol/l}$  zur Folge [Tyssandier et al. 2004]; ausgehend von deutlich niedrigeren Werten nach einer Depletionsphase wurde mit nur 7 mg/d über 14 Tage ein vergleichbarer Wert von 0,57  $\mu\text{mol/l}$  erzielt [Pellegrini et al. 2000].

Isolierte Carotinoide führten in den meisten Studien zu erheblich höheren Anstiegen der Plasma- bzw. Serumkonzentrationen als komplexe Lebensmittel, jedoch ist auch hier die Schwankungsbreite groß. So wurde nach Gabe von 30 mg/d  $\beta$ -Carotin über sechs Wochen in Form von Karotten eine Plasmakonzentration von 1,7  $\mu\text{mol/l}$  gemessen, nach Aufnahme in Form von Präparaten dagegen von 8,2  $\mu\text{mol/l}$ . Selbst eine deutlich geringere Menge von 12 mg/d bewirkte noch einen Anstieg auf 3,9  $\mu\text{mol/l}$  [Micozzi et al. 1992]. Mit einer Dosierung von ebenfalls 30 mg/d  $\beta$ -Carotin stiegen die Werte in einem anderen Kollektiv im Verlauf von drei Monaten von 0,56 bis auf 5,48  $\mu\text{mol/l}$ , wobei sich hier eine weite Streuung der Veränderungen zeigte. So verdoppelte sich bei einigen Teilnehmern die Konzentration, wohingegen bei anderen Anstiege um das Zwanzigfache beobachtet wurden [Sasaki et al. 2000]. Im Anschluss an eine zweiwöchige Depletionsphase, während der die Plasmakonzentrationen an  $\beta$ -Carotin auf 0,36  $\mu\text{mol/l}$  und an Lycopin auf 0,45  $\mu\text{mol/l}$  gesunken waren, reichte die Gabe einer Mischung aus jeweils 4 mg/d Lutein,  $\beta$ -Carotin und Lycopin aus, um die Konzentration von Letzterem wieder auf 0,58 bzw. 0,61  $\mu\text{mol/l}$



anzuheben. Diese Werte waren mit denen vergleichbar, die vor der Depletionsphase von den Teilnehmern erreicht wurden. Dosierungen von 12 mg/d bewirkten erheblich höhere Konzentrationen von 1,3 bzw. 2,1  $\mu\text{mol/l}$  [Zhao et al. 2006].

Auf Basis der vorliegenden Daten kann aktuell weder eine im Hinblick auf chronische Erkrankungen protektive Konzentration von Carotinoiden angegeben werden, noch die zum Erreichen positiver Effekte notwendige Aufnahme. Aus diesem Grund kann auch keine Schlussfolgerung in Bezug auf langfristige Auswirkungen der im hier verabreichten Präparat enthaltenen Carotinoide auf das kardiovaskuläre Risiko gezogen werden.

### **6.5.6 Synergistische Effekte von Antioxidanzien**

Aufgrund des komplexen Zusammenspiels zahlreicher Substanzen im antioxidativen Stoffwechsel ist der quantitative Beitrag einzelner Stoffe kaum abzuschätzen. Trotz der biochemisch plausiblen Rolle von Antioxidanzien im atherosklerotischen Geschehen waren die Ergebnisse großer Interventionsstudien mit Antioxidanzien enttäuschend. So konnte keine der drei großen  $\beta$ -Carotin-Studien ATBC, CARET und PHS (Physicians' Health Study) kardioprotektive Wirkungen der Supplementation zeigen [Törnwall et al. 2004, Omenn et al. 1996, Hennekens et al. 1996]. Auch die langfristige Gabe von Vitamin E alleine hatte in den meisten Untersuchungen keinen diesbezüglichen Effekt [Lonn et al. 2005, GISSI-Prevenzione Investigators 1999, Hodis et al. 2002, de Gaetano 2001]. Möglicherweise wurde das komplexe Zusammenspiel der verschiedenen Substanzen bei der Neutralisation von ROS nicht ausreichend berücksichtigt, wenn nur eine einzelne Substanz verabreicht wurde. Da die einzelnen antioxidativ wirkenden Stoffe synergistisch zusammenwirken, kann ein einzelner Stoff bei Fehlen der übrigen Komponenten unter Umständen nicht die erwünschten Wirkungen ausüben oder sogar negative Effekte auf den Organismus haben. Entsprechend konnten verschiedene Untersuchungen *in vitro* ein höheres antioxidatives Potenzial von Kombinationen im Vergleich zu Einzelsubstanzen zeigen. Besonders ausgeprägt wurde dieser Effekt zwischen Lycopin und Lutein beobachtet, die einzeln jeweils nur einen geringen Effekt hatten. Die Zugabe von  $\alpha$ -Tocopherol zu Carotinoiden bewirkte eine deutlich erhöhte antioxidative Wirkung [Subagio u. Morita 2001, Stahl et al. 1998, Böhm et al. 1997]. *In vitro* wurden für verschiedene Carotinoide sogar prooxidative Wirkungen gezeigt, die durch Zugabe weiterer Antioxidanzien, vor allem  $\alpha$ -Tocopherol, verhindert bzw. in eine antioxidative Wirkung umgewandelt werden konnten [Subagio u. Morita 2001]. Auch  $\alpha$ -Tocopherol zeigte bei isolierter hochdosierter Gabe prooxidative Wirkungen, die jedoch durch parallele Gabe von Coenzym Q<sub>10</sub> verhindert werden konnten [Huang et al. 2005, Thomas et al. 1996]. So führte die kurzzeitige Gabe von 1200 I.E. pro Tag in Form von  $\alpha$ -Tocopherol bei Typ-2-Diabetikern zu einem extremen Anstieg der Plasmakonzentrationen. Die Supplementation

hatte eine signifikant erhöhte DNA-Schädigung im Comet-Assay zur Folge, nachdem die Probanden einen oralen Glucosetoleranz-Test absolviert hatten [Winterbone et al. 2007].

Interventionsstudien zum Effekt einer kombinierten Gabe mehrerer Antioxidanzien konnten zum größten Teil positive Veränderungen von Markern zeigen. Die Einnahme von Vitamin C, Vitamin E und  $\beta$ -Carotin führte zu einer signifikant höheren Oxidationsbeständigkeit von LDL bei gesunden Männern [Woodside et al. 1999] und Patienten mit Hypercholesterolemie [Gilligan et al. 1994]. Eine placebokontrollierte Studie von Earnest et al. [2003], die einen Pilotversuch ohne Kontrolle beinhaltete [Earnest et al. 2002], konnte signifikante Effekte auf den antioxidativen Stoffwechsel durch eine Nährstoffgabe zeigen. Die verwendete Antioxidanzienmischung ist in Tabelle 61 aufgeführt. Da allerdings im Unterschied zur vorliegenden Untersuchung die LDL-Oxidation ex vivo als Marker für den antioxidativen Status verwendet wurde, ist das Ausmaß der Verbesserung nicht direkt vergleichbar. Dennoch konnten Earnest et al. in beiden Studien nach ebenfalls sechs Monaten Dauer eine Verbesserung der Versorgung mit Vitamin C, Vitamin E und  $\beta$ -Carotin sowie eine Verlängerung der lag-time und Reduktion der Oxidationsrate von LDL-Partikeln zeigen. Da die Empfindlichkeit von LDL-Partikeln gegenüber Oxidation ex vivo mit der Schwere angiographisch bestimmter Atherosklerose assoziiert war, weisen diese Ergebnisse auf protektive Wirkungen von Antioxidanzien-Kombinationen in Bezug auf kardiovaskuläre Endpunkte hin. Neben möglichen langfristigen Effekten auf das Fortschreiten der Atherosklerose scheint der Redoxstatus auch einen Einfluss auf die Gefäßfunktion auszuüben. Personen mit Hypertonie zeigten nach nur acht Wochen Supplementation mit täglich 400 I.E. Vitamin E und 1000 mg Vitamin C eine signifikant verbesserte Reaktivität der Arterienwände in Verbindung mit Steigerungen der antioxidativen Kapazität [Plantinga et al. 2007].

Eine ältere Untersuchung [Preziosi et al. 1998], in der eine mit der späteren SU.VI.MAX-Studie identische Nährstoffkombination bei gesunden Erwachsenen untersucht wurde (Tabelle 61), konnte wie die vorliegende Studie keinen Einfluss auf die Konzentration an Malondialdehyd als alleinigem Antioxidanzienmarker zeigen. Allerdings waren die Probanden dieses Kollektivs bei Studienbeginn bereits sehr gut mit Antioxidanzien versorgt. So lag die durchschnittliche Konzentration von Vitamin E bei 31,3 und von  $\beta$ -Carotin bei 0,81  $\mu\text{mol/l}$ . Auch wenn die Lipidwerte nicht berichtet wurden, die eventuell zu höheren Werten beigetragen haben könnten, ist aufgrund der gezielten Auswahl gesunder Personen und der Serumkonzentrationen auch an wasserlöslichen Antioxidanzien von einem guten Versorgungsstatus auszugehen. Hierfür spricht auch der hohe lipidadjustierte Vitamin-E-Spiegel von 6,7  $\mu\text{mol/mmol}$  Gesamtcholesterol. Dennoch führte die Gabe dieser niedrigen Dosierung bereits nach drei Monaten zu einer signifikanten Erhöhung der

Serumkonzentrationen aller verabreichten Nährstoffe. So stieg die Konzentration an  $\beta$ -Carotin in der Interventionsgruppe um 125 % durch die Gabe von nur 6 mg/d, die  $\alpha$ -Tocopherolspiegel erhöhten sich um 11 % und die von Vitamin C um 18 %. Obwohl in der zweiten Hälfte der Studie einige Werte wieder leicht absanken, war der Unterschied zur Placebogruppe dennoch weiter signifikant. In der SU.VI.MAX-Studie wurden dann die langfristigen Folgen einer identischen Antioxidanzienkombination in Bezug auf chronische Erkrankungen untersucht [Hercberg et al. 2004]. Nach einer Beobachtungsdauer von 7,5 Jahren zeigte sich hier für die männlichen Teilnehmer eine Reduktion der Krebshäufigkeit und der Gesamtsterblichkeit, wohingegen kardiovaskuläre Erkrankungen nicht beeinflusst wurden. Unter den teilnehmenden Frauen zeigte sich keinerlei Auswirkung der Nährstoffgabe. Allerdings wiesen diese bei Studienbeginn rund 50 % höhere Serumspiegel an  $\beta$ -Carotin als die männlichen Teilnehmer auf, was auf einen deutlich höheren Gemüsekonsum schließen lässt. Entsprechend wurde innerhalb der Placebogruppe eine sinkende Inzidenz von Krebs und kardiovaskulären Erkrankungen mit steigenden  $\beta$ -Carotinkonzentrationen nur für Männer, nicht aber für Frauen festgestellt. Offensichtlich waren diese insgesamt so gut mit Antioxidanzien versorgt, dass weder Unterschiede im Krankheitsrisiko über den vorliegenden Versorgungsbereich mit  $\beta$ -Carotin noch Effekte einer Supplementation auftraten.

Tabelle 61: Nährstoffdosierungen verschiedener Interventionsstudien im Vergleich

	Herz-Studie Hannover	Earnest et al. 2003	Preziosi et al. 1998	Herberg et al. 2004 (SU.VI.MAX)
Vitamin C [mg/d]	500	1000	120	120
Vitamin E [I.E./d]	120	800	45	45
Zink [mg/d]	15	15	20	20
Selen [ $\mu$ g/d]	80	100	100	100
Carotinoide [mg/d]	5 (Mischung)	19 (Mischung)	6 ( $\beta$ -Carotin)	6 ( $\beta$ -Carotin)
Polyphenole [mg/d]	50	-	-	-
Coenzym Q <sub>10</sub> [mg/d]	30	50	-	-
Dauer	6 Monate	6 Monate	6 Monate	7,5 Jahre
Kollektiv	Männer und Frauen mittleren Alters mit KHK- Risikofaktoren	Gesunde Männer und Frauen mittleren Alters	Gesunde Männer und Frauen mittleren Alters	Gesunde Männer und Frauen mittleren Alters

## 6.6 Schlussfolgerungen im Hinblick auf das Atheroskleroserisiko

Aufgrund der Rolle reaktiver Sauerstoffspezies im atherosklerotischen Geschehen sind positive Wirkungen einer erhöhten Zufuhr von Antioxidanzien plausibel. Zu den Effekten einer solchen Intervention – sei es durch die verstärkte Aufnahme bestimmter Lebensmittel oder isolierter antioxidativer Substanzen – liegen zahlreiche Ergebnisse vor. Allerdings waren die beobachteten Effekte in den meisten Fällen gering. Dies kann auf mehrere Faktoren zurückzuführen sein. Zum einen scheint der überwiegende Teil der verwendeten Marker ungeeignet zu sein, um Effekte innerhalb eines physiologischerweise auftretenden Bereiches zu erfassen. In diesem Punkt decken sich die widersprüchlichen Daten aus der Literatur mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Zum anderen sind protektive Wirkungen in Bezug auf kardiovaskuläre Endpunkte wie Myocardinfarkt oder Schlaganfall nur zu erwarten, wenn tatsächlich ein Ungleichgewicht im Redoxstatus vorliegt. So definiert das US-amerikanische Institute of Medicine [2000, S. 42] die Rolle von Antioxidanzien wie folgt:

“A dietary antioxidant is a substance in foods that significantly decreases the adverse effects of reactive species, such as reactive oxygen and nitrogen species, on normal physiological function in humans.”

Eine antioxidative Wirkung ist demnach nicht per se als positiv im Sinne von Krankheitsprävention anzusehen, sondern nur unter der Bedingung, dass negative Wirkungen infolge eines Überwiegens oxidativer Prozesse verhindert werden können. Befindet sich der Redoxstatus einer Person bereits im Gleichgewicht, ist von einer höheren Zufuhr an Antioxidanzien somit kein Effekt zu erwarten. Vor diesem Hintergrund sind widersprüchliche Ergebnisse von Interventionsstudien nicht überraschend, da in den wenigsten Fällen die Basisernährung erfasst bzw. standardisiert wurde. Auch der in einigen epidemiologischen Untersuchungen beobachtete fehlende Effekt einer höheren Aufnahme bestimmter Nahrungsbestandteile auf ein Erkrankungsrisiko ist damit plausibel, wenn das Kollektiv insgesamt eine gute Versorgung aufweist. So konnte für Vitamin E bei insgesamt unzureichender Aufnahme der untersuchten Personen eine Abnahme tödlicher Herzinfarkte mit steigender Zufuhr festgestellt werden [Knekt et al. 1994]. Der Zusatznutzen einer besseren Versorgung nimmt mit steigender Menge jedoch immer weiter ab. In einem weiblichen Kollektiv wurde ein Zusammenhang zwischen der kardiovaskulären Mortalität und der Vitamin-E-Zufuhr aus der Nahrung, jedoch nicht aus Supplementen festgestellt. Dabei nahmen Frauen in der oberste Quintile 12 mg/d Vitamin E über die Nahrung auf; die zusätzliche Einnahme in Form von Präparaten hatte keinen Effekt [Kushi et al. 1996, Yochum et al. 2000]. Über ein physiologisches Gleichgewicht hinaus kann offensichtlich weder eine höhere Zufuhr mit der Nahrung noch eine ergänzende Nährstoffgabe deutliche

krankheitsprotektive Wirkungen entfalten. Umgekehrt scheint allerdings eine schlechte Versorgung mit Antioxidanzien mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einherzugehen. So wiesen Personen mit erhöhter IMT signifikant niedrigere Plasmakonzentrationen von  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Tocopherol sowie Carotinoiden auf als gesunde Vergleichspersonen. Dabei unterschieden sich die Gruppen weder in Bezug auf BMI, Rauchverhalten noch Obst- und Gemüsekonsum [Polidori et al. 2007].

Effekte einer erhöhten Antioxidanzienzufuhr zeigen sich bei Personen mit schlechtem Versorgungsstatus. So wurde in der SU.VI.MAX-Studie bei Männern mit Konzentrationen von Vitamin C und E sowie  $\beta$ -Carotin unter dem Normalbereich ein höheres Krebsrisiko festgestellt als bei Männern mit höheren Werten. Besonders deutlich zeigte sich dieser Zusammenhang für  $\beta$ -Carotin. Nachdem die Placebogruppe in Quintilen der Serumkonzentration bei Studienbeginn aufgeteilt worden war, ergab sich für Männer in der höchsten Quintile ein relatives Risiko von 0,55 für Krebserkrankungen und von 0,57 für ischämische Herzerkrankungen. Bei den schlecht versorgten Männern bewirkte die Supplementation mit einer moderat dosierten Antioxidanzienkombination (Tabelle 61) nach einer Studiendauer von 7,5 Jahren eine deutliche Senkung der Krebshäufigkeit, wohingegen die besser versorgten kaum von der Nährstoffgabe profitierten [Galan et al. 2005, Hercberg et al. 2004]. In Bezug auf kardiovaskuläre Erkrankungen war dagegen kein eindeutiger Effekt der Nährstoffgabe zu beobachten. Obwohl bei Studienbeginn ein negativer Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von  $\beta$ -Carotin und der Häufigkeit von Plaques in der Intima media als Marker für das Atheroskleroserisiko festgestellt wurde, zeigte sich im Studienverlauf kein Effekt auf diesen Parameter [Zureik et al. 2004]. Nach 7,5 Jahren wurde in beiden Gruppen eine identische Häufigkeit ischämischer Herzerkrankungen sowohl bei Männern als auch bei Frauen festgestellt [Hercberg et al. 2004]. Ob dieses Ergebnis auf einen insgesamt bereits guten Versorgungsstatus, Einflüsse des Lebensstils oder andere Faktoren zurückzuführen ist, kann nicht abschließend beurteilt werden. Es zeigt sich jedoch, dass auch die verwendete Kombination nicht in der Lage war, einen signifikanten Einfluss auf das kardiovaskuläre Risiko auszuüben. Darüberhinaus wird einmal mehr bestätigt, dass die Konzentrationen von  $\beta$ -Carotin als Marker des Obst- und Gemüseverzehrs Aussagekraft besitzen, ihre Erhöhung durch isolierte Gabe der Substanz jedoch nicht automatisch mit einer Risikominderung verbunden ist, die eine entsprechende Ernährungsweise mit sich bringen würde.

Aufgrund der äußerst widersprüchlichen und meist geringen Effekte von Antioxidanzien in Interventionsstudien sowohl in Bezug auf unterschiedliche Marker als auch auf klinische Endpunkte bleibt die Bedeutung des antioxidativen Stoffwechsels im atherosklerotischen Geschehen weiter ungewiss. Unbestritten ist jedoch, dass das kardiovaskuläre Risiko durch

Ernährungs- und Lebensstilfaktoren massiv zu beeinflussen ist. Zu den Hauptrisikofaktoren für koronare Herzerkrankungen gehören mangelnde körperliche Aktivität, Übergewicht und positive Energiebilanz [Liu u. Manson 2001]. Insbesondere der regelmäßigen Bewegung kommt in diesem Zusammenhang eine Schlüsselrolle zu. Die Auswirkungen sind sowohl in Bezug auf Risikofaktoren wie Übergewicht, Insulinresistenz bzw. Typ-2-Diabetes, Dyslipidämien und Bluthochdruck als auch für KHK-Endpunkte mit dem höchsten Evidenzgrad belegt. Für die meisten der genannten Faktoren ist hierfür eine moderate Belastung von 30 Minuten pro Tag bzw. 3–4 Stunden pro Woche ausreichend [Pedersen u. Saltin 2006]. Verstärkt werden die Effekte durch eine Kombination mit verändertem Ernährungsverhalten, in erster Linie einer Erhöhung des Obst- und Gemüsekonsums [Roberts u. Barnard 2005]. So wurde für das Kollektiv der Nurses' Health Study berechnet, dass 82 % aller kardiovaskulären Ereignisse durch moderate Änderungen von Ernährungs- und Lebensstilfaktoren verhindert werden könnten [Hu u. Willett 2002]. Für das rein weibliche Kollektiv der CORA-Studie wurde eine Erhöhung des KHK-Risikos durch den Verzehr von Fleisch oder Wurst um den Faktor 2,5 pro 100 g berechnet. Obst und Gemüse senkten dagegen das Risiko um den Faktor 0,7 pro 100 g. Besonders ausgeprägt war der Einfluss der Ernährung bei Vorliegen von kardiovaskulären Risikofaktoren [Zyriax et al. 2005]. Hierbei spielt nicht nur der Gehalt an möglicherweise protektiven Substanzen in pflanzlichen Lebensmitteln eine Rolle, sondern auch der Verdrängungseffekt zu Lasten energiedichtere Nahrung. Wie in einem aktuellen Editorial ausgedrückt:

„If you eat lots of carrots, you cannot eat so many sausages“ [Padayatty u. Levine 2008].

Allerdings ist das Bewusstsein für die eigene Verantwortung im Allgemeinen bei den Betroffenen nur gering ausgeprägt. Die Frauen der CORA-Studie, die nach einer angiographisch diagnostizierten KHK rekrutiert worden waren, machten vor allem Stress und Genetik für ihre Erkrankung verantwortlich. Vergleichsweise geringe Bedeutung wurde den Faktoren Rauchen, Ernährung und Sport beigemessen [Zyriax et al. 2007]. Vor diesem Hintergrund wird das Potenzial von Interventionen, die eine Änderung des gesamten Lebensstils zum Ziel haben, für die Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen deutlich.

## 7 Zusammenfassung

Verschiedene Untersuchungen legen eine Rolle des antioxidativen Stoffwechsels in der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen nahe. Interventionsstudien mit einzelnen antioxidativen Substanzen ergaben jedoch bis heute keine eindeutigen protektiven Wirkungen. Aus diesem Grund sollten in der vorliegenden randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten Untersuchung bei einem Kollektiv mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko die Effekte einer kombinierten Antioxidanzengabe auf verschiedene Marker des antioxidativen Stoffwechsels untersucht werden. Über die Dauer von sechs Monaten wurde hierzu ein Präparat verabreicht, das neben B-Vitaminen, Mineralstoffen und Omega-3-Fettsäuren die Antioxidanzien Vitamin C und E, Coenzym Q<sub>10</sub>, Carotinoide, Polyphenole, Zink und Selen enthielt. Die Dosierungen lagen zum überwiegenden Teil in einem Bereich, der theoretisch auch über die Ernährung zu realisieren ist. Das Kollektiv bestand aus 137 Personen mit mindestens zwei etablierten Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen, wovon bei Studienende noch 123 Probanden für die Auswertung zur Verfügung standen. Neben den Konzentrationen von Vitamin E, Selen und Zink wurden auch mehrere Parameter des antioxidativen Stoffwechsels erfasst, um mögliche Effekte der Supplementation erfassen zu können. Zusätzlich konnten auch die Genotypen des HDL-assoziierten Enzyms Paraoxonase bestimmt werden, das epidemiologischen Untersuchungen zufolge eine Rolle in Bezug auf das kardiovaskuläre Risiko spielt.

