

Aus dem Institut für Biochemie und Molekularbiologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. H. Sies

Einfluss von Ernährungsgewohnheiten auf den Antioxidantienstatus

bei gesunden Menschen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Timur Anlasik

2009

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Dekan

Referentin: Prof. Dr. Dr. Maria Cristina Polidori - Nelles

Korreferent: Priv. Doz. Dr. med. Rainer Freynhagen

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung

1.1	Der Alterungsprozess - Definition und Epidemiologie	1
1.2	Alterungstheorien und „Free radical theory of aging“	2 - 5
1.3	Antioxidantien und Biomarker	5 - 6
1.4	Antioxidantienprofile im Plasma	7
1.5	Untersuchte Antioxidantien	
1.5.1	Carotinoide	8 - 9
1.5.2	α- und γ-Tokopherol (Vitamin E)	9
1.5.3	Ascorbinsäure (Vitamin C)	10
1.6	Produkte der Schädigung durch freie Radikale	
1.6.1	Malondialdehyd (MDA) als Biomarker	10 - 11
1.6.2	Proteincarbonyle als Biomarker	11
1.7	Antioxidantien, Ernährung und Krankheit	12
1.8	Fragestellung	13

2 Studiendesign und Methoden

2.1	Studiendesign	14 - 17
2.2	Methoden	
2.2.1	IgG Proteincarbonylanalytik	17 - 21
2.2.2	Malondialdehydanalytik	22 - 24
2.2.3	Carotinoid- und Tokopherolanalytik	24 - 27
2.2.4	Ascorbinsäureanalytik	28 - 29
2.3	Statistische Analyse	30

3	Ergebnisse - Konzentration von Antioxidantien, IgG Proteincarbonylen und Malondialdehyd im Blut gesunder Probanden	
3.1	HI Gruppe versus LI Gruppe	31 - 37
3.2	Geschlechtsspezifische Subgruppenanalyse	
3.2.1	Frauen: HI Gruppe versus LI Gruppe	38 - 41
3.2.2	Männer: HI Gruppe versus LI Gruppe	42 - 47
3.2.3	Männer AI Gruppe versus Frauen AI Gruppe	48 - 50
3.3	Altersspezifische Subgruppenanalyse	
3.3.1	AI Gruppe < 65 J versus AI Gruppe > 65 J	50 - 53
3.3.2	Probanden < 65 J: HI Gruppe versus LI Gruppe	53 - 55
3.3.3	Probanden > 65 J: HI Gruppe versus LI Gruppe	56 - 61
3.4	Korrelationen zwischen dem Alter, Antioxidantien und der Ernährungsweise	61 - 62
4	Diskussion	63 - 80
5	Zusammenfassung	81
6	Literaturverzeichnis	82 - 90
7	Lebenslauf	91
8	Danksagung	92
9	Abstrakt	93

1 Einleitung

1.1 Der Alterungsprozess - Definition und Epidemiologie

Präventivmedizinische Maßnahmen rücken bei steigenden Kosten im deutschen Gesundheitswesen ins Zentrum des Interesses und werden als ein wichtiger Faktor zu Verbesserung der Volksgesundheit angesehen. Die zunehmende Vergreisung unserer Gesellschaft und die daraus resultierenden explosionsartig ansteigenden Kosten haben für die Gesellschaft deutlicher an Bedeutung und Interesse gewonnen als jemals zuvor. Dabei haben demographische Experten schon vor einigen Jahren prognostiziert, dass die Erde im Jahr 2050 von rund 2,5 Milliarden Menschen jenseits des 65. Lebensjahres bevölkert sein wird, wovon ein großer Teil dann 80 Jahre und älter sein wird. Dies wird vor allem ein Problem der Industrienationen sein, da Schätzungen ergeben haben, dass die Anzahl der Menschen in einem Alter von 60 Jahren sich von derzeit 19 % auf ungefähr 40 % im Jahr 2050 steigern wird (Tinker, 2002). Laut einer Hochrechnung des amerikanischen Instituts für demographische Erhebungen („US Census Bureau“) wird die Gruppe sehr alter Menschen im Jahr 2050 8 bis 10 mal größer sein als noch im Jahr 1950.

Bis heute ist sehr wenig über die Ursachen des Alterungsprozesses bekannt.

Hayflick beschreibt den physiologischen Alterungsprozess des Menschen wie folgt:

“Die Summe aller Veränderungen, die in einem Organismus während seines Lebens auftreten und zu einem Funktionsverlust von Zellen, Geweben, Organen und schließlich zum Tod führen” (Hayflick, 2007).

1.2 Alterungstheorien und „Free radical theory of aging“

Der Alterungsprozess ist ein uneinheitlicher, kontinuierlicher, aber modulierbarer Prozess, der durch die Akkumulation von Veränderungen charakterisiert ist, die das höhere Alter begleiten. Damit assoziiert ist ein erhöhtes Risiko für Krankheit und Tod (Ashok und Ali, 1999). Es existieren zahlreiche Theorien, um Veränderungen im Alterungsprozess zu erklären (Medvedev et al., 1990; Warner et al., 1986). Keine Theorie ist jedoch in der Lage, den Alterungsprozess alleine zu erklären. Die gegenwärtigen Theorien können in 4 Gruppen eingeteilt werden: die molekularen, die zellulären, die systemischen und die evolutionären Theorien.

Tabelle 1.1: Übersicht der Alterungstheorien (Timiras, 2002)

Molekulare Theorien	Kodon-Restriktionstheorie	Mit dem Alter zunehmende Fehler bei der mRNA Dekodierung
	Somatische Mutationstheorie	Durch Umweltfaktoren bedingte Akkumulation von Mutationen in der DNA
	Fehler-Katastrophentheorie	Fehler beim Informationstransfer durch Änderungen der RNA-Polymerase und der tRNA-Synthetase und daraus resultierende vermehrte Bildung funktionseingeschränkter Proteine
	Genregulationstheorie	Veränderungen der Expression von Genen, die sowohl die Entwicklung als auch den Alterungsprozess steuern
	Fehldifferenzierungstheorie	Gestörte Genexpression durch Akkumulation von zufälligen Proteinschäden
Zelluläre Theorien	Strapazierungstheorie	Kummulative Schäden an lebenswichtigen Organen durch extrinsische und intrinsische Faktoren
	„Free radical theory of aging“ Mitochondriale Theorie der Zellalterung	Funktionsstörung der Zelle durch freie Radikale des oxidativen Metabolismus in Mitochondrien mit daraus resultierender DNA-, Protein-, Kohlenhydrat- und Lipidschädigung
	Apoptosetheorie	Systematisches Absterben von Zellen eines

Einleitung

		Organismus als Folge einer genetisch festgelegten Kaskade (programmierter Zelltod)
Systemische Theorien	Lebensratentheorie	Limitierung der Lebensspanne aufgrund einer festgelegten Anzahl an Kalorien oder Herzschlägen
	Neuroendokrine Theorie	Veränderungen der Sensitivität und/oder Anzahl einiger neuroendokriner Rezeptoren, die zu homeostatischen Veränderungen führen
	Immunologische Alterungstheorie	Verlust der Effizienz der Immunabwehr mit konsekutiv vermehrten Infektionen und Autoimmunerkrankungen
Evolutionäre Theorien	Antagonistische Pleiotropie-Theorie	Allele mit positivem Effekt in jungen Jahren haben einen negativen Effekt in höherem Alter
	Mutations-Akkumulationstheorie	Ansammlung von Mutationen über das Leben, letztlich mit Funktionsverlust und Krankheit

Die „Free radical theory of aging“ ist eine Theorie, die in weiten Teilen eine Verbindung zwischen den Alterungstheorien herstellt und viele der beobachteten Effekte zu erklären vermag.

Bereits zu Beginn des letzten Jahrhunderts fand der deutsche Physiologe Max Rubner heraus, dass die Spezies der Säugetiere mit höheren Stoffwechselraten eine kürzere maximale Lebenserwartung aufwiesen. Er formulierte die Hypothese, dass die maximale Lebenserwartung und der Energieverbrauch miteinander korreliert wären. Im Jahre 1956 hat Dornham Harman dann die „Free radical theory of aging“ publiziert (Harman, 1956). Sauerstoff spielt eine zentrale Rolle in der Bioenergetik. Die vollständige Reduktion des Sauerstoffs zu Wasser bei gleichzeitiger Oxidation von Wasserstoffdonatoren ist die energieliefernde Reaktion aeroben Lebens im Prozess der oxidativen Phosphorylierung. Der Wasserstoff wird in Form von NADH und FADH₂ bereitgestellt, die vornehmlich aus dem Citratzyklus stammen. Bei unvollständiger Reduktion (1 – Elektronen - Reduktion des Sauerstoffs) wird das

Superoxidradikalanion als Nebenprodukt der Atmungskette gebildet. In einer Reihe von enzymatischen und nichtenzymatischen Folgereaktionen können aus dem Superoxidradikalanion weitere Radikale und andere reaktive Intermediate gebildet werden (Tabelle 2). Diese und weitere reaktive Verbindungen wie Stickstoffmonoxid werden aber auch unabhängig von der Atmungskette gebildet. Zudem werden in biologischen Systemen auch die elektronisch angeregten Zustände des Sauerstoffs wie Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$) und reaktive Carbonylverbindungen generiert, die eine Rolle bei Photooxygenierungsreaktionen spielen. Aufgrund ihres Reaktionsverhaltens werden die genannten Intermediate unter der Bezeichnung reaktive Sauerstoffverbindungen (Reactive Oxygen Species = ROS) zusammengefasst. ROS besitzen die Fähigkeit, biologische Makromoleküle wie DNA, Lipide, Kohlenhydrate und Proteine zu schädigen. ROS können entweder Radikale sein oder reaktive nichtradikalische Verbindungen (Tabelle 1.2).

Tabelle 1.2: Reaktive Sauerstoffverbindungen (Reactive oxygen species, ROS), reaktive Stickstoffverbindungen (Reactive nitrogen species, RNS), reaktive Chlorverbindungen (Reactive chlorinating species, RCS) (Halliwell und Gutteridge, 2007)

Radikale	Konventionszeichen
Superoxidradikal	$\text{O}_2^{\cdot -}$
Hydroxylradikal	OH^{\cdot}
Alkoxyradikal	RO^{\cdot}
Peroxyradikal	ROO^{\cdot}
Hydroperoxyradikal	HOO^{\cdot}
Stickstoffmonoxid	NO^{\cdot}
Wasserstoffatom	H^{\cdot}
Nicht-Radikale	
Sauerstoffmolekül	O_2
Singulett-Sauerstoff	$^1\text{O}_2$
Ozon	O_3
Wasserstoffperoxid	H_2O_2
Peroxynitrit	ONOO^-
Hypochlorige Säure	HOCl
Hypobromige Säure	HOBr

ROS werden in der mitochondrialen Elektronentransportkette, während des Fettsäuremetabolismus in den Peroxisomen, im mikrosomalen P₄₅₀-Enzymsystem der Leber und durch die Immunabwehr produziert.

1.3 Antioxidantien und Biomarker

Der Organismus verfügt über ein komplexes Verteidigungssystem zur Abwehr von ROS-induzierten Schäden. Dazu gehören Proteine, die durch Bindung von Übergangsmetallionen die Bildung von ROS verhindern und enzymatische sowie nichtenzymatische Abfangreaktionen. Antioxidativ wirksame Mikronährstoffe interagieren mit den reaktiven Intermediaten und detoxifizieren sie in chemischen oder physikalischen Reaktionen. Die Situation des oxidativen Stress beschreibt eine Stoffwechsellage, der eine Auslenkung des Gleichgewichts zwischen Prooxidantien auf der einen Seite und dem Netzwerk der Antioxidantien auf der anderen Seite zugunsten der Oxidantien zugrunde liegt (Sies, 2000, 1986, 1985). Dabei sind geringfügige Auslenkungen im Rahmen eines Normbereiches als „physiologischer oxidativer Stress“ zu bezeichnen, während stärkere Auslenkungen zur Induktion von Adaptationsprozessen und weiteren zellulären Antworten führen. Darüber hinausgehende oxidative Belastungen sind toxisch und führen unter Umständen zum Zelltod. Antioxidativ wirksame Mikronährstoffe sind für dieses Gleichgewicht von zentraler Bedeutung. Das antioxidative Verteidigungssystem umfasst drei Stufen:

1. Prävention der ROS-Bildung, 2. Abfangen von ROS und 3. Reparatur von ROS-induzierten Schäden.

Prävention bedeutet dabei, dass der Körper Strategien entwickelt hat, um die Bildung von ROS, RNS und RCS zu verhindern. Parallel dazu ist ein antioxidatives Netzwerk verfügbar, um ROS/RNS und RCS abzufangen. Die Reparatur wird durch Enzyme gewährleistet, die oxidativ geschädigte Moleküle erkennen, deren Reparatur initiieren, diese abbauen oder sie ersetzen.

Tabelle 1.3: Übersicht über Plasmaantioxidantien und Biomarker des oxidativen Stresses (Halliwell und Gutteridge, 2007)

Lipophile Antioxidantien	Retinol (Vitamin A)
	α- und γ-Tokopherol (Vitamin E)
	Lutein
	Zeaxanthin
	β-Cryptoxanthin
	Lykopen
	α-Carotin
	β-Carotin
Hydrophile Antioxidantien	Ascorbinsäure (Vitamin C)
	Harnsäure
	Glutathion
Antioxidativ wirkende Enzyme	Superoxiddismutase (SOD)
	Katalase
	Glutathion-Peroxidase (GPX)
	Glutathion-Reduktase
	Glutathion-S-Transferase
Antioxidativ wirkende Spurenelemente	Selen
	Zink
Marker für oxidativen Stress	Malondialdehyd
	IgG Proteincarbonyle
	Isoprostane

1.4 Antioxidantienprofile im Plasma

Eine Möglichkeit, das Auftreten von alters- oder krankheitsassoziiertem oxidativem Stress zu untersuchen, ist die Bestimmung der Gehalte an Plasmaantioxidantien. Diese Bestimmung kann zusammen mit anderen Informationen verwendet werden, um den Zustand des oxidativen Stresses im Menschen zu bestimmen und mögliche Ernährungsdefizite der untersuchten Personen aufzudecken. Ein solches Antioxidantienprofil kann als Grundlage für Ernährungsempfehlungen dienen. Die Bestimmung der Gehalte an Antioxidantien im Plasma des Menschen kann durch eine Reihe von Parametern beeinflusst werden wie z.B. Krankheit, Ernährung und Lebensstil (Polidori et al., 2001). Ein ausgewogenes Verhältnis an antioxidativ wirksamen Mikronährstoffen ist anzustreben, da die einzelnen Verbindungen miteinander interagieren und synergistisch wirken können (Liu et al., 2003). Für die Beurteilung prooxidativer Prozesse ist die Messung von Markern des oxidativen Stresses erforderlich. Dies sollte vorzugsweise mit nichtinvasiven Methoden geschehen. Die Analyse von Komponenten in Körperflüssigkeiten, wie etwa der Messung der Schädigung von Proteinen, DNA und Lipiden, sowie die Verfolgung der Plasmaspiegel von Antioxidantien dient der Einschätzung oxidativer Belastung.

1.5 Untersuchte Antioxidantien

1.5.1 Carotinoide

Carotinoide gehören zur Substanzklasse der Terpenoide, wobei es sich um Tetraterpene handelt, die aus 8 Isopreneinheiten aufgebaut sind. Aufgrund ihrer Struktur lassen sich Carotinoide in sauerstofffreie (Carotine) und in sauerstoffhaltige (Xantophylle) Verbindungen einteilen. Zu den Carotinoiden gehören α -Carotin, β -Carotin, Lutein, Lykopen, Zeaxanthin und das β -Cryptoxanthin. Carotinoide sind eine Gruppe farbiger Pigmente (gelb, rot und orange), die in Pflanzen aber auch in einigen Tieren (z.B. Krebse) und Bakterien vorkommen. Die höchsten Konzentrationen an Carotinoiden im Menschen finden sich im Fettgewebe, der Leber, dem Korpus luteum des Ovars, der Macula lutea des Auges und den Nebennieren. Carotinoide weisen in der Regel 9-13 konjugierte Doppelbindungen auf, zudem kann jedes Carotinoid cis / trans Isomere bilden (Halliwell und Gutteridge, 2007).

Einige Carotinoide haben eine wichtige Funktion im menschlichen Organismus als Vorläufermoleküle für die Herstellung von Retinol (Vitamin A). Vitamin A ist essentiell für das Zellwachstum, die Zelldifferenzierung und den Sehprozess. Die antioxidative Wirkung der Carotinoide beruht u.a. auf der Fähigkeit, Elektronen oder Wasserstoffatome abzugeben und somit Radikale abzufangen und dadurch selbst zu einem Radikal zu werden. Das Carotinoidradikal ist aufgrund des konjugierten Doppelbindungssystems resonanzstabilisiert und wenig reaktiv. In Energietransferreaktionen hingegen werden elektronisch angeregte Moleküle abgefangen wie z.B. Singulett-Sauerstoff (1O_2). Bei dieser Abfangreaktion gehen die Carotinoide in einen angeregten Triplettzustand über. In der nachfolgenden Reaktion

erreichen die Carotinoide nach Abgabe von Wärme wieder den Grundzustand. Zu den effizientesten antioxidativ wirksamen Substanzen aus der Klasse der Carotinoide gehört das Lykopen (Rao und Rao, 2007; Stahl und Sies, 2005).

1.5.2 α -Tokopherol und γ -Tokopherol (Vitamin E)

Der Begriff Vitamin E steht für eine Gruppe von acht fettlöslichen Verbindungen mit antioxidativer Wirkung. Sie sind Bestandteil aller Membranen von tierischen Zellen, werden jedoch nur von Pflanzen gebildet. Tokopherol kommt in pflanzlichen Lebensmitteln vor, z.B. Getreiden, Nüssen, Samen und Pflanzenölen. Andere für den Menschen wichtige Vitamin E Quellen sind Olivenöl, Milch und Eier. Bei den zwei wichtigsten im menschlichen Organismus vorkommenden Tokopherolen handelt es sich um α - und γ -Tokopherol (Halliwell und Gutteridge, 2007).

Die physiologisch bedeutendste für den Menschen in der Natur vorkommende Verbindung der Vitamin E Gruppe ist das α -Tokopherol. Aufgrund seiner Fettlöslichkeit ist das α -Tokopherol besonders für den Schutz von lipidreichen Zellmembranen von Bedeutung. Es ist ein Fänger des Lipidperoxyradikals und kann damit, effizient die Lipidperoxidation stoppen, indem es die Radikalkettenreaktion abbricht. In den Lipoproteinen sind α -Tokopherol und in geringerer Konzentration auch das γ -Tokopherol vorhanden. Als ein lipidlösliches Antioxidans schützt es mehrfach ungesättigte Fettsäuren in Membranlipiden, Lipoproteinen und im Depotfett vor einer Zerstörung durch Oxidation. Freie Radikale greifen bevorzugt die Doppelbindungen der Fettsäuren der Zell- und Organellmembranen an. Tokopherol wirkt dabei als Radikalfänger, indem es selbst zu einem reaktionsträgen, da resonanzstabilisierten Radikal umgesetzt wird (Halliwell und Gutteridge, 2007).

1.5.3 Ascorbinsäure (Vitamin C)

Vitamin C ist ein wasserlöslicher Radikalfänger und hat somit eine antioxidative Wirkung in hydrophilen Systemen. Es ist zudem ein Cofaktor bei Hydroxylierungsreaktionen und von zentraler Bedeutung für die Biosynthese von Kollagen. Eine ungenügende Aufnahme von Vitamin C führt zu verzögerter Wundheilung, im ausgeprägten Fall zu Skorbut. Aufgrund seiner antioxidativen Wirkung schützt es biologisch wichtige Moleküle vor oxidativen Schädigungen. Vitamin C dient als Radikalfänger in menschlichem und tierischem Gewebe, wobei der Mensch nicht die Fähigkeit besitzt, Vitamin C selbst zu bilden. Daher ist eine Aufnahme mit der Nahrung (z.B. durch Zitrusfrüchte) notwendig. Vitamin C kann aufgrund seiner Struktur verschiedene reaktive Verbindungen abfangen, z.B. $O_2^{\cdot-}$, HO_2^{\cdot} , OH^{\cdot} . Dabei wird 1 Elektron abgegeben und es entsteht ein Ascorbylradikal. Dieses kann dann weiter zu Dehydroascorbinsäure oxidiert werden. Das Ascorbylradikal ist relativ reaktionsträge (Halliwell und Gutteridge, 2007).

1.6 Produkte der Schädigung durch freie Radikale

1.6.1 Malondialdehyd (MDA) als Biomarker

MDA entsteht als ein Produkt bei der Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Bei erhöhten Konzentrationen im Plasma ist davon auszugehen, dass es zu einer erhöhten Oxidation von Lipiden gekommen ist. MDA wird als Marker für das Ausmaß der Lipidperoxidation in einem Organismus angesehen (Traverso et al., 2003). Durch Reaktion freier Radikale mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren

entstehen primär Lipidradikale und in weiteren Schritten Lipidhydroperoxide. Diese reagieren zu sekundären Lipidperoxidationsprodukten wie Ethanol und Pentan, aliphatischen Monoaldehyden (z.B. Hexanal), ungesättigten Aldehyden (z.B. Hydroxynonenal) und MDA weiter. Einige dieser primären und sekundären Lipidperoxidationsprodukte sind selbst sehr reaktiv und können auch DNA, Proteine und Zellmembranen schädigen. So reagiert z.B. MDA mit Guanin und Adenin oder der ϵ -Aminogruppe des Lysins. Eine erhöhte Konzentration an MDA als eines der Lipidperoxidationsprodukte gilt daher als Indikator für eine erhöhte Lipidperoxidation.

1.6.2 Proteincarbonyle als Biomarker

Proteincarbonyle entstehen an Seitenketten von Proteinen durch Oxidation mit ROS. ROS können Aminosäurereste von Histidin, Arginin, Lysin und Prolin oxidieren und zur Bildung von Carbonylgruppen führen. Diese Oxidationsprozesse bewirken, dass es zu Fragmentierungen, zu Cross-Links und Fehlfaltungen der Proteine kommen kann. Die ursprüngliche Funktion des Proteins geht verloren. Beispiele dafür sind das bei der Hautalterung entstehende Lipofuszin, als auch Proteinaggregate bei einigen neurodegenerativen Erkrankungen wie z.B. neurofibrilläre Tangles bei Morbus Alzheimer oder Lewy-Körper bei Morbus Parkinson. Die Oxidationsprodukte von Proteinen können im Plasma des Menschen analytisch bestimmt werden.

1.7 Antioxidantien, Ernährung und Krankheit

Epidemiologische Studien haben wiederholt gezeigt, dass Verzehrgewohnheiten eine kritische Rolle bei der Prävention von altersassoziierten, chronischen Erkrankungen spielen (Darnton-Hill et al., 2004; Prentice et al., 2004). Viele Studien deuten darauf hin, dass es einen Zusammenhang gibt zwischen einem niedrigen Plasmaspiegel an Antioxidantien und einem erhöhten Risiko für altersassoziierte Erkrankungen wie z.B. Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Demenz, Osteoporose, Krebs und degenerative Erkrankungen des Auges (van't Veer et al., 2000). Es wurde gezeigt, dass die Inzidenz von 6 der 10 Haupttodesursachen in den USA mit den Ernährungsgewohnheiten korreliert (Department of Health and Human Services, 1988). Ein erhöhter Verzehr von Früchten und Gemüse korreliert mit einer geringeren Inzidenz für Herz – Kreislauf – Erkrankungen, bestimmten Krebsformen, Osteoporose, Folgeschäden des Diabetes mellitus oder ophthalmologischen Alterserkrankungen. Früchte und Gemüse sind reich an Vitaminen und sekundären Pflanzenstoffen, die zum Teil ausgeprägte antioxidative Eigenschaften aufweisen. Dazu zählen auch die Antioxidantien Vitamin C und E (Tokopherole) sowie die Mikronährstoffgruppe der Carotinoide. Direkte oxidative Schädigungen von biologisch wichtigen Makromolekülen und Interaktionen von reaktiven Sauerstoffverbindungen mit redoxsensitiven Signalkaskaden sind an der Pathogenese degenerativer Erkrankungen beteiligt. Die Akkumulation oxidativer Schäden über lange Zeiträume spielt nicht nur bei der Entstehung von alterstypischen Krankheiten eine Rolle, sondern ist selbst ein Teil des Alterungsprozesses (Ashok and Ali, 1999).

1.8 Fragestellung

Eine ausreichende Zufuhr von antioxidativen Mikronährstoffen mit der Nahrung wird als entscheidender Teil der Strategie gesunder Menschen zur Prävention gesunder Menschen vor chronisch degenerativen Erkrankungen angesehen (WHO, 2005). Aufgrund dieser Erkenntnisse ergab sich für diese Arbeit folgende Fragestellung:

Welchen Einfluss haben die Ernährungsgewohnheiten auf den Antioxidantienstatus bei gesunden Menschen?

Ausgehend von dieser Fragestellung wurden weitere Subgruppenanalysen durchgeführt, um den Einfluss folgender Faktoren auf den Antioxidantienstatus genauer analysieren zu können: Ernährungsgewohnheiten, Alter und Geschlecht.

Weiterhin war von Interesse, welcher dieser Faktoren den größten Einfluss auf den Antioxidantienstatus bei gesunden Menschen ausübt?

2 Studiendesign und Methoden

2.1 Studiendesign

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen der „Nutrition and vitamins in successful aging study“ (NUVISAS), einer internationalen Studie (Deutschland/Italien/England), durchgeführt. An der Studie nahmen 137 gesunde Individuen im Alter von 27 bis 102 Jahren teil (Durchschnittsalter: $65,9 \pm 18,0$) (Tabelle 2.1). Alle Probanden, die über 65 Jahre alt waren (Altersspanne 65 – 102 Jahre, 88 Individuen, 48 Frauen und 40 Männer), wurden aus der geriatrischen Tagesklinik der Abteilung für klinische und experimentelle Medizin des Universitätskrankenhauses von Perugia, Italien, rekrutiert. Sie hielten sich dort zu Routineuntersuchungen auf. Die Probanden die jünger als 65 Jahre waren (Altersspanne 27 – 65 Jahre, 49 Individuen, 26 Frauen und 23 Männer), waren Verwandte der älteren Probanden.

Tabelle 2.1: Übersicht über Anzahl, Alter und Geschlecht der Probanden

Alter	Männer	Frauen	Gesamt
27 – 65 Jahre	23	26	49
66 – 102 Jahre	40	48	88
Gesamt	63	74	137

Die Teilnehmer unterzogen sich einer kompletten körperlichen als auch neurologischen klinischen Untersuchung, wobei eine soziale und pharmakologische Anamnese, eine klinisch-chemische Untersuchung, ein Elektrokardiogramm, eine Messung des Blutdrucks (mindestens 2 mal im Abstand von 6 Stunden) und eine Doppleruntersuchung der Hauptarterien (Bestimmung von Blutflussraten) durchgeführt wurden. Zudem wurden neuropsychologische Tests zur Überprüfung

der Gedächtnisleistung, der Hirnfunktionen und des Verhaltens durchgeführt, um Morbus Alzheimer und andere Demenzformen ausschließen zu können (Mini-Mental State Examination (Folstein et al., 1975), Clock Drawing Test (Shulman, 2000), DemTect Scale (Polidori et al., 2008; Kalbe et al., 2004). Zur Beurteilung des Ernährungszustandes wurde klinisch-chemisch ein kleines Blutbild (quantitative Bestimmung der Erythrozytenzahl, des Hämoglobins, des Hämatokrits und der Leukozyten), der Gehalt an Albumin, Gesamtcholesterin und Triglyceriden im Blutplasma bestimmt. Es wurden auch Daten bezüglich der Lebensgewohnheiten einschließlich der körperlichen Aktivität, der Ernährungsgewohnheiten, des Body Mass Index (BMI) [Gewicht Kg/(Körpergröße m)²] und des Bildungsstandards, mittels des Mini Nutritional Assesment (MNA) (Guigoz und Vellas, 1999) erhoben. Die Ausschlusskriterien sind in Tabelle 2.2 zusammengefaßt.

Tabelle 2.2: Ausschlusskriterien der NUVISAS – Studie

Risikofaktoren für Arteriosklerose und damit assoziierte Organerkrankungen:	<ul style="list-style-type: none"> - Hypertonus - Nikotinabusus innerhalb der letzten 3 Jahre - Herzerkrankungen (koronare Herzkrankheit, Myokardinfarkt, Herzinsuffizienz) - Gefäßerkrankungen (periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)) - vaskuläre Demenz - hypertensive Enzephalopathie
Erkrankungen des Skelettsystem	<ul style="list-style-type: none"> - Arthrose - Osteoporose
Stoffwechselerkrankungen	<ul style="list-style-type: none"> - Diabetes mellitus - Anämie - Fettstoffwechselstörungen z.B. Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie, Adipositas permagna, Anorexie (BMI < 18 und > 30)
Gehirnerkrankungen	<ul style="list-style-type: none"> - Demenz vom Alzheimer Typ

	- andere Demenzformen (nicht vaskulär)
Ernährungs - und Lebensgewohnheiten	- Verzehr von 2-3 Portionen Früchten und Gemüse pro Tag (100 – 350 Gramm pro Tag) - Verzehr von nur 1 Sorte (1 Farbe) Obst und Gemüse - Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln (z.B. Vitaminpräparate, Eisen) - körperliche Aktivität weniger als 2 mal pro Woche und mehr als 5 mal pro Woche
Neoplasien	- jeglicher Art
Einnahme von Medikamenten	- jeder Art

Ziel war es, 2 Probandengruppen mit einem generell hohen Verzehr an Obst und Gemüse (High intake, HI) und einem generell niedrigeren Verzehr an Obst und Gemüse (Low intake, LI) zu erhalten. Als hoher Verzehr wurde der Konsum von ≥ 4 Portionen Obst und Gemüse (entsprechend ≥ 350 g) pro Tag, als niedriger Verzehr wurde der Konsum von ≤ 1 Portion an Obst und Gemüse (entsprechend ≤ 100 g) pro Tag angesehen (Winkler and Döring, 1998). Die Zuteilung der Probanden zur HI – oder LI – Gruppe erfolgte nach Auswertung eines Fragebogens (Food – Frequency - Questionnaire), den die Probanden selbstständig ausfüllten. Alle Probanden, die der HI Gruppe zugeordnet wurden, verzehrten täglich die gleichen Portionen an Früchten und Gemüse und/oder eine Portion Gemüse mehr. Die Ernährung aller Probanden bestand aus verschiedenen Früchten und Gemüse mit unterschiedlichen Farben. Unterstützend wurde den Probanden die Definition einer Portion erklärt als die Menge an Früchten und Gemüse, die eine Hand füllt. Anschließend wurden die Probanden anhand der erhobenen Daten der HI und der LI Gruppe zugeordnet.