Die Nährstoffgabe führte bei den Nährstoffen Vitamin E, Zink und Selen zu einer signifikanten Verbesserung des Versorgungsstatus. Die absoluten Konzentrationen an Vitamin E erreichten mit Ausnahme von zwei Personen bei allen Teilnehmern der Verumgruppe den als präventiv angesehenen Bereich. Die lipidkorrigierten Werte stiegen in vergleichbarer Weise an, so dass die auf Gesamtcholesterol bezogenen Konzentrationen bei keinem Proband aus der Verumgruppe unter dem errechneten präventiven Wert von 5 µmol/mmol lagen. Die auf Basis von Literaturdaten anzustrebende Vitamin-E-Konzentration bei Korrektur um die Summe aus Gesamtcholesterol und Triglyceriden wurde mit 4,3 µmol/mmol berechnet. Nur ein Proband aus der Verumgruppe lag bei Studienende unter diesem Wert. Die Dosierung von Vitamin E in Höhe von 80 mg/d α-Tocopherol war somit ausreichend, um eine deutliche Verbesserung der Versorgungssituation zu bewirken. Ob das Erreichen der aus Bevölkerungsstudien als präventiv berechneten Konzentrationen jedoch tatsächlich eine Senkung des Risikos chronischer Erkrankungen bewirkt, kann durch die vorliegende Untersuchung nicht beantwortet werden. Dies wäre nur durch eine langfristige Intervention mit Verwendung klinischer Endpunkte möglich.



Ob der signifikante Anstieg der Zinkspiegel zu langfristig positiven Effekten führt, kann auf Basis der aktuellen Datenlage nicht beurteilt werden. Hierzu fehlt ein aussagekräftiger Statusparameter, der eine zuverlässige Aussage über die Versorgung einer Person ermöglicht. Dagegen liegen zum Zusammenhang zwischen dem Selenstatus und dem kardiovaskulären Risiko einige Untersuchungen vor, die Rückschlüsse auf präventive Effekte erlauben. So ist auf Basis epidemiologischer Untersuchungen eine Konzentration von 1,1 µmol/l Selen als präventiv im Hinblick auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen anzusehen. Dieser Wert wurde nach sechsmonatiger Einnahme von 80 µg/d in der Verumgruppe nur von drei Personen nicht erreicht, so dass auch in Bezug auf die Selenversorgung eine signifikante Verbesserung durch die Nährstoffgabe festzustellen ist.

In Bezug auf die verwendeten Marker für den antioxidativen Stoffwechsel waren die Ergebnisse uneinheitlich. So stiegen in der Verumgruppe die TEAC-Werte signifikant an, wohingegen in der Placebogruppe keine Veränderung beobachtet wurde. Ein Effekt war auch für die harnsäurebereinigten FRAP-Werte festzustellen. Zwar erreichte der Anstieg in der Verumgruppe keine Signifikanz, die Veränderungen im Studienverlauf waren jedoch aufgrund eines Rückgangs in der Placebogruppe signifikant unterschiedlich. Keine Wirkung der Nährstoffgabe zeigte sich in Bezug auf absolute oder auf LDL-Konzentrationen bezogene oxLDL-Werte. In beiden Gruppen sanken diese zwischen den Untersuchungszeitpunkten ab, ohne dass sich ein Unterschied in der Differenz zeigte. Auch die Konzentrationen an Malondialdehyd wurden nicht durch die Nährstoffgabe beeinflusst; sie stiegen im Studienverlauf in beiden Gruppen gleichermaßen an. Die Aussagekraft dieser in zahlreichen Studien verwendeten Marker für den antioxidativen Stoffwechsel ist somit in Frage zu stellen. Von allen verwendeten Parametern zeigten lediglich die TEAC-Werte einen signifikanten Anstieg durch die Antioxidanziengabe, so dass dieser Parameter am empfindlichsten auf eine Veränderung der Versorgung zu reagieren scheint. Ob er auch in Bezug auf kardiovaskuläre Endpunkte eine sinnvolle Messung darstellt, müssen langfristige Untersuchungen zeigen.

Die Verteilung der PON1-Genotypen stimmte in dem hier untersuchten Kollektiv mit anderen Bevölkerungsgruppen überein. Auch die beiden gemessenen Aktivitäten der PON1 – Paraoxonase und Arylesterase – wurden in der erwarteten Weise durch den jeweiligen Polymorphismus beeinflusst, nicht jedoch weitere Parameter des antioxidativen Stoffwechsels oder ihre Veränderung im Studienverlauf. Kein Effekt auf die beiden PON1-Aktivitäten zeigte sich durch die Nährstoffgabe. Weder im Vergleich der Gruppen noch in Abhängigkeit vom Genotyp waren Unterschiede feststellbar. Ein Einfluss des jeweiligen PON1-Genotyps auf das kardiovaskuläre Risiko, der in einigen epidemiologischen Untersuchungen gefunden wurde, scheint somit unabhängig vom Antioxidanzienstatus zu sein.

Durch die im Rahmen dieser Untersuchung verabreichte Nährstoffkombination in moderaten Dosierungen konnte eine Verbesserung der Antioxidanzienversorgung erreicht werden. Auch wenn die Erfassung von Veränderungen im antioxidativen Stoffwechsel durch eine mangelhafte Sensitivität der allgemein verwendeten Marker erschwert wird, kann aufgrund des Anstiegs der TEAC-Werte und auf Basis anderer Interventionsstudien ein positiver Effekt der Nährstoffgabe angenommen werden. Inwieweit sich jedoch klinische Endpunkte durch eine derartige Supplementation positiv beeinflussen lassen, kann nur durch langfristige Interventionsstudien unter Einbeziehung klinischer Endpunkte zweifelsfrei belegt werden.

Die sechsmonatige Gabe einer physiologisch dosierten Kombination von Mikronährstoffen führte somit bei Personen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko zu einer Verbesserung des Versorgungsstatus und einer Steigerung der antioxidativen Kapazität. Mögliche protektive Wirkungen durch die Intervention sind plausibel, müssen jedoch durch langfristige Studien bestätigt werden.

Tabelle 62: Zentrale Ergebnisse der Untersuchung in Stichworten

Randomisierte, placebokontrollierte, doppelblinde Interventionsstudie über sechs Monate an 123 Personen mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko
Supplementation mit physiologischen Dosierungen der Antioxidanzien Vitamin C und E, Coenzym Q10, Carotinoide, Polyphenole, Zink und Selen sowie B-Vitaminen, Mineralstoffen und Omega-3-Fettsäuren
Signifikanter Anstieg von absoluten und lipidkorrigierten Vitamin-E-Konzentrationen
Präventive Spiegel an Vitamin E wurden in der Verumgruppe nur von 2 Personen nicht erreicht, bezogen auf Gesamtcholesterol von allen und bezogen auf die Summe aus Gesamtcholesterol und Triglyceriden nur von einem Teilnehmer nicht erreicht
Die Zinkkonzentration im Plasma stieg signifikant an
Die Serumkonzentration von Selen stieg signifikant an und lag nur bei drei Personen der Studiengruppe nach Intervention unter der als präventiv ermittelten Konzentration
Die TEAC-Werte stiegen durch die Nährstoffgabe signifikant an
Um Harnsäure bereinigte FRAP-Werte waren bei Studienende angestiegen; die Veränderung war im Vergleich zur Placebogruppe signifikant unterschiedlich
Kein Effekt der Intervention zeigte sich in Bezug auf die Konzentrationen von oxidiertem LDL
Kein Effekt wurde für die Konzentrationen von Malondialdehyd festgestellt
Der PON1-Genotyp hatte den aus anderen Untersuchungen bekannten Einfluss auf die beiden gemessenen Aktivitäten des Enzyms, Paraoxonase- und Arylesterase-Aktivität
Kein Zusammenhang wurde zwischen PON1-Genotyp und anderen Parametern des antioxidativen Stoffwechsels oder Veränderungen im Studienverlauf beobachtet

## 8 Literatur

- Abdallah SM, Samman S (1993): The effect of increasing dietary zinc on the activity of superoxide dismutase and zinc concentration in erythrocytes of healthy female subjects. *Eur J Clin Nutr* 47: 327–332
- Acheson RM, Williams DR: Does consumption of fruit and vegetables protect against stroke? *Lancet* 1983; 321: 1191–1193
- Actis-Goretta L, Carrasquedo F, Fraga CG (2004): The regular supplementation with an antioxidant mixture decreases oxidative stress in healthy humans. Gender effect. *Clin Chim Acta* 349: 97–103
- Agarwal S, Rao AV (1998): Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids* 33: 981–984
- Agudo A, Cabrera L, Amiano P, Ardanaz E, Barricarte A, Berenguer T, Chirlaque MD, Dorronsoro M, Jakstyn P, Larranaga N, Martinez C, Navarro C, Quiros JR, Sanchez MJ, Tormo MJ, Gonzalez CA (2007): Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in Spanish adults: findings from the Spanish cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Spain). *Am J Clin Nutr* 85: 1634–1642
- Alamdari DH, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, Parizadeh MR, Moohebbati M, Ghafoori F, Kazemi-Bajestani SM, Paletas K, Pegiou T, Koliakos G (2008): Prooxidant-antioxidant balance as a new risk factor in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Clin Biochem* 41: 375–380
- Alfthan G, Aro A, Arvilommi H, Huttunen JK (1991): Selenium metabolism and platelet glutathione peroxidase activity in healthy Finnish men: effects of selenium yeast, selenite, and selenate. *Am J Clin Nutr* 53: 120–125
- Alul RH, Wood M, Longo J, Marcotte AL, Campione AL, Moore MK, Lynch SM (2003): Vitamin C protects low-density lipoprotein from homocysteine-mediated oxidation. *Free Radic Biol Med* 34: 881–891
- Ambrose JA, Barua RS (2004): The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 43: 1731–1737
- Anderson D, Phillips BJ, Yu TW, Edwards AJ, Ayesh R, Butterworth KR (1997): The effect of vitamin C supplementation on biomarkers of oxygen radical generated damage in human volunteers with “low” or “high” cholesterol levels. *Environm Molec Mutagen* 30: 161–174
- Anderson JW, Gowri MS, Turner J, Nichols L, Diwadkar VA, Chow CK, Oeltgen PR (1999): Antioxidant supplementation effects on low-density lipoprotein oxidation for individuals with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr* 18: 451–461
- Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, Mahjoub S, Matheau JM, Kerkeni A (2001): Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr* 20: 212–218
- Arendt BM, Boetzer AM, Lemoch H, Winkler P, Rockstroh JK, Berthold HK, Spengler U, Goerlich R (2001): Plasma antioxidant capacity of HIV-seropositive and healthy subjects during long-term ingestion of fruit juices or a fruit-vegetable-concentrate containing antioxidant polyphenols. *Eur J Clin Nutr* 55: 786–792
- Aro A, Alfthan G, Varo P (1995): Effects of supplementation of fertilizers on human selenium status in Finland. *Analyst* 120: 841–843
- Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Litin L, Willett WC (1992): Correlations of vitamin A and E intakes with the plasma concentrations of carotenoids and tocopherols among American men and women. *J Nutr* 122: 1792–1801

- Asgard R, Rytter E, Basu S, Abramsson-Zetterberg L, Möller L, Vessby B (2007): High intake of fruit and vegetables is related to low oxidative stress and inflammation in a group of patients with type 2 diabetes. *Scand J Food Nutr* 51: 149–158
- Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, Eroglu J, Hsu C, Dunlop C, La Du B (1998c): Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 1617–1624
- Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D, Fuhrman B (2000a): Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr* 71: 1062–1076
- Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, Billecke S, Draganov D, Rosenblat M (2000b): Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation* 101: 2510–2517
- Aviram M, Hussein O, Rosenblat M, Schlezinger S, Hayek T, Keidar S (1998a): Interaction of platelets, macrophages, and lipoproteins in hypercholesterolemia: antiatherogenic effects of HMG-CoA reductase inhibitor therapy. *J Cardiovasc Pharmacol* 31: 39–45
- Aviram M, Rosenblat M (2004): Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Rad Biol Med* 37: 1304–1316
- Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du BN (1999): Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol Med* 26: 892–904
- Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN (1998b): Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. *J Clin Invest* 101: 1581–1590
- Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, Nitecki S, Hoffman A, Dornfeld L, Volkova N, Presser D, Attias J, Liker H, Hayek T (2004): Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clin Nutr* 23: 423–433
- Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN (1999): Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 330–335
- Azen SP, Qian D, Mack WJ, Sevanian A, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, Hodis HN (1996): Effect of supplementary antioxidant vitamin intake on carotid arterial wall intima-media thickness in a controlled clinical trial of cholesterol lowering. *Circulation* 94: 2369–2372
- Bae JH, Bassenge E, Kim KB, Kim YN, Kim KS, Lee HJ, Moon KC, Lee MS, Park KY, Schwemmer M (2001): Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. *Atherosclerosis* 155: 517–523
- Bargota RS, Akhtar M, Biggadike K, Gani D, Allemann RK (2003): Structure-activity relationship on human serum paraoxonase (PON1) using substrate analogues and inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 13: 1623–1626
- Belanger S, Lavoie JC, Chessex P (1997): Influence of bilirubin on the antioxidant capacity of plasma in newborn infants. *Biol Neonate* 71: 233–238
- Benzie IF, Strain JJ (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70–76

- Bialkowska M, Hoser A, Szostak WB, Dybcynski R, Sterlinski S, Nowicka G, Majchrak J, Kaczorowski J, Danko B (1987): Hair zinc and copper concentration in survivors of myocardial infarction. *Ann Nutr Metab* 31: 327–332
- Biesalski HK, Berger MM, Brätter P, Brigelius-Flohe R, Fürst P, Köhrle J, Oster O, Shenkin A, Viell B, Wendel A (1997a): Kenntnisstand Selen – Ergebnisse des Hohenheimer Konsensusmeetings. *Akt Ernähr Med* 22: 224–231
- Biesalski HK, Böhles H, Esterbauer H, Fürst P, Gey F, Hundsdörfer G, Kasper H, Sies H, Weisburger J (1997b): Antioxidant vitamins in prevention. *Clin Nutr* 16: 151–155
- Blatt DH, Pryor WA (2005): High-dosage vitamin E supplementation and all-cause mortality. *Ann Intern Med* 143: 150
- Bloomer RJ (2007): Decreased blood antioxidant capacity and increased lipid peroxidation in young cigarette smokers compared to nonsmokers: Impact of dietary intake. *Nutr J* 6: 39
- Blostein-Fujii A, DiSilvestro RA, Frid D, Katz C, Malarkey W (1997): Short-term zinc supplementation in type II diabetic women: effects on plasma 5'-nucleotidase activities, insulin-like growth factor levels and lipoprotein oxidation rates in vitro. *Am J Clin Nutr* 66: 639–642
- Blot WJ, Li JY, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Wang GQ et al. (1993): Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *J Natl Cancer Inst* 85: 1483–1492
- Blot WJ, Li JY, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Li B (1995): The Linxian trials: mortality rates by vitamin-mineral intervention group. *Am J Clin Nutr* 62: 1424S–1426S
- Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafter U, Iaina A, Knecht A, Weissgarten Y, Brunner D, Fainaru M, Green MS (2000): Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 356: 1213–1218
- Böhm F, Edge R, Land EJ, McGarvey DJ, Truscott TG (1997): Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *J Am Chem Soc* 119: 621–622
- Böhm V, Bitsch R (1999): 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* 38: 118–125
- Böhm V, Puspitasari-Nienaber NL, Ferruzzi MG, Schwartz SJ (2002): Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of alpha-carotene, beta-carotene, lycopene, and zeaxanthin. *J Agric Food Chem* 50: 221–226
- Boileau TWM, Moore AC, Erdman JW (1999): Carotenoids and vitamin A. In: Papas AM. *Antioxidant status, diet, nutrition and health*. CRC Press, Boca Raton: 133–158
- Bor MV, Cevik C, Uslu I, Güneral F, Düzgün E (1999): Selenium levels and glutathione peroxidase activities in patients with acute myocardial infarction. *Acta Cardiol* 54: 271–276
- Borawska MH, Witkowska AM, Hukalowicz K, Markiewicz R (2004): Influence of dietary habits on serum selenium concentration. *Ann Nutr Metab* 48: 134–140
- Bose KSC, Agrawal BK (2007): Effect of lycopene from cooked tomatoes on serum antioxidant enzymes, lipid peroxidation rate and lipid profile in coronary heart disease. *Singapore Med J* 48: 415–420
- Boukaiba N, Flament C, Acher S, Chappuis P, Piau A, Fusselier M, Dardenne M, Lemonnier D (1993): A physiological amount of zinc supplementation: effects on nutritional, lipid, and thymic status in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 57: 566–572

- Bowry VW, Mohr D, Cleary J, Stocker R (1995): Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein. *J Biol Chem* 270: 5756–5763
- Brady WE, Mares-Perlman JA, Bowen P, Stacewicz-Sapuntzakis M (1996): Human serum carotenoid concentrations are related to physiologic and lifestyle factors. *J Nutr* 126: 129–137
- Breimer LH, Wannamethee G, Ebrahim S, Shaper AG (1995): Serum bilirubin and risk of ischemic heart disease in middle-aged British men. *Clin Chem* 41: 1504–1508
- Brigelius-Flohé R (2002): Arteriosklerose. In: Biesalski HK, Köhrle J, Schümann K: Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe. Prävention und Therapie mit Mikronährstoffen. Thieme-Verlag, Stuttgart: 437-449
- Briviba K, Schnäbele K, Rechkemmer G, Bub A (2004): Supplementation of a diet low in carotenoids with tomato or carrot juice does not affect lipid peroxidation in plasma and feces of healthy men. *J Nutr* 134: 1081–1083
- Broome CS, McArdle F, Kyle JAM, Andrews F, Lowe NM, Hart CA, Arthur JR, Jackson MJ (2004): An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. *Am J Clin Nutr* 80: 154–162
- Brown BG, Zhao XQ, Chait A, Fisher LD, Cheung MC, Morse JS, Dowdy AA, Marino EK, Bolson EL, Alaupovic P, Frohlich J, Albers JJ (2001): Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med* 345: 1583–1592
- Brown KM, Arthur JR (2001): Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr* 4: 593–599
- Brown MS, Goldstein JL (1983): Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 52: 223–261
- Bruno RS, Leonard SW, Atkinson J, Montine TJ, Ramakrishan R, Bray TM, Traber MG (2006): Faster plasma vitamin E disappearance in smokers is normalized by vitamin C supplementation. *Free Radic Biol Med* 40: 689–697
- Bruno RS, Ramakrishan R, Montine TJ, Bray TM, Traber MG (2005):  $\alpha$ -Tocopherol disappearance is faster in cigarette smokers and is inversely related to their ascorbic acid status. *Am J Clin Nutr* 81: 95–103
- Bub A, Barth S, Watzl B, Briviba K, Herbert BM, Lührmann PM, Neuhäuser-Berthold M, Rechkemmer G (2002): Paraoxonase 1 Q192R (PON1-192) polymorphism is associated with reduced lipid peroxidation in R-allele-carrier but not in QQ homozygous elderly subjects on a tomato-rich diet. *Eur J Nutr* 41: 237–243
- Bub A, Barth S, Watzl B, Briviba K, Rechkemmer G (2005): Paraoxonase 1 Q192R (PON1-192) polymorphism is associated with reduced lipid peroxidation in healthy young men on a low-carotenoid diet supplemented with tomato juice. *Br J Nutr* 93: 291–297
- Bub A, Watzl B, Abrahamse L, Delincee H, Adam S, Wever J, Müller H, Rechkemmer G (2000): Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. *J Nutr* 130: 2200–2206
- Bub A, Watzl B, Blockhaus M, Briviba K, Liegibel U, Müller H, Pool-Zobel BL, Rechkemmer G (2003): Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *J Nutr Biochem* 14: 90–98
- Burton GW, Traber MG (1990): Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Ann Rev Nutr* 10: 357–382
- Campbell S, Stone WL (2005): High-dosage vitamin E supplementation and all-cause mortality. *Ann Intern Med* 143: 151

- Candan F, Gultekin F, Dandau F (2002): Effect of vitamin C and zinc on osmotic fragility and lipid peroxidation in zinc deficient hemodialysis patients. *Cell Biochem Funct* 20: 95–98
- Cao G, Russell RM, Lischner N, Prior RL (1998): Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *J Nutr* 128: 2383–2390
- Cao Y, Reddy C, Sordillo L (2000): Altered eicosanoid biosynthesis in selenium-deficient endothelial cells. *Free Rad Biol Med* 28: 381–389
- Carpenter KL, Kirkpatrick PJ, Weissberg PL, Challis IR, Dennis IF, Freeman MA, Mitchinson MJ (2003): Oral alpha-tocopherol supplementation inhibits lipid oxidation in established human atherosclerotic lesions. *Free Rad Res* 37: 1235–1244
- Carr AC, McCall MR, Frei B (2000a): Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 1716–1723
- Carr AC, Tijerina T, Frei B (2000b): Vitamin C protects against and reverses specific hypochlorous acid- and chloramine-dependent modifications of low-density lipoprotein. *Biochem J* 346: 491–499
- Carroll MF, Schade DS (2003): Timing of antioxidant vitamin ingestion alters postprandial proatherogenic serum markers. *Circulation* 108: 24–31
- Castignani GL, Bieri JG (1983): Simultaneous determination of retinol and  $\alpha$ -tocopherol in serum or plasma by liquid chromatography. *Clin Chem* 29: 708–712
- Castro IA, Moraes Barros SB, Lanfer Marquez UM, Motizuki M, Higashi Sawada TC (2005): Optimization of the antioxidant capacity of a mixture of carotenoids and  $\alpha$ -tocopherol in the development of a nutritional supplement. *Food Res Intern* 38: 861–866
- Cerda B, Soto C, Albaladejo MD, Martinez P, Sanchez-Gascon F, Tomas-Barberan F, Espin JC (2006): Pomegranate juice supplementation in chronic obstructive pulmonary disease: a 5-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 60: 245–253
- Ceriello A, Bortolotti N, Crescentini A, Motz E, Lizzio S, Russo A, Ezsol Z, Tonutti L, Taboga C (1998): Antioxidant defences are reduced during the oral glucose tolerance test in normal and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Eur J Clin Invest* 28: 329–333
- Chen H, Karne RJ, Hall G, Campia U, Panza JA, Cannon RO III, Wang Y, Katz A, Levine M, Quon MJ (2006): High-dose oral vitamin C partially replenishes vitamin C levels in patients with type 2 diabetes and low vitamin C levels but does not improve endothelial dysfunction or insulin resistance. *Am J Physiol* 290: H137–H145
- Chen Q, Reis SE, Kammerer CM, McNamara DM, Holubkov R, Sharaf BL, Sopko G, Pauly DF, Merz CNB, Kamboh MI (2003): Association between the severity of angiographic coronary artery disease and paraoxonase gene polymorphisms in the National Heart, Lung, and Blood Institute-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study. *Am J Hum Genet* 72: 13–22
- Choi SW, Benzie IF, Collins AR, Hannigan BM, Strain JJ (2004): Vitamins C and E: acute interactive effects on biomarkers of antioxidant defence and oxidative stress. *Mutat Res* 551: 109–117
- Chopra M, Fitzsimons PE, Strain JJ, Thurnham DI, Howard AN (2000a): Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations. *Clin Chem* 46: 1162–1170

- Clark LC, Combs GF Jr., Turnbull BW, Slate EH, Chalker DK, Chow J, Davis LS, Glover RA, Graham GF, Gross EG, Krongrad A, Leshner JL Jr., Park HK, Sanders BB Jr., Smith CL, Taylor JR (1996): Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA* 276: 1957–1963
- Clemons TE, Kurinij N, Sperduto RD; AREDS Research Group (2004): Associations of mortality with ocular disorders and an intervention of high-dose antioxidants and zinc in the Age-Related Eye Disease Study: AREDS Report No. 13. *Arch Ophthalmol* 122: 716–726
- Collins JK, Arjmandi BH, Claypool PL, Perkins-Veazie P, Baker RA, Clevidence BA (2004): Lycopene from two food sources does not affect antioxidant or cholesterol status of middle-aged adults. *Nutr J* 3: 15
- Combs GF Jr., Clark LC, Turnbull BW (2001): An analysis of cancer prevention by selenium. *Biofactors* 14: 153–159
- Cook NR, Albert CM, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E, Buring JE, Manson JE (2007): A randomized factorial trial of vitamins C and E and beta carotene in the secondary prevention of cardiovascular events in women: results from the Women's Antioxidant Cardiovascular Study. *Arch Intern Med* 167: 1610–1618
- Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CE (1996): The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat Genet* 14: 334–336
- Davies MJ, Judd JT, Baer DJ, Clevidence BA, Paul DR, Edwards AJ, Wiseman SA, Muesing RA, Chen SC (2003): Black tea consumption reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolemic adults. *J Nutr* 133: 3298S–3302S
- de Gaetano G (2001): Low-dose aspirin and vitamin E in people at cardiovascular risk: a randomised trial in general practice. Collaborative Group of the Primary Prevention Project. *Lancet* 357: 89–95
- de Haan JB, Bladier C, Griffiths P, Kelner M, O'Shea RD, Cheung NS, Bronson RT, Silvestro MJ, Wild S, Zheng SS, Beart PM, Hertzog PJ, Kola I (1998): Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 273: 22528–22536
- DeMaio SJ, King SB 3rd, Lembo NJ, Roubin GS, Hearn JA, Bhagavan HN, Sgoutas DS (1992): Vitamin E supplementation, plasma lipids and incidence of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA). *J Am Coll Nutr* 11: 68–73
- Demrow HS, Slane PR, Folts JD (1995): Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 91: 1182–1188
- Desideri G, Marinucci MC, Tomassoni G, Masci PG, Santucci A, Ferri C (2002): Vitamin E supplementation reduces plasma vascular cell adhesion molecule-1 and von Willebrand Factor levels and increases nitric oxide concentrations in hypercholesterolemic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2940–2945
- DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.), Österreichische Gesellschaft für Ernährung (ÖGE), Schweizerische Gesellschaft für Ernährung (SGE), Schweizerische Vereinigung für Ernährung (SVE) (2000): Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Umschau/Braus, Frankfurt a. M.
- DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.) (Hrsg.): Ernährungsbericht 2004. Umschau/Braus, Frankfurt a. M.