Probengewinnung und Probenlagerung

Die durchgeführten Untersuchungen erfolgten im Einklang mit den Prinzipien der Deklaration von Helsinki. Nachdem die Probanden der Teilnahme an der Studie schriftlich zugestimmt hatten, wurde den nüchternen Probanden zwischen 9 und 10 Uhr morgens 10 ml Blut abgenommen (Heparin / Becton und Dickinson). Das Blut wurde sofort zentrifugiert und das Plasma wurde bis zur Analyse bei - 80°C tiefgefroren.

2.2 Methoden

Die nachfolgend benannten Chemikalien, Reagenzien und Lösungen waren in p.A. Qualität.

2.2.1 IgG Proteincarbonylanalytik

Die Bestimmung des Gehaltes der Proteincarbonyle erfolgte in Anlehnung an die Methode von Carty et al. (2000) in einer Proteinfraction des Plasmas, die maßgeblich die IgG Fraktion charakterisiert.

Die Eignung der oxidierten IgG Fraktion des Blutes als Biomarker für oxidativen Stress ergibt sich aus der Tatsache, dass das zirkulierende Immunglobulin das zweithäufigste Serumprotein ist, und das IgG mit einer Halbwertszeit von 15 Tagen auftritt, was es zu einem sehr guten zeitlichen Indikator für oxidativen Stress macht. Außerdem reagieren IgG Proteincarbonyle sensibel auf Veränderungen der Ernährungsweise (Griffiths, 2002; Carty et al., 2000).

Chemikalien und Reagenzien

Coating Puffer (Natriumkarbonat 50 mmol/l, pH 9,2) 1,59 g Natriumkarbonat (Sigma, Deisenhofen, Deutschland), 2,93 g Natriumhydrogenkarbonat (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) in 1 Liter Aqua bidest

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung - PBS (0,15 mol/l, pH 7,2), 8,0 g/l Natriumchlorid (Sigma, Deisenhofen, Deutschland), 0,2 g/l Kaliumchlorid (Sigma, Deisenhofen, Deutschland), 1,15 g/l Di - Natriumhydrogenphosphat, 0,2 g/l Kaliumdihydrogenphosphat (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

Tween-20 (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

Waschpuffer (Tween-20 0,05% in PBS)

2,4-Dinitrophenylhydrazin (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) 1 mmol/l in 2 mol/l Salzsäure HCl

Blockpuffer (Tween-20 1% in PBS)

Anti-DNP (Dinitrophenylhydrazin) Antiserum, Maus IgE (Antikörper 1/ AK 1) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

Peroxidase markierter Ratten Anti-Maus-IgE (Antikörper 2/ AK 2) (Serotec, Düsseldorf, Deutschland)

Zitratphosphat Puffer (0,15 mol/l, pH 5,0), 21,0 g/l Zitronensäure (Sigma, Deisenhofen, Deutschland), 35,6 g/l Di – Natriumhydrogenphosphat (Sigma, Deisenhofen, Deutschland), 49 ml Zitronensäurelösung ad 51 ml der Di-Natriumhydrogenphosphatlösung

Wasserstoffperoxid (8,8 mol/l) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

ortho-Phenylendiamin Tablette (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

Schwefelsäure (2 mol/l)

Ammonium – Sulfat (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

ELISA Substrat – Reagens (10 ml Zitrat – Phosphat – Puffer, 8 µl Wasserstoffperoxid ad 1 Tablette ortho – Phenylendiamin)

Material und Geräte

Mikrotiterplatten	Nunc-Immuno Platte (Maxi Sorp Surface) Nalge Nunc International (Nalge Europa Ltd Ridderstraat 26B-3040 Neerijse, Belgien)
Mikrotiterplatten – Photometer	Wallac 1420 Multilabel counter
Inkubator	Binder APT. Line CB CO ₂ -Brutschrank
UV/VIS Spektrometer	DU [®] 530 Life Science UV/VIS Spektrometer (Beckman, München, Deutschland)
Zentrifugen	Hettich Universal 30 RF (Hettich, Tuttlingen, Deutschland)

Aufarbeitung des Plasmas

Zu 100 µl Plasma wurden zu 100 µl PBS und 160 µl einer gesättigten Ammoniumsulfat - Lösung gegeben. Nach Inkubation bei Raumtemperatur für 30 min und anschließender Homogenisierung wurde das Gemisch für 15 min bei 10000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Sediment in 1 ml 45 %iger Ammoniumsulfat - Lösung resuspendiert. Anschließend wurde die Suspension für 15 min bei 13000 Umdrehungen pro Minute erneut zentrifugiert. Der Überstand wurde erneut verworfen und das Sediment in 100 µl PBS gelöst.

Für die Bestimmung des Gehaltes der IgG Proteincarbonyle wurde die Suspension 1:200 mit Coating Puffer verdünnt. Für die Bestimmung der Proteinkonzentration wurde die Suspension 1:10 mit Coating Puffer verdünnt.

Herstellung der Carbonylstandards:

Die Herstellung der IgG Proteincarbonylstandards erfolgte durch Oxidation von bovinem Serumalbumin (Carty et al., 2000).

Standards mit folgenden Carbonylgehalten (nmol / pro mg Protein) wurden verwendet:

S₁ 2,3 nmol/mg

S₂ 4,3 nmol/mg

S₃ 6,1 nmol/mg

S₄ 6,5 nmol/mg

S₅ 7,5 nmol/mg

S₆ 9,2 nmol/mg

Proteinbestimmung: RC DC Protein Assay von Bio-Rad:

Grundlage der Proteinbestimmung als Gesamtprotein (mg) der aufgereinigten / isolierten oxidierten Protein IgG - Fraktion des Plasmas war die Lowry – Methode (Lowry et al., 1951). Hierzu wurde ein kommerziell erhältliches Bestimmungssystem der Firma Biorad (Hercules, Kalifornien, USA) verwendet.

Durchführung der IgG Proteincarbonylbestimmung

Als Grundlage zur Durchführung diente ein Sandwich – ELISA – System.

50 µl der jeweiligen ($S_1 - S_6$) Standards und 50 µl der 1:200 mit Coating Puffer aufgearbeiteten Plasma Proben wurden in separate Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert und 1 Std bei 37 °C inkubiert. Zwischen den jeweiligen Auftragungsschritten erfolgte eine Waschung mittels Waschpuffer. Anschließend wurden 50 µl 2,4 – Dinitrophenylhydrazin in jede Mikrotiterplattenvertiefung pipettiert und 1 Std bei Raumtemperatur inkubiert (20 – 25 °C). Die Mikrotiterplatte wurde erneut mit Waschpuffer gewaschen. Dann wurden 200 µl Blockpuffer auf jede Mikrotiterplatte zugegeben und 1 Std bei 37 °C inkubiert. Es erfolgte eine wiederholte Waschung mit Waschpuffer. Es wurden 50 µl des AK 1 (verdünnt 1:1000 mit Blockpuffer) zugegeben und für 2 Std bei 37 °C inkubiert. Nach Waschung mit Waschpuffer wurden anschließend 50 µl des AK 2 (verdünnt 1:5000 mit Blockpuffer) aufgetragen und 1 Std bei 37°C inkubiert. Es folgte nach abermaliger Waschung die Zugabe von 50 µl des Substrat – Reagenz. Nach Inkubation bei Raumtemperatur (abgedunkelt) für 15 min wurde die Farbreaktion durch Zugabe von 100 µl Schwefelsäure beendet. Die Extinktion wurde photometrisch bei 490 nm bestimmt.

Die Bestimmung des Gehalts der IgG Proteincarbonyle (nmol / mg Protein) erfolgte über eine linear regrediente Kalibrierfunktion mit den Standards ($S_1 - S_6$).

2.2.2 Malondialdehydanalytik

Die Analytik erfolgte in Anlehnung an die Methode von Lepage et al. (1991).

Chemikalien und Reagenzien

2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) 10 g in 100 ml Ethanol

Trichloressigsäure (TCA) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) 20 g in 100 ml Aqua bidest

Thiobarbitursäure (TBA) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) 1,4 g in 100 ml Aqua bidest

Humanes Serumalbumin (HSA) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) 39 g in 100 ml Aqua bidest

Kalium – Dihydrogenphosphatpuffer (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

Methanol (Merck, Darmstadt, Deutschland)

Material und Geräte

HPLC

Autosampler 655 A-40 Autosampler 7480 (Merck-Hitachi, Darmstadt Deutschland)

Pumpe La Chrom L7100 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland)

Säulen 4,6 x 250 mm Lichrospher 100 RP 18-e, 5 µm Säule (Merck, Darmstadt, Deutschland)

Laufmittel 55 % Kalium - Dihydrogenphosphatpuffer (50 mmol/l, pH 5,5) und 45 % Methanol; Fließgeschwindigkeit: 1 ml / Min

Säulenofen	Jetstream 2 plus (Alltech, Associates, Deerfield, IL, USA)
Detektor	Fluoreszenz Detektor L-7480 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland)
Integrator	D-2500 Chromato-Integrator 7480 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland)
Zentrifuge	Hettich, Universal Zentrifuge 30 RF (Hettich, Tuttlingen, Deutschland)
Heizblock	einstellbar auf 95 °C
Ultraschallbad	Sonorex Super Digital DK 255 (Bandelin, Berlin, Deutschland)

Aufarbeitung des Plasmas:

250 µl Plasma wurden mit 250 µl Aqua bidest und 50 µl BHT gemischt, dann zur Proteinfällung mit 350 µl TCA versetzt und anschließend für 10 min bei 10000 Umdrehungen pro Min zentrifugiert. 600 µl des Überstandes wurden mit 500 µl TBA versetzt und anschließend für 60 min bei 95 °C im Heizblock erhitzt.

HPLC Analytik

Die im Überstand gebildeten rosa farbigen TBA-Derivate (TBARS) wurden nach Chromatografie von 50 µl der Lösung durch Fluoreszenz (Anregung 515 nm / Emission 550 nm) detektiert.

Berechnung der MDA Konzentration

Die Konzentrationen des MDA wurden durch eine linear regrediente Kalibrierfunktion mit Standards ermittelt. Für die Standards wurde die Blutprobenmatrix durch Verwendung von 39 % HSA in Aqua bidest simuliert, indem MDA dotiert zu

Endgehalten von 0 $\mu\text{mol/l}$, 0,25 $\mu\text{mol/l}$, 0,5 $\mu\text{mol/l}$ und 1,0 $\mu\text{mol/l}$ verwendet wurde. Die so hergestellten Standards wurden genauso aufgearbeitet wie die Plasmaproben. Die Fluoreszenzsignale der TBARS wurden als MDA-Äquivalente in $\mu\text{mol/l}$ angegeben.

2.2.3 Carotinoid- und Tokopherolanalytik

Die Analytik erfolgte in Anlehnung an die Methode von Stahl et al. (1993).

Chemikalien und Reagenzien

β -Apo-8'-carotenol (aus β -Apo-8'-carotenal durch Reduktion hergestellt (Fluka, Buchs, Schweiz)).

β -Carotin, Lutein, Zeaxanthin, β -Cryptoxanthin (DSM, Linz, Österreich)

Retinol (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

δ -Tokopherol (Henkel, Düsseldorf, Deutschland)

α, γ -Tokopherol (Henkel, Düsseldorf, Deutschland)

Lykopin, α -Carotin (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)

Ethylen – diamin – tetraessigsäure (EDTA) (Merck, Darmstadt, Deutschland)

Phosphatpuffer 0,136 g Kalium - Dihydrogenphosphat + 0,228 g Di - Kalium – Hydrogenphosphat + 0,125 g EDTA in einem Liter Aqua bidest, eingestellt auf pH 7,2

2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) 10 g in 100 ml Ethanol

Extraktionsmittel Hexan / Dichlormethan 5 : 1 + 0,01 % BHT

Ethanol, Methanol, Acetonitril, Propanol, Diethylether, Dichlormethan, n-Hexan (Merck, Darmstadt, Deutschland)

Stickstoff Reinheit 5.0 (Linde, Höllriegelskreuth, Deutschland)

Carotinoid – und Tokopherolstammlösungen:

Einige Kristalle an Carotinoiden und Tokopherolen wurden jeweils in n-Hexan / Dichlormethan (1/1, v/v) gelöst und bei -70 °C gelagert.

Carotinoid – und Tokopherolarbeitslösungen:

Die Stammlösungen wurden mit 2 - Propanol so verdünnt, dass eine Konzentration von ca. 3 µg / ml erhalten wurde. Nur die Lycopinstammlösung wurde mit einem Gemisch aus Hexan / Dichlormethan (1/1, v/v) verdünnt. Als interner Standard wurde eine β-Apo-8'-carotenol Lösung verwendet, die eine Extinktion von ca. 0,2 bei 450 nm aufwies.

Material und Geräte

Polypropylen (PP) – Rührchen mit Schraubverschluss

(Greiner, Frickenhausen, Deutschland)

HPLC

Pumpe

L-7100 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland)

Säule

Suplex pKb - 100; 5 µm, 2,1 mm (Supelco, Bellafonte, Pennsylvania, USA)

Laufmittel

Laufmittel A: Methanol / Acetonitril / Propanol 54 / 44 / 2
v / v / v (85 %) + 15 % H₂O

Laufmittel B: Methanol / Acetonitril / Propanol 54 / 44 / 2
v / v / v (100 %)

Fließgeschwindigkeit: 1 ml / Min

Stufengradient für die Carotinoid – und Tokopherolanalytik:

0` 64 % LF B

5` 64 % LF B

15` 100 % LF B

25` 100 % LF B

Detektor	UV-VIS Detektor L-4200 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland) für die Messung bei 450 nm UV-VIS Detektor L-7420 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland) für die Messung bei 292 und 325 nm
Integrator	D-2500 Chromato-Integrator 7480 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland)
Zentrifugen	Hettich Universal 30 RF (Hettich, Tuttlingen, Deutschland)
Ultraschallbad	Sonorex Super 10P von Bandelin

Aufarbeitung des Plasmas:

Um eine Isomerisierung der Carotinoide zu vermeiden wurden alle weiteren Schritte in einem abgedunkelten Raum durchgeführt. Es wurden 1ml des Phosphat - Puffers, 100 µl Plasma, 20 µl des internen Standards (β -Apo-8'-carotenol) und 1ml Ethanol gemischt. Das Gemisch wurde mit 6 ml Extraktionsmittel versetzt, für 1 Minute homogenisiert, 5 Minuten lang im Ultraschallbad behandelt und erneut für 30 Sekunden homogenisiert. Nach Zentrifugation bei 16° C und 5000 Umdrehungen pro Minute für zehn Minuten wurden genau 5 ml der organischen Phase in ein PP – Gefäß überführt und das Lösungsmittel unter leichtem Stickstoffstrom entfernt. An

der Wand zurückgebliebene Carotinoidreste wurden mit Diethylether heruntergespült und erneut getrocknet.

HPLC-Analytik

Der Rückstand wurde in 20 µl Dichlormethan und 200 µl Laufmittel B gelöst. 50 µl wurden chromatografiert und bei einer Wellenlänge von 450 nm detektiert. Für die Bestimmung von Retinol und α- und γ-Tokopherol wurde ein zweiter UV/VIS Detektor in Reihe geschaltet und bei einer Wellenlänge von 325 (für Retinol) und 292 nm (für α- und γ-Tokopherol) detektiert.

Berechnung der Carotinoid- / Tokopherolkonzentration:

Die Stammlösungen wurden 1 : 40, die Arbeitslösungen 1 : 10 mit n-Hexan verdünnt und der Gehalt an Carotinoiden und Tokopherolen unter Verwendung der molaren Extinktionskoeffizienten ermittelt.

α-Carotin	ϵ_{446}	=	145 500	$(M^{-1} \times cm^{-1})$
β-Carotin	ϵ_{450}	=	139 000	$(M^{-1} \times cm^{-1})$
Lutein	ϵ_{450}	=	136 600	$(M^{-1} \times cm^{-1})$
Zeaxanthin	ϵ_{450}	=	132 912	$(M^{-1} \times cm^{-1})$
β-Cryptoxanthin	ϵ_{451}	=	136 000	$(M^{-1} \times cm^{-1})$
Lykopin	ϵ_{472}	=	184 575	$(M^{-1} \times cm^{-1})$
Retinol	ϵ_{325}	=	52995	$(M^{-1} \times cm^{-1})$
α-Tokopherol	ϵ_{292}	=	3297	$(M^{-1} \times cm^{-1})$
γ-Tokopherol	ϵ_{298}	=	3762	$(M^{-1} \times cm^{-1})$

2.2.4 Ascorbinsäureanalytik

Chemikalien und Reagenzien

Meta-Phosphorsäurelösung (10 %) in Aqua bidest (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland),

Vitamin C (Merck, Darmstadt, Deutschland)

Tetraethylammoniumhydroxid (TEAH) (25 %) in Aqua bidest (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland)

Dichlormethan (Merck, Darmstadt, Deutschland)

Vitamin C Stammlösung:

Die Vitamin C Stammlösung (10 µg / ml) wurde durch Verdünnung mit Laufmittel (TEAH (20 mmol/l) + Meta - Phosphorsäure (10%)) hergestellt und bei – 40 °C gelagert.

Material und Geräte

HPLC

Pumpe L-7100 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland)

Säule Merck RP 18 endcapped (250 x 4 mm; 5 µm) (Merck, Darmstadt, Deutschland)

Laufmittel TEAH (20 mmol/l) + meta-Phosphorsäure (10 %)

Gradient	0 - 10 min:	0,5 ml / Min
	10 - 12 min:	0,5 – 1,75 ml / Min
	12 - 24 min:	1,75 ml / Min
	24 - 26 min:	1,75 – 0,5 ml / Min

Detektor	L-4200, 254 nm (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland)
Integrator	D-2500 Chromato-Integrator 7480 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Deutschland)
Filter	Millipore 0,45 µm PVDS, SJHVL04NS
Zentrifugen	Hettich Universal 30 RF (Hettich, Tuttlingen, Deutschland)

Aufarbeitung des Plasmas

Es wurden 200 µl Serum mit 200 µl Meta-Phosphorsäure versetzt und für 30 Sek homogenisiert. Nach Zugabe von 400 µl Dichlormethan wurde erneut für 1 min homogenisiert und für 2,5 min bei 16 °C und 5000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der wässrige Überstand wird in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Die Probe wird dann 1 : 5 mit Laufmittel verdünnt und filtriert (Millipore Filter auf einer 1 ml Spritze).

HPLC-Analytik

Von der 1 : 5 mit Laufmittel verdünnten Probe wurden 50 µl chromatografiert und bei einer Wellenlänge von 245 nm detektiert.

Berechnung der Vitamin C Konzentration

Die Bestimmung des Gehalts des Vitamin C (µmol/l) erfolgte über eine linear regrediente Kalibrierfunktion mit Standards. Die Vitamin C Standard Kalibrierlösungen (0,25 ; 0,5 ; 1,0 ; 2,0 µg / ml) wurden durch Verdünnen der Stammlösung mit Laufmittel hergestellt.

2.3 Statistische Analyse

Die statistischen Analysen wurden mit dem Programm „Statistical Package for the Social Sciences“ (SPSS Version 11.5, Chicago, IL), durchgeführt. Alle Daten sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Der Vergleich zwischen den Gruppen wurde mit dem Multivarianztest ANOVA („Analysis of variance“) durchgeführt. Alter und Geschlecht wurden als Kovarianten in das Modell einbezogen. Die Korrelationen zwischen den Parametern wurden mit der Spearman-Korrelation untersucht. Eine Signifikanz lag vor, wenn die Nullhypothese bei $p < 0,05$ widerlegt war.

3 Ergebnisse

Konzentration von Antioxidantien, IgG Proteincarbonylen und Malondialdehyd im Blut gesunder Probanden

3.1 HI Gruppe versus LI Gruppe

Nach der Auswertung des „Food-frequency questionnaire“ wurden 66 Individuen der Gruppe mit hohem Früchte- und Gemüseverzehr (HI = high intake) (29 männlich, 37 weiblich, $64,9 \pm 16,4$ Jahre) und 71 Individuen der Gruppe mit geringem Verzehr von Früchten und Gemüse (LI = low intake) (34 männlich, 37 weiblich, $66,9 \pm 19,5$ Jahre) zugeordnet (Altersspanne 27-102 Jahre). Die Individuen der HI Gruppe verzehrten täglich 4 oder mehr Portionen an Früchten und Gemüse (≥ 350 g), wobei die farbliche Zusammenstellung ihres täglichen Früchte und Gemüseverzehrs variierte. Die Individuen der LI Gruppe erfüllten in Bezug auf die farbliche Variation die gleichen Voraussetzungen, aber verzehrten nur 1 oder weniger Portionen Früchte und Gemüse pro Tag (≤ 100 g). Die Individuen unterschieden sich nicht in ihren Lebensgewohnheiten und keiner der Hauptvariablen, die für die Erhebung des Ernährungszustandes wichtig waren einschließlich des BMI.

Wie aus Tabelle 3.1 (nur signifikante Ergebnisse grafisch dargestellt) ersichtlich ist, waren die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen an α -Tokopherol ($p < 0,0001$), γ -Tokopherol ($p < 0,05$), Vitamin C ($p < 0,0001$), Zeaxanthin ($p < 0,01$), β -Cryptoxanthin ($p < 0,01$), Lycopin ($p < 0,001$) und β -Carotin ($p < 0,0001$) in der HI

Ergebnisse

Gruppe signifikant höher als in der LI Gruppe. Bei der Bestimmung der Biomarker fiel auf, dass die MDA – Spiegel ($p < 0,01$) im Plasma signifikant höher in der LI Gruppe als in der HI Gruppe waren. Auch die Gehalte an IgG Proteincarbonylen ($p < 0,05$) waren signifikant höher in der LI Gruppe als in der HI Gruppe.

Tabelle 3.1: Plasmakonzentrationen von lipophilen Antioxidantien, Vitamin C, Malondialdehyd und IgG Proteincarbonyle in der HI Gruppe und der LI Gruppe (n.s. = statistisch nicht signifikant)

Parameter	HI Gruppe (n = 66)	LI Gruppe (n = 71)	p Signifikanz
α-Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$24,6 \pm 6,2$	$20,3 \pm 4,2$	$< 0,0001$
γ-Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$1,69 \pm 0,6$	$1,44 \pm 0,6$	$< 0,05$
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	$2,0 \pm 0,6$	$1,9 \pm 0,5$	n.s.
Vitamin C ($\mu\text{mol/l}$)	$29,9 \pm 3,1$	$27,1 \pm 3,1$	$< 0,0001$
Lutein ($\mu\text{mol/l}$)	$0,55 \pm 0,2$	$0,51 \pm 0,2$	n.s.
Zeaxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,13 \pm 0,06$	$0,09 \pm 0,05$	$< 0,01$
β-Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,33 \pm 0,28$	$0,22 \pm 0,16$	$< 0,01$
Lykopin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,94 \pm 0,30$	$0,67 \pm 0,30$	$< 0,001$
α -Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,09 \pm 0,06$	$0,08 \pm 0,08$	n.s.
β-Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,82 \pm 0,35$	$0,54 \pm 0,28$	$< 0,0001$
Malondialdehyd ($\mu\text{mol/l}$)	$0,21 \pm 0,12$	$0,29 \pm 0,19$	$< 0,01$
IgG Proteincarbonyle (nmol/mg Protein)	$0,81 \pm 0,31$	$0,92 \pm 0,25$	$< 0,05$

Ergebnisse

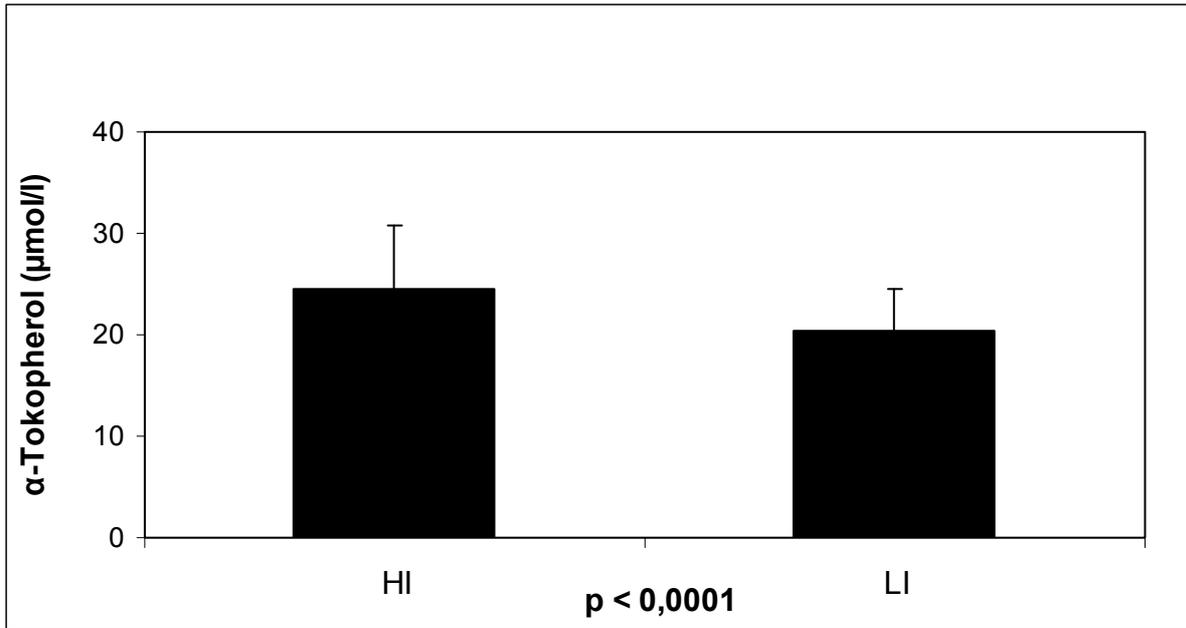


Abb. 1: Plasmakonzentrationen des α-Tokopherol (µmol/l) der HI Gruppe und der LI Gruppe

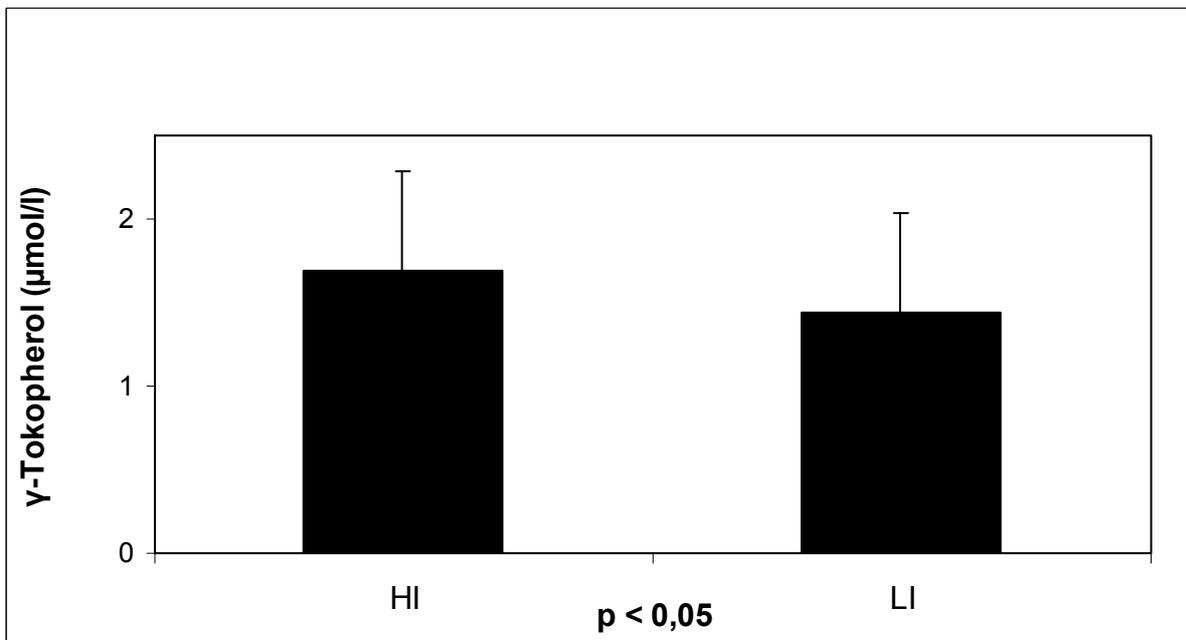


Abb. 2: Plasmakonzentrationen des γ-Tokopherol (µmol/l) in der HI Gruppe und der LI Gruppe