- De Waart FG, Schouten EG, Stalenhoef AFH, Kok FJ (2001): Serum carotenoids,  $\alpha$ -tocopherol and mortality risk in a prospective study among Dutch elderly. *Int J Epidemiol* 30: 136–143
- Di Mascio P, Kaiser S, Sies H (1989): Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* 274: 532–538
- DiSilvestro RA, Blostein-Fujii A (1997): Moderate zinc deficiency in rats enhances lipoprotein oxidation in vitro. *Free Radic Biol Med* 22: 739–742
- Dixon ZR, Shie FS, Warden BA, Burri BJ, Neidlinger TR (1998): The effect of a low carotenoid diet on malondialdehyde-thiobarbituric acid (MDA-TBA) concentrations in women: a placebo-controlled double-blind study. *J Am Coll Nutr* 17: 54–58
- Dragsted LO, Pedersen A, Hermetter A, Basu S, Hansen M, Haren GR, Kall M, Breinholt V, Castenmiller JJM, Stagsted J, Jakobsen J, Skibsted L, Rasmussen SE, Loft S, Sandström B (2004): The 6-a-day study: effects of fruit and vegetables on markers of oxidative stress and antioxidative defence in healthy nonsmokers. *Am J Clin Nutr* 79: 1060–1072
- Drewnowski A, Rock CL, Henderson SA, Shore AB, Fischler C, Galan P, Preziosi P, Hercberg S (1997): 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* 65: 1796–1802
- Drobner C, Anke M, Thomas G (1996): Selenversorgung und Selenbilanz Erwachsener in Deutschland. In: Anke M (Hrsg.): Mengen- und Spurenelemente, 16. Arbeitstagung. Schubert-Verlag, Leipzig: 627–634
- Dudnik LB, Khrapova NG (1998): Characterization of bilirubin inhibitory properties in free radical oxidation reactions. *Membr Cell Biol* 12: 233–240
- Duffield AJ, Thomson CD, Hill KE, Williams S (1999): An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am J Clin Nutr* 70: 896–903
- Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs GF Jr., Slate EH, Fischbach LA, Marshall JR, Clark LC (2002): Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11: 630–639
- Dugas TR, Morel DW, Harrison EH (1998): Impact of LDL carotenoid and  $\alpha$ -tocopherol content on LDL oxidation by endothelial cells in culture. *J Lipid Res* 39: 999–1007
- Duthie SJ, Jenkinson AM, Crozier A, Mullen W, Pirie L, Kyle J, Yap LS, Christen P, Duthie GG (2006): The effect of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy volunteers. *Eur J Nutr* 45: 113–122
- Dutta-Roy AK, Crosbie L, Gordon MJ (2001): Effects of tomato extract on human platelet aggregation in vitro. *Platelets* 12: 218–227
- Earnest C, Cooper KH, Marks A, Mitchell TL (2002): Efficacy of a complex multivitamin supplement. *Nutrition* 18: 738–742
- Earnest CP, Wood KA, Church TS (2003): Complex multivitamin supplementation improves homocysteine and resistance to LDL-oxidation. *J Am Coll Nutr* 22: 400–407
- Eggens I, Aberg F, Edlund D, Guan Z, Wang Y (1996): Lipid levels with special reference to the Q10 concentration in human arteriosclerotic vessels. In: Littarru GP, Folkers K (eds.): 9th International Symposium on Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q. Ancona
- Egger M, Schneider M, Smith GD (1998): Spurious precision? Meta-analysis of observational studies. *BMJ* 316: 140–144

- Ehara S, Ueda M, Naruko T, Haze K, Itoh A, Otsuka M, Komatsu R, Matsuo T, Itabe H, Takano T, Tsukamoto Y, Yoshiyama M, Takeuchi K, Yoshikawa J, Becker AE (2001): Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation* 103: 1955–1960
- Eidelman RS, Hollar D, Hebert PR, Lamas GA, Hennekens CH (2004): Randomized trials of vitamin E in the treatment and prevention of cardiovascular disease. *Arch Intern Med* 164: 1552–1556
- EI-Bayoumy K, Richie JP Jr., Boyiri T, Komninou D, Prokopczyk B, Trushin N, Kleinman W, Cox J, Pittman B, Colosimo S (2002): Influence of selenium-enriched yeast supplementation on biomarkers of oxidative damage and hormone status in healthy adult males: a clinical pilot study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11: 1459–1465
- Elmadfa I, Rust P, Majchrzak D, Wagner KH, Genser D, Lettner R, Pinter M (2004): Effects of beta-carotene supplementation on free radical mechanism in healthy adult subjects. *Int J Vitam Nutr Res* 74: 147–152
- Enstrom JE, Kanim LE, Klein MA (1992): Vitamin C intake and mortality among a sample of the United States population. *Epidemiology* 3: 194–202
- Esterbauer H, Puhl H, Dieber-Rotheneder M, Waeg G, Rabl H (1991): Effects of antioxidants on oxidative modification of LDL. *Ann Med* 23: 573–581
- Facchini FS, Humphreys MH, DoNascimento CA, Abbasi F, Reaven GM (2000): Relation between insulin resistance and plasma concentrations of lipid hydroperoxides, carotenoids, and tocopherols. *Am J Clin Nutr* 72: 776–779
- Falkiewicz B, Dabrowska E, Lukasiak J, Cajzer D, Jablonska-Kaszewska I (2000): Zinc deficiency and normal contents of magnesium and calcium in metabolic X syndrome patients as assessed by the analysis of hair element concentrations. *Biofactors* 11: 139–141
- Fang JC, Kinlay S, Beltrame J, Hikiti H, Wainstein M, Behrendt D, Suh J, Frei B, Mudge GH, Selwyn AP, Ganz P (2002): Effect of vitamins C and E on progression of transplant-associated arteriosclerosis: a randomized trial. *Lancet* 359: 1108–1113
- Ford ES, Giles WH (2000): Serum vitamins, carotenoids, and angina pectoris: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Ann Epidemiol* 10: 106–116
- Ford ES, Sowell A (1999): Serum alpha-tocopherol status in the United States population: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 150: 290–300
- Forman MR, Lanza E, Young LC, Holden JM, Graubard BI, Beecher GR, Meltz M, Brown ED, Smith JC (1993): The correlation between two dietary assessments of carotenoid intake and plasma carotenoid concentrations: application of a carotenoid food-composition database. *Am J Clin Nutr* 58: 519–524
- Fortes C, Agabiti N, Fano V, Pacifici R, Forastiere F, Virgili F, Zuccaro F, Perruci CA, Ebrahim S (1997): Zinc supplementation and plasma lipid peroxides in an elderly population. *Eur J Clin Nutr* 51: 97–101
- Fortunato G, Rubba P, Panico S, Trono D, Tinto N, Mazzaccara C, De Michele M, Iannuzzi A, Vitale DF, Salvatore F, Sacchetti L (2003): A paraoxonase gene polymorphism, PON 1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women. *Atherosclerosis* 167: 141–148
- Fraser GE (1994): Diet and coronary heart disease: beyond dietary fats and low-density-lipoprotein cholesterol. *Am J Clin Nutr* 59: 1117S–1123S
- Frei B (1999): On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Proc Soc Exp Biol Med* 222: 196–204

- Fu Y, Cheng WH, Ross DA, Lei X (1999): Cellular glutathione peroxidase protects mice against lethal oxidative stress induced by various doses of diquat. *Proc Soc Exp Biol Med* 222: 164–169
- Fuhrman B, Aviram M (2002): Preservation of paraoxonase activity by wine flavonoids. *Ann N Y Acad Sci* 957: 321–324
- Fuhrman B, Elis A, Aviram M (1997): Hypocholesterolemic effect of lycopene and  $\beta$ -carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 233: 658–662
- Fuhrmann B, Volkova N, Rosenblat M, Aviram M (2000): Lycopene synergistically inhibits LDL oxidation in combination with vitamin E, glabridin, rosmarinic acid, carnosic acid, or garlic. *Antioxidants Redox Signal* 2: 491–506
- Fuller CJ, Grundy SM, Norkus EP, Jialal I (1996): Effect of ascorbate supplementation on low density lipoprotein oxidation in smokers. *Atherosclerosis* 119: 139–150
- Fuller CJ, May MA, Martin KJ (2000): The effect of vitamin E and vitamin C supplementation on LDL oxidizability and neutrophil respiratory burst in young smokers. *J Am Coll Nutr* 19: 361–369
- Galan P, Briançon S, Favier A, Bertrais S, Preziosi P, Faure H, Arnaud J, Arnault N, Czernichow S, Mennen L, Hercberg S (2005a): Antioxidant status and risk of cancer in the SU.VI.MAX study: is the effect of supplementation dependent on baseline levels? *Br J Nutr* 94: 125–132
- Galan P, Preziosi P, Monget AL, Richard MJ, Arnaud J, Lesourd B, Girodon F, Alferez MJ, Bourgeois C, Keller H, Favier A, Hercberg S (1997): Effects of trace element and/or vitamin supplementation on vitamin and mineral status, free radical metabolism and immunological markers in elderly long term-hospitalized subjects. *Geriatric Network MIN.VIT.AOX. Int J Vitam Nutr Res* 67: 450–460
- Galan P, Viteri FE, Bertrais S, Czernichow S, Faure H, Arnaud J, Ruffieux D, Chenal S, Arnault N, Favier A, Roussel AM, Hercberg S (2005b): Serum concentrations of beta-carotene, vitamins C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population. *Eur J Clin Nutr* 59: 1181–1190
- Gale LR, Martyn CN, Winter PD, Cooper C (1995): Vitamin C and risk of death from stroke and coronary heart disease in a cohort of elderly people. *Br J Med* 310: 1563–1566
- Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN (1991): Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 19: 100–106
- Gärtner C, Stahl W, Sies H (1997): Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *Am J Clin Nutr* 66: 116–122
- Gatto LM, Hallen GK, Brown AJ, Samman S (1996): Ascorbic acid induces a favorable lipoprotein profile in women. *J Am Coll Nutr* 15: 154–158
- Gatto LM, Samman S (1995): The effect of zinc supplementation on plasma lipids and low-density lipoprotein oxidation in males. *Free Rad Biol Med* 19: 517–521
- Gaziano JM, Hatta A, Flynn M, Johnson EJ, Krinsky NI, Ridker PM, Hennekens CH, Frei B (1995a): Supplementation with beta-carotene in vivo and in vitro does not inhibit low density lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 112: 187–195
- Gaziano JM, Manson JE, Branch LG, Colditz GA, Willett WC, Buring JE (1995b): A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Ann Epidemiol* 5: 255–260

- Genkinger JM, Platz EA, Hoffmann SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ (2004): Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington county, Maryland. *Am J Epidemiol* 160: 1223–1233
- Gerhard GT, Duell PB (1999): Homocysteine and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 10: 417–428
- Gey KF (1998): Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. *Biofactors* 7: 113–174
- Gey KF, Puska P, Jordan P, Moser UK (1991): Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am J Clin Nutr* 53: 326S–334S
- Gey KF, Stähelin HB, Eichholzer M (1993): Poor plasma status of carotene and vitamin C is associated with higher mortality from ischemic heart disease and stroke: Basel Prospective Study. *Clin Investig* 71: 3–6
- Gey KF, Stähelin HB, Puska P, Evans A (1987): Relationship of plasma level of vitamin C to mortality from ischemic heart disease. *Ann N Y Acad Sci* 498: 110–123
- Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, Scaccini C (1998): Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *J Agric Food Chem* 46: 361–367
- Gianetti J, Pedrinelli R, Petrucci R, Lazzerini G, De Caterina M, Bellomo G, De Caterina R (2002): Inverse association between carotid intima-media thickness and the antioxidant lycopene in atherosclerosis. *Am Heart J* 143: 467–474
- Gilligan DM, Sack MN, Guetta V, Casino PR, Quyyumi AA, Rader DJ, Panza JA, Cannon RO 3rd (1994): Effect of antioxidant vitamins on low density lipoprotein oxidation and impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 24: 1611–1617
- Gillman MW, Cupples LA, Gagnon D, Posner BM, Ellison RC, Castelli WP, Wolf PA (1995): Protective effect of fruits and vegetables on development of stroke in men. *JAMA* 273: 1113–1117
- Giovannucci E (2002): A review of epidemiologic studies of tomatoes, lycopene, and prostate cancer. *Exp Biol Med (Maywood)* 227: 852–859
- Girodon F, Blache D, Monget AL, Lombart M, Brunet-Lecompte P, Arnaud J, Richard MJ, Galan P (1997): Effect of a two-year supplementation with low doses of antioxidant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters. *J Am Coll Nutr* 16: 357–365
- Girodon F, Galan P, Monget AL, Boutron-Ruault MC, Brunet-Lecompte P, Preziosi P, Arnaud J, Manuguerra JC, Hercberg S, MIN.VIT.AOX. Geriatric Network (1999): Impact of trace elements and vitamin supplementation on immunity and infections in institutionalized elderly patients. *Arch Intern Med* 159: 748–754
- GISSI-Prevenzione Investigators (1999): Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet* 354: 447–455
- Glass CK, Witztum JL (2001): Atherosclerosis. The road ahead. *Cell* 104: 503–516
- Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Meyskens FL Jr., Omenn GS, Valanis B, Williams JH Jr. (2004): The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial: Incidence of lung cancer and cardiovascular disease mortality during 6-year follow-up after stopping  $\beta$ -carotene and retinol supplements. *J Natl Cancer Inst* 96: 1743–1750

- Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, Jacobs DR Jr., Bangdiwala S, Tyroler HA (1989): High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease: four prospective American studies. *Circulation* 79: 8–15
- Greenberg ER, Baron JA, Karagas MR, Stukel TA, Nierenberg DW, Stevens MM, Mandel JS, Haile RW (1996): Mortality associated with low plasma concentrations of beta carotene and the effect of oral supplementation. *JAMA* 275: 699–703
- Greiling H, Gressner AM (1995): Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. Schattauer-Verlag, Stuttgart
- Gritschneider K, Herbert B, Lührmann P, Neuhäuser-Berthold M (1998): Versorgungszustand von Teilnehmern der Gießener Seniorenlangzeitstudie (GISELA) mit antioxidativ wirksamen Vitaminen und Selen. *Z Gerontol Geriat* 31: 448–453
- Gross M, Yu X, Hannan P, Prouty C, Jacobs DR Jr. (2003): Lipid standardization of serum fat-soluble antioxidant concentrations: the YALTA study. *Am J Clin Nutr* 77: 458–466
- Grundey SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr., Spertus JA, Costa FC (2005): Diagnosis and management of the metabolic syndrome – An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation* 112: 2735–2752
- Gur M, Aslan M, Yildiz A, Demirbag R, Yilmaz R, Selek S, Erel O, Ozdogru I (2006): Paraoxonase and arylesterase activities in coronary artery disease. *Eur J Clin Invest* 36: 779–787
- Habdous M, Herbeth B, Vincent-Viry M, Lamont JV, Fitzgerald PS, Visvikis S, Siest G (2003): Serum total antioxidant status, erythrocyte superoxide dismutase and whole-blood glutathione peroxidase activities in the Stanislas cohort: Influencing factors and reference intervals. *Clin Chem Lab Med* 41: 209–215
- Hadley CW, Clinton SK, Schwartz SJ (2003): The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage. *J Nutr* 133: 727–732
- Hagfors L, Leanderson P, Sköldstam L, Andersson J, Johansson G (2003): Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. *Nutr J* 2: 5
- Hahn A, Ströhle A, Wolters M (2006): Ernährung. Physiologische Grundlagen, Prävention, Therapie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
- Haidari M, Javadi E, Kadkhodae M, Sanati A (2001): Enhanced susceptibility to oxidation and diminished vitamin E content of LDL from patients with stable coronary artery disease. *Clin Chem* 47: 1234–1240
- Hak AE, Ma J, Powell CB, Campos H, Gaziano JM, Willett WC, Stampfer MJ (2004): Prospective study of plasma carotenoids and tocopherols in relation to risk of ischemic stroke. *Stroke* 35: 1584–1588
- Hak AE, Stampfer MJ, Campos H, Sesso HD, Gaziano M, Willett W, Ma J (2003): Plasma carotenoids and tocopherols and risk of myocardial infarction in a low-risk population of US male physicians. *Circulation* 108: 802–807
- Hallfrisch J, Muller DC, Singh VN (1994a): Vitamin A and E intakes and plasma concentrations of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol in men and women of the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Am J Clin Nutr* 60: 176–182
- Hallfrisch J, Singh VN, Muller DC, Baldwin H, Bannon ME, Andres R (1994b): High plasma vitamin C associated with high plasma HDL- and HDL2 cholesterol. *Am J Clin Nutr* 60: 100–105

- Halliwell B (1994): Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 344: 721–724
- Hambidge M (2003): Biomarkers of trace mineral intake and status. *J Nutr* 133: 948S–955S
- Harats D, Chevion S, Nahir M, Norman Y, Sagee O, Berry EM (1998): Citrus fruit supplementation reduces lipoprotein oxidation in young men ingesting a diet high in saturated fat: presumptive evidence for an interaction between vitamins C and E in vivo. *Am J Clin Nutr* 67: 240–245
- Harris JE (1990): Hepatic glutathione, metallothionein and zinc in the rat on gestational day 19 during chronic ethanol administration. *J Nutr* 120: 1080–1086
- Harriss LR, English DR, Powles J, Giles GG, Tonkin AM, Hodge AM, Brazionis L, O’Dea K (2007): Dietary patterns and cardiovascular mortality in the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Am J Clin Nutr* 86: 221–229
- He FJ, Nowson CA, Lucas M, MacGregor GA (2007): Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *J Hum Hypertens* 21: 717–728
- He K, Rimm EB, Merchant A, Rosner BA, Stampfer MJ, Willett WC, Ascherio A (2002): Fish consumption and risk of stroke in men. *JAMA* 288: 3130–3136
- He K, Song Y, Daviglius ML, Liu K, Van Horn L, Dyer AR, Greenland P (2004): Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality. *Circulation* 109: 2705–2711
- Heart Protection Study Collaborative Group (2002): MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 360: 23–33
- Heinecke JW (1998): Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis* 141: 1–15
- Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, Belanger C, LaMotte F, Gaziano JM, Ridker PM, Willett W, Peto R (1996): Lack of effect of long-term supplementation with beta-carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 334: 1145–1149
- Herbert KE, Fletcher S, Chauhan D, Ladapo A, Nirwan J, Munson S, Mistry P (2006): Dietary supplementation with different vitamin C doses: no effect on oxidative DNA damage in healthy people. *Eur J Nutr* 45: 97–104
- Hercberg S, Bertrais S, Czernichow S, Noisette N, Galan P, Jaouen A, Tichet J, Briançon S, Favier A, Mennen L, Roussel AM (2005): Alterations of the lipid profile after 7.5 years of low-dose antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX Study. *Lipids* 40: 335–342
- Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, Roussel AM, Favier A, Briançon S (2004): The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 164: 2335–2342
- Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D (1993): Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342: 1007–1011
- Hertog MGL, Feskens EJM, Kromhout D (1997a): Antioxidant flavonols and coronary heart disease risk. *Lancet* 349: 699
- Hertog MGL, Sweetnam PM, Fehily AM, Elwood PC, Kromhout D (1997b): Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly Study. *Am J Clin Nutr* 65: 1489–1494

- Heseker H, Kohlmeier M, Schneider R (1993): Lipid-Adjustierung von  $\alpha$ -Tocopherolkonzentrationen im Plasma. *Z Ernährungswiss* 32: 219–228
- Hininger I, Chopra M, Thurnham DI, Laporte F, Richard MJ, Favier A, Roussel AM (1997): Effect of increased fruit and vegetable intake on the susceptibility of lipoprotein to oxidation in smokers. *Eur J Clin Nutr* 51: 601–606
- Hininger IA, Meyer-Wenger A, Moser U, Wright A, Southon S, Thurnham D, Chopra M, Van den Berg H, Olmedilla B, Favier AE, Roussel AM (2001): No significant effects of lutein, lycopene or  $\beta$ -carotene supplementation on biological markers of oxidative stress and LDL oxidizability in healthy adult subjects. *J Am Coll Nutr* 20: 232–238
- Hodgson JM, Devine A, Puddey IB, Chan SY, Beilin LJ, Prince RL (2003): Tea intake is inversely related to blood pressure in older women. *J Nutr* 133: 2883–2886
- Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Mahrer PR, Sevanian A, Liu CR, Liu CH, Hwang J, Selzer RH, Azen SP; VEAPS Research Group (2002): Alpha-tocopherol supplementation in healthy individuals reduces low-density lipoprotein oxidation but not atherosclerosis: the Vitamin E Atherosclerosis Prevention Study (VEAPS). *Circulation* 106: 1453–1459
- Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, Collen D, Muls E, Van de Werf F (2001): Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 844–848
- Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D (1998): Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation* 98: 1487–1494
- Howard G, Wagenknecht LE, Burke GL, Diez-Roux A, Evans GW, McGovern P, Nieto J, Tell GS (1998): Cigarette smoking and progression of atherosclerosis. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *JAMA* 279: 119–124
- Hu FB, Bronner L, Willett WC, Stampfer MJ, Rexrode KM, Albert CM, Hunter D, Manson JE (2002): Fish and Omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA* 287: 1815–1821
- Hu FB, Willett WC (2002): Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA* 288: 2569–2578
- Huang D, Ou B, Prior R (2005): The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 53: 1841–1856
- Huang HY, Appel LJ, Croft KD, Miller ER 3rd, Mori TA, Puddey IB (2002): Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: results of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 76: 549–555
- Huang HY, Caballero B, Chang S, Alberg AJ, Semba RD, Schneyer CR, Wilson RF, Cheng TY, Vassy J, Prokopowicz G, Barnes GJ 2nd, Bass EB (2006): The efficacy and safety of multivitamin and mineral supplement use to prevent cancer and chronic disease in adults: a systematic review for a National Institutes of Health state-of-the-science conference. *Ann Intern Med* 145: 372–385
- Huerta J, Gonzalez S, Fernandez S, Patterson AM, Lasheras C (2006): Lipid peroxidation, antioxidant status and survival in institutionalised elderly: A five-year longitudinal study. *Free Rad Res* 40: 571–578
- Hughes S, Samman S (2006): The effect of zinc supplementation in humans on plasma lipids, antioxidant status and thrombogenesis. *J Am Coll Nutr* 25: 285–291
- Hulthe J, Fagerberg B (2002): Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22: 1162–1167

- Hung HC, Joshipura KJ, Jiang R, Hu FB, Hunter D, Smith-Warner SA, Colditz GA, Rosner B, Spiegelman D, Willett WC (2004): Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *J Natl Cancer Inst* 96: 1577–1584
- Imai Y, Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Kato N, Ebihara A, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, Oh-hashii Y, Yazaki Y (2000): Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis* 149: 435–442
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board (2000): Dietary reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. National Academy Press, Washington D.C.
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board (2002): Dietary reference intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press, Washington D.C.
- Iribarren C, Folsom AR, Jacobs DR Jr., Gross MD, Belcher JD, Eckfeldt JH (1997): Association of serum vitamin levels, LDL susceptibility to oxidation, and autoantibodies against MDA-LDL with carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17: 1171–1177
- Iskra M, Patelski J, Majewski W (1993): Concentrations of calcium, magnesium, zinc and copper in relation to free fatty acids and cholesterol in serum of atherosclerotic men. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 7: 185–188
- Iskra M, Patelski J, Majewski W (1997): Relationship of calcium, magnesium, zinc and copper concentrations in the arterial wall and serum in atherosclerosis obliterans and aneurysm. *J Trace Elem Med Biol* 11: 248–252
- Islam KN, O'Byrne D, Devaraj S, Palmer B, Grundy SM, Jialal I (2000): Alpha-tocopherol supplementation decreases the oxidative susceptibility of LDL in renal failure patients on dialysis therapy. *Atherosclerosis* 150: 217–224
- James RW, Leviev I, Righetti A (2000): Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 101: 2252–2257
- Jarvik GP, Rozek LS, Brophy VH, Hatsukami TS, Richter RJ, Schellenberg GD, Furlong CE (2000): Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is PON1<sub>192</sub> or PON1<sub>55</sub> Genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 2441–2447
- Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, Schellenberg GD, Heagerty PJ, Hatsukami TS, Furlong CE (2002): Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22: 1329–1333
- Jeanes YM, Hall WL, Lodge JK (2005): Comparative <sup>2</sup>H-labelled  $\alpha$ -tocopherol biokinetics in plasma, lipoproteins, erythrocytes, platelets and lymphocytes in normolipidaemic males. *Br J Nutr* 94: 92–99
- Jialal I, Devaraj S (2005): High-dosage vitamin E supplementation and all-cause mortality. *Ann Intern Med* 143: 155
- Jialal I, Fuller CJ, Huet BA (1995): The effect of  $\alpha$ -tocopherol supplementation on LDL oxidation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15: 190–198
- Jialal I, Grundy SM (1991): Preservation of the endogenous antioxidants in low density lipoprotein by ascorbate but not probucol during oxidative modification. *J Clin Invest* 87: 597–601
- Jialal I, Grundy SM (1993): Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation* 88: 2780–2786



- Joshiyura KJ, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, Colditz G, Ascherio A, Rosner B, Spiegelman D, Willett WC (2001): The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 134: 1106–1114
- Kaikkonen J, Nyyssönen K, Tomasi A, Iannone A, Tuomainen TP, Porkkala-Sarataho E, Salonen JT (2000): Antioxidative efficacy of parallel and combined supplementation with coenzyme Q10 and d-alpha-tocopherol in mildly hypercholesterolemic subjects: a randomized placebo-controlled clinical study. *Free Radic Res* 33: 329–340
- Kardinaal AFM, Kok FJ, Kohlmeier L, Martin-Moreno JM, Ringstad J, Gomez-Aracena J, Mazaev VP, Thamm M, Martin BC, Aro A, Kark JD, Delgado-Rodriguez M, Riemersma RA, van't Veer P, Huttunen JK (1997): Association between toenail selenium and risk of acute myocardial infarction in European men. *Am J Epidemiol* 145: 373–379
- Keli MD, Sirving O, Hertog MGL, Feskens EJM, Kromhout D (1996): Dietary flavonoids, antioxidant vitamins and incidence of stroke. *Arch Intern Med* 156: 637–642
- Khaw KT, Bingham S, Welch A, Luben R, Wareham N, Oakes S, Day N (2001): Relation between plasma ascorbic acid and mortality in men and women in EPIC-Norfolk prospective study: a prospective population study. *Lancet* 357: 657–663
- Kilaru S, Frangos SG, Chen AH, Gortler D, Dhadwal AK, Aram O, Sumpio BE (2001): Nicotine: a review of its role in atherosclerosis. *J Am Coll Surg* 193: 538–546
- Kiokias S, Gordon MH (2003): Dietary supplementation with a natural carotenoid mixture decreases oxidative stress. *Eur J Clin Nutr* 57: 1135–1140
- Klipstein-Grobusch K, Geleijnse JM, den Breeijen JH, Boeing H, Hofman A, Grobbee DE, Witteman JC (1999): Dietary antioxidants and risk of myocardial infarction in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr* 69: 261–266
- Klipstein-Grobusch K, Launer L, Geleijnse J, Boeing H, Hofman A, Witteman J (2000): Serum carotenoids and atherosclerosis. The Rotterdam Study. *Atherosclerosis* 148: 49–56
- Knekt P, Järvinen R, Reunanen A, Maatela J (1996): Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ* 312: 478–481
- Knekt P, Reunanen A, Järvinen R, Seppänen R, Heliövaara M, Aromaa A (1994): Antioxidant vitamin intake and coronary mortality in a longitudinal population study. *Am J Epidemiol* 139: 1180–1189
- Knekt P, Ritz J, Pereira MA, O'Reilly EJ, Augustsson K, Fraser GE, Goldbourt U, Heitmann BL, Hallmans G, Liu S, Pietinen P, Spiegelman D, Stevens J, Virtamo J, Willett WC, Rimm EB, Ascherio A (2004): Antioxidant vitamins and coronary heart disease risk: a pooled analysis of 9 cohorts. *Am J Clin Nutr* 80: 1508–1520
- Kohlmeier L, Kark JD, Gomez-Gracia E, Martin BC, Steck SE, Kardinaal AFM, Ringstad J, Thamm M, Mazaev V, Riemersma R, Martin-Moreno JM, Huttunen JK, Kok FJ (1997): Lycopene and myocardial infarction risk in the EURAMIC Study. *Am J Epidemiol* 146: 618–626
- Kohlmeier M, Thefeld W, Stelte W, Grimm R, Häußler A, Hünchen K, Reuter U, Saupe J, Schek A, Kübler W (1995): VERA-Schriftenreihe (Verbundstudie Ernährungserhebung Risikofaktoren Analytik). In: Kübler W, Anders HJ, Heeschen W: Versorgung Erwachsener mit Mineralstoffen und Spurenelementen in der Bundesrepublik Deutschland Band V. Wissenschaftlicher Fachverlag, Niederkleen
- Kok FJ, de Bruijn AM, Vermeeren R, Hofman A, van Laar A, de Bruin M, Hermus RJJ, Valkenburg HA (1987): Serum selenium, vitamin antioxidants, and cardiovascular mortality: a 9-year follow-up study in the Netherlands. *Am J Clin Nutr* 45: 462–468

- Kok FJ, van Duijn CM, Hofman A, van der Voet GB, de Wolff FA, Paays CHC, Valkenburg HA (1988): Serum copper and zinc and the risk of death from cancer and cardiovascular disease. *Am J Epidemiol* 128: 352–359
- Kontush A, Hübner C, Finckh B, Kohlschütter A, Beisiegel U (1994): Low density lipoprotein oxidizability by copper correlates to its initial ubiquinol-10 and polyunsaturated fatty acid content. *FEBS Lett* 341: 69–73
- Krauss RM, Eckel RH, Howard B, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, Erdman JW Jr, Kris-Etherton P, Goldberg IJ, Kotchen TA, Lichtenstein AH, Mitch WE, Mullis R, Robinson K, Wylie-Rosett J, St Jeor S, Suttie J, Tribble DL, Bazzarre TL (2000): AHA Dietary Guidelines: revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation* 102: 2284–2299
- Kreuzer J, Tiefenbacher C (2003): Atherosklerose. Taschenatlas spezial. Thieme-Verlag, Stuttgart
- Kristenson M, Ziedén B, Kucinskienė Z, Elinder LS, Bergdahl B, Elwing B, Abaravicius A, Razinkovienė L, Calkauskas H, Olsson AG (1997): Antioxidant state and mortality from coronary heart disease in Lithuanian and Swedish men: concomitant cross sectional study of men aged 50. *BMJ* 314: 629–633
- Kritchevsky SB, Shimakawa T, Tell GS, Dennis B, Carpenter M, Eckfeldt JH, Peacher-Ryan H, Heiss G (1995): Dietary antioxidants and carotid artery wall thickness. The ARIC Study. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation* 92: 2142–2150
- Kromhout D (2001): Epidemiology of cardiovascular disease in Europe. *Public Health Nutr* 4: 441–457
- Kushi LH, Folsom AR, Prineas RJ, Mink PJ, Wu Y, Bostick RM (1996): Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N Engl J Med* 334: 1156–1162
- Langlois M, Duprez D, Delanghe J, De Buyzere M, Clement DL (2001): Serum vitamin C concentration is low in peripheral arterial disease and is associated with inflammation and severity of atherosclerosis. *Circulation* 103: 1863–1868
- Lazo JS, Kuo SM, Woo ES, Pitt BR (1998): The protein thiol metallothionein as an antioxidant and protectant against antineoplastic drugs. *Chem Biol Interact* 111-112: 255–262
- Lee IM, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH (1999): Beta-carotene supplementation and incidence of cancer and cardiovascular disease: the Women's Health Study. *J Natl Cancer Inst* 91: 2102–2106
- Lee IM, Cook NR, Gaziano JM, Gordon D, Ridker PM, Manson JE, Hennekens CH, Buring JE (2005): Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer. *JAMA* 294: 56–65
- Leus FR, Wittekoek ME, Prins J, Kastelein JJP, Voorbij HAM (2000): Paraoxonase gene polymorphisms are associated with carotid arterial wall thickness in subjects with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 149: 371–377
- Levine M, Conrycantilena C, Wang YH, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, Park JB, Lazarev A, Graumlich JF, King J, Cantilena LR (1996): Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers – evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 3704–3709
- Libby P (1995): Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 91: 2844–2850
- Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, Franklin B, Kris-Etherton P, Harris WS, Howard B, Karanja N, Lefevre M, Rudel L, Sacks F, Van Horn L, Winston M, Wylie-Rosett J (2006): Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006. *Circulation* 114: 82–96

- Lin Y, Burri BJ, Neidlinger TR, Müller HG, Dueker SR, Clifford AJ (1998): Estimating the concentration of beta-carotene required for maximal protection of low-density lipoproteins in women. *Am J Clin Nutr* 67: 837–845
- Liu S, Lee IM; Ajani U, Cole SR, Buring JE, Manson JE (2001): Intake of vegetables rich in carotenoids and risk of coronary heart disease in men: The Physicians' Health Study. *Int J Epidemiol* 30: 130–135
- Liu S, Manson JE (2001): Dietary carbohydrates, physical inactivity, obesity, and the 'metabolic syndrome' as predictors of coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 12: 395–404
- Lonn E, Bosch J, Yusuf S, Sheridan P, Pogue J, Arnold JM, Ross C, Arnold A, Sleight P, Probstfield J, Dagenais GR (2005): HOPE and HOPE-TOO Trial Investigators. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 293: 1338–1347
- Lonn E, Yusuf S, Dzavik V, Doris C, Yi Q, Smith S, Moore-Cox A, Bosch J, Riley W, Teo K; SECURE Investigators (2001): Effects of ramipril and vitamin E on atherosclerosis: the Study to Evaluate Carotid Ultrasound changes in patients treated with Ramipril and vitamin E (SECURE). *Circulation* 103: 919–925
- Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M (2007): Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness. *Circulation* 115: 459–467
- Losonczy KG, Harris TB, Havlik RJ (1996): Vitamin E and vitamin C supplement use and risk of all-cause and coronary heart disease mortality in older persons: the Established Populations for Epidemiologic Studies of the Elderly. *Am J Clin Nutr* 64: 190–196
- Lusis AJ (2000): Atherosclerosis. *Nature* 407: 233–241
- Lykkefeldt J, Christen S, Wallock LM, Chang HH, Jacob RA, Ames BN (2000): Ascorbate is depleted by smoking and repleted by moderate supplementation: a study in male smokers and nonsmokers with matched dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr* 71: 530–536
- Ma SW, Tomlinson B, Benzie IFF (2004): A study of the effect of oral glucose loading on plasma oxidant:antioxidant balance in normal subjects. *Eur J Nutr* 44: 250–254
- Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN, Mackness MI (2001): Paraoxonase status in coronary heart disease – are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 1451–1457
- Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, Mackness M (2003): Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 107: 2775–2779
- Mackness B, Quarck R, Verreth W, Mackness M, Holvoet P (2006): Human paraoxonase-1 overexpression inhibits atherosclerosis in a mouse model of metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26: 1545–1550
- Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN (1997): Effect of the molecular polymorphisms of human paraoxonase (PON1) on the rate of hydrolysis of paraoxon. *Br J Pharmacol* 122: 265–268
- Mackness B, Mackness MI, Durrington PN, Arrol S, Evans AE, McMaster D, Ferrieres J, Ruidavets JB, Williams NR, Howard AN (2000): Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart disease. *Eur J Clin Invest* 30: 4–10
- Mackness MI, Abbott C, Arrol S, Durrington PN (1993a): The role of high density lipoprotein and lipid-soluble antioxidant vitamins in inhibiting low-density lipoprotein oxidation. *Biochem J* 294: 829–835

- Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN (1993b): Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 104: 129–135
- Magliano D, McNeil J, Branley P, Shiel L, Demos L, Wolfe R, Kotsopoulos D, McGrath B (2006): The Melbourne Atherosclerosis Vitamin E Trial (MAVET): a study of high dose vitamin E in smokers. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 13: 341–347
- Malin R, Jarvinen O, Sisto T, Koivula T, Lehtimäki T (2001a): Paraoxonase producing PON1 gene M/L55 polymorphism is related to autopsy-verified artery-wall atherosclerosis. *Atherosclerosis* 157: 301–307
- Malin R, Laine S, Rantalaiho V, Wirta O, Pasternack A, Jokela H, Alho H, Koivula T, Lehtimäki T (2001b): Lipid peroxidation is increased in paraoxonase L55 homozygotes compared with M-allele carriers. *Free Rad Res* 34: 477–484
- Malin R, Loimaala A, Nenonen A, Mercuri M, Vuori I, Pasanen M, Oja P, Bond G, Koivula T, Lehtimäki T (2001c): Relationship between high-density lipoprotein paraoxonase gene M/L55 polymorphism and carotid atherosclerosis differs in smoking and nonsmoking men. *Metabolism* 50: 1095–1101
- Manninen V, Elo MO, Frick MH, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P, Huttunen JK, Kaitaniemi P, Koskinen P (1988): Lipid alterations and decline in the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *JAMA* 260: 641–651
- Maret W, Sandstead HH (2006): Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol* 20: 3–18
- Mark SD, Wang W, Fraumeni JF Jr., Li JY, Taylor PR, Wang GQ, Dawsey SM, Li B, Blot WJ (1998): Do nutritional supplements lower the risk of stroke or hypertension? *Epidemiology* 9: 9–15
- Marniemi J, Järvisalo J, Toikka T, Rähkä I, Ahotupa M, Sourander L (1998): Blood vitamins, mineral elements and inflammation markers as risk factors of vascular and non-vascular disease mortality in an elderly population. *Int J Epidemiol* 27: 799–807
- Martin K, Wu D, Meydani M (2000): The effect of carotenoids on the expression of cell surface adhesion molecules and binding of monocytes to human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis* 150: 265–274
- Martin-Lagos F, Navarro-Alarcon M, Terres-Martos C, Lopez G, de la Serrana H, Lopez-Martinez MC (1997): Serum copper and zinc concentrations in serum from patients with cancer and cardiovascular disease. *Sci Total Environ* 204: 27–35
- Martin-Moreno JM, Gorgojo L, Riemersma RA, Gomez-Aracena J, Kark JD, Guillen J, Jimenez J, Ringstad JJ, Fernandez-Crehuet J, Bode P, Kok FJ (2003): Myocardial infarction risk in relation to zinc concentration in toenails. *Br J Nutr* 89: 673–678
- Martinelli N, Girelli D, Olivieri O, Cavallari U, Biscuola M, Trabetti E, Friso S, Pizzolo F, Tenuti I, Bozzini C, Villa G, Ceradini B, Sandri M, Cheng S, Grow MA, Pignatti PF, Corrocher R (2005): Interaction between metabolic syndrome and PON1 polymorphisms as a determinant of the risk of coronary artery disease. *Clin Exp Med* 5: 20–30
- Martinez-Tome M, Murcia MA, Frega N, Ruggieri S, Jimenez AM, Roses F, Parras P (2004): Evaluation of antioxidant capacity of oat brans. *J Agric Food Chem* 52: 4690–4699
- Maruyama C, Imamura K, Oshima S, Suzukawa M, Egami S, Tonomoto M, Baba N, Harada M, Ayaori M, Inakuma T, Ishikawa T (2001): Effects of tomato juice consumption on plasma and lipoprotein carotenoid concentrations and the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification. *J Nutr Sci Vitaminol* 47: 213–221
- Matsubara J (1987): Alteration of radiosensitivity in metallothionein induced mice and a possible role of Zn-Cu-thionein in GSH-peroxidase system. *Exp Suppl* 52: 603–612

- Maxwell SR, Thomason H, Sandler D, Leguen C, Baxter MA, Thorpe GH, Jones AF, Barnett AH (1997): Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 27: 484–490
- McCormick CC, Menard MP, Cousins RJ (1981): Induction of hepatic metallothionein by feeding zinc to rats of depleted zinc status. *Am J Physiol* 240: E414–E421
- Meraji S, Abuja PM, Hayn M, Kostner GM, Morris R, Oraii S, Tatzber F, Wonisch W, Zechner R, Gey KF (2000): Relationship between classic risk factors, plasma antioxidants and indicators of oxidant stress in angina pectoris (AP) in Tehran. *Atherosclerosis* 150: 403–412
- Mezzetti A, Zuliani G, Romano F, Costantini F, Pierdmoneico SD, Cuccurullo F, Fellin R, Associazione Medica Sabini (2001): Vitamin E and lipid peroxide plasma levels predict the risk of cardiovascular events in a group of healthy very old people. *J Am Geriatr Soc* 49: 533–537
- Micozzi MS, Brown ED, Edwards BK, Bieri JG, Taylor PR, Khachik F, Beecher GR, Smith JC Jr. (1992): Plasma carotenoid response to chronic intake of selected foods and beta-carotene supplements in men. *Am J Clin Nutr* 55: 1120–1125
- Mielcarz G, Howard AN, Mielcarz B, Williams NR, Rajput-Williams J, Nigdigar SV, Stone DL (2001): Leucocyte copper, a marker of copper body status is low in coronary artery disease. *J Trace Elem Med Biol* 15: 31–35
- Miettinen TA, Alfthan G, Huttunen JK, Pikkarainen J, Naukkarinen V, Mattila S, Kumlin T (1983): Serum selenium concentration related to myocardial infarction and fatty acid content of serum lipids. *Br Med J* 287: 517–519
- Miller ER 3rd, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E (2005): Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 142: 37–46
- Milman U, Blum S, Shapira C, Aronson D, Miller-Lotan R, Anbinder Y, Alshiek J, Bennett L, Kostenko M, Landau M, Keidar S, Levy Y, Khemlin A, Radan A, Levy AP (2008): Vitamin E supplementation reduces cardiovascular events in a subgroup of middle-aged individuals with both type 2 diabetes mellitus and the Haptoglobin 2-2 genotype. A prospective double-blinded clinical trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28: 341–347
- Milne DB, Davis CD, Nielsen FH (2001): Low dietary zinc alters indices of copper function and status in postmenopausal women. *Nutrition* 17: 701–708
- Minamiyama Y, Takemura S, Bito Y, Shinkawa H, Tsukioka T, Nakahira A, Suehiro S, Okada S (2008): Supplementation of  $\alpha$ -tocopherol improves cardiovascular risk factors via the insulin signalling pathway and reduction of mitochondrial reactive oxygen species in type II diabetic rats. *Free Rad Res* 42: 261–271
- Miyake Y, Shouzu A, Nishikawa M, Yonemoto T, Shimizu H, Omoto S, Hayakawa T, Inada M (1999): Effect of treatment with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on serum coenzyme Q10 in diabetic patients. *Arzneimittelforschung* 49: 324–329
- Moller P, Viscovich M, Lykkesfeldt J, Loft S, Jensen A, Poulsen HE (2004): Vitamin C supplementation decreases oxidative DNA damage in mononuclear blood cells of smokers. *Eur J Nutr* 43: 267–274
- Moller P, Vogel U, Pedersen A, Dragsted LO, Sandström B, Loft S (2003): No effect of 600 grams fruit and vegetables per day on oxidative DNA damage and repair in healthy nonsmokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 12: 1016–1022