Ergebnisse

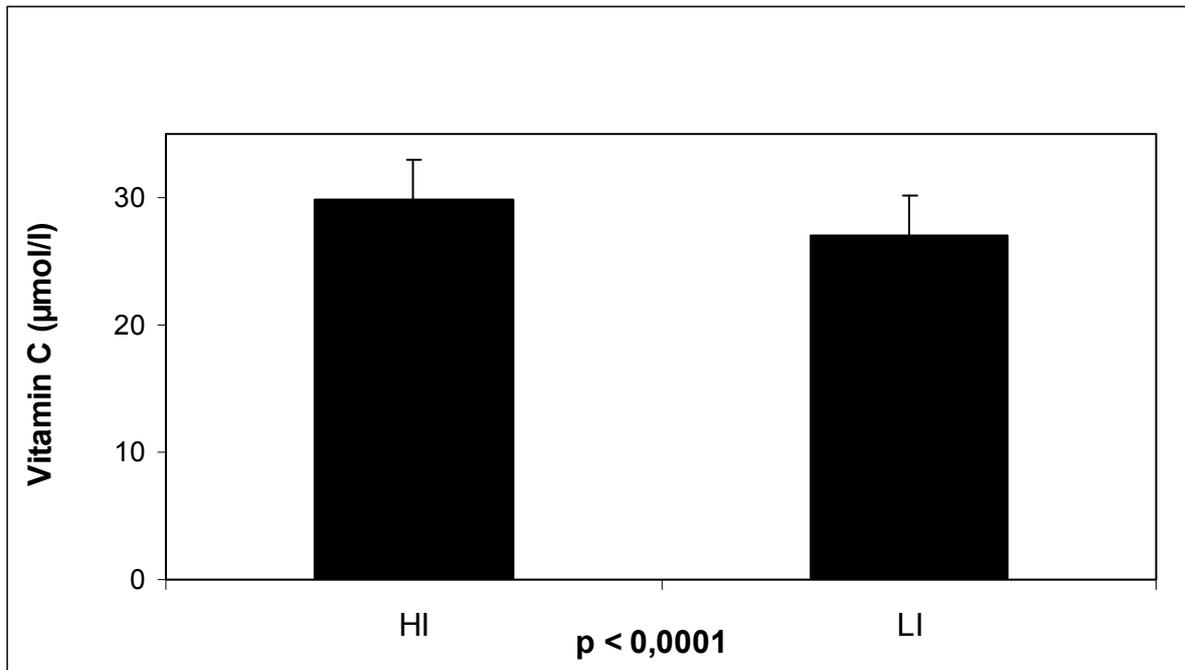


Abb. 3: Plasmakonzentrationen des Vitamin C (µmol/l) in der HI Gruppe und der LI Gruppe

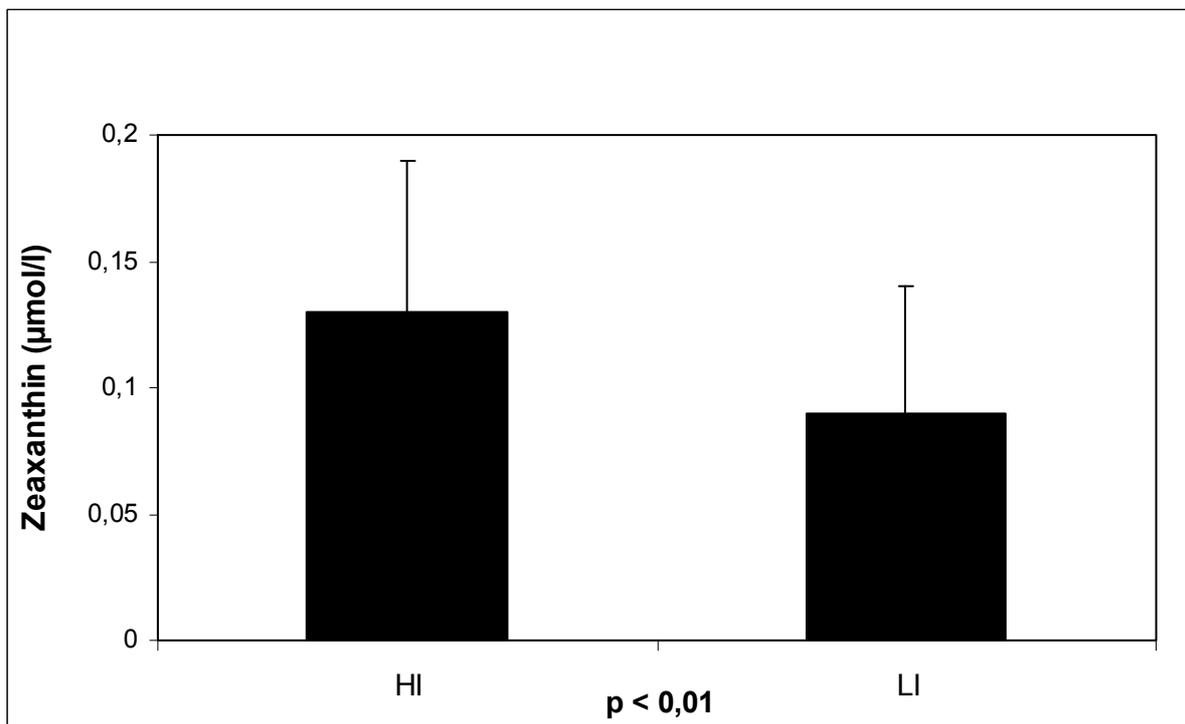


Abb. 4: Plasmakonzentrationen des Zeaxanthin (µmol/l) in der HI Gruppe und der LI Gruppe

Ergebnisse

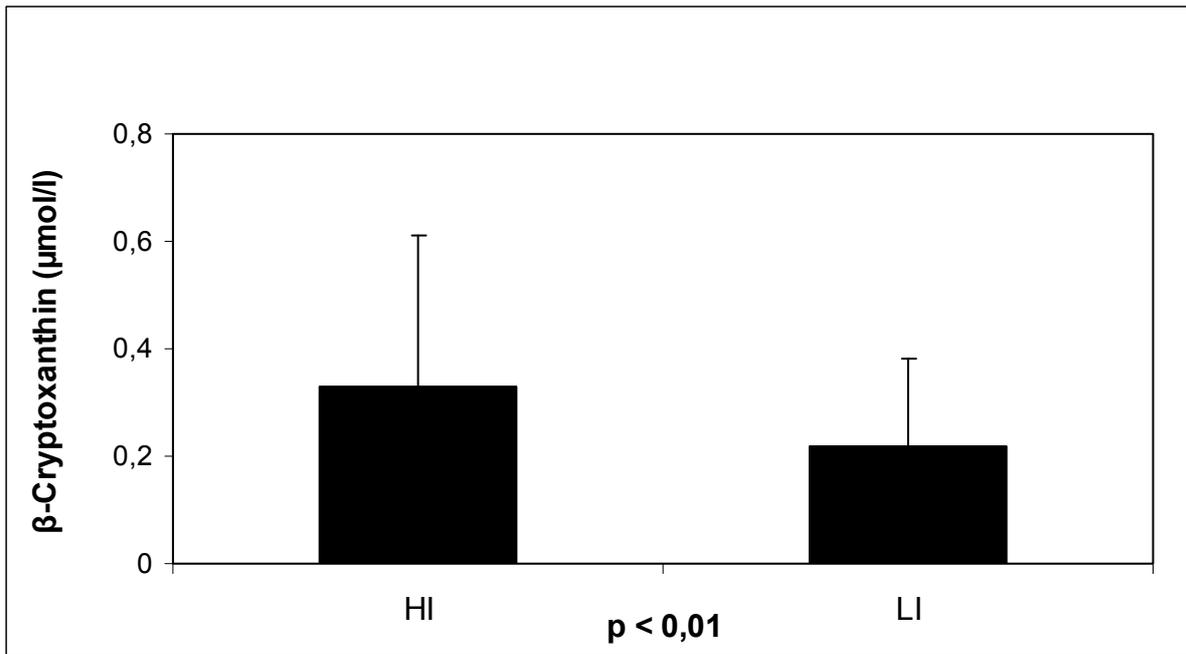


Abb. 5: Plasmakonzentrationen des β -Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe und der LI Gruppe

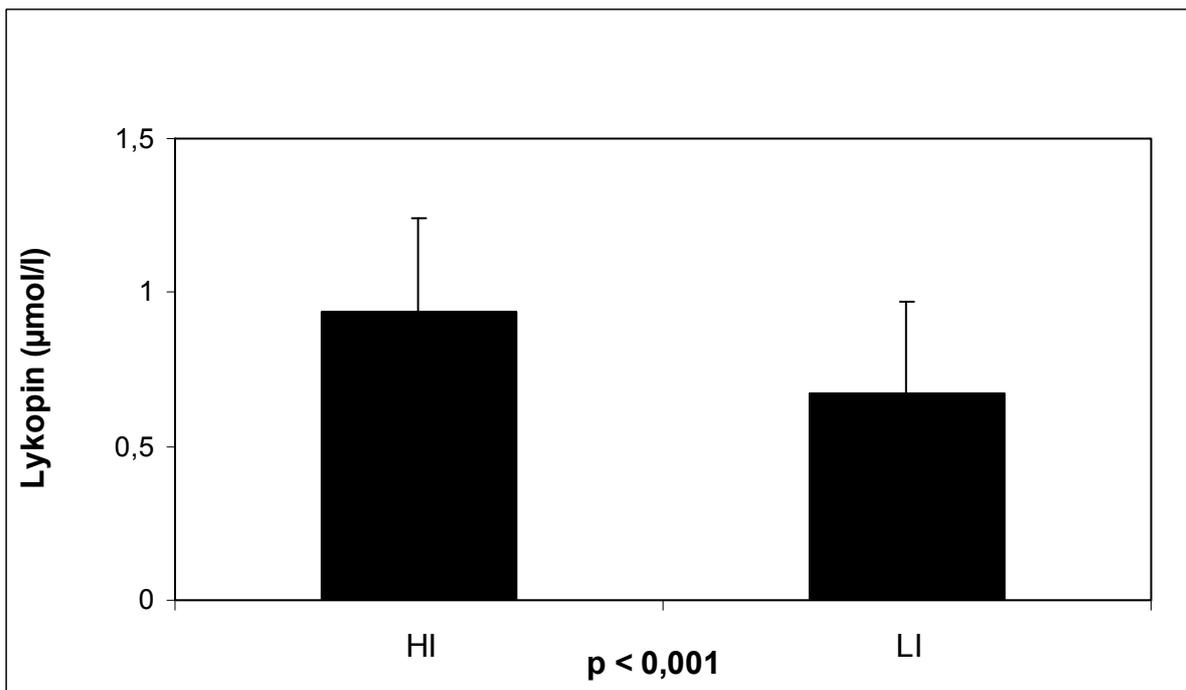


Abb. 6: Plasmakonzentrationen des Lycopin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe und der LI Gruppe

Ergebnisse

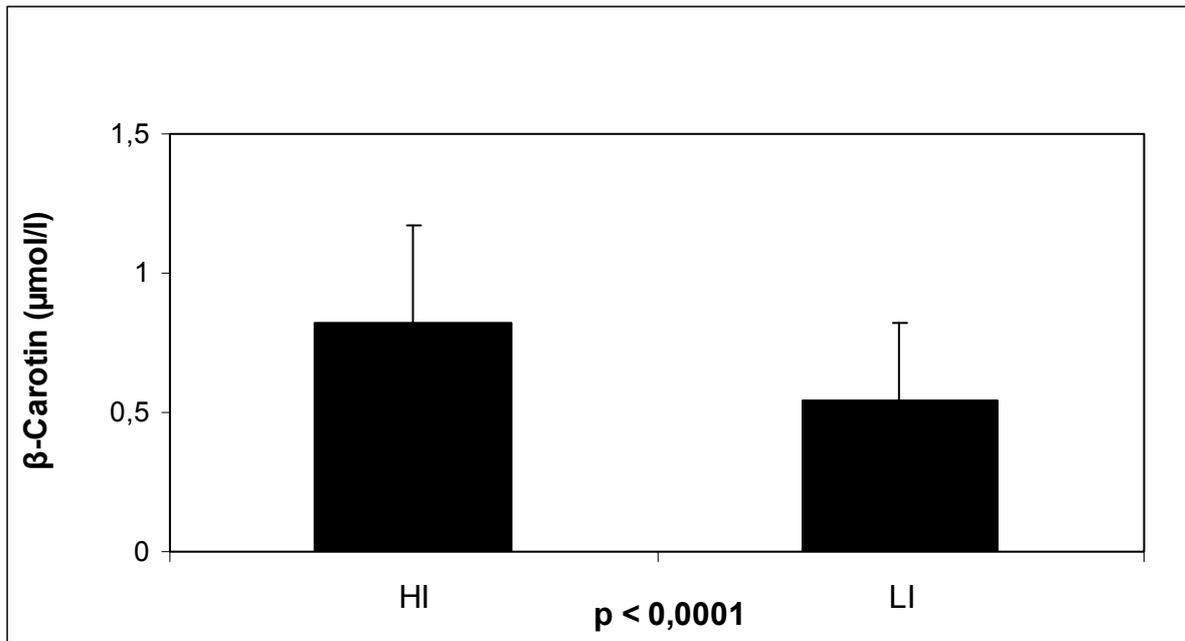


Abb. 7: Plasmakonzentrationen des β-Carotin (µmol/l) in der HI Gruppe und der LI Gruppe

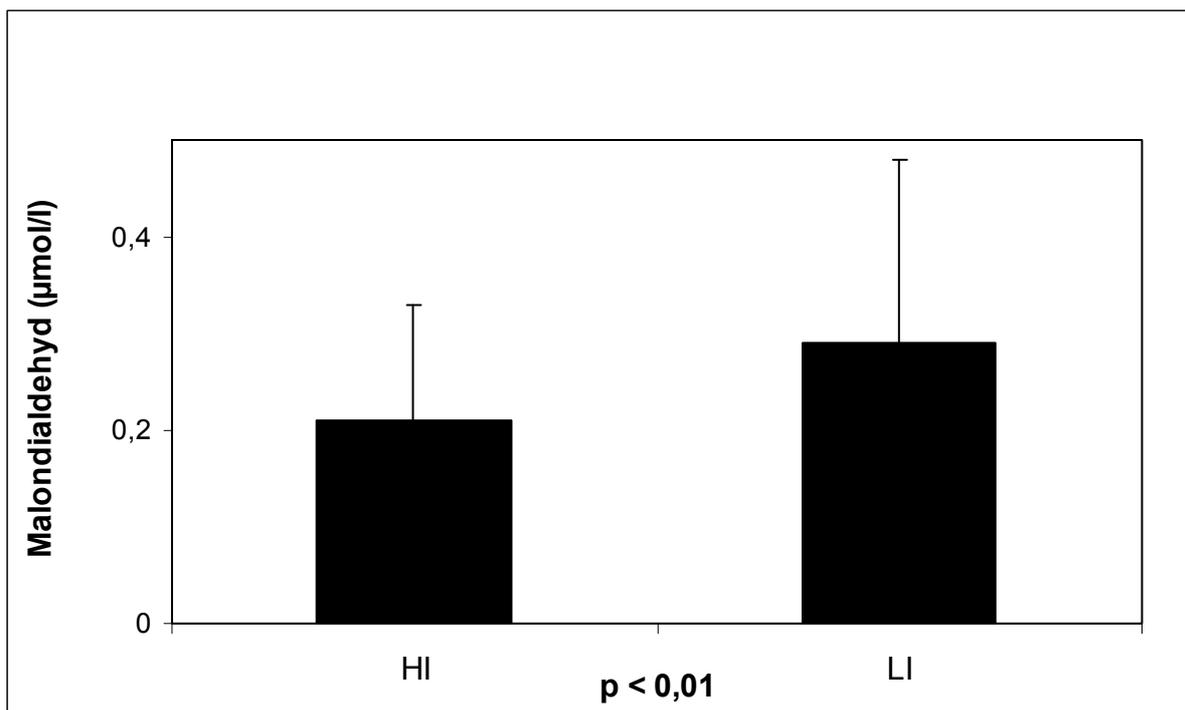


Abb. 8: Plasmakonzentrationen des MDA (µmol/l) in der HI Gruppe und der LI Gruppe

Ergebnisse

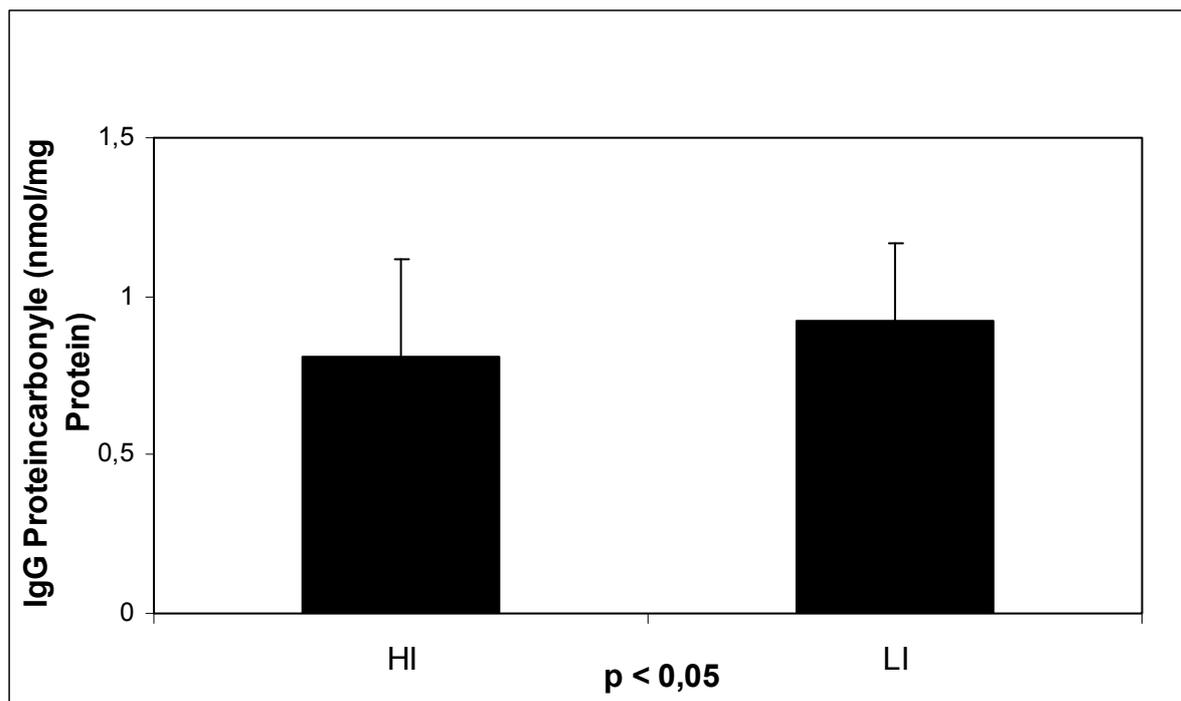


Abb. 9: Plasmakonzentrationen der IgG Proteincarbonyle (nmol/mg Protein) in der HI Gruppe und der LI Gruppe

3.2 Geschlechtsspezifische Subgruppenanalyse

3.2.1 Subgruppenanalyse gesunder Frauen mit hohem oder geringem Früchte- und Gemüseverzehr

HI Gruppe gegen LI Gruppe

Nach der Auswertung des „Food-frequency questionnaire“ wurden 37 Frauen der Gruppe mit hohem Früchte- und Gemüseverzehr (HI = high intake) ($63,4 \pm 16,0$) und 37 Frauen der Gruppe mit geringem Verzehr von Früchten und Gemüse (LI= low intake) ($70,7 \pm 20,9$) zugeordnet. Alle Frauen der HI Gruppe verzehrten täglich 4 oder mehr Portionen an Früchten und Gemüse (≥ 350 g), wobei die farbliche Zusammenstellung ihres täglichen Früchte und Gemüseverzehrs variierte. Die Frauen der LI Gruppe erfüllten in Bezug auf die farbliche Variation die gleichen Voraussetzungen, aber verzehrten nur 1 oder weniger Portionen Früchte und Gemüse pro Tag (≤ 100 g). Die Frauen unterschieden sich nicht in ihren Lebensgewohnheiten und keiner der Hauptvariablen, die für die Erhebung des Ernährungszustandes wichtig waren einschließlich des BMI.

Wie aus der Tabelle 3.2 (nur signifikante Ergebnisse grafisch dargestellt) ersichtlich ist, waren die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen an α -Tokopherol ($p < 0,01$), Vitamin C ($p < 0,01$), Lycopin ($p < 0,05$) und β -Carotin ($p < 0,0001$) in der HI Gruppe signifikant höher als in der LI Gruppe. Bei der Bestimmung des Biomarkers IgG Proteincarbonyle ($p < 0,01$) fiel auf, dass die Werte signifikant höher bei der LI Gruppe als bei der HI Gruppe waren.

Ergebnisse

Tabelle 3.2: Plasmakonzentrationen von lipophilen Antioxidantien, Vitaminen und IgG Proteincarbonylen in der HI Gruppe (Frauen) und der LI Gruppe (Frauen) (n.s. = statistisch nicht signifikant)

Parameter	HI Gruppe (n = 37)	LI Gruppe (n = 37)	p Signifikanz
α-Tokopherol (μmol/l)	25,6 ± 7,5	20,3 ± 4,2	< 0,01
γ-Tocopherol (μmol/l)	1,7 ± 0,63	1,5 ± 0,60	n.s.
Vitamin A (μmol/l)	2,0 ± 0,62	2,0 ± 0,56	n.s.
Vitamin C (μmol/l)	29,6 ± 3,3	27,4 ± 3,4	< 0,01
Lutein (μmol/l)	0,51 ± 0,21	0,59 ± 0,32	n.s.
Zeaxanthin (μmol/l)	0,12 ± 0,05	0,11 ± 0,07	n.s.
β-Cryptoxanthin (μmol/l)	0,31 ± 0,32	0,25 ± 0,21	n.s.
Lykopin (μmol/l)	0,92 ± 0,30	0,71 ± 0,3	< 0,05
α-Carotin (μmol/l)	0,10 ± 0,06	0,10 ± 0,11	n.s.
β-Carotin (μmol/l)	0,92 ± 0,30	0,61 ± 0,3	< 0,0001
Malondialdehyd (μmol/l)	0,22 ± 0,12	0,25 ± 0,19	n.s.
IgG Proteincarbonyle (nmol/mg Protein)	0,72 ± 0,30	0,94 ± 0,22	< 0,01

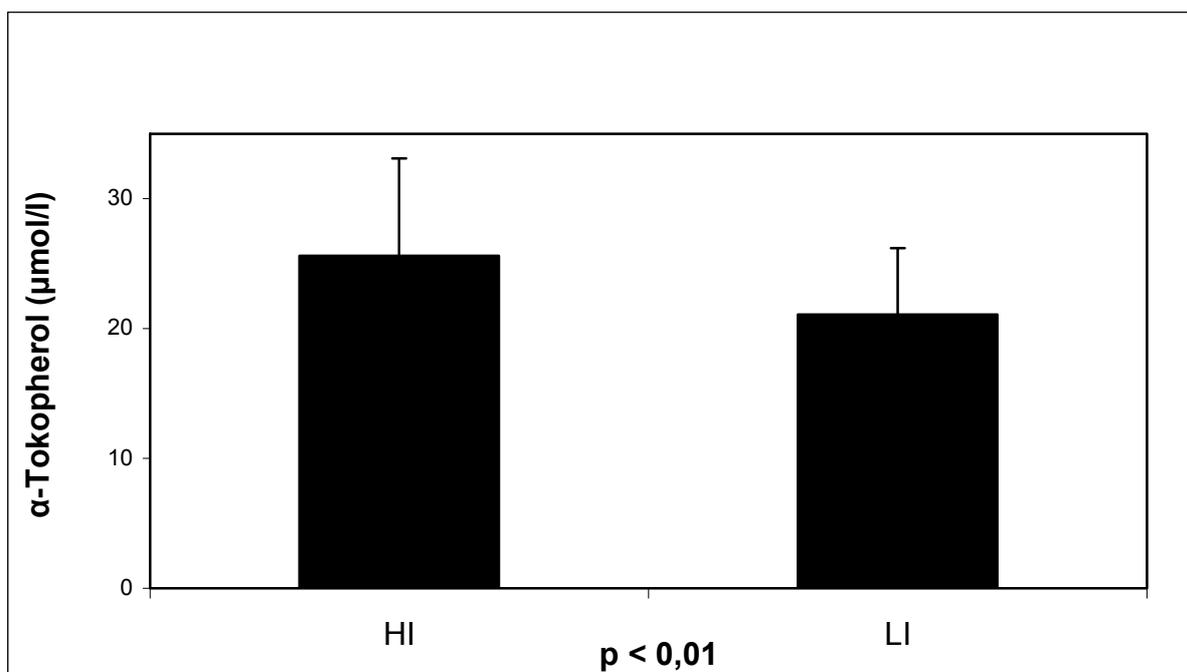


Abb. 10: Plasmakonzentrationen des α-Tokopherol (μmol/l) in der HI Gruppe (Frauen) und der LI Gruppe (Frauen)

Ergebnisse

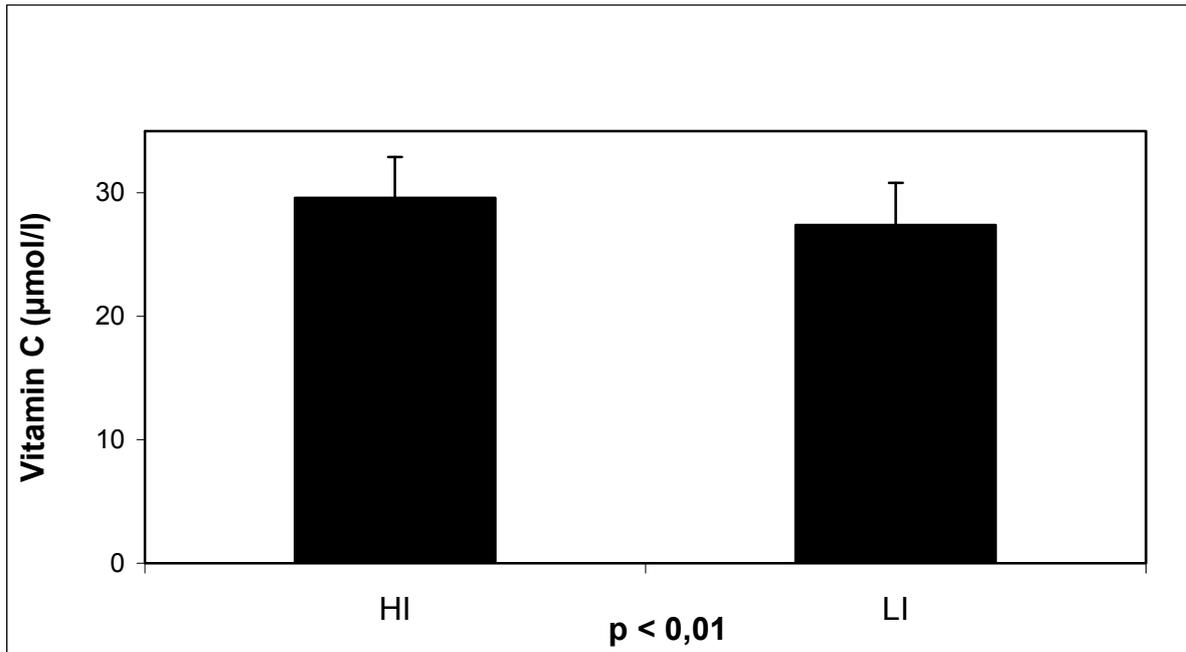


Abb. 11: Plasmakonzentrationen des Vitamin C (µmol/l) in der HI Gruppe (Frauen) und der LI Gruppe (Frauen)

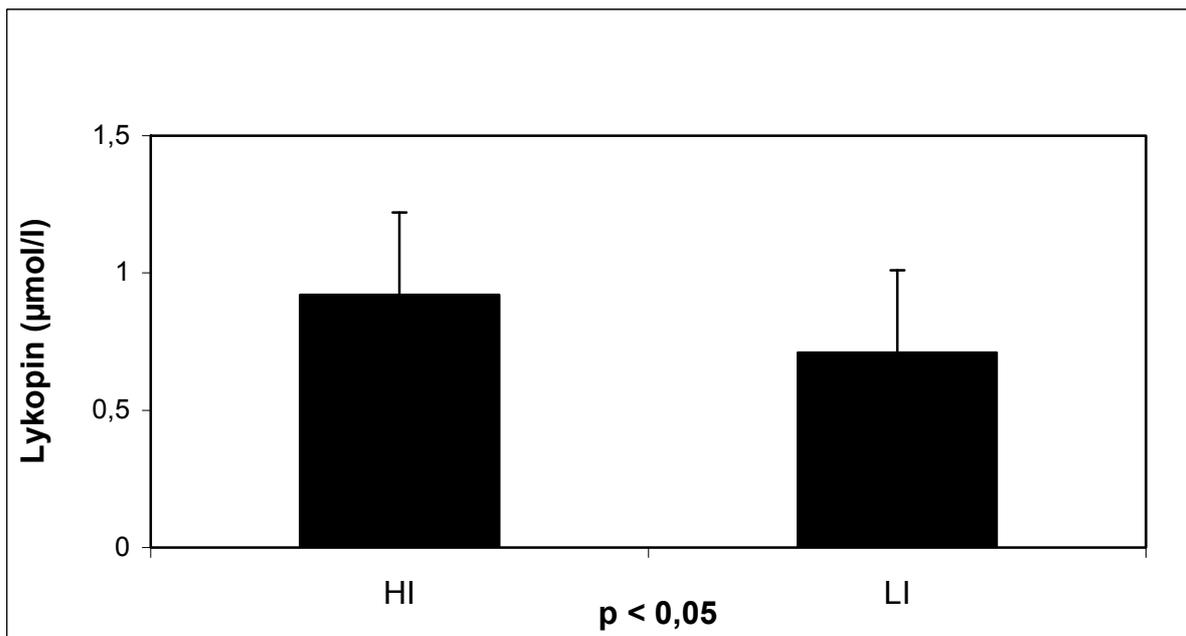


Abb. 12: Plasmakonzentrationen des Lykopen (µmol/l) in der HI Gruppe (Frauen) und der LI Gruppe (Frauen)