- Monget AL, Richard MJ, Cournot MP, Arnaud J, Galan P, Preziosi P, Herbeth B, Favier A, Hercberg S (1996): Effect of 6 month supplementation with different combinations of an association of antioxidant nutrients on biochemical parameters and markers of the antioxidant defence system in the elderly. *Geriatric/Min.Vit.AOX Network. Eur J Clin Nutr* 50: 443–449
- Morris DL, Kritchevsky SB, Davis CE (1994): Serum carotenoids and coronary heart disease. *JAMA* 272: 1439–1441
- Mortensen A, Skibsted LH, Truscott TG (2001): The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch Biochem Biophys* 385: 13–19
- Mosinger BJ (1999): Higher cholesterol in human LDL is associated with the increase of oxidation susceptibility and the decrease of antioxidant defence; experimental and simulation data. *Biochim Biophys Acta* 1453: 180–184
- Mulholland CW, Strain JJ, Trinick TR (1996): Serum antioxidant potential and lipoprotein oxidation in female smokers following vitamin C supplementation. *Int J Food Sci Nutr* 47: 227–231
- Muntwyler J, Hennekens CH, Manson JE, Buring JE, Gaziano JM (2002): Vitamin supplement use in a low-risk population of US male physicians and subsequent cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 162: 1472–1476
- Naidoo D, Lux O (1998): The effect of vitamin C and E supplementation on lipid and urate oxidation products in plasma. *Nutr Res* 18: 953–961
- Nam CM, Oh KW, Lee KH, Jee SH, Cho SY, Shim WH, Suh I (2003): Vitamin C intake and risk of ischemic heart disease in a population with a high prevalence of smoking. *J Am Coll Nutr* 22: 372–378
- Navarro-Alarcon M, Lopez-Garcia de la Serrana H, Perez-Valero V, Lopez-Martinez C (1999): Serum and urine selenium concentrations in patients with cardiovascular diseases and relationship to other nutritional indexes. *Ann Nutr Metab* 43: 30–36
- Negishi H, Xu JW, Ikeda K, Njelekela M, Nara Y, Yamori Y (2004): Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr* 134: 38–42
- Neve J, Vertongen F, Capel P (1988): Selenium supplementation in healthy Belgian adults: response in platelet glutathione peroxidase activity and other blood indices. *Am J Clin Nutr* 48: 139–143
- Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST (2005): The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Rad Biol Med* 38: 153–163
- Nieto FJ, Iribarren C, Gross MD, Comstock GW, Cutler RG (2000): Uric acid and serum antioxidant capacity: A reaction to atherosclerosis? *Atherosclerosis* 148: 131–139
- NIH (National Institutes of Health) (2006): State-of-the-Science Conference Statement on Multivitamin/Mineral Supplements and Chronic Disease Prevention. *NIH Consens State Sci Statements* 23: 1–30
- Niki E (1987): Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids* 44: 227–253
- Nishio E, Watanabe Y (1997): Cigarette smoke extracts inhibits plasma paraoxonase activity by modification of the enzyme's free thiols. *Biochem Biophys Res Commun* 236: 289–293
- Noguchi N, Niki E (1999): Chemistry of active oxygen species and antioxidants. In: Papas AM (ed.): *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. CRC Press, Boca Raton: 3–20
- Nojiri S, Daida H, Mokuno H, Iwama Y, Mae K, Ushio F, Ueki T (2001): Association of serum antioxidant capacity with coronary artery disease in middle-aged men. *Jpn Heart J* 42: 677–690

- Nyyssönen K, Porkkala E, Salonen R, Korpela H, Salonen JT (1994): Increase in oxidation resistance of atherogenic serum lipoproteins following antioxidant supplementation: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Eur J Clin Nutr* 48: 633–642
- Nyyssönen K, Parvainen MT, Salonen R, Tuomilehto J, Salonen JT (1997a): Vitamin C deficiency and risk of myocardial infarction: Prospective population study of men from eastern Finland. *Br Med J* 314: 634–638
- Nyyssönen K, Poulsen HE, Hayn M, Agerbo P, Porkkala-Sarataho E, Kaikkonen J, Salonen R, Salonen JT (1997b): Effect of supplementation of smoking men with plain or slow release ascorbic acid on lipoprotein oxidation. *Eur J Clin Nutr* 51: 154–163
- Oda MN, Bielicki JK, Ho TT, Berger T, Rubin EM, Forte TM (2002): Paraoxonase 1 overexpression in mice and its effect on high-density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun* 290: 921–927
- Olmedilla B, Granado F, Southon S, Wright AJA, Blanco I, Gil-Martinez E, van den Berg H, Corridan B, Rousel AM, Chopra M, Thurnham DI (2001): Serum concentrations of carotenoids and vitamins A, E, and C in control subjects from five European countries. *Br J Nutr* 85: 227–238
- Olmedilla B, Granado F, Southon S, Wright AJA, Blanco I, Gil-Martinez E, van den Berg H, Thurnham D, Corridan B, Chopra M, Hininger I (2002): A European multicentre, placebo-controlled supplementation study with  $\alpha$ -tocopherol, carotene-rich palm oil, lutein or lycopene: analysis of serum responses. *Clin Sci* 102: 447–456
- Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL, Valanis B, Williams JH, Barnhart S, Hammar S (1996): Effects of a combination of beta-carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 334: 1150–1155
- O'Neill M, Carroll Y, Corridan B, Olmedilla B, Granado F, Blanco I, Van den Berg H, Hininger I, Rousel AM, Chopra M, Southon S, Thurnham DI (2001): A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. *Br J Nutr* 85: 499–507
- Osganian SK, Stampfer MJ, Rimm E, Spiegelman D, Manson JE, Willett WC (2003): Dietary carotenoids and risk of coronary artery disease in women. *Am J Clin Nutr* 77: 1390–1399
- Oster O, Dahm M, Oelert H, Prellwitz W (1989): Concentrations of some trace elements (Se, Zn, Cu, Fe, Mg, K) in blood and heart tissue of patients with coronary heart disease. *Clin Chem* 35: 851–856
- Oster O, Prellwitz W (1989): The daily selenium intake of West German adults. *Biol Trace Elem Res* 20: 1–14
- Otaolaurruchi E, Fernandez-Pachon MS, Gonzalez AG, Troncoso AM, Garcia-Parrilla MC (2007): Repeated red wine consumption and changes on plasma antioxidant capacity and endogenous antioxidants (uric acid and protein thiol groups). *J Agric Food Chem* 55: 9713–9718
- Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM (1995): The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implications for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta* 235: 207–219
- Padayatty SJ, Levine M (2008): Fruit and vegetables: think variety, go ahead, eat! *Am J Clin Nutr* 87: 5–7
- Palace VP, Khaper N, Qin Q, Singal PK (1999): Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic Biol Med* 26: 746–761

- Palmieri VO, Grattagliano I, Portincasa P, Palasciano G (2006): Systemic oxidative alterations are associated with visceral adiposity and liver steatosis in patients with metabolic syndrome. *J Nutr* 136: 3022–3026
- Panda K, Chattopadhyay R, Ghosh MK, Chattopadhyay DJ, Chatterjee IB (1999): Vitamin C prevents cigarette smoke induced oxidative damage of proteins and increased proteolysis. *Free Rad Biol Med* 27: 1064–1079
- Panemangalore M, Lee CJ (1992): Evaluation of the indices of retinol and alpha-tocopherol status in free-living elderly. *J Gerontol* 47: B98–B104
- Paolisso G, Di Maro G, Galzerano D, Cacciapuoti F, Varricchio G, Varricchio M, D'Onofrio F (1994): Pharmacological doses of vitamin E and insulin action in elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 59: 1291–1296
- Paolisso G, Esposito R, D'Alessio MA, Barbieri M (1999): Primary and secondary prevention of atherosclerosis: Is there a role for antioxidants? *Diabetes Metab* 25: 298–306
- Paolisso G, Gambardella A, Giugliano D, Galzerano D, Amato L, Volpe C, Balbi V, Varricchio M, D'Onofrio F (1995): Chronic intake of pharmacological doses of vitamin E might be useful in the therapy of elderly patients with coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 61: 848–852
- Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG (1990): High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1044: 275–283
- Partida-Hernandez G, Arreola F, Fenton B, Cabeza M, Roman-Ramos R, Revilla-Monsalve MC (2006): Effect of zinc replacement on lipids and lipoproteins in type-2-diabetic patients. *Biomed Pharmacother* 60: 161–168
- Paterson E, Gordon MH, Niwat C, George TW, Parr L, Waroonphan S, Lovegrove JA (2006): Supplementation with fruit and vegetable soups and beverages increases plasma carotenoid concentrations but does not alter markers of oxidative stress or cardiovascular risk factors. *J Nutr* 136: 2849–2855
- Pedersen BK, Saltin B (2006): Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. *Scand J Med Sci Sports* 16 (Suppl. 1): 3–63
- Pellegrini N, Riso P, Porrini M (2000): Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma. *Nutrition* 16: 268–271
- Pelz R, Schmidt-Faber B, Hesecker H (1998): Die Carotinoidzufuhr in der Nationalen Verzehrsstudie. *Z Ernährungswiss* 37: 319–327
- Pfohl M, Koch M, Enderle MD, Kühn R, Füllhase J, Karsch KR, Häring HU (1999): Paraoxonase 192 Gln/Arg gene polymorphism, coronary artery disease, and myocardial infarction in type 2 diabetes. *Diabetes* 48: 623–627
- Pham DQ, Plakogiannis R (2005): Vitamin E supplementation in cardiovascular disease and cancer prevention: Part 1. *Ann Pharmacother* 39: 1870–1878
- Pignatelli P, Ghiselli A, Buchetti B, Carnevale R, Natella F, Germano G, Fimognari F, Di Santo S, Lenti L, Violi F (2006): Polyphenols synergistically inhibit oxidative stress in subjects given red and white wine. *Atherosclerosis* 188: 77–83
- Plantinga Y, Ghiadoni L, Magagna A, Giannarelli C, Franzoni F, Taddei S, Salvetti A (2007): Supplementation with vitamins C and E improves arterial stiffness and endothelial function in essential hypertensive patients. *Am J Hypertens* 20: 392–397
- Plotnick GD, Corretti MC, Vogel RA (1997): Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal. *JAMA* 278: 1682–1686



- Polidori MC, Mecocci P, Stahl W, Sies H (2003): Cigarette smoking cessation increases plasma levels of several antioxidant micronutrients and improves resistance towards oxidative challenge. *Br J Nutr* 90: 147–150
- Polidori MC, Pratico D, Parente B, Mariani E, Cecchetti R, Yao Y, Sies H, Cao P, Mecocci P, Stahl W (2007): Elevated lipid peroxidation biomarkers and low antioxidant status in atherosclerotic patients with increased carotid or iliofemoral intima media thickness. *J Investig Med* 55: 163–167
- Pollard J, Wild CP, White KL, Greenwood DC, Cade JE, Kirk SF (2003): Comparison of plasma biomarkers with dietary assessment methods for fruit and vegetable intake. *Eur J Clin Nutr* 57: 988–998
- Porkkala-Sarataho E, Nyssönen K, Salonen JT (1996): Increased oxidation resistance of atherogenic plasma lipoproteins at high vitamin E levels in non-vitamin E supplemented men. *Atherosclerosis* 124: 83–94
- Porkkala-Sarataho E, Salonen JT, Nyssönen K, Kaikkonen J, Salonen R, Ristonmaa U, Diczfalusy U, Brigelius-Flohe R, Loft S, Poulsen HE (2000): Long-term effects of vitamin E, vitamin C, and combined supplementation on urinary 7-hydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine, serum cholesterol oxidation products, and oxidation resistance of lipids in nondepleted men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 2087–2093
- Powell SR (2000): The antioxidant properties of zinc. *J Nutr* 130: 1447S–1454S
- Powell SR, Gurzenda EM, Wingertzohan MA, Wapnir RA (1999): Promotion of copper excretion from the isolated perfused rat heart attenuates postischemic cardiac oxidative injury. *Am J Physiol* 277: H956–H962
- Prasad AS, Bao B, Beck FWJ, Kucuk O, Sarkar FH (2004): Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Rad Biol Med* 37: 1182–1190
- Preziosi P, Galan P, Herbeth B, Valeix P, Roussel AM, Malvy D, Paul-Dauphin A, Arnaud J, Richard MJ, Briancon S, Favier A, Hercberg S (1998): Effects of supplementation with a combination of antioxidant vitamins and trace elements, at nutritional doses, on biochemical indicators and markers of the antioxidant system in adult subjects. *J Am Coll Nutr* 17: 244–249
- Rantala M, Silaste ML, Tuominen A, Kaikkonen J, Salonen JT, Alfthan G, Aro A, Kesäniemi YA (2002): Dietary modifications and gene polymorphisms alter serum paraoxonase activity in healthy women. *J Nutr* 132: 3012–3017
- Rapola JM, Virtamo J, Haukka JK, Heinonen OP, Albanes D, Taylor PR, Huttunen JK (1996): Effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of angina pectoris. A randomized, double-blind, controlled trial. *JAMA* 275: 693–698
- Rapola JM, Virtamo J, Ripatti S, Huttunen JK, Albanes D, Taylor PR, Heinonen OP (1997): Randomised trial of alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infarction. *Lancet* 349: 1715–1720
- Ray AL, Semba RD, Walston J, Ferrucci L, Cappola AR, Ricks MO, Xue QL, Fried LP (2006): Low serum selenium and total carotenoids predict mortality among older women living in the community: The Women's Health and Aging Studies. *J Nutr* 136: 172–176
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999): Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med* 26: 1231–1237
- Reaven PD, Khouw A, Beltz WF, Parthasarathy S, Witztum JL (1993): Effect of dietary antioxidant combinations in humans. Protection of LDL by vitamin E but not by beta-carotene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 13: 590–600

- Reaven PD, Witztum JL (1996): Oxidized low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification. *Annu Rev Nutr* 16: 51–71
- Regnström J, Nilsson J, Tornvall P, Landou C, Hamsten A (1992): Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 339: 1183–1186
- Reilly M, Delanty N, Lawson JA, Fitzgerald GA (1996): Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* 94: 19–25
- Reunanen A, Knekt P, Marniemi J, Maki J, Maatela J, Aromaa A (1996): Serum calcium, magnesium, copper and zinc and risk of cardiovascular death. *Eur J Clin Nutr* 50: 431–437
- Rice-Evans C, Miller NJ (1994): Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol* 234: 279–293
- Rice-Evans C, Miller NJ (1996): Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc Transactions* 24: 790–794
- Riemersma RA, Oliver M, Elton RA, Alfthan G, Vartiainen E, Salo M, Rubba P, Mancini M, Georgi H, Vuilleumier JP (1990): Plasma antioxidants and coronary heart disease: vitamins C and E, and selenium. *Eur J Clin Nutr* 44: 143–150
- Riemersma RA, Wood DA, Macintyre CCA, Elton RA, Gey KF, Oliver MF (1991): Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A, C, and E and carotene. *Lancet* 337: 1–5
- RiliBÄK (2001): Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. *Dtsch Ärzteblatt* 98: A2747–A2759 mit Änderungen vom 14.11.2003 (*Dtsch Ärzteblatt* 100: A3335–A3338)
- Rimm EB, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC (1996): Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med* 125: 384–389
- Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz GA, Willett WC (1993): Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 328: 1450–1456
- Rissanen TH, Voutilainen S, Nyyssönen K, Lakka T, Sivenius J, Salonen R, Kaplan GA, Salonen JT (2001): Low serum lycopene concentration is associated with an excess incidence of acute coronary events and stroke: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Br J Nutr* 85: 749–754
- Rissanen TH, Voutilainen S, Virtanen JK, Venho B, Vanharanta M, Mursu J, Salonen JT (2003): Low intake of fruits, berries and vegetables is associated with excess mortality in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. *J Nutr* 133: 199–204
- Robert-Koch-Institut (Hrsg.) (2006): *Gesundheit in Deutschland. Gesundheitsberichterstattung des Bundes*. Robert Koch-Institut, Berlin
- Roberts CK, Barnard RJ (2005): Effects of exercise and diet on chronic disease. *J Appl Physiol* 98: 3–30
- Roberts LJ 2nd, Oates JA, Linton MF, Fazio S, Gross B, Shyr Y, Morrow JD (2007): The relationship between dose of vitamin E and suppression of oxidative stress in humans. *Free Rad Biol Med* 43: 1388–1393
- Rodrigo R, Castillo R, Carrasco R, Huerta P, Moreno M (2005): Diminution of tissue lipid peroxidation in rats is related to the in vitro antioxidant capacity of wine. *Life Sci* 76: 889–900
- Rodrigo R, Rivera G, Orellana M, Araya J, Bosco C (2002): Rat kidney antioxidant response to long-term exposure to flavonol rich red wine. *Life Sci* 71: 2881–2895

- Rosenblat M, Hayek T, Hussein K, Aviram M (2004): Decreased macrophage paraoxonase 2 expression in patients with hypercholesterolemia in the result of their increased cellular cholesterol content: effect of atorvastatin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 175–180
- Ross R, Glomset J, Harker L (1977): Response to injury and atherogenesis. *Am J Pathol* 86: 675–684
- Ross R (1993): The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362: 801–809
- Ross R (1997): Cellular and molecular studies of atherogenesis. *Atherosclerosis* 131: 3–4
- Roussel AM, Kerkeni A, Zouari N, Mahjoub S, Matheau JA, Anderson RA (2003): Antioxidant effects of zinc supplementation in Tunisians with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr* 22: 316–321
- Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, Shih DM, Aviram M (2003): Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. *Free Rad Biol Med* 34: 774–784
- Rubins HB, Robins SJ, Iwane MK, Boden WE, Elam MB, Fye CL, Gordon DJ, Schaefer EJ, Schectman G, Wittes JT (1993): Rationale and design of the Department of Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial (HIT) for secondary prevention of coronary artery disease in men with low high-density lipoprotein cholesterol and desirable low-density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol* 71: 45–52
- Ruz M, Cavan KR, Bettger WJ, Fischer PW, Gibson RS (1992): Indices of iron and copper status during experimentally induced, marginal zinc deficiency in humans. *Biol Trace Elem Res* 34: 197–212
- Sakuma N, Hibino T, Sato T, Ohte N, Akita S, Tamai N, Sasai K, Yoshimata T, Fujinami T (1997): Levels of thiobarbituric acid-reactive substance in plasma from coronary artery disease patients. *Clin Biochem* 30: 505–507
- Salonen JT, Alfthan G, Huttunen JK, Pikkarainen J, Puska P (1982): Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matched-pair longitudinal study. *Lancet* 320: 175-179
- Salonen JT, Malin R, Tuomainen TP, Nyssönen K, Lakka TA, Lehtimäki T (1999): Polymorphism in high density lipoprotein paraoxonase gene and risk of acute myocardial infarction in men: prospective nested case-control study. *BMJ* 319: 487–489
- Salonen JT, Nyssönen K, Salonen R, Lakka HM, Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Voutilainen S, Lakka TA, Rissanen T, Leskinen L, Tuomainen TP, Valkonen VP, Ristonmaa U, Poulsen HE (2000): Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) Study: a randomized trial of the effect of vitamins E and C on 3-year progression of carotid atherosclerosis. *J Intern Med* 248: 377–386
- Salonen JT, Salonen R, Seppanen K, Kantola M, Parviainen M, Alfthan G, Maenpaa PH, Taskinen E, Rauramaa R (1988): Relationship of serum selenium and antioxidants to plasma lipoproteins, platelet aggregability and prevalent ischaemic heart disease in Eastern Finnish men. *Atherosclerosis* 70: 155–160
- Salonen JT, Salonen R, Seppanen K, Kantola M, Suntioinen S, Korpela H (1991): Interactions of serum copper, selenium, and low density lipoprotein cholesterol in atherogenesis. *BMJ* 302: 756–760
- Salonen RM, Nyssönen K, Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Voutilainen S, Rissanen TH, Tuomainen TP, Valkonen VP, Ristonmaa U, Lakka HM, Vanharanta M, Salonen JT, Poulsen HE (2003): Six-year effect of combined vitamin C and E supplementation on atherosclerotic progression. The Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) Study. *Circulation* 107: 947–953

- Salvini S, Hennekens CH, Morris JS, Willett WC, Stampfer MJ (1995): Plasma levels of the antioxidant selenium and risk of myocardial infarction among U.S. physicians. *Am J Epidemiol* 76: 1218–1221
- Samman S, Brown AJ, Beltran C, Singh S (1997): The effect of ascorbic acid on plasma lipids and oxidisability of LDL in male smokers. *Eur J Clin Nutr* 51: 472–477
- Sarandöl E, Serdar Z, Dirican M, Safak Ö (2003): Effects of red wine consumption on serum paraoxonase/arylesterase activities and on lipoprotein oxidizability in healthy men. *J Nutr Biochem* 14: 507–512
- Sasaki S, Tsubono Y, Okubo S, Hayashi M, Kakizoe T, Tsugane S (2000): Effects of three-month oral supplementation of  $\beta$ -carotene and vitamin C on serum concentrations of carotenoids and vitamins in middle-aged subjects: a pilot study for a randomized controlled trial to prevent gastric cancer in a high-risk Japanese population. *Jpn J Cancer Res* 91: 464–470
- Satoh M, Naganuma A, Imura N (1988): Involvement of cardiac metallothionein in prevention of adriamycin induced lipid peroxidation in the heart. *Toxicology* 53: 231–237
- Schectman G, Byrd JC, Hoffmann R (1991): Ascorbic acid requirements for smokers: analysis of a population survey. *Am J Clin Nutr* 53: 1466–1470
- Schrauzer GN (2001): Nutritional selenium supplements: product types, quality, and safety. *J Am Coll Nutr* 20: 1–4
- Schulze MB, Linseisen J, Kroke A, Boeing H (2001): Macronutrient, vitamin, and mineral intakes in the EPIC-Germany cohort. *Ann Nutr Metab* 45: 181–189
- Scott KJ, Thurnham DI, Hart DJ, Bingham SA, Day K (1996): The correlation between 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* 75: 409–418
- Senti M, Aubo C, Elosua R, Sala J, Tomas M, Marrugat J (2000): Effect of physical activity on lipid levels in a population-based sample of men with and without the Arg192 variant of the human paraoxonase gene. *Genet Epidemiol* 18: 276–286
- Senti M, Tomas M, Fito M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, Masia R, Marrugat J (2003): Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 5422–5426
- Seppo L, Lahteenmaki T, Tikkanen MJ, Vanhanen H, Korpela R, Vapaatalo H (2005): Effects of vitamin E on the toxicity of oxidized LDL on endothelial cells in vitro in smokers vs nonsmokers on diets rich in fish. *Eur J Clin Nutr* 59: 1282–1290
- Sesso HD, Buring JE, Norkus EP, Gaziano JM (2004): Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. *Am J Clin Nutr* 79: 47–53
- Sesso HD, Buring JE, Norkus EP, Gaziano JM (2005): Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in men. *Am J Clin Nutr* 81: 990–997
- Shaish A, Daugherty A, O'Sullivan F, Schonfeld G, Heinecke JW (1995): Beta-carotene inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *J Clin Invest* 96: 2075–2082
- Shantaram V (1999): Pathogenesis of atherosclerosis in diabetes and hypertension. *Clin Exp Hypertens* 21: 69–77
- Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castellani LW, Furlong CE, Costa LG, Fogelman AM, Lusis AJ (1998): Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 394: 284–287
- Shixian Q, Dai Y, Kakuda Y, Shi J, Mittal G, Yeung D, Jiang Y (2005): Synergistic anti-oxidative effects of lycopene with other bioactive components. *Food Rev Int* 21: 295–311

- Siekmeier R, Wulfroth P, Wieland H, Gross W, Marz W (1996): Low-density lipoprotein susceptibility to in vitro oxidation in healthy smokers and nonsmokers. *Clin Chem* 42: 524–530
- Singhal S, Gupta R, Goyle A (2001): Comparison of antioxidant efficacy of vitamin E, vitamin C, vitamin A and fruits in coronary heart disease: a controlled trial. *J Assoc Phys India* 49: 327–331
- Smolkova B, Dusinska M, Raslova K, McNeill G, Spustova V, Blazicek P, Horska A, Collins A (2004): Seasonal changes in markers of oxidative damage to lipids and DNA; correlations with seasonal variation in diet. *Mutat Res* 551: 135–144
- Southon S (2000): Increased fruit and vegetable consumption within the EU: potential health benefits. *Food Res Intern* 33: 211–217
- Speich M, Gelot S, Arnaud P, Nicolas G (1988): Changes in magnesium, zinc, calcium, potassium, cholesterol, and creatine kinase concentrations in patients from pre-infarction syndrome to fatal myocardial infarction. *Clin Chem* 34: 2083–2086
- Stadler N, Eggermann J, Vöö S, Kranz A, Waltenberger J (2007): Smoking-induced monocyte dysfunction is reversed by vitamin C supplementation in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27: 120–126
- Stahl W, Junghans A, de Boer B, Driimina ES, Briviba K, Sies H (1998): Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. *FEBS Lett* 427: 305–308
- Stahl W, Sies H (1992): Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr* 122: 2161–2166
- Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC (1993): Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 328: 1444–1449
- Statistisches Bundesamt (2007): Anzahl der Gestorbenen nach Kapiteln der International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10). <http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Statistiken/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/Content75/GestorbeneAnzahl.psm1> 24.02.2008
- Steiner M, Glantz M, Lekos A (1995): Vitamin E plus aspirin compared with aspirin alone in patients with transient ischemic attacks. *Am J Clin Nutr* 62 (Suppl.): 1381S–1384S
- Stephens NG, Parsons A, Schofield PMM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ, Brown MJ (1996): Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary artery disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* 347: 781–786
- Stocker R (1999): The ambivalence of vitamin E in atherogenesis. *Trends Biochem Sci* 24: 219–223
- Stranges S, Marshall JR, Trevisan M, Natarajan R, Donahue RP, Combs GF, Farinero E, Clark LC, Reid ME (2006): Effects of selenium supplementation on cardiovascular disease incidence and mortality: secondary analyses in a randomized clinical trial. *Am J Epidemiol* 163: 694–699
- Street DA, Comstock GW, Salkeld RM, Schuep W, Klag MJ (1994): Serum antioxidants and myocardial infarction. Are low levels of carotenoids and alpha-tocopherol risk factors for myocardial infarction? *Circulation* 90: 1154–1161
- Su LCJ, 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 (1998): Differences between plasma and adipose tissue biomarkers of carotenoids and tocopherols. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7: 1043–1048

- Suadicani P, Hein HO, Gyntelberg F (1992): Serum selenium concentration and risk of ischaemic heart disease in a prospective cohort study of 3000 males. *Atherosclerosis* 96: 33–42
- Subagio A, Morita N (2001): Instability of carotenoids is a reason for their promotion on lipid oxidation. *Food Res Int* 34: 183–188
- Sui X, LaMonte MJ, Laditka JN, Hardin JW, Chase N, Hooker SP, Blair SN (2007): Cardiorespiratory fitness and adiposity as mortality predictors in older adults. *JAMA* 298: 2507–2516
- Sutherland WHF, Walker RJ, de Jong SA, van Rij AM, Phillips V, Walker HL (1999): Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 1340–1347
- Sutra T, Decorde K, Riss J, Dallas C, Cristol JP, Rouanet JM (2007): A commercial extract of fruit and vegetables, Oxxynea, acts as a powerful antiatherosclerotic supplement in an animal model by reducing cholesterolemia, oxidative stress, and NADPH oxidase expression. *J Agric Food Chem* 55: 4258–4263
- Suzuki K, Ito Y, Ochiai J, Aoki K, Wakai K, Tamakoshi A, Ando M, Watanabe Y, Ozasa K, Seki N, Nishino Y, Kondo T, Ohno Y, Tamakoshi A, Mori M, Motohashi Y, Tsuji I, Nakamura Y, Iso H, Mikami H, Hashimoto S, Inaba Y, Hoshiyama Y, Suzuki H, Shimizu H, Toyoshima H, Tokudome S, Ito Y, Kikuchi S, Koizumi A, Kawamura T, Watanabe Y, Miki T, Date C, Sakata K, Nose T, Hayakawa N, Yoshimura T, Fukuda K, Okamoto N, Shio H, Ohno Y, Kitagawa T, Kuroki T, Tajima K (2003): The relationship between smoking habits and serum levels of 8-OHdG, oxidized LDL-antibodies, Mn-SOD and carotenoids in rural Japanese residents. *J Epidemiol* 13: 29–37
- Swerdel MR, Cousins RJ (1982): Induction of kidney metallothionein and metallothionein messenger RNA by zinc and cadmium. *J Nutr* 118: 613–621
- Talegawkar SA, Johnson EJ, Carithers TC, Taylor HA, Bogle ML, Tucker KL (2007): Carotenoid intakes, assessed by food-frequency questionnaires (FFQs), are associated with serum carotenoid concentrations in the Jackson Heart Study: validation of the Jackson Heart Study Delta NRI Adult FFQs. *Public Health Nutr* 11: 989–997
- Tam LS, Li EK, Leung VY, Griffith JF, Benzie IF, Lim PL, Whitney B, Lee VW, Lee KK, Thomas GN, Tomlinson B (2005): Effects of vitamins C and E on oxidative stress markers and endothelial function in patients with systemic lupus erythematosus: a double blind, placebo controlled pilot study. *J Rheumatol* 32: 275–282
- Tardif JC, Cote G, Lesperance J, Bourassa M, Lambert J, Doucet S, Bilodeau L, Nattel S, de Guise P (1997): Probucol and multivitamins in the prevention of restenosis after coronary angioplasty. Multivitamins and Probucol Study Group. *N Engl J Med* 337: 365–372
- Tavani A, Gallus S, Negri E, Parpinel M, La Vecchia C (2006): Dietary intake of carotenoids and retinol and the risk of acute myocardial infarction in Italy. *Free Rad Res* 40: 659–664
- Tesoriere L, Butera D, Pintaudi AM, Allegra M, Livrea MA (2004): Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *Am J Clin Nutr* 80: 391–395
- Thomas SR, Neuzil J, Stocker R (1996): Cosupplementation with coenzyme Q prevents the prooxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol and increases the resistance of LDL to transition metal-dependent oxidation initiation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16: 687–696
- Thomson CA, Stendell-Hollis NR, Rock CL, Cussler EC, Flatt SW, Pierce JP (2007): Plasma and dietary carotenoids are associated with reduced oxidative stress in women previously treated for breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16: 2008–2015
- Thomson CD, Robinson MF (1996): The changing selenium status of New Zealand residents. *Eur J Clin Nutr* 50: 107–114

- Thomson CD, Robinson MF, Butler JA, Whanger PD (1993): Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.19) in blood components of New Zealand women. *Br J Nutr* 69: 577–588
- Thurnham DI, Davies JA, Crump BJ, Situnayake RD, Davis M (1986): The use of different lipids to express serum tocopherol:lipid ratios for the measurement of vitamin E status. *Ann Clin Biochem* 23: 514–520
- Tiber AM, Sakhaii M, Joffe CD, Ratnaparkhi MV (1986): Relative value of plasma copper, zinc, lipids and lipoproteins as markers for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 62: 105–110
- Title LM, Cummings PM, Giddens K, Nassar BA (2000): Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. *J Am Coll Cardiol* 36: 2185–2191
- Tomasetti M, Alleva R, Borghi B, Collins AR (2001): In vivo supplementation with coenzyme Q10 enhances the recovery of human lymphocytes from oxidative DNA damage. *FASEB J* 15: 1425–1427
- Tomoda H, Yoshitake M, Morimoto K, Aoki N (1996): Possible prevention of postangioplasty restenosis by ascorbic acid. *Am J Cardiol* 78: 1284–1286
- Törnwall ME, Virtamo J, Korhonen PA, Virtanen MJ, Taylor PR, Albanes D, Huttunen JK (2004): Effect of  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene supplementation on coronary heart disease during the 6-year post-trial follow-up in the ATBC study. *Eur Heart J* 25: 1171–1178
- Tribble DL (1999): Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E, and  $\beta$ -carotene. *Circulation* 99: 591–595
- Tribble DL, van den Berg JJM, Motchnik PA, Ames BN, Lewis DM, Chait A, Krauss RM (1994): Oxidative susceptibility of low density lipoprotein subfractions is related to their ubiquinol-10 and alpha-tocopherol content. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 1183–1187
- Tsai WC, Li YH, Lin CC, Chao TH, Chen JH (2004): Effects of oxidative stress on endothelial function after a high-fat meal. *Clin Sci* 106: 315–319
- Tsimikas S, Brilakis ES, Miller ER, McConnell JP, Lennon RJ, Kornmann KS, Witztum JL, Berger PB (2005): Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 353: 46–57
- Tsimikas S, Witztum JL (2001): Measuring circulating oxidized low-density lipoprotein to evaluate coronary risk. *Circulation* 103: 1930–1932
- Tucker KL, Chen H, Vogel S, Wilson PWF, Schaefer EJ, Lammi-Keefe CJ (1999): Carotenoid intakes, assessed by dietary questionnaire, are associated with plasma carotenoid concentrations in an elderly population. *J Nutr* 129: 438–445
- Turunen M, Wehlin L, Sjöberg M, Lundahl J, Dallner G, Brismar K, Sindelar PJ (2002): beta2-Integrin and lipid modifications indicate a non-antioxidant mechanism for the anti-atherogenic effect of dietary coenzyme Q10. *Biochem Biophys Res Commun* 296: 255–260
- Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW, Lusis AJ, Shih DM (2002): Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation* 106: 484–490
- Tyssandier V, Feillet-Coudray C, Caris-Veyrat C, Guillard JC, Coudray C, Bureau S, Reich M, Amiot-Carlin MJ, Bouteloup-Demange C, Boirie Y, Borel P (2004): Effect of tomato product consumption on the plasma status of antioxidant microconstituents and on the plasma total antioxidant capacity in healthy subjects. *J Am Coll Nutr* 23: 148–156

- Unlu NZ, Bohn T, Clinton SK, Schwartz SJ (2005): Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil. *J Nutr* 135: 431–446
- Upritchard JE, Sutherland WH, Mann JI (2000): Effect of supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 23: 733–738
- U.S. Preventive Services Task Force (2003): Routine vitamin supplementation to prevent cancer and cardiovascular disease: Recommendations and rationale. *Ann Intern Med* 139: 51–55
- Valente AJ, Rozek MM, Sprague EA, Schwartz CJ (1992): Mechanisms in intimal monocyte-macrophage recruitment. A special role for monocyte chemotactic protein-1. *Circulation* 86 (Suppl. III): 20–25
- van den Bergmortel FW, Demacker PN, Wollersheim H, Thien T, Stalenhoef AF (2000): Smoking or its cessation does not alter the susceptibility to in vitro LDL oxidation. *Eur J Clin Invest* 30: 972–979
- van de Vijver LP, Kardinaal AF, van Duyvenvoorde W, Kruijssen DA, Grobbee DE, van Poppel G, Princen HM (1998): LDL oxidation and extent of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 193–199
- van de Vijver LP, Weber C, Kardinaal AF, Grobbee DE, Princen HM, van Poppel G (1999): Plasma coenzyme Q10 concentrations are not decreased in male patients with coronary atherosclerosis. *Free Rad Res* 30: 165–172
- Van Hoydonck PG, Schouten EG, Manuel-Y-Keenoy B, van Campenhout A, Hoppenbrouwers KP, Temme EH (2004): Does vitamin C supplementation influence the levels of circulating oxidized LDL, sICAM-1, sVCAM-1 and vWF-antigen in healthy male smokers? *Eur J Clin Nutr* 58: 1587–1593
- van't Veer P, Jansen MCJF, Klerk M, Kok FJ (2000): Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. *Public Health Nutr* 3: 103–107
- Viroonudomphol D, Mahaisiriyodom A, Mingkhawn R, Sodomthian P, Korchasri N, Jittngamkhum S, Sangcakul A (2005): Relationship between serum antioxidant vitamins A, E, and C and lipid profiles in priest subjects at the Priest Hospital. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 36 (Suppl. 4): 246–253
- Virtamo J, Rapola JM, Ripatti S, Heinonen OP, Taylor PR, Albanes D, Huttunen JK (1998): Effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of primary nonfatal myocardial infarction and fatal coronary heart disease. *Arch Intern Med* 158: 668–675
- Virtamo J, Valkeila E, Alfthan G, Punsar S, Huttunen JK, Karvonen MJ (1985): Serum selenium and the risk of coronary heart disease and stroke. *Am J Epidemiol* 122: 276–282
- Voetsch B, Benke KS, Damasceno BP, Siqueira LH, Loscalzo J (2002): Paraoxonase 192 Gln → Arg Polymorphism. An independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults. *Stroke* 33: 1459–1464
- Volkovova K, Barancokova M, Kazimirova A, Collins A, Raslova K, Smolkova B, Horska A, Wsolova L, Dusinska M (2005): Antioxidant supplementation reduces inter-individual variation in markers of oxidative damage. *Free Rad Res* 39: 659–666
- Vuori IM (2001): Health benefits of physical activity with special reference to interaction with diet. *Public Health Nutr* 4: 517–528
- Wahrburg U, Assmann G (1999a): Herz- und Gefäßkrankheiten. In: Biesalski HK, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin HB: *Ernährungsmedizin*. Thieme-Verlag, Stuttgart: 391–396



- Wallström P, Wirfält E, Lahmann PH, Gullberg B, Janzon L, Berglund G (2001): Serum concentrations of  $\beta$ -carotene and  $\alpha$ -tocopherol are associated with diet, smoking, and general and central adiposity. *Am J Clin Nutr* 73: 777–785
- Wang H, Cao G, Prior RL (1997): Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J Agric Food Chem* 45: 304–309
- Wang J, Song Y, Elsherif L, Song Z, Zhou G, Prabhu SD, Saari JT, Cai L (2006): Cardiac metallothionein induction plays the major role in the prevention of diabetic cardiomyopathy by zinc supplementation. *Circulation* 113: 544–554
- Ward NC, Croft KD, Hodgson JM, Beilin LJ, Puddey IB (2002): A case control comparison of total antioxidant capacity of plasma in treated and untreated hypertensive subjects. *J Hypertens* 20 (Suppl. 4): S107
- Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SR (2003): Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci (London)* 105: 425–430
- Waring WS, Webb DJ, Maxwell SR (2001): Systemic uric acid administration increases serum antioxidant capacity in healthy volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 38: 365–371
- Waters DD, Aldermann EL, Hsia J, Howard BV, Cobb FR, Rogers WJ, Ouyang P, Thompson P, Tardif JC, Higginson L, Bittner V, Steffes M, Gordon DJ, Proschan M, Younes N, Verter JI (2002): Effects of hormone replacement therapy and antioxidant vitamin supplements on coronary atherosclerosis in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *JAMA* 288: 2432–2440
- Watkins ML, Erickson JD, Thun MJ, Mulinare J, Heath CW Jr. (2000): Multivitamin use and mortality in a large prospective study. *Am J Epidemiol* 152: 149–162
- Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M (1995): Protective effect of high-density lipoprotein associated paraoxonase. *J Clin Invest* 96: 2882–2891
- Weber P, Bendich A, Machlin LJ (1997): Vitamin E and Human Health: Rationale for determining recommended intake levels. *Nutrition* 13: 450–460
- Weisel T, Baum M, Eisenbrand G, Dietrich H, Will F, Stockis JP, Kulling S, Rufer C, Johannes C, Janzowski C (2006): An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands. *Biotechnol J* 1: 388–397
- Wen Y, Cooke T, Feely J (1997): The effect of pharmacological supplementation with vitamin C on low-density lipoprotein oxidation. *Br J Clin Pharmacol* 44: 94–97
- Wheeler JG, Keavney BD, Watkins H, Collins R, Danesh J (2004): Four paraoxonase gene polymorphisms in 11 212 cases of coronary heart disease and 12 786 controls: meta-analysis of 43 studies. *Lancet* 363: 689–695
- Winkler G, Döring A (1995): Kurzmethoden zur Charakterisierung des Ernährungsmusters: Einsatz und Auswertung eines Food-Frequency-Fragebogens. *Ernährungs-Umschau* 42: 289–291
- Winterbone MS, Sampson MJ, Saha S, Hughes JC, Hughes DA (2007): Pro-oxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol in patients with type 2 diabetes after an oral glucose tolerance test – a randomized controlled trial. *Cardiovasc Diabetol* 6: 8
- Wolters M (2001): Auswirkungen einer Nährstoffsupplementierung auf Parameter des Antioxidanzienstatus bei älteren Frauen. Dissertation Universität Hannover
- Wolters M, Hahn A (2001): Nährstoffsupplemente aus Sicht des Konsumenten. *Ernährungs-Umschau* 48: 136–141

- Wolters M, Hermann S, Hahn A (2004): Effects of 6-month multivitamin supplementation on serum concentrations of  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene, and vitamin C in healthy elderly women. *Int J Vitam Nutr Res* 74: 161–168
- Wood RJ (2000): Assessment of marginal zinc status in humans. *J Nutr* 130: 1350S–1354S
- Woodside JV, Young IS, Yarnell JWG, Roxborough HE, McMaster D, McCrum EE, Gey KF, Evans A (1999): Antioxidants, but not B-group vitamins increase the resistance of low-density lipoprotein to oxidation: a randomized, factorial design, placebo-controlled trial. *Atherosclerosis* 144: 419–427
- Woolf N (1987): The pathology of atherosclerosis with particular reference to the effects of hyperlipidaemia. *Eur Heart J* 8 (Suppl E): 3–14
- Wouters-Wesseling W, Waagenaar LW, de Groot LCPGM, Bindels JG, van Staveren WA (2003): Biochemical antioxidant levels respond to supplementation with an enriched drink in frail elderly people. *J Am Coll Nutr* 22: 232–238
- Wright ME, Lawson KA, Weinstein SJ, Pietinen P, Taylor PR, Virtamo J, Albanes D (2006): Higher baseline serum concentrations of vitamin E are associated with lower total and cause-specific mortality in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am J Clin Nutr* 84: 1200–1207
- Wu JH, Ward NC, Indrawan AP, Almeida CA, Hodgson JM, Proudfoot JM, Puddey IB, Croft KD (2007): Effects of alpha-tocopherol and mixed tocopherol supplementation on markers of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes. *Clin Chem* 53: 511–519
- Wu T, Willett WC, Rifai N, Shai I, Manson JE, Rimm EB (2006): Is plasma oxidized low-density lipoprotein, measured with the widely used antibody 4E6, an independent predictor of coronary heart disease among U.S. men and women? *J Am Coll Cardiol* 48: 973–979
- Yadrick MK, Kenney MA, Winterfeldt EA (1989): Iron, copper, and zinc status: response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females. *Am J Clin Nutr* 49: 145–150
- Ylä-Herttuala S (1992): Gene expression in atherosclerotic lesions. *Herz* 5: 270–276
- Ylönen K, Alfthan G, Groop L, Saloranta C, Aro A, Virtanen SM, Botnia Research Group (2003): Dietary intakes and plasma concentrations of carotenoids and tocopherols in relation to glucose metabolism in subjects at high risk of type 2 diabetes: the Botnia Dietary Study. *Am J Clin Nutr* 77: 1434–1441
- Yochum LA, Folsom AR, Kushi LH (2000): Intake of antioxidant vitamins and risk of death from stroke in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 72: 476–483
- Yochum L, Kushi LH, Meyer K, Folsom AR (1999): Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 149: 943–949
- Yong LC, Forman MR, Beecher GR, Graubard BI, Campbell WS, Reichman ME, Taylor PR, Lanza E, Holden JM, Judd JT (1994): 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* 60: 223–230
- Young JM, Shand BI, McGregor PM, Scott RS, Frampton CM (2006): Comparative effects of enzogenol and vitamin C supplementation versus vitamin C alone on endothelial function and biochemical markers of oxidative stress and inflammation in chronic smokers. *Free Radic Res* 40: 85–94
- Yoshizawa K, Ascherio A, Morris JS, Stampfer MJ, Giovannucci E, Baskett CK, Willett WC, Rimm EB (2003): Prospective study of selenium levels in toenails and risk of coronary heart disease in men. *Am J Epidemiol* 158: 852–860
- Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P (2000): Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 342: 154–160

- Zern TL, Wood RJ, Greene C, West KL, Liu Y, Aggarwal D, Shachter NS, Fernandez ML (2005): Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre- and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress. *J Nutr* 135: 1911–1917
- Zetkin M, Schaldach H (1999): *Lexikon der Medizin*. Ullstein Medical Verlagsgesellschaft, Wiesbaden
- Zhang P, Omaye ST (2001):  $\beta$ -carotene: interactions with  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid in microsomal lipid peroxidation. *J Nutr Biochem* 12: 38–45
- Zhao X, Aldini G, Johnson EJ, Rasmussen H, Kraemer K, Woolf H, Musaeus N, Krinsky NI, Russell RM, Yeum KJ (2006): Modification of lymphocyte DNA damage by carotenoid supplementation in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 83: 163–169
- Zhou Z, Wang L, Song Z, Saari JT, McClain CJ, Kang YJ (2005): Zinc supplementation prevents alcoholic liver injury in mice through attenuation of oxidative stress. *Am J Pathol* 166: 1681–1690
- Zino S, Skeaff M, Williams S, Mann J (1997): Randomized controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants. *BMJ* 314: 1787–1791
- Zureik M, Galan P, Bertrais S, Mennen L, Czernichow S, Blacher J, Ducimetiere P, Hercberg S (2004): Effects of long-term daily low-dose supplementation with antioxidant vitamins and minerals on structure and function of large arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 1485–1491
- Zyriax BC, Boeing H, Bamberger C, Windler E (2007): Prävention koronarer Herzkrankheit bei Frauen: Alles nur eine Frage von Vererbung und Stress? *Ernährungs-Umschau* 54: 652–659
- Zyriax BC, Boeing H, Windler E (2005): Nutrition is a powerful independent risk factor for coronary heart disease in women – The CORA Study: a population-based case-control study. *Eur J Clin Nutr* 59: 1201–1207

## 9 Anhang

### 9.1 Methoden

#### 9.1.1 Vitamin E

##### 9.1.1.1 Chemikalien

- Isopropanol (Roth, Karlsruhe)
- DL- $\alpha$ -Tocopherol (Sigma-Aldrich, Steinheim)

##### 9.1.1.2 Prinzip

Nach Fällung der Proteine im Serum wurden die enthaltenen Bestandteile mittels RP-HPLC getrennt. Die Zuordnung der Peaks im Chromatogramm erfolgte nach der Elutionszeit; anhand einer Kalibrierungsgeraden mit Standardlösung konnte die Konzentration berechnet werden.