Ergebnisse

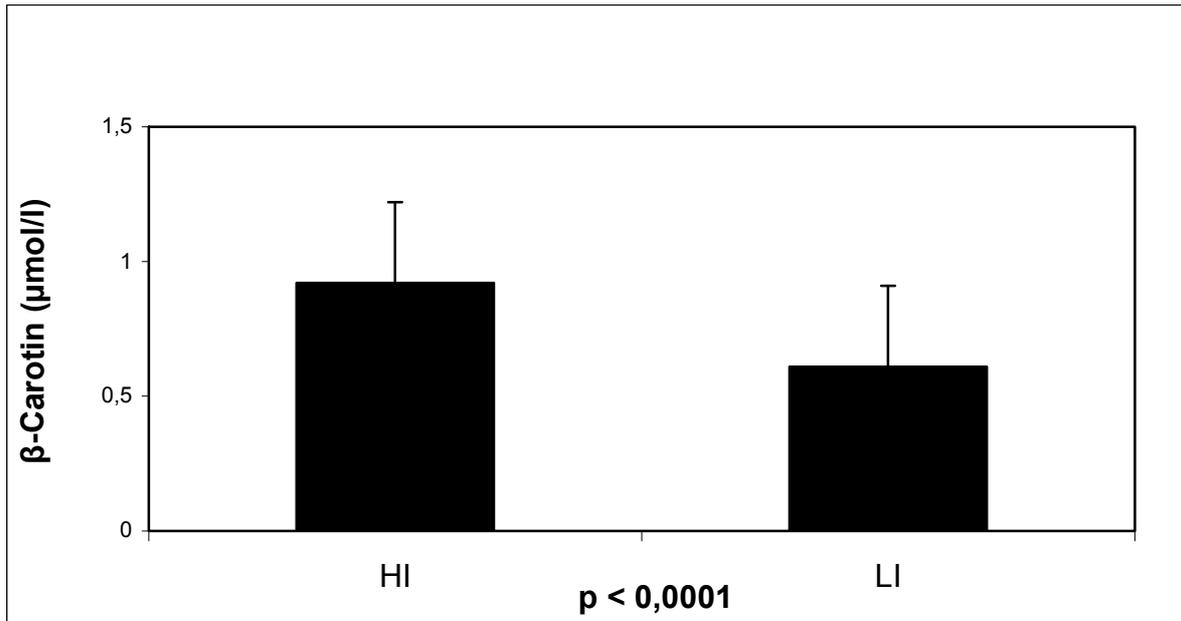


Abb. 13 : Plasmakonzentrationen des β-Carotin (µmol/l) in der HI Gruppe (Frauen) und der LI Gruppe (Frauen)

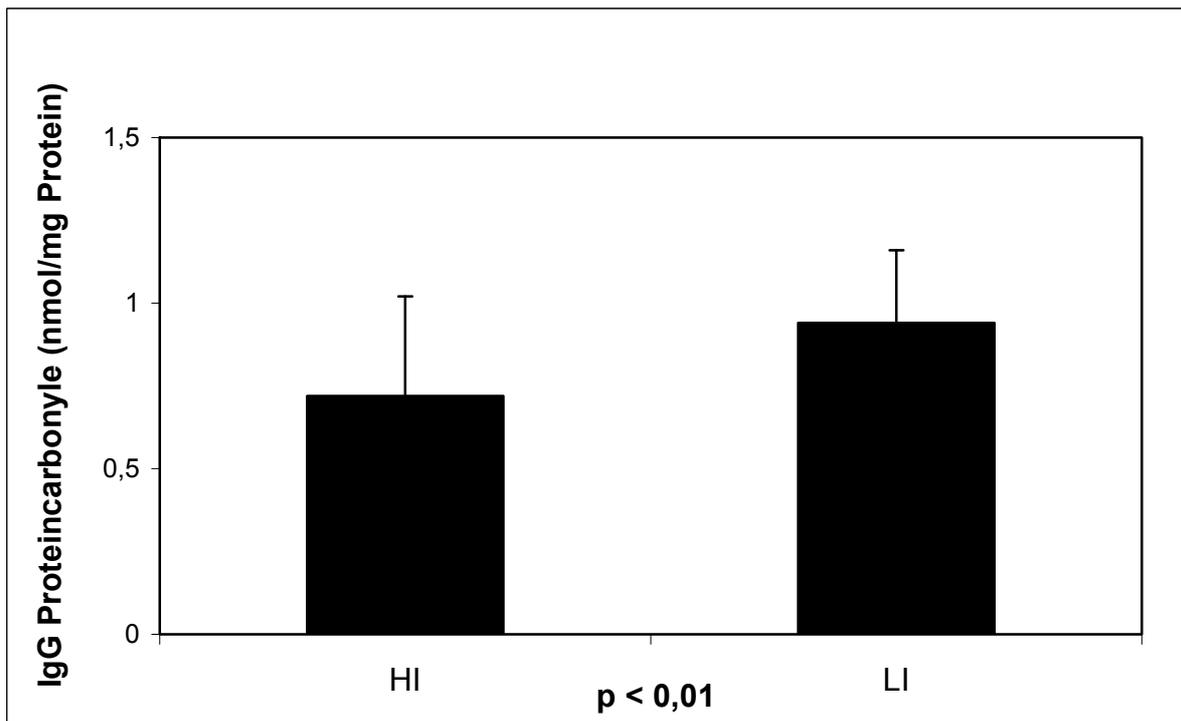


Abb. 14: Plasmakonzentrationen der IgG Proteincarbonyle (nmol/mg Protein) in der HI Gruppe (Frauen) und der LI Gruppe (Frauen)

3.2.2 Subgruppenanalyse gesunder Männer mit hohem oder geringem Früchte- und Gemüseverzehr

HI Gruppe gegen LI Gruppe

Nach der Auswertung des „Food-frequency questionnaire“ wurden 29 Männer der Gruppe mit hohem Früchte- und Gemüseverzehr (HI = high intake) ($66,8 \pm 17,0$) und 34 Männer der Gruppe mit geringem Verzehr von Früchten und Gemüse (LI = low intake) ($62,9 \pm 17,1$) zugeordnet. Die HI Gruppe (Männer) verzehrten täglich 4 oder mehr Portionen an Früchten und Gemüse (≥ 350 g), wobei die farbliche Zusammenstellung ihres täglichen Früchte und Gemüseverzehrs variierte. Die LI Gruppe (Männer) erfüllten in Bezug auf die farbliche Variation die gleichen Voraussetzungen, aber verzehrten nur 1 oder weniger Portionen Früchte und Gemüse pro Tag (≤ 100 g).

Die Männer unterschieden sich nicht in ihren Lebensgewohnheiten und keiner der Hauptvariablen, die für die Erhebung des Ernährungszustandes wichtig waren einschließlich des BMI.

Wie aus der Tabelle 3.3 (nur signifikante Ergebnisse grafisch dargestellt) ersichtlich ist, waren die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen an α -Tokopherol ($p < 0,0001$), Vitamin C ($p < 0,0001$), Lutein ($p < 0,05$), Zeaxanthin ($p < 0,01$), β -Cryptoxanthin ($p < 0,01$), Lykopin ($p < 0,0001$), α -Carotin ($p < 0,05$) und β -Carotin ($p < 0,01$) signifikant höher in der HI Gruppe als in der LI Gruppe. Zusätzlich waren die Plasma MDA – Spiegel ($p < 0,01$) signifikant höher in der LI Gruppe als in der HI Gruppe.

Ergebnisse

Tabelle 3.3: Plasmakonzentrationen von lipophilen Antioxidantien, Vitaminen und MDA in der HI Gruppe (Männer) und in der LI Gruppe (Männer) (n.s. = statistisch nicht signifikant)

Parameter	HI Gruppe (n = 29)	LI Gruppe (n = 34)	p Signifikanz
α-Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$23,4 \pm 3,7$	$19,4 \pm 2,8$	$< 0,0001$
γ -Tocopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$1,6 \pm 0,6$	$1,4 \pm 0,5$	n.s.
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	$2,0 \pm 0,7$	$1,9 \pm 0,5$	n.s.
Vitamin C ($\mu\text{mol/l}$)	$30,6 \pm 2,7$	$26,7 \pm 2,8$	$< 0,0001$
Lutein ($\mu\text{mol/l}$)	$0,59 \pm 0,25$	$0,45 \pm 0,17$	$< 0,05$
Zeaxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,14 \pm 0,07$	$0,09 \pm 0,03$	$< 0,01$
β-Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,34 \pm 0,24$	$0,18 \pm 0,08$	$< 0,01$
Lykopen ($\mu\text{mol/l}$)	$0,99 \pm 0,25$	$0,63 \pm 0,23$	$< 0,0001$
α-Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,10 \pm 0,07$	$0,07 \pm 0,05$	$< 0,05$
β-Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,70 \pm 0,34$	$0,48 \pm 0,23$	$< 0,01$
Malondialdehyd ($\mu\text{mol/l}$)	$0,21 \pm 0,13$	$0,33 \pm 0,18$	$< 0,01$
IgG Proteincarbonyle (nmol/mg Protein)	$0,88 \pm 0,31$	$0,91 \pm 0,28$	n.s.

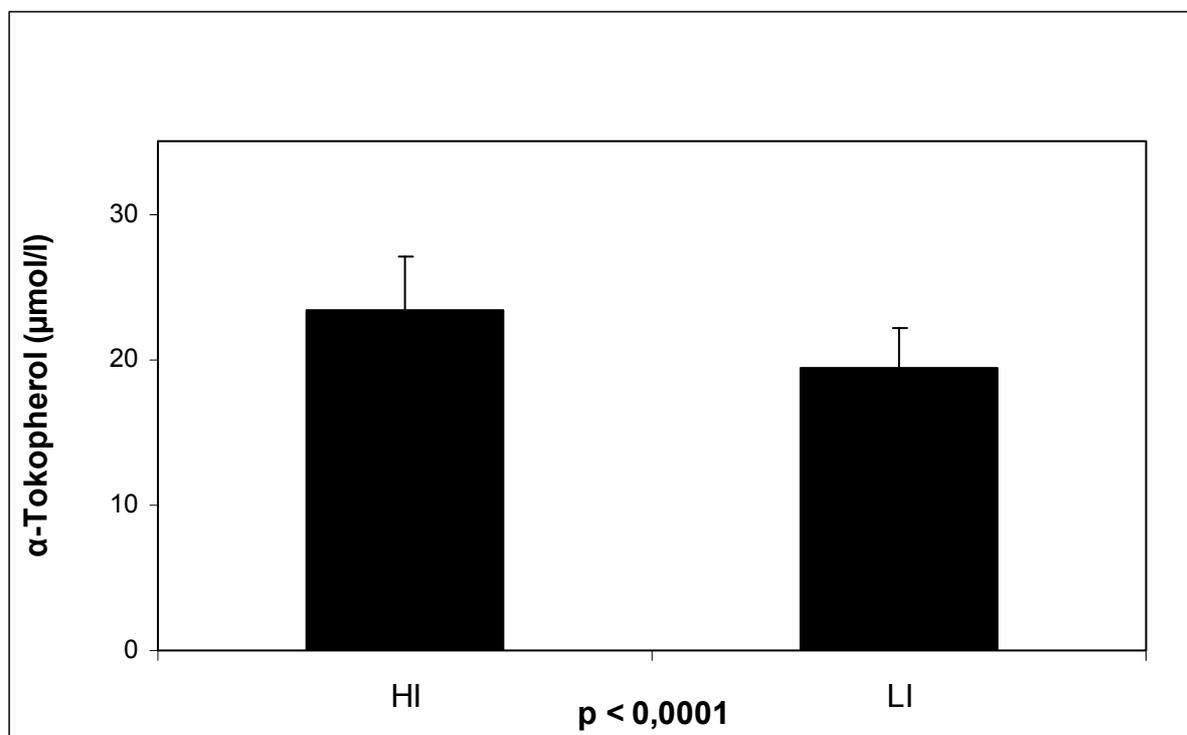


Abb. 15: Plasmakonzentrationen des α -Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

Ergebnisse

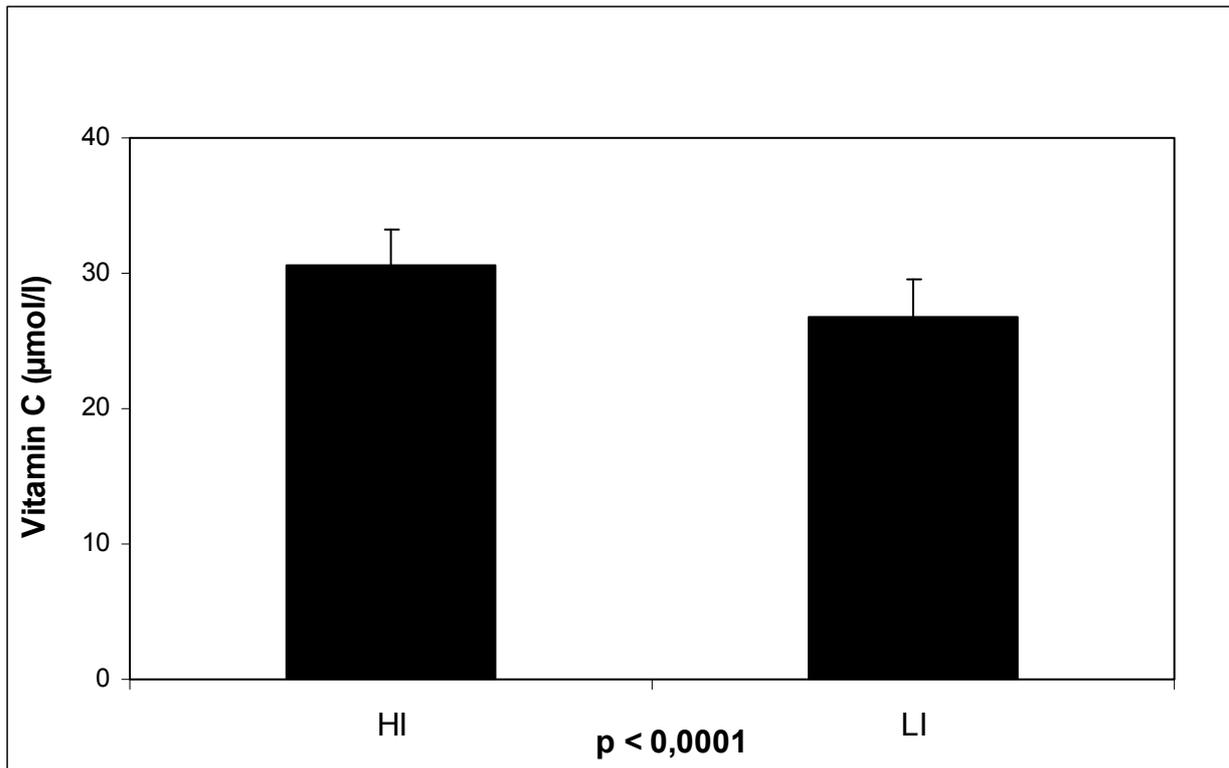


Abb. 16: Plasmakonzentrationen des Vitamin C (µmol/l) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

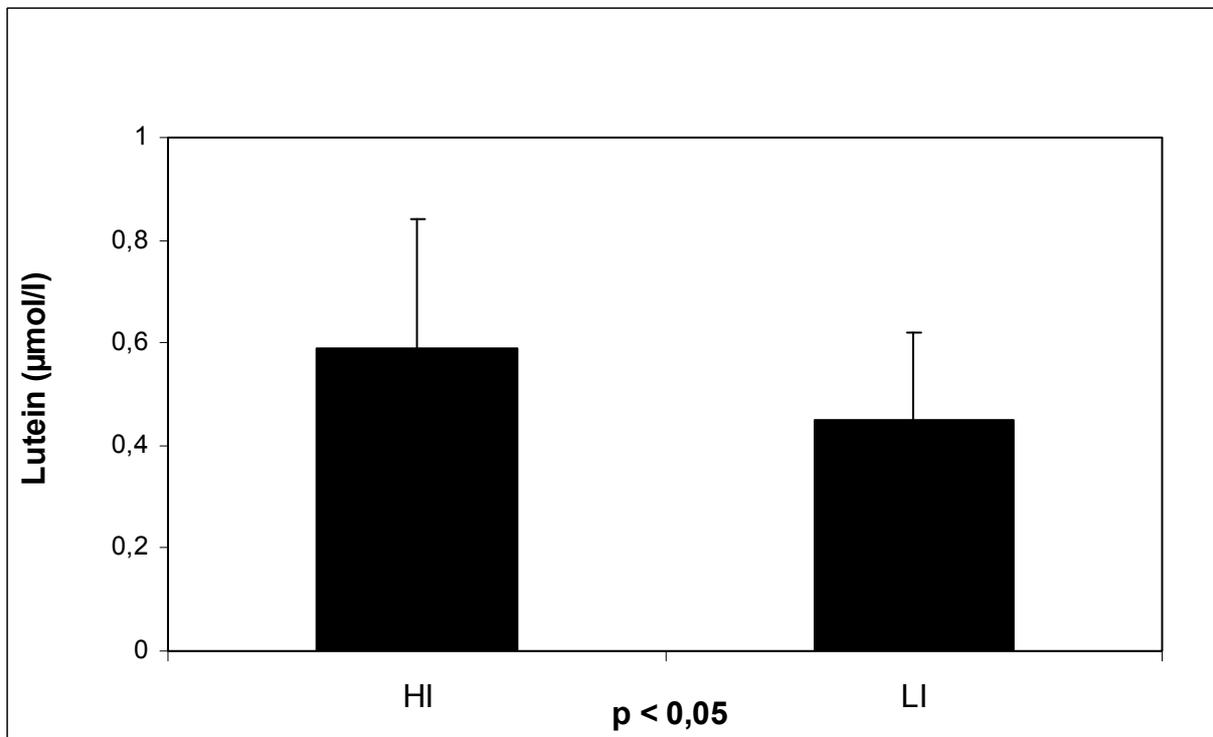


Abb. 17: Plasmakonzentrationen des Lutein (µmol/l) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

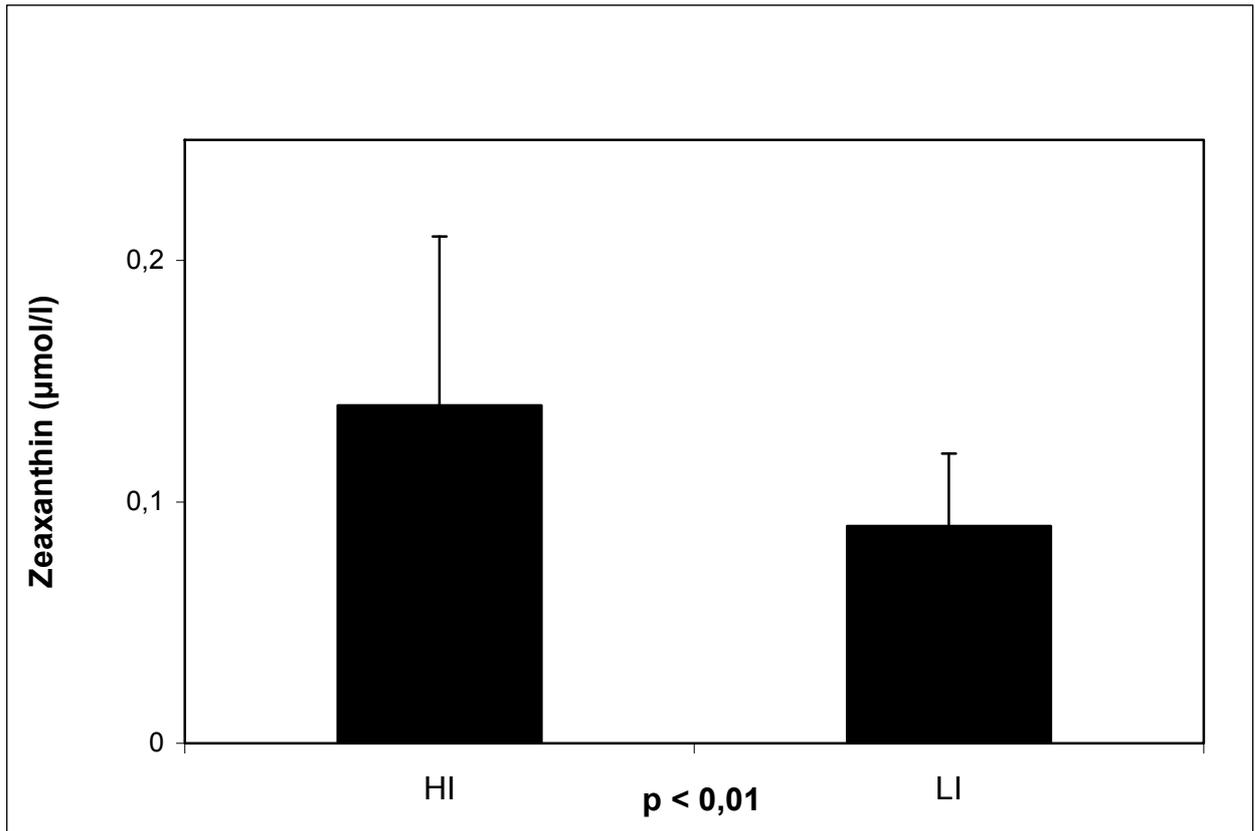


Abb. 18: Plasmakonzentrationen des Zeaxanthin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

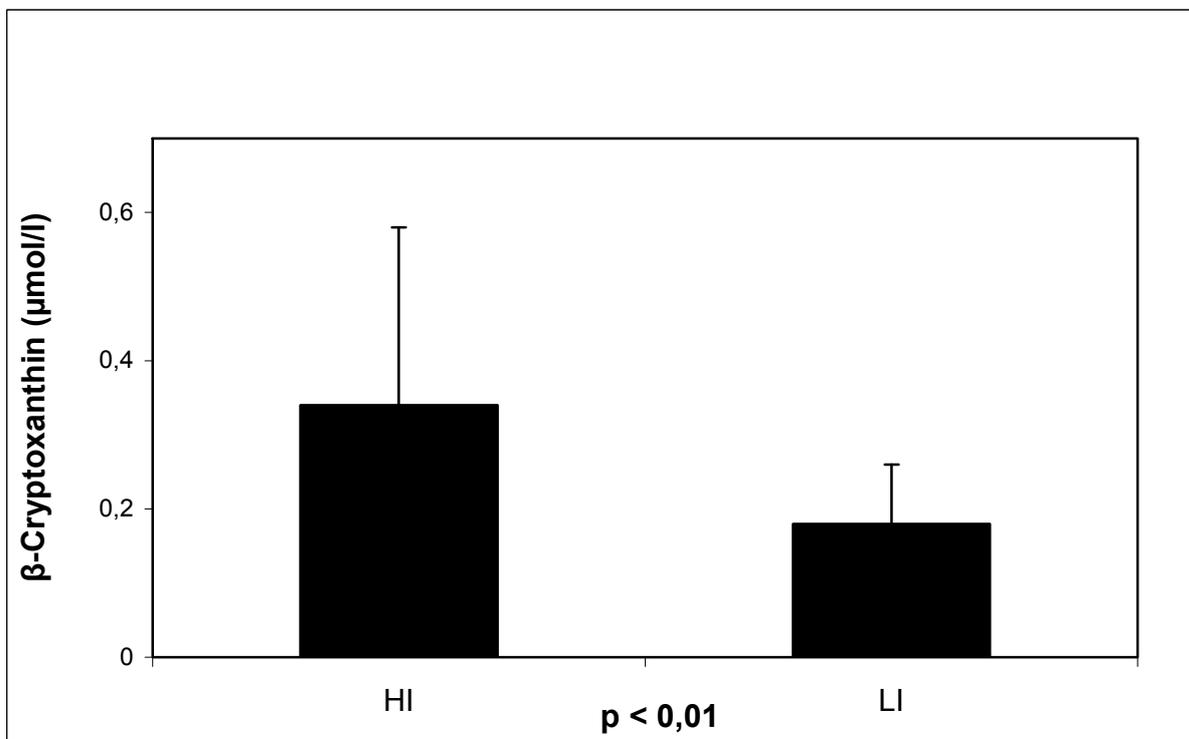


Abb. 19: Plasmakonzentrationen des β -Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

Ergebnisse

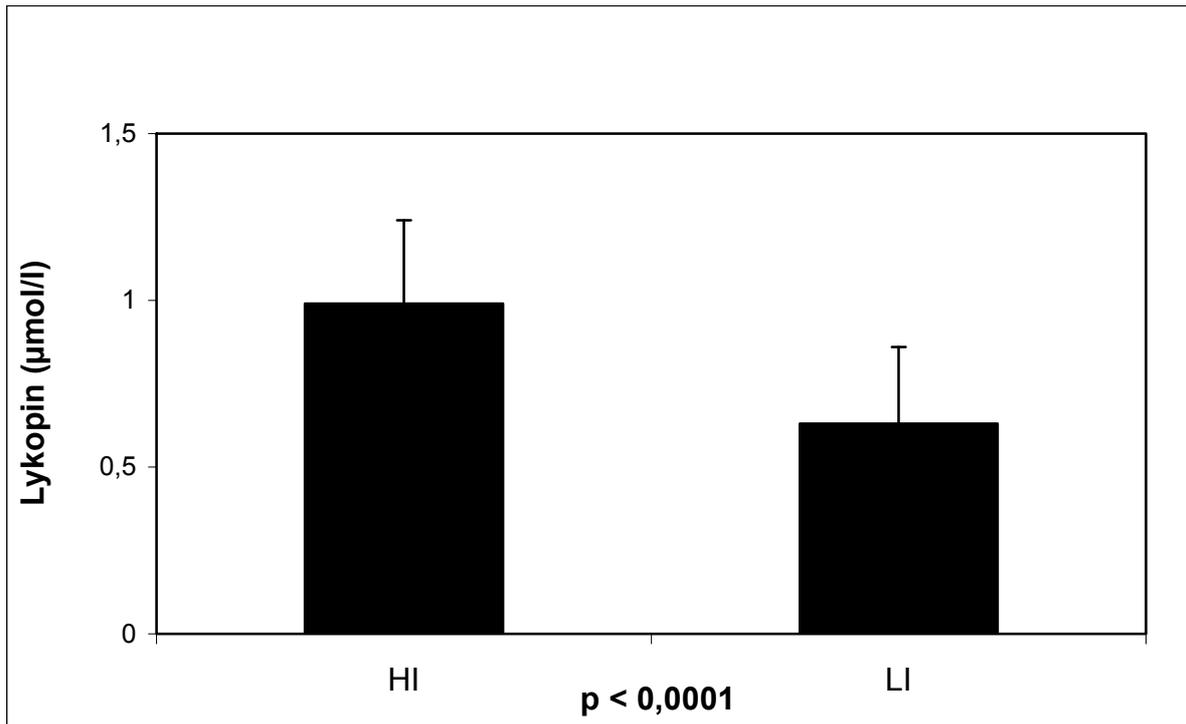


Abb. 20: Plasmakonzentrationen des Lykopin (µmol/l) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

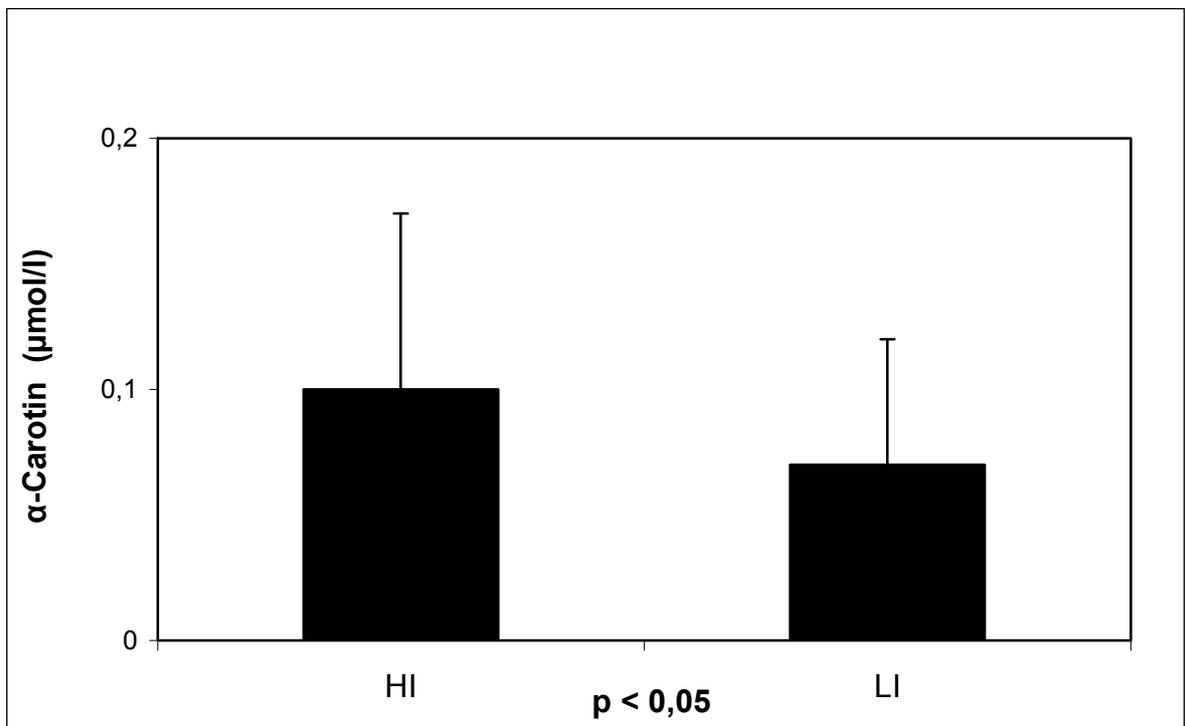


Abb. 21: Plasmakonzentrationen des α-Carotin (µmol/l) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

Ergebnisse

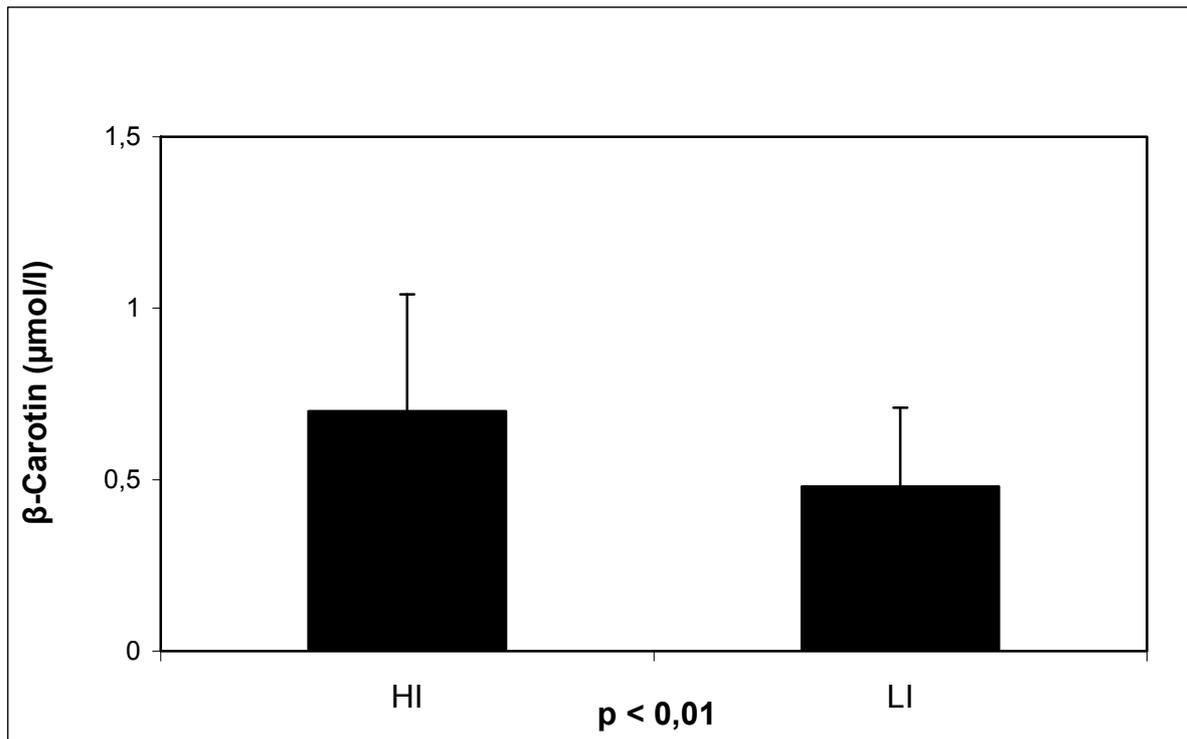


Abb. 22: Plasmakonzentrationen des β -Carotin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

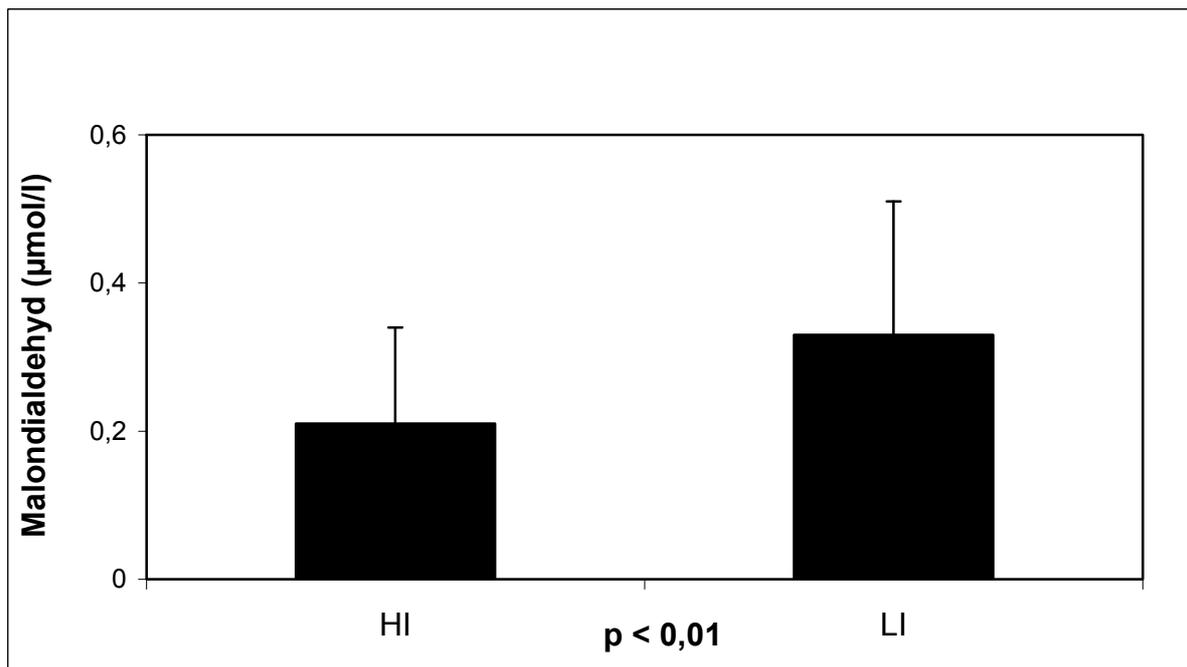


Abb. 23: Plasmakonzentrationen des MDA ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (Männer) und der LI Gruppe (Männer)

3.2.3 Subgruppenanalyse gesunder Männer und Frauen unabhängig vom Verzehr

AI (All intake) Gruppe (Männer) gegen AI (All intake) Gruppe (Frauen)

Nach der Auswertung des „Food-frequency questionnaire“, wurden 63 Männer ($64,7 \pm 17,0$), als auch 74 Frauen ($67,1 \pm 18,9$), unabhängig davon wie viele Früchte und Gemüse sie verzehrten, 2 Gruppen zugeordnet. Somit wurden 2 Gruppen, jeweils eine AI Gruppe (Männer) und eine AI Gruppe (Frauen) gebildet. In beiden Gruppen waren somit Individuen mit verschiedenen Ernährungsgewohnheiten gemischt (AI). Die Individuen unterschieden sich nicht in ihren Lebensgewohnheiten und keiner der Hauptvariablen, die für die Erhebung des Ernährungszustandes wichtig waren, einschließlich des BMI.

Wie aus der Tabelle 3.4 (nur signifikante Ergebnisse grafisch dargestellt) ersichtlich ist, waren die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen an α -Tokopherol ($p < 0,05$) und β -Carotin ($p = 0,01$) signifikant höher in der AI Gruppe (Frauen) als in der AI Gruppe (Männer).

Tabelle 3.4: Plasmakonzentrationen von α -Tokopherol und β -Carotin in der AI Gruppe (Männer) und der AI Gruppe (Frauen) (n.s. = statistisch nicht signifikant)

Parameter	AI Gruppe (Männer) (n = 63)	AI Gruppe (Frauen) (n = 74)	p Signifikanz
α -Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$21,3 \pm 3,8$	$23,4 \pm 6,8$	$< 0,05$
γ -Tocopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$1,5 \pm 0,54$	$1,7 \pm 0,62$	n.s.
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	$1,9 \pm 0,59$	$2,0 \pm 0,59$	n.s.
Vitamin C ($\mu\text{mol/l}$)	$28,5 \pm 3,4$	$28,5 \pm 3,5$	n.s.

Ergebnisse

Lutein ($\mu\text{mol/l}$)	$0,52 \pm 0,22$	$0,55 \pm 0,27$	n.s.
Zeaxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,11 \pm 0,06$	$0,12 \pm 0,06$	n.s.
β -Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,26 \pm 0,19$	$0,28 \pm 0,27$	n.s.
Lykopin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,80 \pm 0,30$	$0,81 \pm 0,35$	n.s.
α -Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,08 \pm 0,06$	$0,10 \pm 0,09$	n.s.
β-Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,59 \pm 0,31$	$0,77 \pm 0,36$	< 0,01
Malondialdehyd ($\mu\text{mol/l}$)	$0,28 \pm 0,17$	$0,23 \pm 0,16$	n.s.
IgG Proteincarbonyle (nmol/mg Protein)	$0,89 \pm 0,29$	$0,84 \pm 0,27$	n.s.

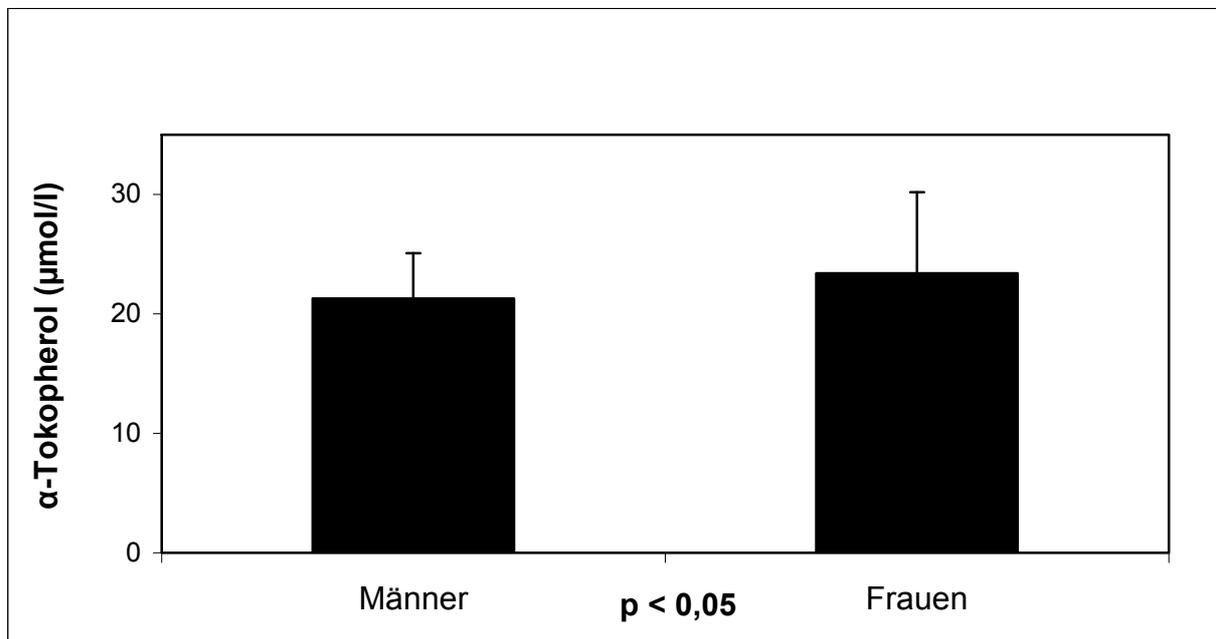


Abb. 24: Plasmakonzentrationen des α -Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$) in der AI Gruppe (Männer) und der AI Gruppe (Frauen)

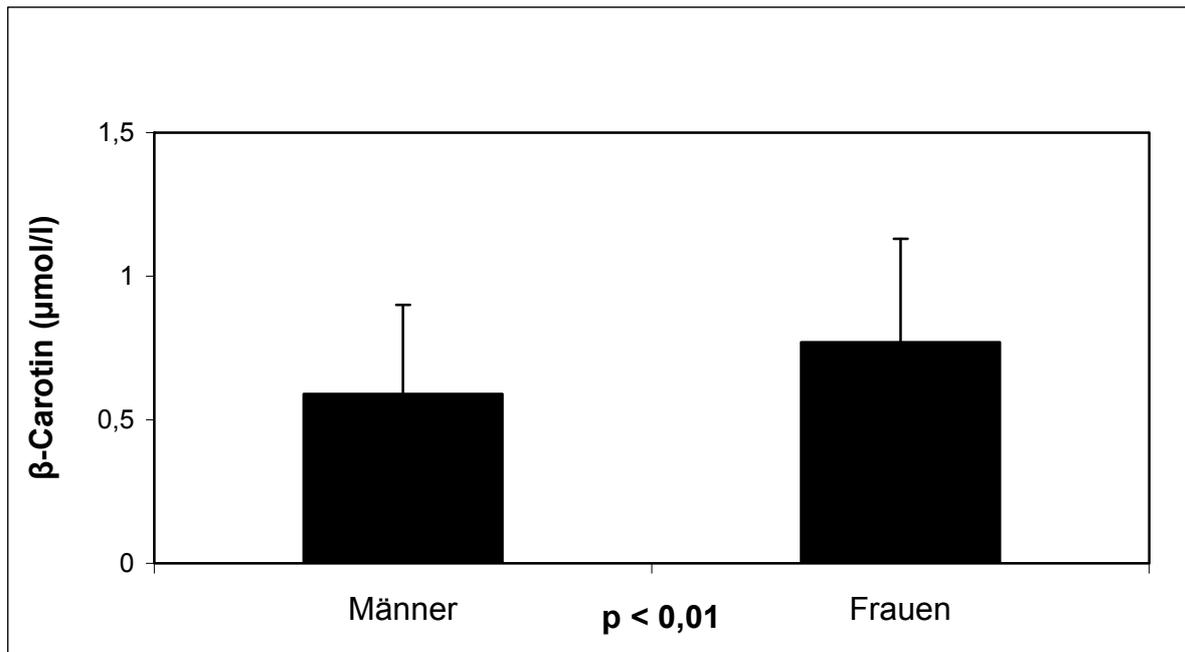


Abb. 25: Plasmakonzentrationen des β -Carotin ($\mu\text{mol/l}$) in der AI Gruppe (Männer) und der AI Gruppe (Frauen)

3.3 Altersspezifische Subgruppenanalyse

3.3.1 Subgruppenanalyse gesunder Menschen jünger als 65

Jahre und älter als 65 Jahre unabhängig vom Verzehr

AI Gruppe (< 65 J) versus AI Gruppe (> 65 J)

In Abhängigkeit vom Alter der Probanden konnten 2 Gruppen unterschieden werden. Dabei spielte die Ernährungsweise für die Zuteilung in die jeweilige Gruppe keine Rolle (AI). In der 1. Gruppe, in der Personen jünger als 65 Jahre alt waren, befanden sich 49 Probanden ($47,4 \pm 10,4$), und in der 2. Gruppe, in der die Personen älter als 65 Jahre befanden sich 88 Probanden ($76,3 \pm 12,1$). In beiden Gruppen waren somit Individuen mit verschiedenen Ernährungsgewohnheiten gemischt (AI). Die Individuen

Ergebnisse

unterschieden sich nicht in ihren Lebensgewohnheiten und keiner der Hauptvariablen, die für die Erhebung des Ernährungszustandes wichtig waren, einschließlich des BMI.

Wie in der Tabelle 3.5 (nur signifikante Ergebnisse grafisch dargestellt) zu sehen ist, waren die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen an α -Tokopherol ($p < 0,05$) und Vitamin C ($p < 0,001$) in der AI Gruppe (< 65 J) im Vergleich zu der AI Gruppe (> 65 J) signifikant höher. Auffällig ist, dass es beim Vitamin A ($p < 0,0001$) genau umgekehrt war, da dieses in der AI Gruppe (> 65 J) signifikant höher als in der AI Gruppe (< 65 J) war.

Tabelle 3.5: Plasmakonzentrationen von α -Tokopherol, Vitamin A und Vitamin C in der AI Gruppe (< 65 J) und in der AI Gruppe (> 65 J) (n.s. = statistisch nicht signifikant)

Parameter	AI Gruppe (< 65 J) (n = 49)	AI Gruppe (> 65 J) (n = 88)	p Signifikanz
α-Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$23,7 \pm 7,1$	$21,3 \pm 3,8$	$< 0,05$
γ -Tocopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$1,6 \pm 0,6$	$1,5 \pm 0,6$	n.s.
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	$1,8 \pm 0,6$	$2,2 \pm 0,5$	$< 0,0001$
Vitamin C ($\mu\text{mol/l}$)	$29,5 \pm 3,5$	$27,6 \pm 3,1$	$< 0,001$
Lutein ($\mu\text{mol/l}$)	$0,53 \pm 0,22$	$0,54 \pm 0,26$	n.s.
Zeaxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,11 \pm 0,06$	$0,12 \pm 0,06$	n.s.
β -Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,24 \pm 0,14$	$0,29 \pm 0,27$	n.s.
Lykopin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,78 \pm 0,36$	$0,83 \pm 0,30$	n.s.
α -Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,08 \pm 0,06$	$0,10 \pm 0,08$	n.s.
β -Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,65 \pm 0,38$	$0,70 \pm 0,33$	n.s.
Malondialdehyd ($\mu\text{mol/l}$)	$0,24 \pm 0,13$	$0,26 \pm 0,18$	n.s.
IgG Proteincarbonyle (nmol/mg Protein)	$0,81 \pm 0,29$	$0,89 \pm 0,28$	n.s.

Ergebnisse

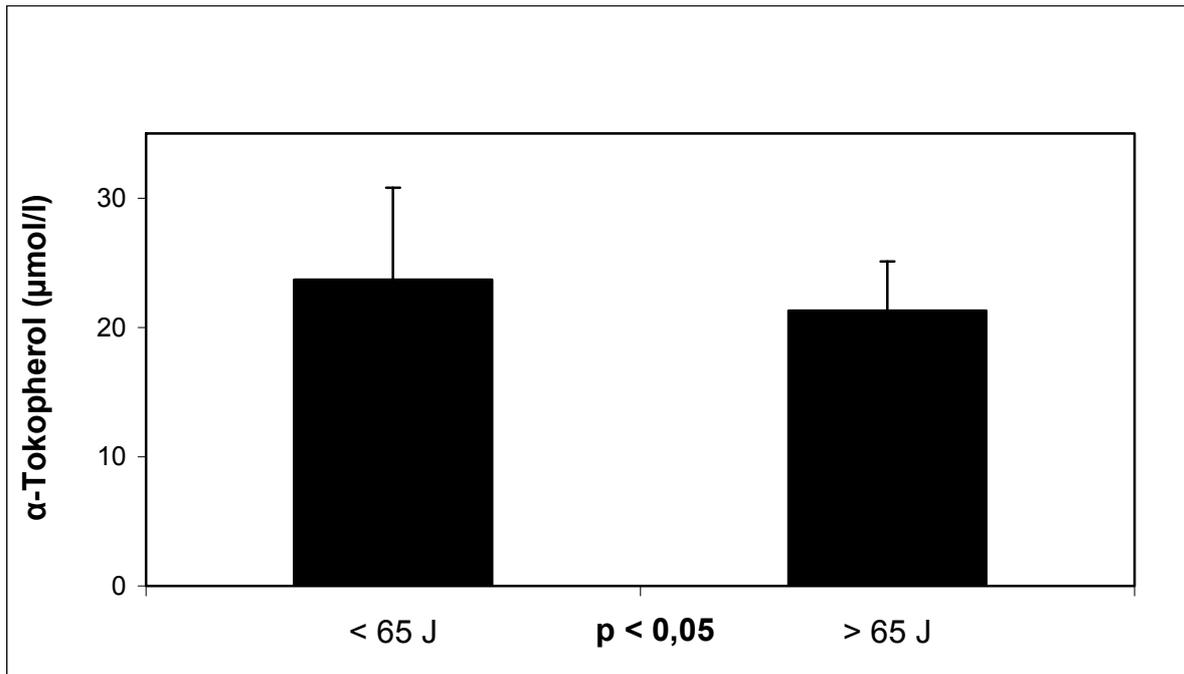


Abb.26: Plasmakonzentrationen des α-Tokopherol (µmol/l) in der AI Gruppe (< 65 J) und in der AI Gruppe (> 65 J)

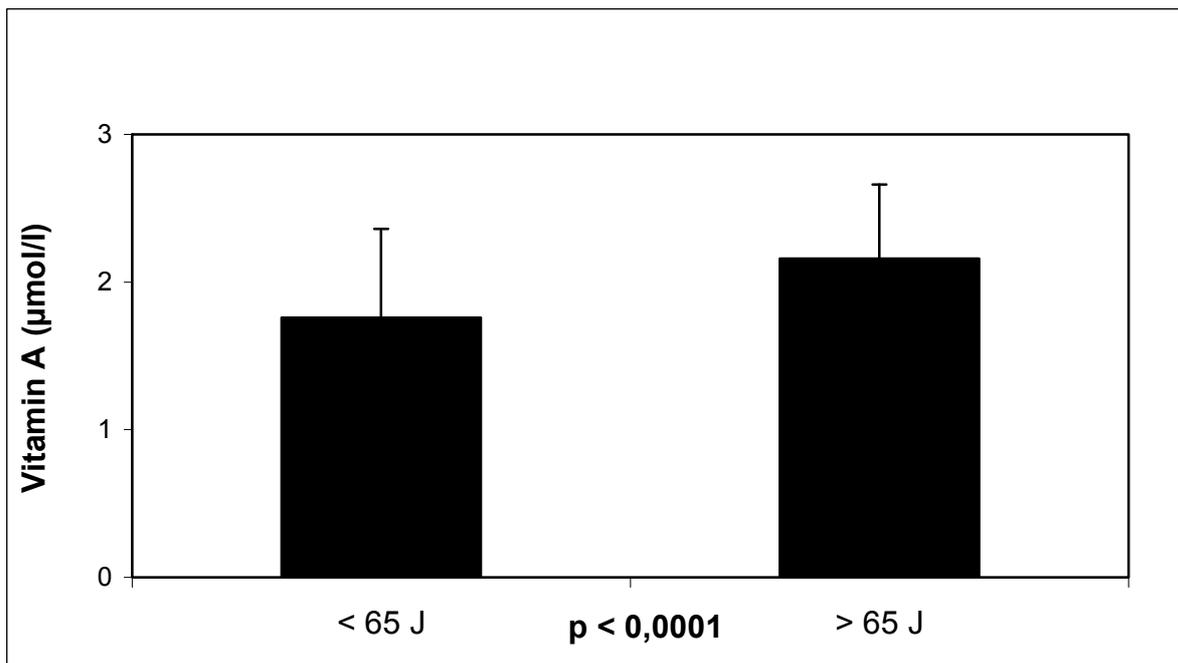


Abb. 27: Plasmakonzentrationen des Vitamin A (µmol/l) in der AI Gruppe (< 65 J) und in der AI Gruppe (> 65 J)

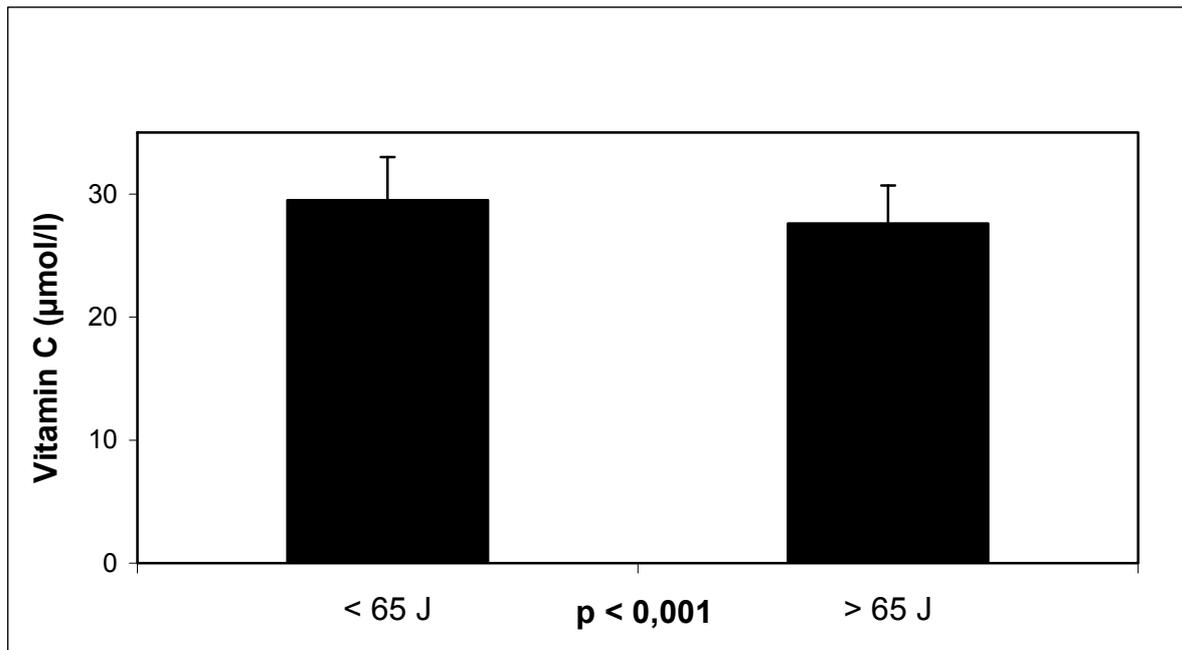


Abb. 28: Plasmakonzentrationen des Vitamin C (µmol/l) in der AI Gruppe (< 65 J) und in der AI Gruppe (> 65 J)

3.3.2 Subgruppenanalyse gesunder Menschen jünger als 65 Jahre mit hohem oder geringem Früchte- und Gemüseverzehr

HI Gruppe (< 65 J) versus LI Gruppe (< 65 J)

Nach der Auswertung des „Food-frequency questionnaire“ wurden 26 Individuen der Gruppe mit hohem Früchte- und Gemüseverzehr (HI = high intake) (10 männlich, 16 weiblich, $49,7 \pm 10,4$) und 23 Individuen der Gruppe mit geringem Verzehr von Früchten und Gemüse (LI = low intake) (13 männlich, 10 weiblich, $44,8 \pm 9,9$) zugeordnet. Alle Individuen der HI Gruppe verzehrten täglich 4 oder mehr Portionen an Früchten und Gemüse (≥ 350 g), wobei die farbliche Zusammenstellung ihres täglichen Früchte und Gemüseverzehrs variierte. Die Individuen der LI Gruppe erfüllten in Bezug auf die farbliche Variation die gleichen Voraussetzungen, aber

Ergebnisse

verzehrt nur 1 oder weniger Portionen Früchte und Gemüse pro Tag (≤ 100 g). Die Individuen unterschieden sich nicht in ihren Lebensgewohnheiten und keiner der Hauptvariablen, die für die Erhebung des Ernährungszustandes wichtig waren einschließlich des BMI.

Wie aus Tabelle 3.6 (nur signifikante Ergebnisse grafisch dargestellt) ersichtlich ist, waren die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen an β -Cryptoxanthin ($p < 0,01$) und Lykopin ($p < 0,001$) signifikant höher in der HI Gruppe als in der LI Gruppe.

Tabelle 3.6: Plasmakonzentrationen von β -Cryptoxanthin und Lykopin in der HI Gruppe (< 65 J) und der LI Gruppe (< 65 J) (n.s. = statistisch nicht signifikant)

Parameter	HI Gruppe (< 65 J) (n = 26)	LI Gruppe (< 65 J) (n = 23)	p Signifikanz
α -Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$)	24,2 \pm 7,3	22,6 \pm 6,2	n.s.
γ -Tocopherol ($\mu\text{mol/l}$)	1,7 \pm 0,6	1,5 \pm 0,6	n.s.
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	1,8 \pm 0,6	1,7 \pm 0,6	n.s.
Vitamin C ($\mu\text{mol/l}$)	29,8 \pm 7,3	22,6 \pm 6,2	n.s.
Lutein ($\mu\text{mol/l}$)	0,6 \pm 0,2	0,5 \pm 0,2	n.s.
Zeaxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	0,12 \pm 0,08	0,09 \pm 0,03	n.s.
β-Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	0,28 \pm 0,16	0,18 \pm 0,10	< 0,01
Lykopin ($\mu\text{mol/l}$)	0,89 \pm 0,35	0,65 \pm 0,33	< 0,001
α -Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	0,08 \pm 0,07	0,08 \pm 0,06	n.s.
β -Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	0,70 \pm 0,4	0,60 \pm 0,35	n.s.
Malondialdehyd ($\mu\text{mol/l}$)	0,22 \pm 0,10	0,26 \pm 0,16	n.s.
IgG Proteincarbonyl (nmol/mg Protein)	0,75 \pm 0,31	0,87 \pm 0,27	n.s.

Ergebnisse

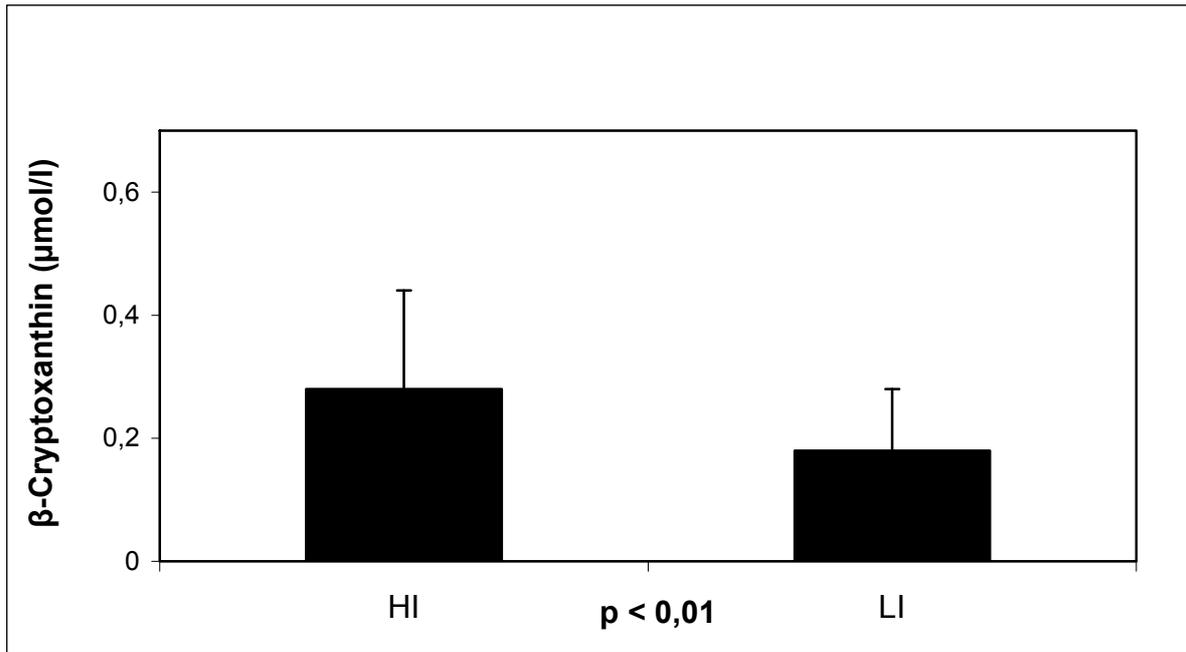


Abb.29: Plasmakonzentrationen des β -Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (< 65 J) und der LI Gruppe (< 65 J)

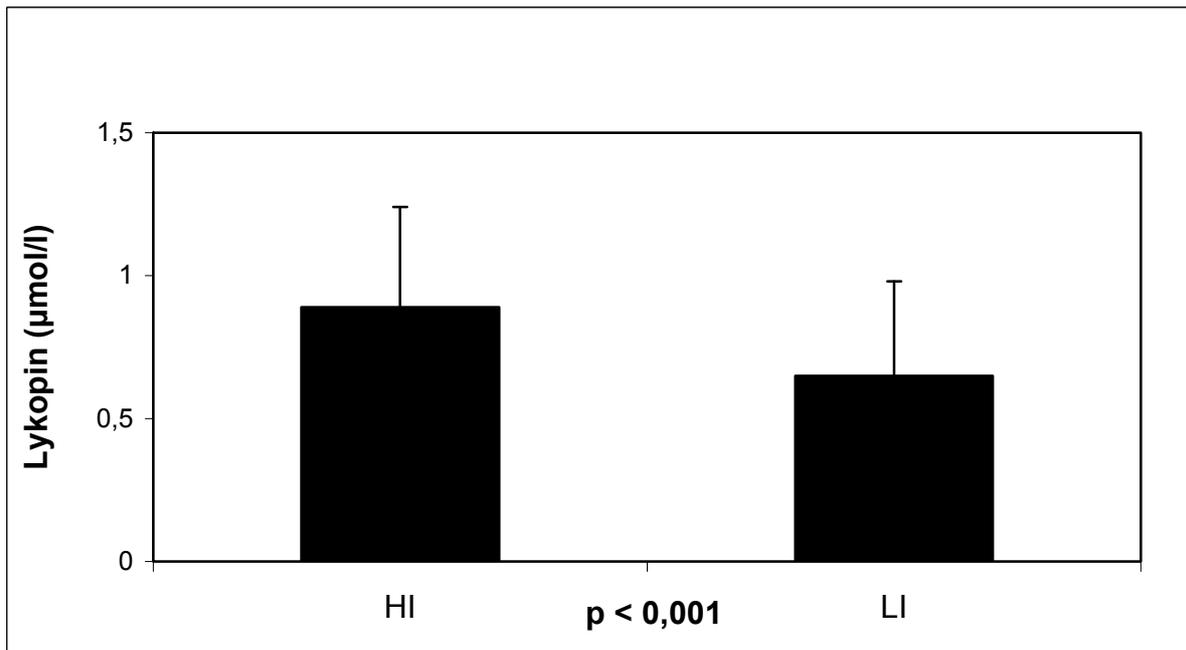


Abb.30: Plasmakonzentrationen des Lycopin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (< 65 J) und der LI Gruppe (< 65 J)

3.3.3 Subgruppenanalyse gesunder Menschen älter als 65 Jahre mit hohem oder geringem Früchte- und Gemüseverzehr

HI Gruppe (> 65 J) versus LI Gruppe (> 65 J)

Nach der Auswertung des „Food-frequency questionnaire“ wurden 40 Individuen der Gruppe mit hohem Früchte- und Gemüseverzehr (HI = high intake) (19 männlich, 21 weiblich, $74,7 \pm 11,3$) und 48 Individuen der Gruppe mit geringem Verzehr von Früchten und Gemüse (LI = low intake) (21 männlich, 27 weiblich, $77,6 \pm 12,8$) zugeordnet. Alle Individuen der HI Gruppe verzehrten täglich 4 oder mehr Portionen an Früchten und Gemüse (≥ 350 g), wobei die farbliche Zusammenstellung ihres täglichen Früchte und Gemüseverzehrs variierte. Die Individuen der LI Gruppe erfüllten in Bezug auf die farbliche Variation die gleichen Voraussetzungen, aber verzehrten nur 1 oder weniger Portionen Früchte und Gemüse pro Tag (≤ 100 g). Die Individuen unterschieden sich nicht in ihren Lebensgewohnheiten und keiner der Hauptvariablen, die für die Erhebung des Ernährungszustandes wichtig waren einschließlich des BMI.