##### 9.1.1.3 Durchführung

Die Proben wurden aufgetaut und bis zur Verwendung auf Eis gelagert. Durch Zugabe von Isopropanol wurden die Proteine ausgefällt und durch Zentrifugation getrennt. Aus dem Überstand wurde ein Aliquot in die HPLC-Anlage (Merck-Hitachi, Tokio, Japan) mit RP-Säule Pronto-Sil 120-5 C18 (Bischoff Chromatography, Leonberg) injiziert. Die Detektion erfolgte bei 280 nm mit einem L4250 UV-Detektor (Merck-Hitachi, Tokio, Japan). Nach einer Kalibrierung mit dem Standard DL- $\alpha$ -Tocopherol wurden aus den Peakflächen die  $\alpha$ -Tocopherolkonzentrationen der Proben berechnet.

V.K. Labor:	7,3 %
Wiederfindung:	91 %
Nachweisgrenze:	0,5 mg/l
Linearer Messbereich:	1,0–20,0 mg/l

#### 9.1.2 Zink

##### 9.1.2.1 Chemikalien

- Zink-Standardlösung 15,3 mmol/l (Merck, Darmstadt)

- Trichloressigsäure (Merck, Darmstadt)
- NaCl (Merck, Darmstadt)

### **9.1.2.2 Prinzip**

Die Standard- oder Probenlösung wird in einer Flamme zerstäubt. Das Licht einer Hohlkathodenlampe, dessen Wellenlänge für das zu messende Element spezifisch ist, wird durch die in der Flamme angeregten Atome um einen zu ihrer Konzentration proportionalen Anteil geschwächt. Diese Differenz wird photometrisch bestimmt und kann auf Basis von Eichkurven zur Bestimmung der Konzentration genutzt werden.

### **9.1.2.3 Durchführung**

Vom Plasma wurden 1000 µl 1:1 mit TCA versetzt und 10 Minuten lang bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein Probenröhrchen überführt und aus diesem die Analyse mit einem Flammen-Atomabsorptionsspektrometer AAS-3030B mit Autosampler AS 50 der Firma Perkin-Elmer (Hamburg) durchgeführt. Die Lösung wurde in das Gerät gesaugt und anhand der Absorption die Zinkkonzentration berechnet.

Nachweisgrenze: 0,9 µmol/l

Linearer Messbereich: <44,3 µmol/l

## **9.1.3 Selen**

### **9.1.3.1 Chemikalien**

- Selen-Standardlösung (Merck, Darmstadt)
- Salpetersäure Suprapur 65 % (Merck, Darmstadt)
- Triton X 100 (Syva, Palo Alto, USA)

### **9.1.3.2 Prinzip**

In einem Graphitrohr wird die Probe bei hoher Temperatur atomisiert und die Absorption von Licht mit spezifischer Wellenlänge durch die gasförmige Probe gemessen. Aus einer Kalbrierungskurve wird der Selengehalt berechnet.

### **9.1.3.3 Durchführung**

Aus dem Plasma wurden 200 µl entnommen und mit 400 µl 0,02 % Triton-X-100-Lösung (mit sterilem, pyrogenfreiem Wasser hergestellt) verdünnt. Ein Probenvolumen von 15 µl wurde in

das elektrothermische Atomabsorptionsspektrometer Z-8100 mit Zeeman Untergrund-Korrektur von Hitachi injiziert. Nach 60 Sekunden Trocknung bei ansteigender Temperatur bis 140 °C erfolgte die Veraschung bei bis zu 1350 °C für insgesamt 60 Sekunden. Der Atomisierungsschritt wurde bei 2800 °C für 5 Sekunden durchgeführt. Die Absorption wurde mit einer Wellenlänge von 196 nm bei einer Lampenstromstärke von 12,5 mA gemessen.

Nachweisgrenze: 0,20 µmol/l

Linearer Messbereich: <1,5 µmol/l

#### **9.1.4 FRAP**

##### **9.1.4.1 Chemikalien**

- Acetat-Puffer, pH 3,6, 300 mmol/l: 3,1 g  $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$  (Riedel de Haen, Seelze) + 16 ml Essigsäure 100 % (Merck, Darmstadt) mit Aqua bidest. auf 1000 ml aufgefüllt
- TPTZ-Lösung 10 mmol/l in 40 mmol/l HCl: 31 mg TPTZ (Eisen(III)-Tripyridyl-s-triazin, Merck, Darmstadt) in 100 µl Methanol gelöst, Zugabe von 4,9 ml Bidest und 5 ml HCl 80 mmol/l (Merck, Darmstadt)
- $FeCl_3$ -Lösung 20 mmol/l (Merck, Darmstadt)
- $FeSO_4$ -Lösung 10 mmol/l (Merck, Darmstadt)

##### **9.1.4.2 Prinzip**

Antioxidanzien im Plasma reduzieren das dreiwertige Eisen im TPTZ-Komplex zur zweiwertigen Form. Die entstehende blaue Färbung der Lösung kann photometrisch gemessen werden. Da bei dieser Methode auch im Blut vorhandene Harnsäure als Antioxidans wirkt, erfolgt eine Adjustierung der FRAP-Werte um die Harnsäurekonzentrationen.

##### **9.1.4.3 Durchführung**

Die Plasmaproben wurden kurz vor der Analyse aufgetaut, mit dem Vortex gemischt und bis zur Verwendung auf Eis gelagert. Das FRAP-Reagenz wurde vor jeder Messung aus 25 ml Acetat-Puffer, 2,5 ml TPTZ und 2,5 ml  $FeCl_3$  frisch hergestellt und bei 30 °C im Wärmeschrank inkubiert. Aus der  $FeSO_4$ -Lösung wurde eine Standardreihe mit den Konzentrationen 100, 200, 400, 600, 800 und 1000 µmol/l hergestellt.

In die wells einer Microtiterplatte (Greiner Bio-One, Frickenhausen) wurden 30 µl Bidest vorgelegt, dann 10 µl Standard, Blindwert (Acetat-Puffer) oder Plasma zugegeben. Durch

Zugabe von 300 µl FRAP-Reagenz wurde dann die Reaktion gestartet. Die Platte wurde 8 Minuten bei 30 °C im Wärmeschrank inkubiert und dann die Absorption im Microplate-Reader (Molecular Devices, Wokingham, UK) bei 585 nm gemessen. Alle Proben wurden als Doppelbestimmung analysiert.

V.K. Labor: 3,8–4,7 %

Sensitivität: 10 µmol/l

### **9.1.5 TEAC**

#### **9.1.5.1 Chemikalien**

- ABTS-Lösung (2,2-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonat) 7 mmol/l (Sigma-Aldrich, Steinheim)
- Kaliumpersulfat-Lösung 245 mmol/l (Merck, Darmstadt)
- PBS-Puffer 10 mmol/l, pH 7,4
- Trolox (Sigma-Aldrich, Steinheim)

#### **9.1.5.2 Prinzip**

Die Methode beruht auf der standardisierten Produktion von Radikalen der Substanz ABTS, deren Konzentration photometrisch bestimmt werden kann. ABTS-Radikale werden durch Antioxidanzien im Probenmaterial abgefangen, so dass die Änderung der Absorption von Licht als Maß für die antioxidative Kapazität des Probenmaterials dienen kann. Als Referenz wird synthetisches Vitamin E (Trolox) verwendet.

#### **9.1.5.3 Durchführung**

Die Plasmaproben wurden kurz vor der Analyse aufgetaut, mit dem Vortex gemischt und bis zur Verwendung auf Eis gelagert. Als Standard wurden Trolox-Lösungen mit den Konzentrationen 0, 50, 100, 150, 200 und 250 µmol/l hergestellt. Hierzu wurde erst eine 10 mmol/l Stammlösung mit Ethanol hergestellt, von der dann mit PBS-Puffer die entsprechende Lösung zubereitet wurde. Die ABTS<sup>•+</sup>-Lösung wurde durch Zugabe von Kaliumpersulfat-Lösung zur ABTS-Lösung im Verhältnis 1:100 mit anschließender Inkubation für 12–16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss hergestellt. Danach erfolgte eine Verdünnung mit PBS-Puffer auf eine Absorption im Photometer (UV/VIS Spectrometer Lambda Bio 20, Perkin Elmer, Wellesley, USA) von 0,8 bei 734 nm. Vor der Verwendung wurde die Lösung auf 30 °C temperiert. In die wells einer Microtiter-Platte (Greiner Bio-One, Frickenhausen) wurden 30 µl Standard oder Plasma vorgelegt und die Reaktion durch Zugabe

der ABTS<sup>•+</sup>-Lösung gestartet. Die Platte wurde 10 Minuten bei 30 °C inkubiert und das Ergebnis an einem Microplate-Reader (Molecular Devices, Wokingham, UK) bei 735 nm quantifiziert. Die Messungen wurden als 3-fach-Bestimmung ausgeführt.

V.K. Labor: 2,1–4,2 %

Sensitivität: 50 µmol/l

### **9.1.6 oxLDL**

#### **9.1.6.1 Chemikalien**

- Oxidized LDL Competitive ELISA (Mercodia, Uppsala, Schweden)

#### **9.1.6.2 Prinzip**

Oxidiertes LDL in der Probe konkurriert mit einer definierten Menge oxLDL, das in einer Microtiter-Platte fixiert ist, um die Bindung an spezifische Antikörper. Nach dem Auswaschen der Platte werden die gebundenen oxLDL-Antikörper-Komplexe sichtbar gemacht und die Menge photometrisch bestimmt. Die in diesem Test verwendeten Antikörper sind gegen ein oxidativ am Lysinrest modifiziertes Epitop des B-100 Apolipoproteins von LDL gerichtet.

#### **9.1.6.3 Durchführung**

Die Serumproben wurden aufgetaut und bis zur Verwendung auf Eis gelagert. Für die Analyse wurden jeweils 25 µl Probe mit 1000 µl Puffer verdünnt. In die Wells der Microtiter-Platte wurden jeweils 50 µl Probe oder Standard gegeben, anschließend 50 µl der Antikörper-Lösung. Die Platte wurde für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert und dann 6 Mal mit Pufferlösung gewaschen. Nach Zugabe von 100 µl HRP-konjugiertem Streptavidin in alle Wells wurde erneut für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend 6 Mal gewaschen. Nach dem Trocknen wurden jeweils 200 µl TMB (Tetramethylbenzidin) zugegeben, für 15 Minuten inkubiert und dann durch Hinzufügen von 50 µl 0,5 mmol/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> die Reaktion gestoppt. Die Absorption wurde an einem Microplate-Reader bei 450 nm bestimmt und anhand der Kalibrierungskurve die Konzentration der Proben berechnet.

V.K. laut Hersteller: 4,8–6,7 %

V.K. Labor: 5,7 %

Wiederfindung: 85–116 %

Linearer Messbereich: 0,5–10 U/l (nach Verdünnung 1:41)



### 9.1.7 MDA

#### 9.1.7.1 Chemikalien

- Kaliumhydrogenphosphat 20 mmol/l (Merck, Darmstadt), mit KOH (Merck, Darmstadt) auf pH 6,5 eingestellt
- TBA (Thiobarbitursäure) 1,4 % (Merck, Darmstadt)
- TFA (Trifluoressigsäure) 20 % (Merck, Darmstadt)
- BHT (2,6-Di-tert.butyl-4-Methylphenol) 10 mmol/l (Sigma-Aldrich, Steinheim) in Methanol HPLC Gradient Grade (LGC Promochem, Wesel)
- TEP-Lösung 10 µmol/l (Merck, Darmstadt)
- Fließmittel: 90 % Kaliumhydrogenphosphat 20 mmol/l (Merck, Darmstadt) + 10 % Acetonitril (Merck, Darmstadt), im Ultraschallbad entgast
- Spüllösung: 90 % Methanol HPLC Gradient Grade (LGC Promochem, Wesel) + 10 % Bidest

#### 9.1.7.2 Prinzip

Zur Konzentrationsmessung wird zuerst MDA mittels Trifluoressigsäure aus seinen Bindungen freigesetzt, woraufhin es mit Thiobarbitursäure (TBA) reagiert. Der entstehende Komplex bewirkt eine rote Färbung, die quantitativ bestimmt werden kann.

#### 9.1.7.3 Durchführung

Aus der TEP-Lösung wurde eine Standardreihe mit den Konzentrationen 0, 0,25, 0,5, 0,75, 1,0 und 1,5 µmol/l erstellt. Die Plasmaproben wurden aufgetaut und mit dem Vortex gemischt. In einem Reaktionsgefäß wurde der Probenansatz aus 200 µl Bidest, 10 µl BHT, 180 µl TFA und 250 µl TBA vorgelegt. Dann wurden 50 µl Probe, Standard (0–1,5 µmol/l) oder Bidest hinzugegeben, mit dem Vortex gemischt und für 40 Minuten bei 95 °C im Thermomixer (Eppendorf, Hamburg) inkubiert. Nach der anschließenden Zentrifugation wurde aus dem Überstand in die HPLC-Anlage (Shimadzu, Duisburg) injiziert. Diese war mit einer Lichrosorb RP 18 Säule (Phenomenex, Aschaffenburg) und mit einer Vorsäule Nova-Pak C<sub>18</sub> (Waters, Eschborn) ausgestattet. Die Messung erfolgte mit einem Fluoreszenz-Detektor RF-10AXL; die Wellenlänge zur Anregung betrug 515 nm, die Emission wurde bei 550 nm gemessen. Die Flächen der Peaks im Chromatogramm wurden anschließend mit dem Programm ClassVP 5.0 offline (Shimadzu, Duisburg) berechnet. Die Retentionszeit des MDA-TBA-Komplexes betrug

etwa 10,4 Minuten. Aus der Eichgeraden der gemessenen Standards wurden die MDA-Konzentrationen der Plasmaproben berechnet.

V.K. Labor: 5,5–11,9 %

Sensitivität: 0,05 µmol/l

### **9.1.8 Arylesterase-Aktivität**

#### **9.1.8.1 Chemikalien**

- TRIS-HCl-Puffer 80 mmol/l: 9,68 g/l Tris(Hydroxymethyl)-aminomethan (Serva, Heidelberg) (Stammlösung)
- HCl 1 mol/l (Merck, Darmstadt)
- Calciumchlorid (Merck, Darmstadt)
- Phenylacetat (Merck, Darmstadt)

#### **9.1.8.2 Prinzip**

Durch in der Serumprobe vorhandene Paraoxonase wird das Substrat Phenylacetat hydrolysiert. Der Verlauf der Reaktion wird photometrisch gemessen.

#### **9.1.8.3 Durchführung**

Aus dem TRIS-Puffer wurde eine Gebrauchslösung mit der Konzentration 20 mmol/l hergestellt. Dazu wurden 132 mg Calciumchlorid zu 250 ml Stammlösung gegeben, mit HCl auf pH 8,0 eingestellt und mit Bidest auf 1 l aufgefüllt. Die Phenylacetat-Lösung als Substrat (5 mmol/l) wurde vor der Analyse jeweils frisch hergestellt, indem 31,5 µl Phenylacetat zu 50 ml TRIS-Puffer (20 mmol/l) gegeben und 15 Minuten gemischt wurde. Vor der Verwendung wurde die Lösung für 5 Minuten bei 25 °C vorinkubiert. Die Serumproben wurden aufgetaut und bis zur Messung auf Eis gestellt. Dann wurde mit TRIS-Puffer 1:10 verdünnt. In Quarzküvetten wurden dann 10 µl des verdünnten Serums vorgelegt und die Reaktion durch Zugabe von 1000 µl Substrat gestartet. Dabei wurde für jede Probe eine Doppelbestimmung durchgeführt. Der Verlauf der Reaktion wurde über 5 Minuten im Photometer (UV/VIS Spektralphotometer Lambda Bio 20, Perkin Elmer, Welleley, USA) bei 270 nm verfolgt. Die Arylesterase-Aktivität der Paraoxonase wird pro Zeiteinheit angegeben; dabei entspricht 1 U der Hydrolyse von 1 µmol Phenylacetat pro ml Probe pro Minute [Bub et al. 2002, Aviram et al. 1998b].

V.K. Labor: 3,7–6,2 %

Sensitivität: 5 U/ml

### 9.1.9 Paraoxonase-Aktivität

#### 9.1.9.1 Chemikalien

- TRIS (Tris(Hydroxymethyl)-aminomethan) (Serva, Heidelberg)
- Natriumchlorid (Merck, Darmstadt)
- Calciumchlorid (Merck, Darmstadt)
- HCl 1 mol/l (Merck, Darmstadt)
- Paraoxon (Diethyl-p-Nitrophenylphosphat) 5 mmol/l (Sigma-Aldrich, Steinheim) in Methanol (Merck, Darmstadt)

#### 9.1.9.2 Prinzip

Im Serum vorhandene Paraoxonase hydrolysiert das Substrat Paraoxon zu Diethylphosphat und p-Nitrophenol, dessen Konzentration photometrisch bestimmt werden kann.

#### 9.1.9.3 Durchführung

Zur Herstellung des TRIS-Puffers (100 mmol/l) wurden 12,11 g Tris, 210 mg Natriumchlorid und 290 mg Calciumchlorid mit HCl auf einen pH-Wert von 8,5 eingestellt und mit Bidest auf einen Liter aufgefüllt. Die Serumproben wurden aufgetaut und bis zur Verwendung auf Eis gelagert. Vor den Messungen wurde eine Verdünnung 1:10 mit TRIS-Puffer vorgenommen; die Paraoxon-Lösung wurde bei 25 °C vorinkubiert. In einer Microtiterplatte wurden 30 µl verdünntes Serum vorgelegt, wobei jede Bestimmung dreifach ausgeführt wurde. Durch Zugabe von 270 µl Paraoxon-Lösung wurde die Reaktion gestartet und der Verlauf über 5 Minuten bei einer Wellenlänge von 405 nm im Microplate-Reader (Molecular Devices, Wokingham, UK) verfolgt. Die Paraoxonase-Aktivität des Serums wird pro Zeiteinheit angegeben, wobei 1 U der Hydrolyse von 1 nmol Paraoxon pro ml Probe pro Minute entspricht [Aviram et al. 1998b].

V.K. Labor: 6,2–8,4 %

Sensitivität: 5 U/l

## 9.1.10 PON1-Polymorphismen

### 9.1.10.1 Chemikalien

- GenomicPrep Blood DNA Isolation Kit (GE Healthcare Bio-Sciences, Uppsala, Schweden): RBC lysis solution, Cell lysis solution, Protein precipitation solution, DNA hydration solution, RNase A solution
- DNTP-Set 100 mmol/l (Deoxynucleoside Triphosphate): dATP, dCTP, dGTP, dTTP (Roche Diagnostics, Mannheim)
- DNA-Längenstandard peqGold DNA-Sizer XII (PeqLab Biotechnologies, Erlangen) 0,5 mg/ml
- Sense- und Antisense-Primer PON1-55 und PON1-192 (Roth, Karlsruhe) 51,1 pmol/µl
- Restriktionsenzym Hinf 1 (New England Biolabs, Frankfurt) 10 U/ml
- Taq DNA-Polymerase (New England Biolabs, Frankfurt) 5 U/ml
- DEPC-Lösung (Diethylpyrocarbonat): 2 ml/H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich, Steinheim)
- Thermo-Puffer (New England Biolabs, Frankfurt): 10 mmol/l KCl, 10 mmol/l (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20 mmol/l Tris HCl, 2 mmol/l MgSO<sub>4</sub>, 0,1 % TritonX-100
- TBE-Puffer: 108 g/l Trizma, 55 g/l Borsäure, 7,4 g/l EDTA (Sigma-Aldrich, Steinheim) mit HCl auf pH 7,9 eingestellt
- NEBuffer 2 (New England Biolabs, Frankfurt): 50 mmol/l NaCl, 10 mmol/l Tris-HCl, 10 mmol/l MgCl<sub>2</sub>, 1 mmol/l Dithiothreitol
- Blue Juice: 1,5 ml EDTA + 2,0 ml Glycerin, 0,4 ml Bromphenolblau (Merck, Darmstadt)
- Ethidiumbromid (Merck, Darmstadt)
- BSA (Bovine Serum Albumin) (New England Biolabs, Frankfurt)
- Isopropanol 100 % (Roth, Karlsruhe)
- Ethanol 70 % (Merck, Darmstadt)

### 9.1.10.2 Prinzip

Aus den Blutproben der Probanden wurde die enthaltene DNA isoliert und mittels PCR die für PON1-55 und PON1-192 codierenden Abschnitte vervielfältigt. Durch Restriktionsanalyse konnten dann die jeweiligen Basenkombinationen identifiziert werden.

### **9.1.10.3 Durchführung**

#### **DNA-Isolierung**

In einem Reaktionsgefäß wurden 900 µl RBC lysis solution vorgelegt und dann 300 µl EDTA-Vollblut hinzugegeben. Der Ansatz wurde gemischt und für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Zentrifugation für 20 s bei 13000 g wurde der Überstand bis auf 10 µl abpipettiert, 300 µl der cell lysis solution zugegeben und mit dem verbliebenen Inhalt wieder gemischt. Zu der entstandenen Lösung mit den lysierten Blutzellen wurden dann 100 µl der protein precipitation solution gegeben, gemischt und bei 13000 g für 3 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt, in dem 300 µl Isopropanol vorgelegt worden waren. Die Lösung wurde gemischt und 1 Minute lang bei 13000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt und die als Pellet verbliebene DNA getrocknet. Zur nochmaligen Reinigung wurden die Pellets in 70 % Ethanol gelöst, nochmals zentrifugiert, der Überstand verworfen und der Bodensatz 10 Minuten bei Raumtemperatur getrocknet. Zu der getrockneten DNA wurden 100 µl DNA Hydratationslösung gegeben und der Ansatz für 1 Stunde bei 65 °C inkubiert. Zur vollständigen Lösung der DNA wurden die Proben dann eine Woche bei 2–8 °C gelagert und im Anschluss bis zur Analyse bei –80 °C eingefroren.