Wie aus Tabelle 3.7 (nur signifikante Ergebnisse grafisch dargestellt) ersichtlich ist, waren die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen an α -Tokopherol ($p < 0,0001$), γ -Tokopherol ($p < 0,05$), Zeaxanthin ($p < 0,01$), β -Cryptoxanthin ($p < 0,01$), Lycopin ($p < 0,001$) und β -Carotin ($p < 0,0001$) signifikant höher in der HI Gruppe als in der LI Gruppe. Es wurden ebenfalls die Plasma MDA – Spiegel ($p < 0,01$) bestimmt und dabei fiel auf, dass diese signifikant höher in der LI Gruppe als in der HI Gruppe waren.

Tabelle 3.7: Plasmakonzentrationen von lipophilen Antioxidantien und Malondialdehyd in der HI Gruppe (> 65 J) und der LI Gruppe (>65 J) (n.s. = statistisch nicht signifikant)

Parameter	HI Gruppe (> 65 J) (n = 40)	LI Gruppe (> 65 J) (n = 48)	p Signifikanz
α-Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$24,9 \pm 5,4$	$19,3 \pm 2,2$	< 0,0001
γ-Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$)	$1,6 \pm 0,6$	$1,4 \pm 0,5$	< 0,05
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	$2,17 \pm 0,63$	$2,04 \pm 0,47$	n.s.
Vitamin C ($\mu\text{mol/l}$)	$30,2 \pm 3,3$	$26,5 \pm 3,0$	n.s.
Lutein ($\mu\text{mol/l}$)	$0,54 \pm 0,23$	$0,54 \pm 0,29$	n.s.
Zeaxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,13 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,06$	< 0,01
β-Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,36 \pm 0,30$	$0,23 \pm 0,10$	< 0,01
Lykopin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,99 \pm 0,20$	$0,68 \pm 0,20$	< 0,001
α -Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,12 \pm 0,06$	$0,09 \pm 0,10$	n.s.
β-Carotin ($\mu\text{mol/l}$)	$0,90 \pm 0,30$	$0,51 \pm 0,20$	< 0,0001
Malondialdehyd ($\mu\text{mol/l}$)	$0,20 \pm 0,10$	$0,30 \pm 0,20$	< 0,01
IgG Proteincarbonyle (nmol/mg Protein)	$0,83 \pm 0,30$	$0,94 \pm 0,25$	n.s.

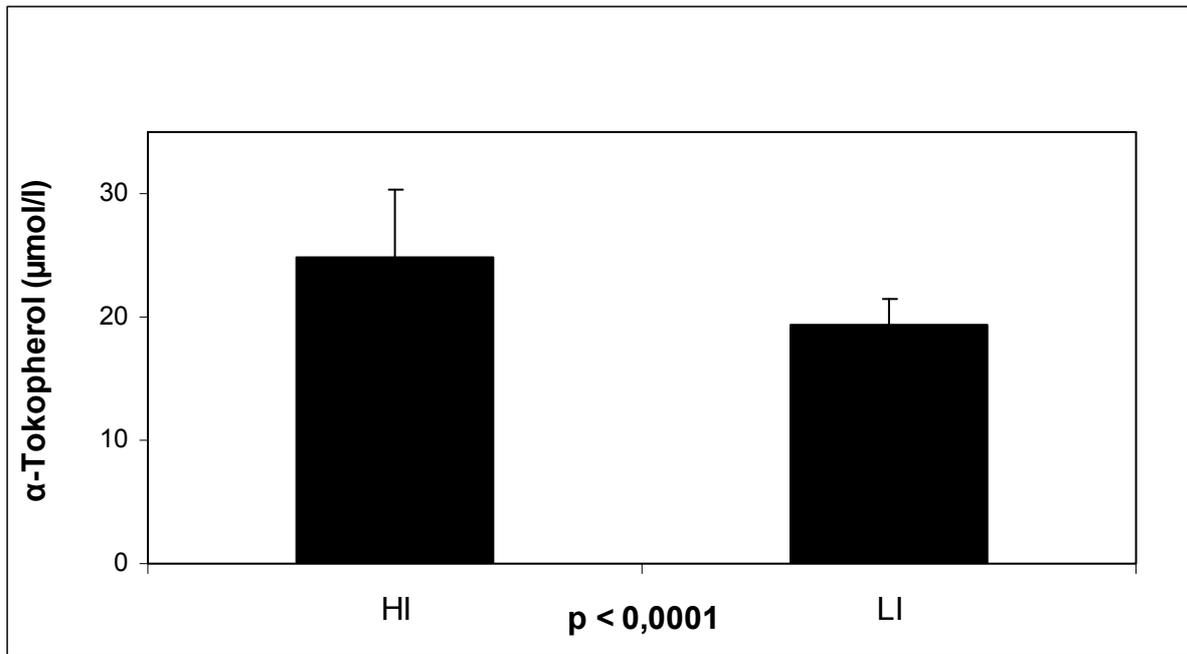


Abb. 31: Plasmakonzentrationen des α -Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (> 65 J) und der LI Gruppe (> 65 J)

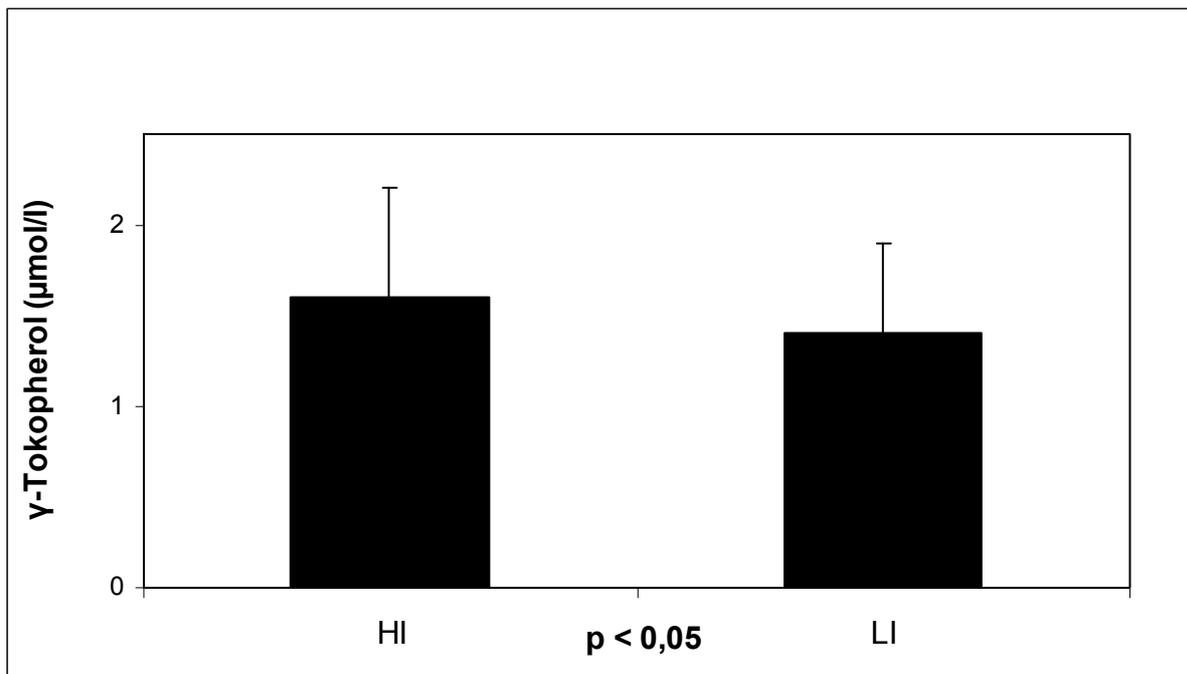


Abb. 32: Plasmakonzentrationen des γ -Tokopherol ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (> 65 J) und der LI Gruppe (> 65 J)

Ergebnisse

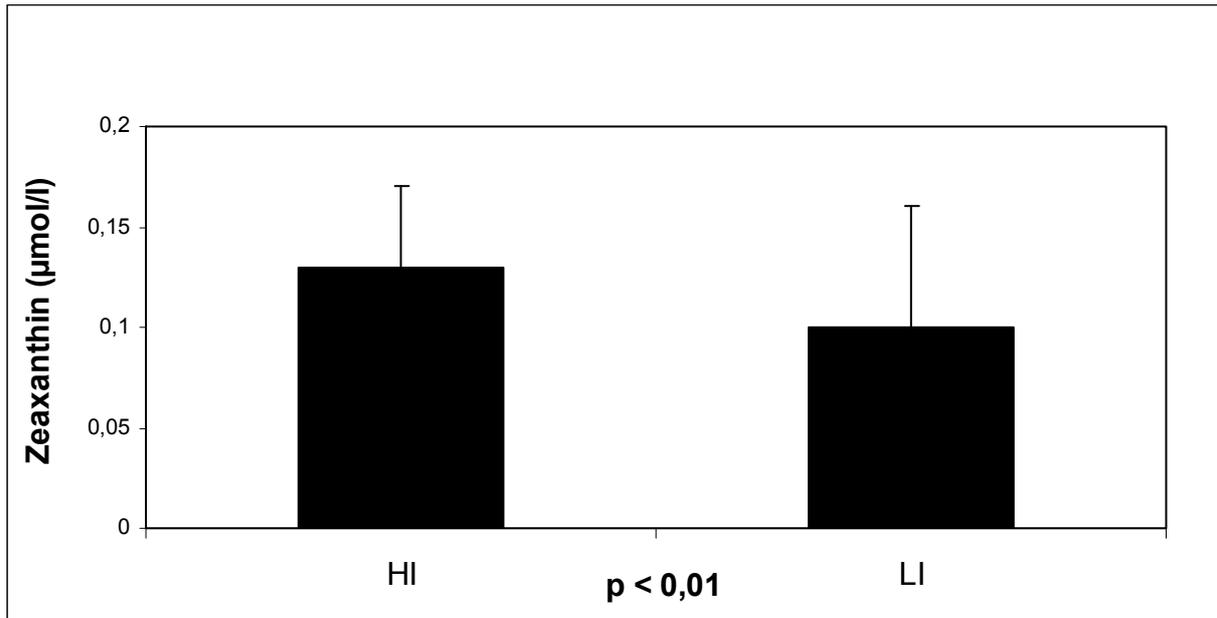


Abb. 33: Plasmakonzentrationen des Zeaxanthin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (> 65 J) und der LI Gruppe (> 65 J)

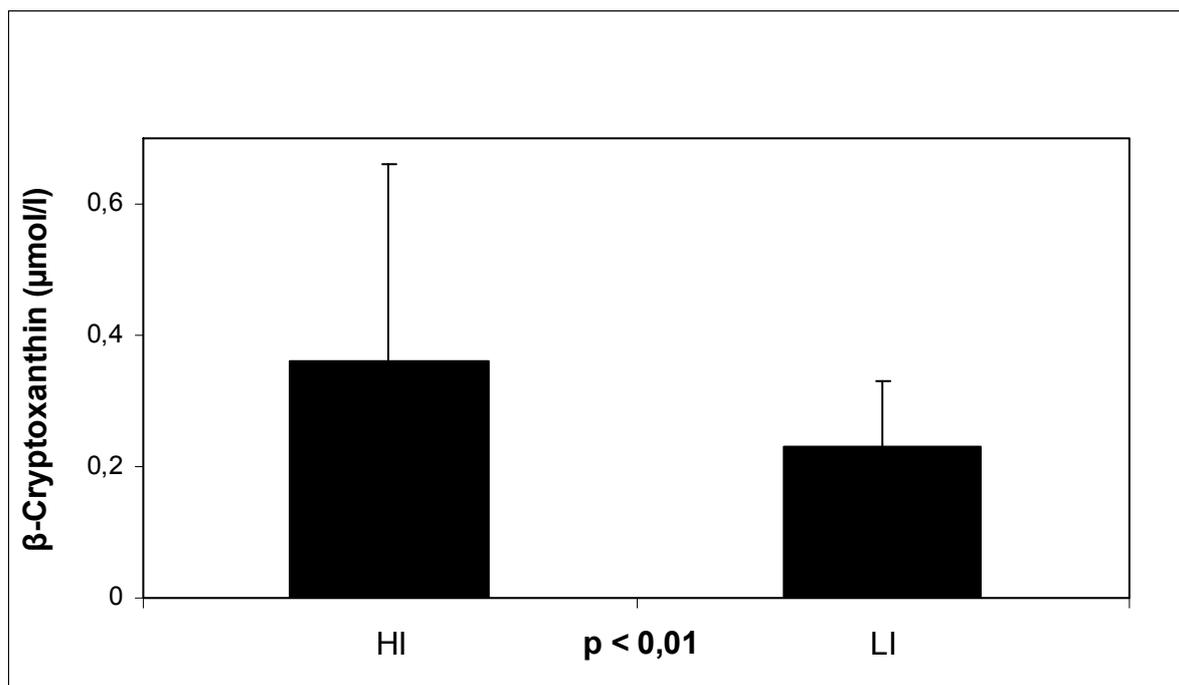


Abb. 34: Plasmakonzentrationen des β -Cryptoxanthin ($\mu\text{mol/l}$) in der HI Gruppe (> 65 J) und der LI Gruppe (> 65 J)

Ergebnisse

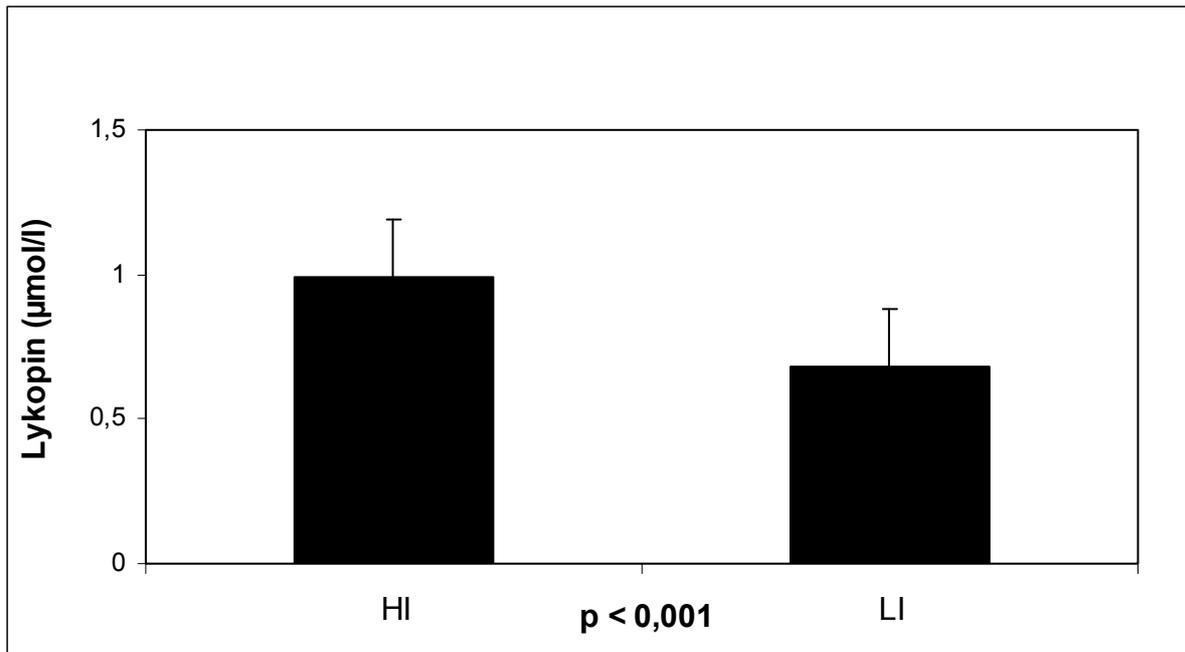


Abb. 35: Plasmakonzentrationen des Lycopin (µmol/l) in der HI Gruppe (> 65 J) und der LI Gruppe (> 65 J)

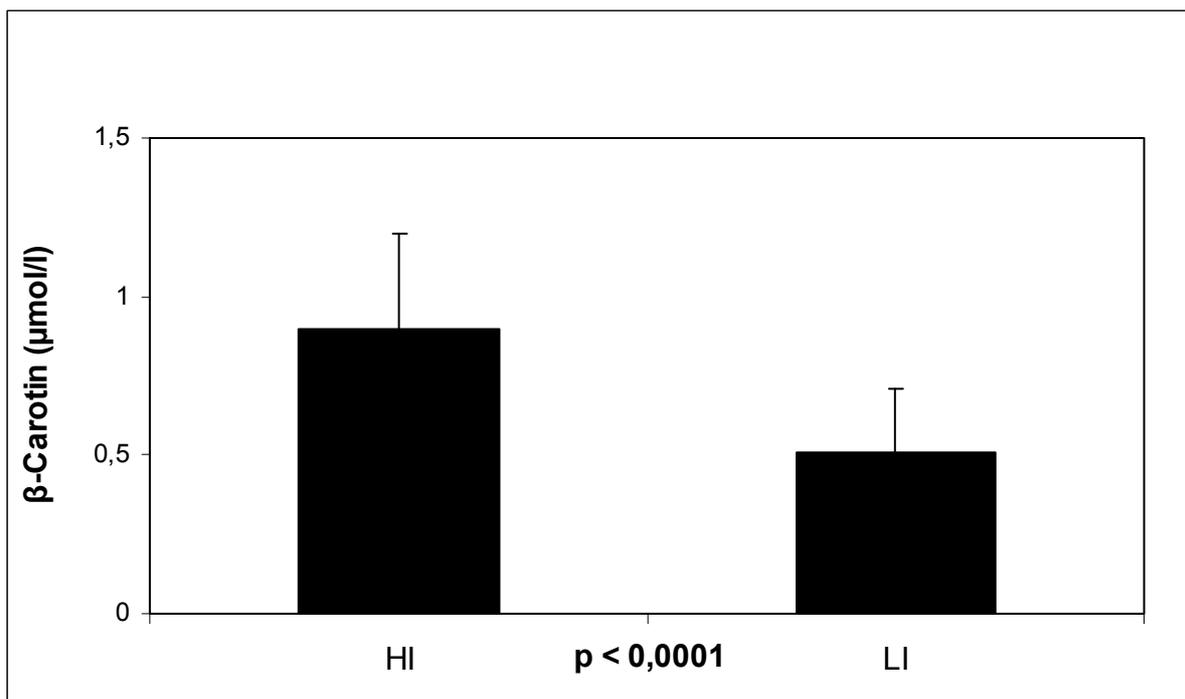


Abb. 36: Plasmakonzentrationen des β-Carotin (µmol/l) in der HI Gruppe (> 65 J) und der LI Gruppe (> 65 J)

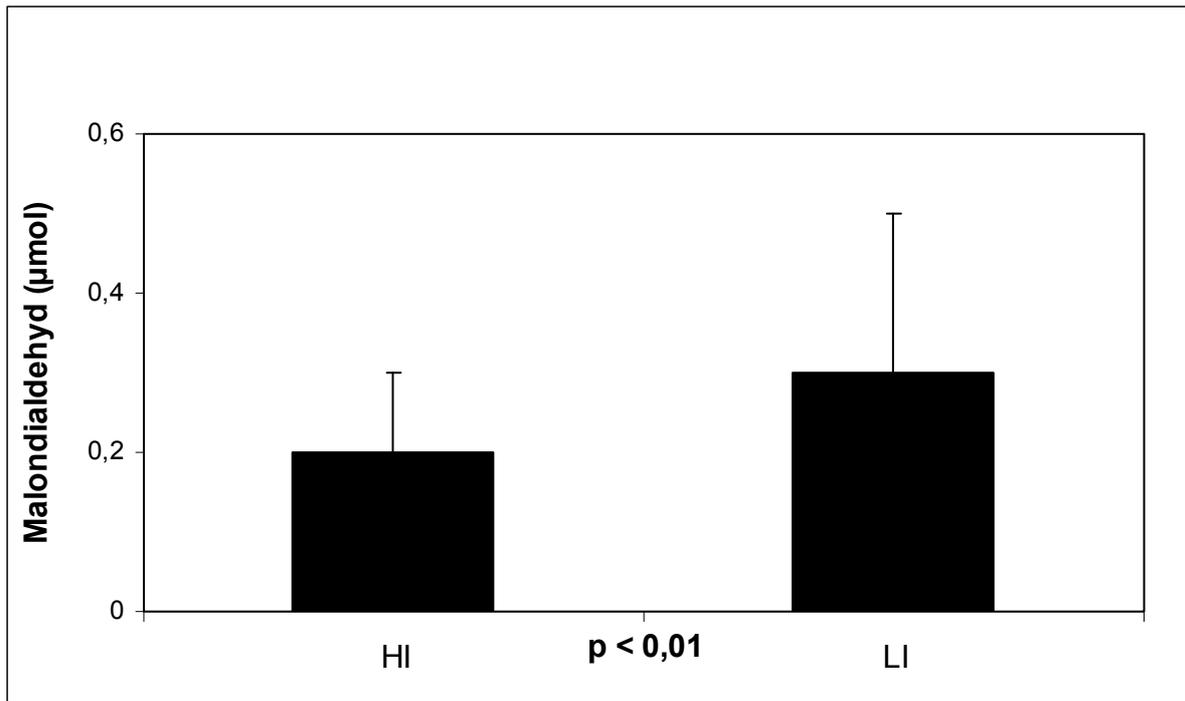


Abb. 37: Plasmakonzentrationen des MDA (µmol/l) in der HI Gruppe (> 65 J) und der LI Gruppe (> 65 J)

3.4 Korrelationen zwischen dem Alter, einigen Antioxidantien und der Ernährungsweise

Tabelle 3.8: Korrelationen zwischen dem Alter und lipophilen antioxidativen Mikronährstoffen und Vitaminen mit relativen r und p Werten bei der HI Gruppe (n = 66), als auch der LI Gruppe (n = 71) (nur signifikante Ergebnisse dargestellt)

Parameter	r – Werte Korrelationskoeffizient	p - Werte Signifikanz
Alter / Vitamin A, LI Gruppe	+ 0,45	< 0,001
Alter / Vitamin A, HI Gruppe	+ 0,49	< 0,001
Alter / Zeaxanthin, LI Gruppe	+ 0,32	< 0,05
Alter / Zeaxanthin, HI Gruppe	+ 0,25	< 0,05
Alter / β-Cryptoxanthin, LI Gruppe	+ 0,33	< 0,01
Alter / β-Cryptoxanthin, HI Gruppe	+ 0,40	< 0,01
Alter / Lutein, LI Gruppe	+ 0,25	< 0,05
Alter / α-Carotin, HI Gruppe	+ 0,40	< 0,01
Alter / β-Carotin, HI Gruppe	+ 0,30	< 0,05

Wie aus Tabelle 3.8 ersichtlich ist, konnten in der vorliegenden Arbeit signifikante positive Korrelationen zwischen dem Alter und Vitamin A, Zeaxanthin und β -Cryptoxanthin sowohl in der LI als auch in der HI Gruppe gefunden werden. Des Weiteren wurden signifikante positive Korrelationen zwischen dem Alter, α -Carotin und β -Carotin in der HI Gruppe gefunden. Zudem wurde eine signifikante positive Korrelation zwischen dem Alter und Lutein in der LI Gruppe nachgewiesen.

4 Diskussion

Welchen Einfluss haben die Ernährungsgewohnheiten auf den Antioxidantienstatus bei gesunden Menschen?

Ausgehend von dieser Fragestellung wurden weitere Subgruppenanalysen durchgeführt, um den Einfluss folgender Faktoren auf den Antioxidantienstatus genauer analysieren zu können: Ernährungsgewohnheiten, Alter und Geschlecht. Weiterhin war von Interesse, welcher dieser Faktoren den größten Einfluss auf den Antioxidantienstatus bei gesunden Menschen ausübt?

Das Hauptergebnis dieser Studie ist:

1. Gesunde Menschen jeden Alters, die täglich mehr als 4 Portionen Obst und Gemüse (entsprechend ≥ 350 g) pro Tag verzehren, weisen erhöhte Spiegel an Antioxidantien im Plasma auf, verglichen mit gesunden Menschen jeden Alters, die täglich nur 1 Portion an Obst und Gemüse (entsprechend ≤ 100 g) verzehren.
2. Zudem konnte gezeigt werden, dass der Haupteinflussfaktor auf den Plasmaantioxidantienstatus bei gesunden Menschen die Ernährungsgewohnheiten und nicht das Geschlecht oder das Alter sind.
3. Die dritte Kernaussage dieser Arbeit ist, dass besonders ältere Menschen (> 65 J) durch Veränderungen ihrer Ernährungsgewohnheiten ihren Plasmaantioxidantienstatus verbessern können.

Es konnte gezeigt werden, dass die Plasmaspiegel an α -Tokopherol ($p < 0,0001$), γ -Tokopherol ($p < 0,05$), Vitamin C ($p < 0,0001$), Zeaxanthin ($p < 0,01$), β -

Cryptoxanthin ($p < 0,01$), Lykopin ($p < 0,001$) und β -Carotin ($p < 0,0001$) signifikant höher in der HI Gruppe, als in der LI Gruppe waren. Somit sind die Spiegel der wichtigsten im menschlichen Plasma bestimmbaren Antioxidantien signifikant höher in gesunden Probanden, deren Ernährung reich an Früchten und Gemüse ist, als in solchen Probanden, deren Ernährung arm an Früchten und Gemüse ist. Eine statistische Korrektur bezüglich der Variablen Alter und Geschlecht führte zu dem Ergebnis, dass die Plasmaantioxidantienspiegel sowohl in der HI Gruppe als auch in der LI Gruppe unabhängig vom Alter und vom Geschlecht der Probanden waren. Daraus folgt, dass α -Tokopherol, γ -Tokopherol, Vitamin C, Zeaxanthin, β -Cryptoxanthin, Lykopin und β -Carotin, die wichtigsten im menschlichen Plasma bestimmbaren Antioxidantien, signifikant höher in der HI Gruppe, als in der LI Gruppe waren und dass diese Ergebnisse vollkommen unabhängig vom Alter und vom Geschlecht der Probanden waren.

Neben den Plasmaantioxidantien sind ebenfalls Biomarker für oxidativen Stress bestimmt worden. Als Biomarker für oxidativen Stress gelten im Blut die erhöhten Spiegel an IgG Proteincarbonylen und die zu MDA führenden TBARS, die das Resultat der Lipidperoxidation von z.B. Lipoproteinen sind.

Die in der LI- und HI-Gruppe gefundenen unterschiedlichen Spiegel an Plasmaantioxidantien zeigen eine Imbalanz zwischen Anti- und Prooxidantien im Blut der Probanden an, so dass für die Teilnehmer der LI-Gruppe ein (erhöhter) oxidativer Stress im Blut festzustellen wäre. Diese Imbalanz der Antioxidantien in der LI Gruppe, welche als oxidativer Stress interpretiert werden könnte, wird durch signifikant erhöhte Spiegel der Biomarker IgG Proteincarbonyle ($p < 0,05$) und MDA ($p < 0,01$) im Blut der LI-Gruppe Probanden bestätigt. Entsprechend konnten in der HI Gruppe Probanden signifikant niedrigere Spiegel nachgewiesen werden. Daraus

lässt sich folglich ein möglicherweise höherer oxidativer Stress in der LI Gruppe ableiten. Ähnliche Resultate stellten bereits Polidori et al. (2008) und Anlasik et al. (2005) dar.

Bei separater Betrachtung der Ergebnisse der Probanden > 65 J wird deutlich, dass die Unterschiede bezüglich der bestimmten Plasmaantioxidantien und Biomarker zwischen der HI und der LI Gruppe bei dieser speziellen Subpopulation für einen Großteil der Parameter deutlich signifikant waren. Es konnte gezeigt werden, dass die Plasmaspiegel von α -Tokopherol ($p < 0,0001$), γ -Tokopherol ($p < 0,05$), Zeaxanthin ($p < 0,01$), β -Cryptoxanthin ($p < 0,01$), Lykopin ($p < 0,001$) und β -Carotin ($p < 0,0001$) signifikant höher in der HI Gruppe als in der LI Gruppe waren. Somit sind wichtige, im menschlichen Plasma bestimmbare Antioxidantien signifikant höher in gesunden Probanden > 65 J, deren Ernährung reich an Früchten und Gemüse ist, als in solchen Probanden > 65 J, deren Ernährung arm an Früchten und Gemüse ist. Zudem stellte sich heraus, dass das MDA, als Biomarker für oxidativen Stress, in der LI Gruppe > 65 J signifikant höher ($p < 0,01$) als in der HI Gruppe > 65 J war.

Daraus lässt sich ableiten, dass die Gruppe, die weniger Früchte und Gemüse verzehrt (LI Gruppe), ein größeres Mißverhältnis zwischen Pro- und Antioxidantien zugunsten der Prooxidantien im Plasma aufweist und somit einen schlechteren antioxidativen Status im Blut besitzt.

Typische Korrelationen zwischen dem Alter, Antioxidantien und den Ernährungsgewohnheiten bei der Untersuchung menschlichen Plasmas auf oxidativen Stress sind bekannt (Polidori et al., 2008; Anlasik et al., 2005; Mecocci et al., 2000). Auch in dieser Arbeit sind solche typischen Korrelationen zwischen dem Alter und Vitamin A, Zeaxanthin und β -Cryptoxanthin sowohl in der LI- als auch in der

HI-Gruppe gefunden worden: Alter / Vitamin A, LI Gruppe: +r 0,45, $p < 0,001$; Alter / Vitamin A, HI Gruppe: +r 0,49, $p < 0,001$; Alter / Zeaxanthin, LI Gruppe: +r 0,32, $p < 0,05$; Alter / Zeaxanthin, HI Gruppe: +r 0,25, $p < 0,05$; Alter / β -Cryptoxanthin, LI Gruppe: +r 0,33, $p < 0,01$; Alter / β -Cryptoxanthin, HI Gruppe: +r 0,40, $p < 0,01$; Alter / Lutein, LI Gruppe: +r 0,25, $p < 0,05$; Alter / α -Carotin, HI Gruppe: +r 0,40, $p < 0,01$; Alter / β -Carotin, HI Gruppe: +r 0,30, $p < 0,05$

Diese Korrelationen stimmen mit den bisher in der Literatur vorhandenen Korrelationen durchaus überein (Polidori et al., 2008; Anlasik et al., 2005) und verdeutlichen, dass es eine Assoziation von Vitamin A, Zeaxanthin und β -Cryptoxanthin bei gesunden Probanden unabhängig von der Ernährungsweise mit zunehmendem Alter gibt (Polidori et al., 2002c; Karcinska et al., 2000; Paolisso et al., 1998). Diese Korrelationen zwischen dem Alter und den Antioxidantien Vitamin A und E konnten Polidori et al. (2007) an italienischen Hundertjährigen, als auch Karcinska et al. (2000) an polnischen Hundertjährigen ebenfalls nachweisen. Dabei haben sie zusätzlich zeigen können, dass Hundertjährige signifikant höhere Plasmaantioxidantienpiegel an Vitamin A und E haben. In der vorliegenden Arbeit konnten keine signifikanten Unterschiede der Plasmaantioxidantienpiegel von Vitamin A und E nachgewiesen werden, da nur eine sehr kleine Menge an Hundertjährigen ($n = 5$) untersucht worden ist, und daher keine ausreichenden Signifikanzen nachweisbar waren. Jedoch wurde die Tendenz des steigenden Vitamin A mit zunehmendem Alter deutlich. Diese Beobachtungen legen den Verdacht nahe, dass erhöhte Werte des lipophilen Antioxidants Vitamin A und E eine Rolle für einen erfolgreichen Alterungsprozess bei Hundertjährigen zu spielen scheinen.

Zuvor durchgeführte Studien haben gezeigt, dass die Plasmaspiegel der lipophilen Antioxidantien und Biomarker abhängig von physiologischen Faktoren, einschließlich Alter und Geschlecht, waren (Al-Delaimy et al., 2004; Brady et al., 1996). So zeigten diese Studien, dass bestimmte Plasmaantioxidantien bei Frauen höher als bei Männern waren, und einige Plasmaantioxidantien bei jüngeren Menschen höher als bei älteren waren. Diese Ergebnisse konnten in dieser Arbeit in den Subgruppenanalysen ebenfalls bestätigt und gezeigt werden. So zeigte sich in den Subgruppenanalysen zwischen Männern und Frauen (Al Männer versus Al Frauen), dass die Spiegel von α -Tokopherol ($p < 0,05$) und β -Carotin ($p < 0,01$) signifikant höher bei gesunden Frauen, als bei gesunden Männern waren. Bei Probanden aus der Gruppe < 65 J konnte gezeigt werden, dass die Spiegel von α -Tokopherol ($p < 0,05$), Vitamin A ($p < 0,0001$) und Vitamin C ($p < 0,001$) signifikant höher waren als bei Probanden aus der Gruppe > 65 J. Doch diese Unterschiede verschwanden nach der statistischen Korrektur für die Variablen Alter und Geschlecht, ohne dass die Signifikanzen in Bezug auf die unterschiedlichen Ernährungsweisen (HI und LI Gruppe) verloren gingen.

Die Alters- und Geschlechtsunterschiede der antioxidativen Plasmaprofile in früheren Studien (Mecocci et al., 2000; Vogel et al., 1997; Brady et al., 1996) sind sehr wahrscheinlich nicht durch den Früchte und Gemüseverzehr zu erklären, da von den Autoren früherer Studien keine gezielten Untersuchungen bezüglich des Früchte- und Gemüseverzehr durchgeführt und ihre Probanden nicht konsequent auf Einflussfaktoren wie Krankheit, Medikamenteneinnahmen, Nahrungsergänzungsmittel und den Lebensstil befragt und untersucht wurden.

Bei der vorliegenden Studie wurde bei der Datenerhebung auf rigorose Ein- und Ausschlusskriterien und auf das sehr genaue und gründliche Studiendesign großen

Wert gelegt. Bei Untersuchungen zum Einfluss der Ernährungsgewohnheiten auf den Plasmaantioxidantienstatus sind im Laufe der letzten Jahre immer mehr Einflussfaktoren bekannt geworden. Im folgenden Abschnitt soll verdeutlicht werden welche Einflussfaktoren in der vorliegenden Studie berücksichtigt wurden. Das Ziel war es möglichst viele Fehlerquellen, welche in der Literatur beschrieben sind, ausschließen zu können.

1. Durch Erhebung eines sorgfältigen Ernährungsfragebogens („Food Frequency Questionnaire“) wurde das Patientenkollektiv in eine Gruppe mit niedrigem (LI Gruppe) und eine Gruppe mit hohem Früchte- und Gemüseverzehr (HI Gruppe) separiert und Probanden mit mittlerem Früchte- und Gemüseverzehr wurden von der Studie ausgeschlossen. Dadurch war es möglich, den Plasmaantioxidantienstatus in Abhängigkeit von der Ernährungsweise untersuchen zu können.

2. Eine weitere Fehlerquelle früherer Studien war zudem, dass der Einfluss der vor Studienbeginn vorhandenen Erkrankungen (Arteriosklerose und damit assoziierte Erkrankungen, Erkrankungen des Skelettsystems, Stoffwechselerkrankungen, Gehirnerkrankungen und Neoplasien) auf den Plasmaantioxidantienstatus. Diese Erkrankungen konnten durch eine gründliche Anamnese und körperliche als auch apparative Untersuchungen ausgeschlossen werden. Alle Probanden, die in den Voruntersuchungen Erkrankungen aufwiesen, wurden von der Studie ausgeschlossen.

3. Des Weiteren kann die Einnahme von Medikamenten und Nahrungsergänzungsmitteln den Plasmaantioxidantienspiegel beeinflussen. Daher wurden alle Probanden, die anamnestisch Medikamente oder Nahrungsergänzungsmittel einnahmen, von der Studie ausgeschlossen.

Nicht zu Letzt wurde der Einfluss von zu geringer oder zu massiver körperlicher Aktivität und der daraus resultierenden möglichen Veränderungen des

Plasmaantioxidantienstatus durch eine gründliche Anamnese aller Probanden ausgeschlossen.

In der Literatur finden sich des Weiteren Hinweise, dass oxidativer Stress zum Zeitpunkt der Probenentnahme Einfluss auf die Beurteilbarkeit des Plasmaantioxidantienstatus zu haben scheint. Daher ist ein behutsames Vorgehen bei der Interpretation der Ergebnisse zu verlangen, da ein durch oxidativen Stress induzierter Abfall von Plasmaantioxidantien auch durch Mobilisierung der gespeicherten Antioxidantien verdeckt sein kann. Dabei wird angenommen, dass der „Verbrauch“ von Antioxidantien in den von oxidativem Stress betroffenen Geweben zu einer Aktivierung von Signaltransduktionswegen mit der Folge einer Mobilisierung von Antioxidantien aus den zellulären Speichern ins Plasma führt (Urso et al., 2003; Griffiths et al., 2002; Elsayed, 2001; Waring et al., 2000; Pincemail et al., 1988).

Aufgrund dieser Erkenntnisse war es das Ziel in der hier vorliegenden Studie, viele der möglichen Auslöser für oxidativen Stress zum Zeitpunkt der Probenentnahmen durch das oben dargelegte Studiendesign größtmöglich zu reduzieren.

Bekannt ist ein Zusammenhang zwischen einem schlechten antioxidativen Status des Körpers (verminderte Plasmaantioxidantien, erhöhte Biomarker) und einem erhöhten Risiko für bzw. einen schlechteren Verlauf bei einigen altersassoziierten Erkrankungen. Neueste Studien zeigen, dass es diesen Zusammenhang zwischen niedrigen Plasmaspiegeln an Antioxidantien und erhöhten Plasmaspiegeln an Biomarkern bei einer Vielzahl von Krankheiten, die mit oxidativem Stress in Verbindung stehen, gibt (Breusing und Grune, 2008). Dazu gehören Arteriosklerose (Stephens et al., 2008), Diabetes (Stephens et al., 2008), Morbus Alzheimer (Moreira et al., 2008), Morbus Parkinson (Nunomura et al., 2007), rheumatoide Arthritis

(Filippin et al., 2008), aber auch fotogealterte Haut (Stahl und Sies, 2007) und entzündliche Prozesse (Bhatt, 2008). Zudem konnten erhöhte Spiegel der Biomarker MDA und IgG Proteincarbonyle mit einer Reihe von chronischen Erkrankungen ebenfalls in Verbindung gebracht werden. Beispiele dafür sind: chronische Nierenerkrankungen (Agarwal, 2004), ischämisch bedingter Schlaganfall (Stephens et al., 2008) und die Herzinsuffizienz (Kalantar-Zadeh et al., 2008).

Zudem konnte gezeigt werden, dass eine inadäquate Aufnahme von antioxidativen Mikronährstoffen wie Ascorbinsäure (Vitamin C), α -Tokopherol (Vitamin E) und Carotinoide epidemiologisch mit einem erhöhten Risiko an degenerativen Erkrankungen zu erkranken korreliert werden kann (Polidori et al., 2003).

Bei der Auswahl von IgG Proteincarbonylen und MDA als Biomarker für oxidativen Stress war in der vorliegenden Studie entscheidend, dass die Bestimmung der IgG Proteincarbonyle und des MDA zur Zeit die gängigsten Methoden zur Erfassung oxidativer Protein- und Lipidmodifikationen in biologischen Systemen sind und dass sie einfach, praktikabel und gut reproduzierbar sind (Breusing und Grune, 2008).

Die klinische Relevanz eines Biomarkers ergibt sich auch aus der Fähigkeit, neben akuten auch chronische Stresszustände aufzuzeigen. Dies ist bei Akkumulationsprodukten wie DNA-Addukten, Protein-Cross-Links und Proteinaggregaten gewährleistet. Dennoch hat die Bestimmung von Biomarkern z.B. in der Klinik, der Arztpraxis oder in der Apotheke bislang nur eine geringe Bedeutung für den Alltag, da sie nur erschwert klinisch bestimmbar sind und deshalb nur eine geringe klinische Relevanz für den routinemäßigen Einsatz besteht. Daher verwendet man Biomarker überwiegend in experimentellen Arbeiten, um eine Tendenz bei der Beurteilung des oxidativen Status einer Person erkennen zu können und dann in Kombination mit der Bestimmung von antioxidativen Mikronährstoffen eine

Ernährungsempfehlung geben zu können (Polidori et al., 2001). Faktoren wie Alter, Ernährung und Gesundheitszustand der Person zum Zeitpunkt der Probenentnahme tragen zusätzlich zu einer hohen interindividuellen Varianz der Biomarker für oxidativen Stress bei und erschweren damit additiv die Etablierung von Referenzwerten (Breusing und Grune, 2008).

Eine mögliche Lösung für die Probleme könnte in Zukunft beispielsweise die Gewinnung von Mundschleimhaut (Bukkalmukosa) sein. Die in Bukkalmukosazellen bestimmten Antioxidantien (Gewebestatus) zeigen eine gute Korrelation zu den Konzentrationen in anderen Geweben und Blutplasma (Back et al., 2004; Erhardt et al., 2002). Zudem handelt es sich um ein Zielgewebe von Plasmaantioxidantien.

Es ist bekannt, dass oxidativer Stress (Sies, 1985) beschrieben als eine Stoffwechsellage, der eine Auslenkung des Fließgleichgewichts zwischen Oxidantien auf der einen Seite und Antioxidantien auf der anderen Seite zugunsten der Oxidantien, zugrunde liegt, zu einer Störung des Fließgleichgewichts und zur Induktion von Adaptationsprozessen führen kann, die dann in Apoptose und Zelltod münden können (Sies, 1999). Es ist heute bekannt, dass diese Problematik in einer Reihe von Prozessen und Erkrankungen des menschlichen Organismus eine Rolle spielt (Van Wijk et al., 2008). Viele Untersuchungen zeigten, dass die entkoppelte Überproduktion von ROS eine fundamentale Kraft hinter dem Alterungsprozess und pathologischen Prozessen, die vermehrt im höheren Alter auftreten wie z.B. Krebs, Arteriosklerose und Demenz, ist (Van Wijk et al., 2008; Stephens et al., 2008; Breusing und Grune, 2008). Zudem sind ROS ebenfalls an der Regulation des Stoffwechsels, der Apoptose und Zellproliferationsvorgängen beteiligt (Bayir and Kagan, 2008; Chang et al., 2003). Die antioxidative Kapazität von Antioxidantien wird charakterisiert als die Fähigkeit dieser Komponenten, signifikant die Oxidation eines

Substrates zu verhindern. Im Vergleich zum oxidierbaren Substrat liegen Antioxidantien in geringer Konzentration vor (Halliwell, 1990). Eine unzureichende Aufnahme antioxidativer Mikronährstoffe, wie z.B. Ascorbat (Vitamin C), α -Tokopherol (Vitamin E) und Carotinoiden mit der Nahrung konnte in epidemiologischen Studien mit einem erhöhten Risiko an degenerativen Erkrankungen zu erkranken korreliert werden (Polidori, 2003).

Aufgrund der Erkenntnisse zu ROS und ihrem Zusammenhang mit Apoptose und Krankheit sind umfangreiche Studien entwickelt und durchgeführt worden, um mögliche positive Effekte der Nahrungsergänzung mit Antioxidantien auf Krankheiten und oxidativen Stress zu untersuchen. Dabei sind zu Beginn große prospektive Interventionsstudien durchgeführt worden, um die Rolle einzelner Antioxidantien und ihre positiven Effekte auf den oxidativen Stress und Krankheiten genauer zu erforschen. So wurde im Jahr 2002 im Lancet die MRC/BHF Heart Protection Studie mit 20536 kardialen Hochrisikopatienten publiziert, in der gezeigt werden konnte, dass die Nahrungsergänzung mit Vitamin C, E und Carotinoiden keinen Vorteil gegenüber der Placebogruppe erbrachte und damit zu keiner Senkung der Mortalität beitragen konnte. Auch die von Jacob et al. (2003) durchgeführte prospektive Interventionsstudie zeigte, dass die moderate Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln wie Vitamin C, E und Folsäure bei gesunden Männern die täglich weniger als 2 Portionen Früchte und Gemüse aßen, keinen Einfluss auf die Biomarker für oxidativen Stress hatte.

Die Resultate dieser umfangreichen epidemiologischen Studien mit ihren enttäuschenden Resultaten bezüglich der Interventionen mit Nahrungsergänzungsmitteln, sowohl in der Therapie von Erkrankungen als auch in der Prävention, führte dazu, dass vermehrt Studien bezüglich des Einflusses von

Früchten und Gemüse durchgeführt wurden. Dabei war schon länger bekannt, dass die gesundheitlichen Vorteile durch das Essen von Früchten und Gemüse nicht nur durch ihren antioxidativen Vitamingehalt zu erklären sind, sondern dass noch zusätzliche Mechanismen dabei eine Rolle zu spielen scheinen (John et al., 2002; Liu, 2003). So enthalten Obst und Gemüse z.B. Komponenten wie Sulforaphane, die die Glutathion – Transferase induzieren und dadurch bei der Entgiftung vieler Arten von Kanzerogenen helfen und andere sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe wie z.B. das Genistein, dessen Einnahme mit einem verringerten Risiko an einigen Krebsformen zu erkranken, assoziiert ist (Polidori, 2003).

Doch auch die prospektiven Interventionsstudien mit Früchten und Gemüse bei kranken Patienten (z.B. Darmpolypen) konnten keine entscheidenden Vorteile zeigen. So sah man, dass es leichte Verbesserungen durch erhöhte Plasmaantioxidantien und verringerte Biomarker bei kranken Menschen durch den vermehrten Verzehr an Früchten und Gemüse gab, Vorteile bezüglich des Verlaufes ihrer Erkrankung waren jedoch nicht zu erkennen (Lanza et al., 2007, Smith-Warner et al., 2000). Daraus schlossen die Autoren, dass Interventionen mit Früchten und Gemüse zwar zu geringen Verbesserungen bei bereits erkrankten Menschen führen können, aber einen sehr geringen Stellenwert in der Therapie (bereits erkrankter Menschen) zu haben scheinen.

Im Gegensatz dazu haben prospektive Interventionsstudien mit Früchten und Gemüse bei gesunden Menschen gezeigt, dass der Verzehr von 5 oder mehr Portionen von Früchten und Gemüse zu einem signifikanten Anstieg der Plasmaantioxidantien und zu einer verringerten Konzentration von Biomarkern für oxidativen Stress führt und das Obst und Gemüse eine sehr wichtige Rolle in der Prävention von degenerativen Erkrankungen zu spielen scheinen.

So konnte in prospektiven Interventionsstudien mit Früchten und Gemüse sehr deutlich gezeigt werden, dass der präventive Effekt von antioxidativen Mikronährstoffen gegen chronisch degenerative Erkrankungen wesentlich stärker und längerfristiger war, wenn die Personen antioxidantienreiche Früchte und Gemüse und nicht einzelne Komponenten (Vitamin A, Vitamin C usw) verzehrten (Yusuf et al., 2004; Ahn et al., 2004; Steffen et al., 2003; Mozaffarian et al., 2003; Liu, 2003; Hu, 2003; John et al., 2002; Hu and Willett, 2002; Bazzano et al., 2002; Ames and Wakimoto, 2002; Liu et al., 2001; Joshipura et al., 2001; Liu et al., 2000; Joshipura et al., 1999; Appel et al., 1997; Willett, 1995; Gillman et al., 1995; Gaziano et al., 1995; Willett, 1994).

Ebenso haben Lin et al. (2007) eine Studie durchgeführt, bei der 34 gesunde, nicht rauchende Erwachsene, die täglich weniger als 2 ½ Portionen Früchte und Gemüse verzehrten, sich für 4 Wochen von mindestens 3 Portionen Gemüse und 2 Portionen Früchte pro Tag ernährten. Dabei konnte gezeigt werden, dass es zu signifikanten Anstiegen der Plasmaantioxidantien Spiegel für Carotinoide (β -Carotin, Lycopin, β -Cryptoxanthin) kam. Diese Anstiege waren aber genauso schnell und signifikant rückläufig, nachdem die Diät beendet worden ist (Lin et al., 2007). Daraus schlossen die Autoren, dass ein regelmäßiger Konsum von Früchten und Gemüse die Voraussetzung ist, um einen dauerhaft erhöhten Plasmaantioxidantienstatus und damit einen Präventionsschutz vor chronischen Erkrankungen zu haben.

Diese Studie hat einige Ansätze, die in der vorliegenden Studie erweitert und verbessert worden sind. So haben Lin et al. nur junge Menschen in ihrer Studie untersucht, die gesund schienen, diesbezüglich aber nicht genauer untersucht worden sind. Zum anderen wurden die Erfolge der Intervention durch eine Ernährungsumstellung nach 4 Wochen untersucht (Interventionsstudie), wohingegen in der vorliegenden Arbeit, Probanden untersucht wurden, die sich bis zur

Blutabnahme fruchte- und gemüsereich ernährt haben und sich keiner Intervention unterzogen haben (Beobachtungsstudie ohne Intervention). Zuletzt und der entscheidende Unterschied ist der, dass Probanden jeden Alters untersucht wurden und nicht die Subpopulation junger Erwachsener, die im Schnitt gesünder sind, als ältere Individuen.

In diesem Zusammenhang haben Brunner et al. (2007) den Einfluss von diätetischen Maßnahmen auf das Risiko am Herz- Kreislaufsystem zu erkranken in einer systematischen Auswertung der dazu vorhanden Daten in der „Cochrane“ Datenbank für medizinische Studien untersucht. Dabei kommen die Autoren zu dem Schluss, dass diätetische Maßnahmen zu einer moderaten Verbesserung der Ernährung, als auch zur Verringerung des Risikos für Herz - Kreislauferkrankungen für mindestens einen Zeitraum von 10 Monaten beitragen (Brunner et al., 2007).

In einer aktuellen Beobachtungsstudie von Polidori et al. (2008) wird von 193 Probanden berichtet, bei der die Probanden, mit einem erhöhten Verzehr an Früchten und Gemüse, verbesserte Scores in neuropsychologischen Gedächtnistests aufwiesen. Zudem hatten die Probanden, die täglich 5 oder mehr Portionen Früchte und Gemüse verzehrten, höhere Spiegel an Plasmaantioxidantien als auch niedrigere Werte für Biomarker des oxidativen Stresses, als die Individuen, die täglich nur 1 oder weniger Portionen an Früchten und Gemüse verzehrten.

Ein vermehrter Verzehr von Früchten und Gemüse kann die antioxidative Kapazität des Plasmas beim Menschen verbessern (Cao et al., 1998) und hat neben anderen Möglichkeiten, die wesentlich schwerer beim Menschen praktikabel sind wie z.B. eine regelmäßige Medikamenteneinnahme oder auch eine Kalorienrestriktion (Casadesus et al., 2002) gezeigt, dass er effektiv die Plasmaspiegel von einigen antioxidativen Mikronährstoffen erhöhen kann (Broekmans et al., 2000; Rowley et al., 2001; John et al., 2002; Prior et al., 2003).

Alle diese Studien unterstützen die von uns extrahierten Schlussfolgerungen, dass der wichtigste Einflussfaktor auf den Plasmaantioxidantienstatus bei gesunden Menschen die Ernährung (Früchte und Gemüse) zu sein scheint, und dass die Ernährung bei gesunden Menschen eine entscheidende Rolle in der Prävention von degenerativen Erkrankungen zu spielen scheint.

Diese Erkenntnisse sind gerade im Hinblick auf zukünftige demographische Veränderungen sehr interessant und bedürfen daher einer ausführlicheren Erläuterung. Im Rahmen der seit längerem stark im Fokus stehenden zunehmenden Vergreisung der zivilisierten Gesellschaften haben Experten prognostiziert, dass unsere Erde im Jahr 2050 von rund 2,5 Milliarden Menschen jenseits des 65. Lebensjahres bevölkert sein wird, wovon der größte Teil 80 Jahre und älter sein wird (Tinker, 2002). Die meisten chronischen Erkrankungen werden sich in diesem späten Lebensabschnitt manifestieren. Während man noch in den siebziger Jahren davon ausging, dass das Risiko für Erkrankungen ab einem bestimmten Alter nicht mehr signifikant ansteigen könnte und man damals auch daraus geschlossen hatte, dass es keinen Vorteil erbrächte, Gewohnheiten, und vor allem Ernährungsgewohnheiten jenseits des 80. Lebensjahres noch zu verändern (Lasheras et al., 2000), ist heute bekannt, dass die Inzidenz einiger altersassoziierter und ernährungsbedingter degenerativer Erkrankungen gerade bei den ältesten Menschen unserer Gesellschaft stetig zunimmt. Beispielsweise mehr als 20 % der Menschen jenseits des 80. Lebensjahres und jeder zweite jenseits des 90. Lebensjahres ist bereits von der Demenz betroffen (Cherubini et al., 2005; Liu et al., 2000), teilweise der Demenz vom Alzheimer-Typ (Ebly et al., 1994). Zudem leiden 10 % aller Erwachsenen in der achten Lebensdekade an Herzinsuffizienz – deren relative Inzidenz sich ab dem 45. Lebensjahr mit jeder Lebensdekade verdoppelt (Davis et al., 2000).

Aufgrund der in prospektiven Interventionsstudien wiederholt gezeigten großen Erfolge in der Prävention von degenerativen Erkrankungen und den vom "World Cancer Research Fund" (WCRF, 1997) publizierten Bericht ergab sich die Schlussfolgerung, dass es überzeugende Hinweise für eine Risikosenkung durch hohen Gemüse- und Obstverzehr bei 5 der 18 untersuchten Krebsformen (Krebs im Mund- und Rachenraum, Speiseröhre, Magen, Lunge, Kolorektum) gibt und bei 4 von den 18 Erkrankungen eine Risiko senkende Wirkung wahrscheinlich ist (Kehlkopf, Bauchspeicheldrüse, Brust, Blase). Bei 7 weiteren Krebsformen wird eine solche Beziehung als möglich angenommen.

In ihren Empfehlungen zur Krebsprävention sprachen die Experten daher dem Gemüse- und Obstverzehr eine wichtige Rolle bei der Senkung des Krebsrisikos zu. Der quantitative Effekt einer Anhebung des Gemüse- und Obstverzehrs auf 400 - 800 g pro Tag wurde weltweit mit einer Senkung des Krebsaufkommens um 23 % geschätzt. Dabei wurde die Spannweite des Effekts mit einer unteren Schätzung von 7 % und einer oberen von 31 % angegeben. Die Empfehlung, mehr als 5 Portionen Gemüse und Obst oder 400 - 800 g pro Tag aufzunehmen, wurde zusammen mit 12 anderen Ernährungsempfehlungen einschließlich körperlicher Aktivität gegeben. Allen Empfehlungen zusammen wurde eine Senkung des Krebsaufkommens weltweit um 30 bis 40 % zugesprochen (WCRF, 1997).

Auch in Deutschland sind Herz-Kreislauf-Erkrankungen und bösartige Tumoren weiterhin die häufigsten Todesursachen, wobei Herz-Kreislauf-Erkrankungen an Bedeutung verloren und bösartige Tumoren zugenommen haben. Diese beiden durch die Ernährung mitbedingten chronischen Krankheiten sind für 68 % der Todesfälle in Deutschland verantwortlich. Die Rolle der Ernährung bei der Entstehung chronischer Krankheiten ist gut belegt. Unter den beeinflussbaren

Risikofaktoren nimmt die Ernährung neben dem Rauchen eine herausragende Stellung ein (DGE, 2004).

Gerade vor diesem Hintergrund scheint die Prävention dieser Erkrankungen sowohl menschlich als auch wirtschaftlich immer mehr in den Fokus des Interesses zu rücken.

Aus diesem Grund haben das „National Cancer Institute“ und das „National Research Council“ die Empfehlung herausgegeben, dass 5-9 Portionen Früchte und Gemüse Teile der täglichen Ernährung sein sollten, und die daraus abgeleitete Botschaft, dass man mindestens 5 Portionen pro Tag verzehren soll. Die Empfehlung „at least 5 portions a day“, (400-600 Gramm Früchte und Gemüse pro Tag (www.5aday.com)) ist vom „Europe Against Cancer Programme“ als auch von vielen anderen großen öffentlichen europäischen Gesundheitskampagnen, wie auch der deutschen Gesellschaft für Ernährung aufgegriffen und propagiert worden.

Die wesentliche Begründung für die in Deutschland daraufhin gestartete „5 am Tag“-Kampagne bezieht sich demnach zurzeit auf die Beweiskraft beobachtender epidemiologischer Studien, unterlegt durch biologische Plausibilität. Diese Feststellung gilt auch für andere Krankheitsbilder, deren Erkrankungsrisiko mit steigendem Gemüse- und Obstverzehr abnimmt: kardiovaskuläre Erkrankungen und Katarakt (Jansen et al. 1998, Ness und Powles 1997, Joshipura et al. 1999). Eine weitere Erkrankung, für die vermehrt Hinweise über eine Risikominderung publiziert wurden, ist der Typ-2-Diabetes mellitus (Williams et al. 1999). Ebenso konnte gezeigt werden, dass ein hoher Gemüseverzehr in Verbindung mit anderen Ernährungsumstellungen den Blutdruck bei Hypertonikern senkt (Appel et al. 1997). Für die genannten Krankheitsbilder muss jedoch einschränkend gesagt werden, dass

eine derartige systematische Zusammenfassung der vorhandenen Daten und deren Bewertung wie im Falle der Krebserkrankungen nicht vorliegt (DGE, 2004).

Die biologische Plausibilität der protektiven Wirkungen von Obst und Gemüse liefern die Ergebnisse tierexperimenteller Studien, in denen eine verminderte Zellproliferationsrate, eine Zunahme der Phase-II-Enzymaktivitäten sowie eine Abnahme von DNA-Schäden beobachtet wurden (DGE, 2004).