#### **Durchführung der PCR**

Die DNA-Proben wurden aufgetaut und 1 s bei 5000 g zentrifugiert. Dann wurde mit DECP-Lösung auf eine Konzentration von 1 µg DNA pro 32,5 µl verdünnt. Bis zur Verwendung wurden die Proben bei 4 °C gelagert. Die Primer wurden mit DECP-Lösung auf eine Konzentration von jeweils 5 pmol/µl verdünnt und bis zur weiteren Verwendung bei –20 °C aufbewahrt. Die Reaktionslösung für jede DNA-Probe wurde wie folgt zusammengestellt: 4 µl DNTP-Lösung, 5 µl Thermo Puffer, 2 µl Primer 192s, 2 µl Primer 192as, 2 µl Primer 55s, 2 µl Primer 55as, 0,5 µl Taq-Polymerase. Nach Zugabe zu den 32,5 µl DNA-Probe wurde vorsichtig gemischt, bei 5000 g zentrifugiert und der Ansatz für die Durchführung der PCR in den Thermocycler (Research Inc., Waltham, USA) gegeben. Dort wurde nach einer ersten Denaturierung der DNA über 180 s der Reaktionszyklus 39 Mal durchlaufen.

#### **Restriktionsanalyse**

Zu 17,3 µl des PCR-Reaktionsgemisches wurden 2 µl NEBuffer 2, 0,2 µl BSA und 0,5 µl Hinf1 gegeben und für 3 Stunden bei 38 °C inkubiert. Für die Gelelektrophorese wurde ein 3,5%iges TBE-Agarosegel verwendet. Neben den Proben wurde ein DNA-Längenstandard auf das Gel aufgetragen. Proben und Standard wurden mit Blue Juice farbig markiert. Die Laufzeit der Elektrophorese betrug 3,5 h bei 70 Volt. Im Anschluss wurden die DNA-Banden 45 Minuten lang mit Ethidiumbromid gefärbt und weitere 45 Minuten in destilliertem Wasser gespült. Die

Auswertung der erhaltenen Bandenmuster erfolgte nach UV-Anregung bei 520 nm mit einem Fluor-S Multiimager (Bio-Rad, München).

Mittels DNA-Längenstandard wurden die Banden den entsprechenden Standards zugeordnet und aufgrund der Laufweite auf die Größe der DNA-Fragmente geschlossen.

## 9.2 Ergebnisse

### 9.2.1 Übersichtstabellen

Tabelle 63: Korrelationen zwischen Antioxidanzien-Markern zu t0 im Gesamtkollektiv

	FRAP	FRAP/ Urate	oxLDL (n=102)	oxLDL/ LDL (n=102)	MDA	ARY	POX
TEAC	r=0,141 p=0,119	r <sub>S</sub> =-0,132 p=0,146	r=-0,041 p=0,681	r=-0,093 p=0,352	r=0,059 p=0,516	r=-0,026 p=0,775	r <sub>S</sub> =0,116 p=0,202
FRAP	X	r <sub>S</sub> =0,045 p=0,624	r=0,145 p=0,147	r=0,125 p=0,209	r=0,235 <b>p=0,009</b>	r=-0,060 p=0,508	r <sub>S</sub> =-0,110 p=0,227
FRAP/Harns.	X	X	r <sub>S</sub> =0,112 p=0,264	r <sub>S</sub> =0,214 <b>p=0,031</b>	r <sub>S</sub> =0,189 <b>p=0,036</b>	r <sub>S</sub> =-0,146 p=0,106	r <sub>S</sub> =-0,045 p=0,621
oxLDL (n=102)	X	X	X	r=0,369 <b>p&lt;0,001</b>	r=0,428 <b>p&lt;0,001</b>	r=0,173 p=0,082	r <sub>S</sub> =0,117 p=0,241
oxLDL/ LDL (n=102)	X	X	X	X	r=0,113 p=0,258	r=-0,082 p=0,411	r <sub>S</sub> =0,131 p=0,191
MDA	X	X	X	X	X	r=0,167 p=0,066	r <sub>S</sub> =0,008 p=0,929
ARY	X	X	X	X	X	X	r <sub>S</sub> =0,298 <b>p=0,001</b>

Tabelle 64: Korrelationen zwischen Nährstoffkonzentrationen und Antioxidanzien-Markern zu t0 im Gesamtkollektiv

	VitE absolut	VitE/ TC+TG	Zink	Selen
TEAC	r=-0,131 p=0,148	r=-0,087 p=0,337	r=0,065 p=0,473	r=-0,032 p=0,723
FRAP	r=0,330 <b>p&lt;0,001</b>	r=0,191 <b>p=0,035</b>	r=0,035 p=0,703	r=0,001 p=0,992
FRAP/Harns.	r <sub>s</sub> =0,209 <b>p=0,020</b>	r <sub>s</sub> =0,112 p=0,219	r <sub>s</sub> =-0,124 p=0,170	r <sub>s</sub> =0,134 p=0,141
oxLDL (n=102)	r=0,515 <b>p&lt;0,001</b>	r=-0,054 p=0,592	r=0,075 p=0,456	r=-0,033 p=0,745
oxLDL/ LDL (n=102)	r=-0,037 p=0,708	r=-0,127 p=0,202	r=0,015 p=0,879	r=-0,085 p=0,398
MDA	r=0,385 <b>p&lt;0,001</b>	r=0,007 p=0,938	r=0,008 p=0,933	r=0,078 p=0,390
ARY	r=0,174 p=0,054	r=-0,089 p=0,329	r=-0,145 p=0,109	r=0,038 p=0,675
POX	r <sub>s</sub> =0,032 p=0,729	r <sub>s</sub> =-0,054 p=0,556	r <sub>s</sub> =-0,082 p=0,370	r <sub>s</sub> =-0,089 p=0,330
Vit. E absolut	X	r=0,601 <b>p&lt;0,001</b>	r=-0,018 p=0,843	r=0,074 p=0,417
Vit. E/ TC+TG	X	X	r=-0,103 p=0,259	r=0,001 p=0,993
Zink	X	X	X	r=0,133 p=0,142



Tabelle 65: Korrelationen zwischen Veränderungen von Antioxidanzien-Parametern in Gruppe 2 (Verumgruppe) (n=66) im Studienverlauf

	$\Delta$ FRAP	$\Delta$ FRAP/ Urate	$\Delta$ oxLDL (n=55)	$\Delta$ oxLDL/ LDL (n=55)	$\Delta$ MDA	$\Delta$ ARY	$\Delta$ POX
$\Delta$ TEAC	r=-0,073 p=0,561	r=-0,007 p=0,956	r=0,029 p=0,832	r=0,054 p=0,697	r=0,179 p=0,151	r=-0,037 p=0,767	r=-0,040 p=0,750
$\Delta$ FRAP	X	r=0,299 <b>p=0,015</b>	r=0,202 p=0,140	r=0,234 p=0,086	r=0,258 <b>p=0,036</b>	r=-0,027 p=0,831	r=0,060 p=0,633
$\Delta$ FRAP/ Harns.	X	X	r=0,035 p=0,798	r=0,108 p=0,435	r=0,305 <b>p=0,013</b>	r=0,128 p=0,307	r=0,057 p=0,647
$\Delta$ oxLDL (n=55)	X	X	X	r=0,436 <b>p=0,001</b>	r=0,239 p=0,078	r=0,252 p=0,064	<b>r=0,322</b> <b>p=0,017</b>
$\Delta$ oxLDL/ LDL (n=55)	X	X	X	X	r=-0,172 p=0,209	r=-0,029 p=0,833	r=0,097 p=0,482
$\Delta$ MDA	X	X	X	X	X	r=0,151 p=0,227	r=0,079 p=0,530
$\Delta$ ARY	X	X	X	X	X	X	r=0,173 p=0,164

Tabelle 66: Korrelationen zwischen Nährstoffkonzentrationen und Antioxidanzien-Markern zu t0 in Gruppe 2 (Verumgruppe) (n=66)

	VitE absolut	VitE/ TC+TG	Zink	Selen
TEAC	r=-0,113 p=0,367	r=-0,032 p=0,800	r=0,172 p=0,170	r=0,080 p=0,527
FRAP	r=0,213 p=0,086	r=0,021 p=0,868	r=-0,053 p=0,673	r=-0,186 p=0,139
FRAP/Harns.	r=0,330 <b>p=0,007</b>	r=0,277 <b>p=0,024</b>	r=-0,208 p=0,097	r=0,175 p=0,164
oxLDL (n=55)	r=0,366 <b>p=0,006</b>	r=-0,110 p=0,422	r=0,051 p=0,715	r=-0,150 p=0,279
oxLDL/ LDL (n=55)	r=-0,157 p=0,251	r=-0,054 p=0,695	r=-0,041 p=0,769	<b>r=-0,397</b> <b>p=0,003</b>
MDA	r=0,375 <b>p=0,002</b>	r=0,099 p=0,428	r=0,111 p=0,378	r=0,065 p=0,605
ARY	r=0,268 <b>p=0,030</b>	r=0,136 p=0,275	r=0,017 p=0,890	r=-0,107 p=0,395
POX	r=0,171 p=0,170	r=0,080 p=0,524	r=-0,057 p=0,653	r=-0,075 p=0,552
Vit. E absolut	X	r=0,487 <b>p&lt;0,001</b>	r=0,052 p=0,683	r=0,196 p=0,117
Vit. E/ TC+TG	X	X	r=-0,042 p=0,739	r=0,172 p=0,172
Zink	X	X	X	r=0,106 p=0,400

### 9.2.2 PON-1-Polymorphismen und Antioxidanzienmarker

Weder für die absoluten (Tabelle 67) noch für die harnsäurekorrigierten (Tabelle 66) FRAP-Werte zeigte die einfaktorielle ANOVA signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Untergruppen.

Auch die Veränderungen im Studienverlauf waren weder in der Verum- noch in der Placebogruppe signifikant verschieden zwischen den einzelnen Untergruppen (Tabelle 68 und Tabelle 70).

Tabelle 67: FRAP nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122)

FRAP [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	824,6 $\pm$ 167,8	836,7 $\pm$ 137,2	815,1 $\pm$ 65,1
	LM	861,0 $\pm$ 160,7	754,6 $\pm$ 125,7	-
	MM	725,7 $\pm$ 149,6	828,8 $\pm$ 108,3	932,3

Tabelle 68: Veränderungen der FRAP-Werte [ $\mu\text{mol/l}$ ] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122)

Placebogruppe				
FRAP [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+59,18 $\pm$ 168,7	-24,33 $\pm$ 154,5	+47,92 $\pm$ 71,6
	LM	+9,24 $\pm$ 134,1	+44,26 $\pm$ 110,1	-
	MM	+77,93 $\pm$ 46,9	+50,23 $\pm$ 160,7	-
Verumgruppe				
FRAP [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	-3,49 $\pm$ 120,9	+77,35 $\pm$ 129,9	-10,75 $\pm$ 45,2
	LM	-20,55 $\pm$ 113,7	+31,01 $\pm$ 107,2	-
	MM	+11,40 $\pm$ 122,7	-20,60 $\pm$ 88,7	+104,70

Tabelle 69: FRAP/Harnsäure nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122)

FRAP/Harnsäure		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	2,20 ± 0,21	2,24 ± 0,26	2,23 ± 0,20
	LM	2,27 ± 0,34	2,21 ± 0,36	-
	MM	2,28 ± 0,23	2,21 ± 0,20	2,24

Tabelle 70: Veränderungen der harnsäurekorrigierten FRAP-Werte im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122)

Placebogruppe				
FRAP/Harnsäure		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+0,04 ± 0,5	-0,13 ± 0,2	+0,13 ± 0,3
	LM	-0,13 ± 0,4	-0,01 ± 0,2	-
	MM	-0,10 ± 0,3	-0,08 ± 0,2	-
Verumgruppe				
FRAP/Harnsäure		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+0,09 ± 0,2	+0,10 ± 0,3	+0,07 ± 0,22
	LM	+0,02 ± 0,3	+0,06 ± 0,4	-
	MM	+0,10 ± 0,2	-0,10 ± 0,2	+0,23

Tabelle 71: TEAC nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122)

TEAC [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	2256,1 $\pm$ 116,8	2295,5 $\pm$ 94,1	2315,7 $\pm$ 112,3
	LM	2282,9 $\pm$ 96,2	2303,4 $\pm$ 94,0	-
	MM	2268,5 $\pm$ 84,2	2285,2 $\pm$ 70,7	2284,0

Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss der Polymorphismen-Kombination auf die TEAC-Werte zu t0 im Gesamtkollektiv (Tabelle 68). Auch die Veränderungen im Verlauf der Studie waren keinem signifikanten Einfluss durch die Polymorphismus-Kombination ausgesetzt (Tabelle 72).

Tabelle 72: Veränderungen der TEAC-Werte [ $\mu\text{mol/l}$ ] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122)

Placebogruppe				
TEAC [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+22,20 $\pm$ 123,0	+59,73 $\pm$ 67,8	+9,50 $\pm$ 125,5
	LM	-24,46 $\pm$ 79,0	+39,00 $\pm$ 117,1	-
	MM	-47,67 $\pm$ 62,5	-69,67 $\pm$ 52,9	-
Verumgruppe				
TEAC [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+83,67 $\pm$ 171,8	+28,25 $\pm$ 112,2	+40,25 $\pm$ 82,1
	LM	+47,21 $\pm$ 126,7	+30,44 $\pm$ 151,0	-
	MM	-10,00 $\pm$ 73,2	+158,50 $\pm$ 300,5	-176,00

Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss der Polymorphismen-Kombination auf die MDA-Konzentration (Tabelle 73) zu t0 im Gesamtkollektiv. Auch die Veränderungen im Verlauf der Studie innerhalb von Verum- bzw. Placebogruppe wurden nicht signifikant durch die Polymorphismus-Kombination beeinflusst (Tabelle 74).

Tabelle 73: MDA nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=122)

MDA [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	0,89 $\pm$ 0,34	0,98 $\pm$ 0,26	0,86 $\pm$ 0,27
	LM	0,99 $\pm$ 0,27	0,85 $\pm$ 0,24	-
	MM	0,84 $\pm$ 0,27	1,22 $\pm$ 0,58	1,37

Tabelle 74: Veränderungen der MDA-Konzentrationen [ $\mu\text{mol/l}$ ] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=122)

Placebogruppe				
MDA [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+0,37 $\pm$ 0,3	+0,26 $\pm$ 0,3	+0,14 $\pm$ 0,2
	LM	+0,23 $\pm$ 0,4	+0,45 $\pm$ 0,9	-
	MM	+0,20 $\pm$ 0,2	-0,04 $\pm$ 0,5	-
Verumgruppe				
MDA [ $\mu\text{mol/l}$ ]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+0,12 $\pm$ 0,2	+0,39 $\pm$ 0,5	+0,31 $\pm$ 0,4
	LM	+0,10 $\pm$ 0,4	+0,38 $\pm$ 0,4	-
	MM	+0,10 $\pm$ 0,3	+0,44 $\pm$ 0,4	-0,02

Die Messung der oxLDL-Konzentrationen erfolgte nur in einem Teilkollektiv von 102 Personen. Von diesen konnte in einem Fall nicht der PON1-Genotyp bestimmt werden, so dass für die Auswertung 101 Teilnehmer zur Verfügung standen. Die Verteilung auf die jeweiligen kombinierten Genotypen ist in Tabelle 75 dargestellt.

Tabelle 75: Häufigkeiten der Polymorphismen-Kombinationen für oxLDL Serie 1-3 (n = 101)

Placebogruppe				
		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	4	10	5
	LM	12	10	-
	MM	3	2	-
Verumgruppe				
		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	9	7	2
	LM	17	12	-
	MM	6	2	-

Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss der Polymorphismen-Kombination auf die oxLDL-Spiegel zu t0 im Gesamtkollektiv (Tabelle 76). Innerhalb von Verum- bzw. Placebogruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Veränderung der oxLDL-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Polymorphismen-Kombination (Tabelle 77).

Tabelle 76: oxLDL nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=101)

oxLDL [U/l]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	68,1 ± 16,5	69,9 ± 21,3	69,7 ± 11,4
	LM	68,2 ± 14,5	66,6 ± 14,5	-
	MM	71,3 ± 18,9	82,8 ± 14,2	-

Tabelle 77: Veränderungen der oxLDL-Konzentration [U/l] im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=101)

Placebogruppe				
oxLDL [U/l]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	-7,25 ± 9,8	-11,20 ± 15,2	-4,20 ± 13,3
	LM	-9,00 ± 10,1	-6,30 ± 7,45	-
	MM	-19,00 ± 5,6	-5,50 ± 9,2	-
Verumgruppe				
oxLDL [U/l]		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	-5,00 ± 19,0	-10,71 ± 12,7	-9,00 ± 7,1
	LM	-11,24 ± 10,4	-7,42 ± 11,9	-
	MM	-7,50 ± 7,5	-8,00 ± 11,3	-



Auch für die LDL-korrigierten Konzentrationen an oxLDL zeigte die einfaktorielle ANOVA keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Untergruppen zum Zeitpunkt t0 im Gesamtkollektiv (Tabelle 78). Auch die Veränderungen während der Studie waren weder in Placebo- noch Verumgruppe signifikant unterschiedlich in Abhängigkeit vom kombinierten Genotyp (Tabelle 79).

Tabelle 78: oxLDL/LDL nach kombinierten PON1-Polymorphismen (n=101)

oxLDL/LDL		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	17,3 ± 4,1	18,3 ± 5,2	18,7 ± 3,6
	LM	17,4 ± 3,0	18,4 ± 4,3	-
	MM	17,5 ± 2,2	20,9 ± 2,8	-

Tabelle 79: Veränderungen der oxLDL-Konzentrationen bezogen auf LDL im Studienverlauf nach kombinierten PON1-Polymorphismen in beiden Untersuchungsgruppen (n=101)

Placebogruppe				
oxLDL/LDL		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	-2,25 ± 4,1	-2,60 ± 4,7	+0,39 ± 4,4
	LM	-2,22 ± 3,0	-1,10 ± 3,5	-
	MM	-2,84 ± 1,1	+0,76 ± 2,8	-
Verumgruppe				
oxLDL/LDL		PON1-192		
		QQ	QR	RR
PON1-55	LL	+0,71 ± 3,7	-1,94 ± 3,2	-2,73 ± 2,8
	LM	-1,87 ± 2,4	-1,74 ± 2,7	-
	MM	-1,58 ± 1,2	+0,91 ± 0,4	-

## Lebenslauf

### Angaben zur Person

*Name:* Olaf Hülsmann

*Anschrift:* Grünbaumstr. 85,  
42659 Solingen

*Geburtsdatum:* 26.02.1972

*Geburtsort:* Kempen-Hüls

*Staatsangehörigkeit:* deutsch

*Familienstand:* ledig

### Tätigkeiten

Ab 01/2007 Mitarbeiter in der Abteilung Produktentwicklung und Regulatory Affairs, Orthomol pharmazeutische Vertriebs GmbH, Langenfeld

02/2003 – 12/2006 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Lebensmittelwissenschaft der Universität Hannover, Fachgebiet Ernährungsphysiologie & Humanernährung

10/2002 – 01/2003 Leiter Forschung & Entwicklung, Firma La Vie Gesundheitsprodukte, Wiesbaden

06/2001 – 09/2002 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Ernährungswissenschaft der Universität Gießen, Schwerpunkt „Ernährungsphysiologische Bewertung von Lebensmitteln“

**Studium**

- 10/1995 – 04/2001      Haushalts- & Ernährungswissenschaft,  
Justus-Liebig-Universität Gießen  
*Betriebspraktika:*
- Naturawerk Gebr. Hiller, Hannover
  - Institut für Sporternährung, Bad Nauheim
  - Institut für Lebensmittelwissenschaft der Universität Hannover,  
Fachgebiet Ernährungsphysiologie & Humanernährung
- 04/1996 – 09/2002      Sportwissenschaft M.A.,  
Justus-Liebig-Universität Gießen

**Ausbildung**

- 08/1992 – 01/1995      Industriemechaniker, Fachrichtung Maschinen- und Systemtechnik  
Pelikan Produktionsgesellschaft Hannover

**Zivildienst**

- 07/1991 – 07/1992      Landschaftspflege  
Zweckverband Naherholungsgebiet Neandertal

**Schulbildung**

- 1984 – 1991      Gymnasium Isernhagen  
1982 – 1984      Orientierungsstufe Altwarmbüchen  
1978 – 1982      Grundschule Altwarmbüchen

## Publikationen

### Originalarbeiten

Kressel G, Trunz B, Bub A, Hülsmann O, Wolters M, Lichtinghagen R, Stichtenoth O, Hahn A: Systemic and vascular markers of inflammation in relation to metabolic syndrome and insulin resistance in adults with elevated atherosclerosis risk. *Atherosclerosis* 2009; 202 (1) 263-271

Schmitt B, Wolters M, Kressel G, Hülsmann O, Ströhle A, Kühn-Velten WN, Lichtinghagen R, Bub A, Barth SW, Stichtenoth DO, Hahn A: Effects of combined supplementation with B vitamins and antioxidants on plasma levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in subjects with elevated risk for cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2007; 193 (1) 168 – 176

Hülsmann O, Hahn A: Nährstoffe und „Ergogene Substanzen“ für Sportler – zwischen Erwartung und Wirklichkeit. *Schweiz Z Ernährungsmed* 2006; 4 (2) 30–39

Hahn A, Winters J, Hülsmann O, Ritter G: Lebensmittelrechtliche und ernährungsphysiologische Anforderungen an „Sportlernahrungen“. *ZLR* 2004; 31: 531–552

### Poster und Abstracts

Kressel G, Trunz B, Hülsmann O, Bub A, Lichtinghagen R, Hahn A: Einfluss einer Nährstoffsupplementierung auf neue Risikofaktoren (hsCRP, sVCAM, sICAM, PAI-1) der Atherosklerose. *Proc Germ Nutr Soc* 2007; 10: 38

Kressel G, Wolters M, Schmitt B, Hülsmann O, Bub A, Lichtinghagen R, Hahn A: Indikatoren der Inflammation, Adhäsion und Gerinnung in Relation zur Insulinresistenz bei einem Kollektiv mit erhöhtem Atherosklerose-Risiko. *Diabetologie und Stoffwechsel* 2006, 124

Hülsmann O, Schmitt B, Wolters M, Kressel G, Bub A, Hahn A: Effekte einer Supplementierung mit Vitaminen, Mineralstoffen und Omega-3-Fettsäuren auf funktionelle Marker der antioxidativen Kapazität und Lipidperoxidation von Personen mit erhöhtem Atherosklerose-Risiko. *Proc Germ Nutr Soc* 2006; 8: 47

Schmitt B, Wolters M, Kressel G, Hülsmann O, Barth SW, Bub A, Hahn A: Einfluss einer Multinährstoffmischung auf die Plasma-Homocysteinkonzentration (tHcy) unter Berücksichtigung des MTHFR-Genotyps bei Personen mit erhöhtem kardiovaskulären Risiko. *Proc Germ Nutr Soc* 2006; 8: 67

## Erklärung zur Dissertation

Hierdurch erkläre ich, dass die Dissertation „Effekte einer Nährstoffkombination auf Parameter des antioxidativen Stoffwechsels bei Personen mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko“ selbstständig verfasst und alle benutzten Hilfsmittel sowie evtl. zur Hilfeleistung herangezogene Institutionen vollständig angegeben wurden.

Die Dissertation wurde nicht schon als Diplom- oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet.

Hannover, den 19.11.2008

---

(Unterschrift)

Name: Olaf Hülsmann