Jedoch erreichen 80 % der amerikanischen Kinder und Jugendlichen (Krebs-Smith et al., 1996), fast 70 % der amerikanischen Erwachsenen (Krebs-Smith et al., 1995) und acht von zehn europäischen Ländern (Naska et al., 2000) nicht die empfohlenen täglichen Portionen an Früchten und Gemüse. Nur in zwei mediterranen Ländern (Griechenland und Spanien) übertrifft der durchschnittliche tägliche Verzehr von Früchten und Gemüse die in den Empfehlungen genannten Mengen. Bei sorgfältiger Betrachtung der Haushalte – Griechenland und Spanien eingeschlossen – fällt auf, dass mehr als 50 % der Haushalte weniger als die täglich empfohlenen drei Portionen an Früchten und Gemüse zu sich nehmen (Naska et al., 2000).

Auch in einer kürzlich erschienenen Untersuchung von van Nie et al. (2008) mit dem Titel: „Prävalenz, Maßnahmen und Strategien im Hinblick auf Mangelernährung in niederländischen Gesundheitseinrichtungen“ konnte gezeigt werden, dass bei etwa einem von fünf Patienten in den niederländischen Gesundheitseinrichtungen (Krankenhäuser, Pflegeheime) eine Mangelernährung auftritt. Neben einem unzureichenden Screening des Ernährungszustandes zeigte sich ebenfalls, dass bei weniger als der Hälfte aller mangelernährten Patienten Maßnahmen zur Behandlung der Mangelernährung eingeleitet werden. Daraus ergibt sich die Forderung, gerade in Hinblick auf die Ergebnisse dieser Studie, diesen Zustand unverzüglich verbessern zu müssen, wo doch bekannt ist, dass degenerative Erkrankungen sich gerade bei

alten und kranken Patienten manifestieren und gerade die Population der > 65 J alten Menschen durch erhöhten Verzehr an Früchten und Gemüse ihren Plasmaantioxidantienstatus verbessern könnten. Zu diesem Themenkomplex haben Tannen et al. (2008) gezeigt, dass ein schlechter Ernährungszustand mit erhöhter Komorbidität und einer verlängerten Genesungszeit einhergehen kann, was dann zu einer Verschlechterung geistiger und körperlicher Funktionen und erhöhter Pflegebedürftigkeit führen kann.

Dass die Ernährung im Rahmen von Präventionsbemühungen ihren Stellenwert hat, ist unzweifelhaft. Dass sie aber auch eine immer größere Bedeutung im Krankenhaus bei kranken Patienten gewinnt, zeigen neueste Erkenntnisse aus der Intensivmedizin. So konnte Weimann (2008) zeigen, dass Ernährung per se bzw. der Ernährungszustand immunmodulierend wirken und dies einen Grundpfeiler der Rechtfertigung der künstlichen Ernährung darstellt. So kann man provokativ formulieren: „Keine Ernährung ist in jedem Fall Immunmodulation im negativen Sinne.“ Außerdem haben Berger und Shenkin (2006) gezeigt, dass es durch die Substitution bei 2 Intensivpatienten von Selen, Vitamin C und E zur signifikanten Senkung der Letalität kommt. Dieses führte dazu, dass die DGEM diese Substanzen zur Supplementierung in ihre Leitlinien zur parenteralen Ernährung aufgenommen hat (Berger et al., 2007; Berger und Shenkin, 2006; Berger, 2006; Biesalski et al., 2002).

Auf der Basis dieser Erkenntnisse hat die WHO in ihrem „World Health Report“ aus dem Jahr 2002 und wiederholt im Jahr 2005 dazu aufgerufen und aufgefordert, Veränderungen der Ernährungsgewohnheiten in den Gesellschaften anzustreben und umzusetzen, da alleine durch Veränderungen der Ernährungsgewohnheiten bis zu 27 Millionen Menschenleben pro Jahr gerettet werden könnten.

5 Zusammenfassung - Schlussfolgerung

In der vorliegenden internationalen Beobachtungsstudie wurde bei 137 gesunden Probanden im Alter von 27 – 102 Jahren der Einfluss von Ernährungsgewohnheiten auf den Plasmaantioxidantienstatus untersucht.

Bei der Bestimmung des antioxidativen Plasmaprofiles gesunder Menschen wurde bei der Datenerhebung neben der Erfassung einer möglichst großen Altersspanne der Probanden besonders großen Wert auf rigorose Ein- und Ausschlusskriterien gelegt, um Einflussfaktoren auf den Plasmaantioxidantienstatus ausschließen zu können.

Es wurden die Plasmaspiegel von Vitamin C, Vitamin A, α -Tokopherol, γ -Tokopherol, Lutein, Zeaxanthin, β -Cryptoxanthin, Lycopin, α -Carotin, β -Carotin und der Biomarker MDA und IgG Proteincarbonyle bestimmt.

Durch die Bildung zweier Gruppen mittels eines Ernährungsfragebogens konnten die Probanden in eine Gruppe mit hohem (≥ 4 Portionen Obst und Gemüse (entsprechend ≥ 350 g) pro Tag) und eine Gruppe mit niedrigem (≤ 1 Portion an Obst und Gemüse (entsprechend ≤ 100 g) pro Tag) Früchte- und Gemüseverzehr unterteilt und anschließend miteinander verglichen werden.

Es zeigte sich, dass unabhängig von Alter und Geschlecht ein hoher täglicher Verzehr von Früchten und Gemüse zu einem hohen Plasmaantioxidantienstatus bei gesunden Probanden führt.

Damit kommt den Ernährungsgewohnheiten eine besondere Schlüsselrolle im Hinblick auf ein effizientes Abwehrsystem gegen oxidativen Stress und alterassozierte pathologische Zustände zu.

Besonders ältere Probanden (> 65 J) können in Bezug auf die Prävention degenerativer Erkrankungen von Ernährungsinterventionen profitieren.

Daher sollte zu Präventionszwecken ein Konzept zu einer antioxidantien- und mikronährstoffreichen Ernährung für jedes Alter etabliert werden.

6 Literaturverzeichnis

Agarwal R (2004). Chronic kidney disease is associated with oxidative stress independent of hypertension. *Clin Nephrol* 61 (6), 377-83.

Ahn J, Gammon MD, Santella RM, Gaudet MM, Britton JA, Teitelbaum SL, Terry MB, Neugut AI, Josephy PD, Ambrosone CB (2004). Myeloperoxidase genotype, fruit and vegetable consumption, and breast cancer risk. *Cancer Res* 64 (20), 7634-9.

Al-Delaimy WK, van Kappel AL, Ferrari P, Slimani N, Steghens JP, Bingham S, Johansson I, Wallström P, Overvad K, Tjønneland A, Key TJ, Welch AA, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Boeing H, Linseisen J, Clavel-Chapelon F, Guibout C, Navarro C, Quirós JR, Palli D, Celentano E, Trichopoulou A, Benetou V, Kaaks R, Riboli E (2004). Plasma levels of six carotenoids in nine European countries: report from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Public Health Nutr* 7(6), 713-22.

Ames BN, Wakimoto P (2002). Are vitamin and mineral deficiencies a major cancer risk? *Nat Rev Cancer* 2, 694-704.

Anlasik T, Sies H, Griffiths HR, Mecocci P, Stahl W, Polidori MC (2005). Dietary habits are major determinants of the plasma antioxidant status in healthy elderly subjects. *Br J Nutr* 94(5), 639-42.

Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, Bray GA, Vogt TM, Cutler JA, Windhauser MM, Lin PH, Karanja N (1997). A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 336, 1117-24.

Ashok BT, Ali R (1999). The aging paradox: free radical theory of aging. *Exp Gerontol* 34 (3), 293-303.

Back EI, Frindt C, Nohr D, Frank J, Ziebach R, Stern M, Ranke M, Biesalski HK (2004). Antioxidant deficiency in cystic fibrosis: when is the right time to take action? *Am J Clin Nutr* 80(2), 374-84.

Bayir H, Kagan VE (2008). Bench-to-bedside review: Mitochondrial injury, oxidative stress and apoptosis--there is nothing more practical than a good theory. *Crit Care* 12(1), 206.

Bazzano LA, He J, Ogden LG, Loria CM, Vupputuri S, Myers L, Whelton PK (2002). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Am J Clin Nutr* 76, 93-99.

Berger MM, Shenkin A (2006). Vitamins and trace elements: Practical aspects of supplementation. *Nutrition* 22(9), 952-5.

Berger MM (2006). Antioxidant micronutrients in major trauma and burns: evidence and practice. *Nutr Clin Pract* 21(5), 438-49.

Berger MM, Baines M, Raffoul W, Benathan M, Chioloro RL, Reeves C, Revely JP, Cayeux MC, Sénéchaud I, Shenkin A (2007). Trace element supplementation after major burns modulates antioxidant status and clinical course by way of increased tissue trace element concentrations. *Am J Clin Nutr* 85(5), 1293-300.

Bhatt DL (2008). Anti-inflammatory agents and antioxidants as a possible "third great wave" in cardiovascular secondary prevention. *Am J Cardiol* 22;101(10A), 4D-13D.

Biesalski HK, Köhrle J, Schümann K (2002). Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe. Prävention und Therapie mit Mikronährstoffen Thieme, ISBN 3-13-129371-3.

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.

Breusing N, Grune T (2008). Measurement of Oxidative Stress – Where are we Now ? *Aktuel Ernaehr Med* 33, 106-115.

Broekmans WM, Klöpping-Ketelaars IA, Schuurman CR, Verhagen H, van den Berg H, Kok FJ, van Poppel G (2000). Fruits and vegetables increase plasma carotenoids and vitamins and decrease homocysteine in humans. *J Nutr* 130(6), 1578-83.

Brunner EJ, Rees K, Ward K, Burke M, Thorogood M (2007). Dietary advice for reducing cardiovascular risk. *Cochrane Database Syst Rev* 17;(4), CD002128.

Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL (1998). Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 68, 1081-1087.

Carty JL, Bevan R, Waller H, Mistry N, Cooke M, Lunec J, Griffiths HR (2000). The effects of vitamin C supplementation on protein oxidation in healthy volunteers. *Biochem Biophys Res Commun* 273, 729-735.

Casadesus G, Shukitt-Hale B, Joseph JA (2002). Qualitative versus quantitative caloric intake: are they equivalent paths to successful aging? *Neurobiol Aging* 23, 747-769.

Chang H, Oehrl W, Elsner P, Thiele JJ (2003). The role of H₂O₂ as a mediator of UVB-induced apoptosis in keratinocytes. *Free Radic Res* 37, 655-663.

Cherubini A, Martin A, Andres-Lacueva C, Di Iorio A, Lamponi M, Mecocci P, Bartali B, Corsi A, Senin U, Ferrucci L (2005). Vitamin E levels, cognitive impairment and dementia in older persons: the InCHIANTI study. *Neurobiol. Aging* 26, 987-994.

Darnton-Hill I, Nishida C, James WPT (2004). A life course approach to diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *Public Health Nutr* 7, 101-121.

Davis RC, Hobbs FD, Lip GY (2000). ABC of heart failure. History and epidemiology. *BMJ* 320, 39-42.

Department of Health and Human Services (1988). The Surgeon General's Report on Nutrition and Health. Washington, DC, Public Health Service.

DGE - Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (2004), Ernährungsbericht, (www.dge.de).

Ebly EM, Parhad IM, Hogan DB, Fung TS (1994). Prevalence and types of dementia in the very old: results from the Canadian Study of Health and Aging. *Neurology* 44, 1593-600.

Elsayed NM (2001). Antioxidant mobilization in response to oxidative stress: a dynamic environmental-nutritional interaction. *Nutrition* 17(10), 828-34.

Erhardt JG, Mack H, Sobeck U, Biesalski HK (2002). beta-Carotene and alpha-tocopherol concentration and antioxidant status in buccal mucosal cells and plasma after oral supplementation. *Br J Nutr* 87(5), 471-5.

Filippin LI, Vercelino R, Marroni NP, Xavier RM (2008). Redox signalling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 152(3), 415-22.

Folstein ME, Folstein SE, McHugh PR (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res* 12, 189-198.

Gaziano JM, Manson JE, Branch LG, Colditz GA, Willett WC, Buring JE (1995). A prospective study of consumption of carotenoids in fruit and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Ann Epidemiol* 5, 255-260.

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.

Griffiths HR (2002). The Influence of diet on protein oxidation. *Nutrition Research Reviews* 15, 3-17.

Griffiths HR, Møller L, Bartosz G, Bast A, Bertoni-Freddari C, Collins A, Cooke M, Coolen S, Haenen G, Hoberg AM, Loft S, Lunec J, Olinski R, Parry J, Pompella A, Poulsen H, Verhagen H, Astley SB (2002). Biomarkers. *Mol Aspects Med* 23(1-3), 101-208.

Guigoz Y, Vellas B (1999). Mini Nutritional Assessment (MNA) got grading the nutritional state of elderly patients: presentation of the MNA, history and validation. *Nestle Nutr Workshop Ser Clin Perform Programme* 1, 3-11.

Halliwell B (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad Res Comm* 9, 1.

Halliwell B, Gutteridge JM (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Fourth Edition.

Harman D (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11(3), 298-300.

Hayflick L (2007). Biological aging is no longer an unsolved problem. *Ann N Y Acad Sci* 1100, 1-13.

Heart Protection Study Collaborative Group (2002). MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 360(9326), 23-33.

Hu FB, Willett WC (2002). Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA* 228, 2569-2578.

Hu FB (2003). Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *Am J Clin Nutr* 78 (Suppl), 544S-551S.

Jacob RA, Aiello GM, Stephensen CB, Blumberg JB, Milbury PE, Wallock LM, Ames BN (2003). Moderate antioxidant supplementation has no effect on biomarkers of oxidant damage in healthy men with low fruit and vegetable intakes. *J Nutr* 133(3), 740-3.

Jansen MCJF, Klerk M, van't Veer P, Kok FJ (1998). Fruits and vegetables in chronic disease prevention. Division of Human Nutrition and Epidemiology, Wageningen, Agricultural University.

John JH, Ziebland S, Yudkin P, Roe LS, Neil HA (2002). Oxford Fruit and Vegetable Study Group. Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: a randomised controlled trial. *Lancet* 359 (9322), 1969-74.

Joshiyura KJ, Ascherio A, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, Hennekens CH, Spiegelman D, Willett WC (1999). Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. *JAMA* 282, 1233-1239.

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.

Kalantar-Zadeh K, Anker SD, Horwich TB, Fonarow GC (2008). Nutritional and anti-inflammatory interventions in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 101(11A), 89E-103E.

Kalbe, E., Kessler, J., Calabrese, P., Smith, R., Passmore, A.P., Brand, M., Bullock, R (2004). DemTect: a new, sensitive cognitive screening test to support the diagnosis of mild cognitive impairment and early dementia. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 19, 136-143.

Kłapcińska B, Derejczyk J, Wieczorowska-Tobis K, Sobczak A, Sadowska-Krepa E, Danch A (2000). Antioxidant defense in centenarians (a preliminary study). *Acta Biochim Pol* 47(2), 281-92.

Krebs-Smith SM, Cook A, Subar AF, Cleveland L, Friday J (1995). US adults fruit and vegetable intakes, 1989 to 1991: a revised baseline for the healthy people 2000 objective. *Am J Public Health* 85, 1623-1629.

Krebs-Smith SM, Cook A, Subar AF, Cleveland L, Friday J, Kahle LL (1996). Fruit and vegetable intakes of children and adolescents in the United States. *Arch Pediatr Adolesc* 150, 81-86.

Lampe JW (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr* 70 (suppl), 475S-490S.

Lanza E, Yu B, Murphy G, Albert PS, Caan B, Marshall JR, Lance P, Paskett ED, Weissfeld J, Slattery M, Burt R, Iber F, Shike M, Kikendall JW, Brewer BK, Schatzkin A (2007). Polyp Prevention Trial Study Group. The polyp prevention trial continued follow-up study: no effect of a low-fat, high-fiber, high-fruit, and -vegetable diet on adenoma recurrence eight years after randomization. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16(9), 1745-52.

Lasheras C, Fernandez S, Patterson AM (2000). Mediterranean diet and age with respect to overall survival in institutionalized, non-smoking elderly people. *Am J Clin Nutr* 72 (4), 987-992.

Lepage G, Gabriel M, Champagne J, Roy CC (2001). Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 197, 227-282.

Lin YJ, Chien YW, Yang SH, Cheng HH (2007). Fruits and stir-fried vegetables increase plasma carotenoids in young adults. *Asia Pac J Clin Nutr* 16(4), 616-23.

Liu J, Atamna H, Kuratsune H, Ames BN (2002). Delaying brain mitochondrial decay and aging with mitochondrial antioxidants and metabolites. *Ann N Y Acad Sci* 959, 133-166.

Liu S, Manson JE, Lee IM, Cole SR, Hennekens CH, Willett WC, Buring JE (2000). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 72 (4), 922-8.

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 (1), 130-5.

Liu RH (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 78 (suppl), 517S-520S.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951). Protein measurement with the folinphenol reagent. *J Biol Chem* 193 (1), 265-75.

Mecocci P, Polidori MC, Troiano L, Cherubini A, Cecchetti R, Pini G, Straatman M, Monti D, Stahl W, Sies H, Franceschi C, Senin U (2000). Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic Biol Med* 28 (8), 1243-8.

Medvedev DJ, Iakovleva TV, Savrora OB (1990). The effect of restoring adequate nutrition on the relation between nerve and glial cells in the cerebellar cortex of malnourished mice. *Vopr Pitan* (6), 69-71.

Moreira PI, Santos MS, Oliveira CR, Shenk JC, Nunomura A, Smith MA, Zhu X, Perry G (2008). Alzheimer disease and the role of free radicals in the pathogenesis of the disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 7(1), 3-10.

Mozzafarian D, Kumanyika SK, Leimatre RN, Olson JN, Burke GL, Siscovick DS (2003). Cereal, fruit, and vegetable fiber intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals. *JAMA* 289, 1659-1666.

Naska A, Vasdekis VG, Trichopoulou A, Friel S, Leonhauser IU, Moreiras O, Nelson M, Remaut AM, Schmitt A, Sekula W, Trygg KU, Zajkas G (2000). Fruit and vegetable availability among ten European countries: how does it compare with the 'five-a-day' recommendation? DAFNE I and II projects of the European Commission. *Br J Nutr* 84 (4), 549-56.

Ness AR, Powles JW (1997). Fruit and Vegetables, and cardiovascular disease: A review. *Int J Epidemiol* 26, 1-13.

Nunomura A, Moreira PI, Lee HG, Zhu X, Castellani RJ, Smith MA, Perry G (2007). Neuronal death and survival under oxidative stress in Alzheimer and Parkinson diseases. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 6(6), 411-23.

Paolisso G, Tagliamonte MR, Rizzo MR, Manzella D, Gambardella A, Varricchio M (1998). Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *J Am Geriatr Soc* 46(7), 833-8.

Pincemail J, Deby C, Camus G, Pirnay F, Bouchez R, Massaux L, Goutier R (1988). Tocopherol mobilization during intensive exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 57(2), 189-91.

Polidori MC, Cherubini A, Senin U, Mecocci P (2001). Peripheral non-enzymatic antioxidant changes with human aging: a selective status report. *Biogerontology* 2(2), 99-104.

Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H (2001). Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med* 30(5), 456-62.

Polidori MC, Spazzafumo L, Pes G, Carru C, Troiano L, Viticchi C, Cherubini A, Catani M, Cecchetti R, Stahl W, Franceschi C, Senin U, Mecocci P (2002). Peripheral levels of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in a large sample of Italian centenarians. *Free Radical Res Part c (Supplement)* 109-110.

Polidori MC (2003). Antioxidant micronutrients in the prevention of age-related diseases. *J Postgrad Med* 49 (3), 229-35.

Polidori MC, Mariani E, Baggio G, Deiana L, Carru C, Pes GM, Cecchetti R, Franceschi C, Senin U, Mecocci P (2007). Different antioxidant profiles in Italian centenarians: the Sardinian peculiarity. *Eur J Clin Nutr* 61(7), 922-4.

Polidori MC, Praticó D, Mangialasche F, Mariani E, Aust O, Anlasik T, Mang N, Pientka L, Stahl W, Sies H, Mecocci P, Nelles G (2008). High fruit and vegetable intake is positively correlated with antioxidant status and cognitive performance in healthy subjects, (eingereicht).

Prentice RL, Willett WC, Greenwald P, Alberts D, Bernstein L, Boyd NF, Byers T, Clinton SK, Fraser G, Freedman L, Hunter D, Kipnis V, Kolonel LN, Kristal BS, Kristal A, Lampe JW, McTiernan A, Milner J, Patterson RE, Potter JD, Riboli E, Schatzkin A, Yates A, Yetley E (2004). Nutrition and physical activity and chronic disease prevention: research strategies and recommendations. *J Natl Cancer Inst* 96(17), 1276-87.

Prior RL (2003). Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am J Clin Nutr* 78 (suppl), 570S-578S.

Rao AV, Rao LG (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacol. Res* 55, 207-216.

Rowley KG, Su Q, Cincotta M, Skinner M, Skinner K, Pindan B, White GA, O'Dea K (2001). Improvements in circulating cholesterol, antioxidants, and homocysteine after dietary intervention in an Australian Aboriginal community. *Am J Clin Nutr* 74(4), 442-8.

Shulman KI (2000). Clock Drawing Test: is it the ideal cognitive test? *Int. J. Ger. Psychiatry* 15, 548-561.

Sies, H (1985). in "Oxidative Stress" (Sies H., ed.) London, Academic Press p.1.

Sies, H (1986). *Angew.Chem* 98, 1061.

Sies, H (1999). What is oxidative stress? In: Keaney, J. F. Jr., ed. *Oxidative stress and vascular disease*. Boston: Kluwer Academic Publishers 1-8.

Sies, H (2000). in "Encyclopedia of Stress" (Fink, G., ed.) San Diego, Academic Press Vol. 3, p.102.

Smith-Warner SA, Elmer PJ, Tharp TM, Fosdick L, Randall B, Gross M, Wood J, Potter JD (2000). Increasing vegetable and fruit intake: randomized intervention and monitoring in an at-risk population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9(3), 307-17.

Stahl W, Sundquist AR, Hanusch M, Schwarz W, Sies H (1993). Separation of β -carotene and lycopene geometrical isomers in biological samples. *Clin Chem* 39, 810-814.

Stahl, W., Sies, H (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochem. Biophys. Acta* 1740, 101-107.

Stahl W, Sies H (2007). Carotenoids and flavonoids contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. *Mol Biotechnol* 37(1), 26-30.

Steffen LM, Jacobs DR, Stevens J, Shahar E, Carithers T, Folsom AR (2003). Associations of whole-grain, refined grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr* 78, 383-390.

Stephens JW, Khanolkar MP, Bain SC (2008). The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* [Epub ahead of print].

Tannen A, Halfens R, van Nie-Visser N, Schütz T, Dassen T (2008). Pflegebedarf und pflegerische Interventionen bei Mangelernährung. *Aktuel Ernaehr* 32, 138-156.

Timiras PS (2002). *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 3rd edition.

Tinker A (2002). The social implications of an ageing population. *Mech Aging Dev* 123(7), 729-35.

Traverso N, Patriarca S, Balbis E, Furfaro AL, Cottalasso D, Pronzato MA, Carlie Botta F, Marinari UM, Fontana L (2003). Anti malondialdehyde-adduct immunological response as a possible marker of successful aging. *Exp Gerontol* 38(10), 1129-35.

Urso ML, Clarkson PM (2003). Oxidative Stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicol* 189, 41-54.

US Census Bureau. www.census.gov

Van Nie N, Meijers J, Taanen A, Schols J, Halfens R (2008). Prävalenz, Maßnahmen und Strategien im Hinblick auf Mangelernährung in niederländischen Gesundheitseinrichtungen. *Aktuel Ernaehr* 32, 138-156.

van't Veer P, Jansen MC, Klerk M, Kok FJ (2000). Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. *Public Health Nutr* 3, 103-107.

Van Wijk R, Van Wijk EP, Wiegant FA, Ives J (2008). Free radicals and low-level photon emission in human pathogenesis: state of the art. *Indian J Exp Biol* 46(5), 273-309.

Vogel S, Contois JH, Tucker KL, Wilson PW, Schaefer EJ, Lammi-Keefe CJ (1997). Plasma retinol and plasma and lipoprotein tocopherol and carotenoid concentrations in healthy elderly participants of the Framingham Heart Study. *Am J Clin Nutr* 66(4), 950-8.

Waring WS, Webb DJ, Maxwell SR (2000). Uric acid as a risk factor for cardiovascular disease. *QJM* 93(11), 707-13.

Warner CR, Brumley WC, Daniels DH, Joe FL JR, Fazio T (1986). Reactions of antioxidants in foods. *Food Chem Toxicol* 24 (10-11), 1015-9.

WCRF - World Cancer Research Fund/American Institute of Cancer Research (1997). Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC.

Weimann A (2008). Immunmodulation durch Ernährung – Neue Befunde. *Aktuel Ernähr Med* 33, 101-105.

WHO. The World Health Report (2002). Reducing risks, Promoting Healthy Life. World Health Organization, Geneva, Switzerland, Part a.

WHO/Tufts University School of Nutrition Science and Policy (2002). Keep fit for life: Meeting the nutritional needs of older persons. World Health Organization, Geneva, Switzerland, Part b.

WHO. The World Health Report (2005). – Make Every Mother and Child Count, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Willett WC (1994). Diet and health: what should we eat? *Science* 254, 532-537.

Willett WC (1995). Diet, nutrition, and avoidable cancer. *Environ Health Perspect* 103, 165-170.

Williams DE, Wareham NJ, Cox BD, Byrne CD, Hales CN, Day NE (1999). Frequent salad vegetable consumption is associated with a reduction in the risk of diabetes mellitus. *J Clin Epidemiol* 52, 329-335.

Winkler G, Döring A (1998). Validation of a short qualitative frequency list used in several German large scale surveys. *Eur J Nutr* 37, 234-241.

www.5aday.com

www.5amtag.de

Yusuf S, Hawken S, Ounruu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L. INTERHEART Study Investigators (2004). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART Study): case-control study. *Lancet* 364, 937-952.

7 Lebenslauf

Name: Timur Anlasik

Geb.: 25.05.1979

Geburtsort: Düsseldorf

Familienstand: ledig

Schulbildung

Grundschule: 1985 – 1989: Städt.Matthias – Claudius – Grundschule
Ehrenstr./ Düsseldorf

Gymnasium: 1989 – 1998: Städt.Leibniz – Gymnasium in Düsseldorf

Abitur: 09.06.1998

Zivildienst: 01.09.1998 – 30.09.1999: Ev. Kreuzkirche Düsseldorf

Medizinstudium: 01.10.1999 bis Juni 2006

Physikum: August 2001

1.Staatsexamen: August 2002

2.Staatsexamen: März 2005

3.Stattsexamen: Mai 2006

Approbation: Mai 2006

Beruflicher Werdegang: Seit Juni 2006 Assistenzarzt für Anästhesiologie /
Universitätsklinikum Düsseldorf

Düsseldorf, den 09.06.2009

Timur Anlasik

Danksagung

Dank schuldet der Verfasser Herrn Universitätsprofessor Dr. Wilhelm Stahl für die aktive Unterstützung und die Ermöglichung dieser Arbeit.

Ebenso möchte sich der Verfasser bei Frau Prof. Dr. Dr. Maria Cristina Polidori, die ihm mit ihrer unerschütterlichen Geduld, ihrem Fachwissen und ihrer Unterstützung eine große Hilfe gewesen ist, und bei seinen Assessoren Herrn Dr. Olivier Aust, Herrn Michael Möck und Herrn Franz Josef Grips für die Korrekturarbeiten an dieser umfangreichen Arbeit ganz herzlich bedanken.

Ein herzliches Dankeschön richtet der Verfasser auch an seine liebe Freundin Katharina, seine Mutter, Jeanette, Uli und Petra Hammer, Heide Krahl und die Stahlgruppe, von denen er große Unterstützung während der mehrjährigen Bearbeitungszeit erfuhr.

Düsseldorf, 09.06.2009

Timur Anlasik

9 Abstrakt

In der vorliegenden internationalen Beobachtungsstudie wurde bei 137 gesunden Probanden im Alter von 27 – 102 Jahren der Einfluss von Ernährungsgewohnheiten auf den Plasmaantioxidantienstatus untersucht.

Bei der Bestimmung des antioxidativen Plasmaprofiles gesunder Menschen wurde bei der Datenerhebung neben der Erfassung einer möglichst großen Altersspanne der Probanden besonders großen Wert auf rigorose Ein- und Ausschlusskriterien gelegt, um Einflussfaktoren auf den Plasmaantioxidantienstatus ausschließen zu können.

Es wurden die Plasmaspiegel von Vitamin C, Vitamin A, α -Tokopherol, γ -Tokopherol, Lutein, Zeaxanthin, β -Cryptoxanthin, Lykopen, α -Carotin, β -Carotin und der Biomarker MDA und IgG Proteincarbonyle bestimmt.

Durch die Bildung zweier Gruppen mittels eines Ernährungsfragebogens konnten die Probanden in eine Gruppe mit hohem (≥ 4 Portionen Obst und Gemüse (entsprechend ≥ 350 g) pro Tag) und eine Gruppe mit niedrigem (≤ 1 Portion an Obst und Gemüse (entsprechend ≤ 100 g) pro Tag) Früchte- und Gemüseverzehr unterteilt und anschließend miteinander verglichen werden.

Es zeigte sich, dass unabhängig von Alter und Geschlecht ein hoher täglicher Verzehr von Früchten und Gemüse zu einem hohen Plasmaantioxidantienstatus bei gesunden Probanden führt.

Damit kommt den Ernährungsgewohnheiten eine besondere Schlüsselrolle im Hinblick auf ein effizientes Abwehrsystem gegen oxidativen Stress und alterassozierte pathologische Zustände zu.

Besonders ältere Probanden (> 65 J) können in Bezug auf die Prävention degenerativer Erkrankungen von Ernährungsinterventionen profitieren.

Daher sollte zu Präventionszwecken ein Konzept zu einer antioxidantien- und mikronährstoffreichen Ernährung für jedes Alter etabliert werden.

gez. Prof. Dr. Dr. Maria Cristina Polidori-Nelles