

Universität Hohenheim
Institut für Biologische Chemie und Ernährungswissenschaft
Abteilung Ernährungsphysiologie
Frau Prof. Dr. Ch. Bode

**Einfluss der Ernährung und von Genussmitteln
auf Risikofaktoren für das Auftreten von
ischämischem Herzinfarkt und Schlaganfall**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Naturwissenschaften

der Fakultät Naturwissenschaften
der Universität Hohenheim

vorgelegt von
Joachim Eckoldt
aus Löchgau

2005

An erster Stelle gebührt mein Dank Frau Professor Dr. Christiane Bode für die Vergabe des Themas und die Betreuung dieser Arbeit.

Dem Projektleiter Herrn Oberarzt Dr. Christian Schäfer danke ich für die hervorragende Zusammenarbeit und wertvolle Hilfestellung.

Ganz besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. J. Christian Bode, der durch sein Engagement und seine Unterstützung ganz wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Herrn Prof. Dr. Winfried März, Herrn Dr. Karl Winkler und Frau Friedrich (Abteilung Klinische Chemie, Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. H. Wieland, Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik Freiburg i.B.) danke ich für die ausgesprochen bereichernde Kooperation und die Messung der Lipid- und Lipoproteinparameter.

Für die Beratung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse danke ich Herr Dr. Christoph Meisner (Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Universitätsklinikum Tübingen, Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H. K. Selbmann) und Herrn Prof. Dr. Uwe Jensen (Institut für Angewandte Mathematik und Statistik, Universität Hohenheim).

Für die Unterstützung bei der Durchführung der Blutabnahmen und Ernährungsanamnesen gilt mein Dank Herrn Wolfgang Merkle, Herrn Dr. Andreas Schunk, Herrn Hermann Kirchner (Dinkelacker-Schwaben Bräu AG, Stuttgart), Herrn Markus Hamm (DS-Getränke-Logistik GmbH, Stuttgart), Herrn Lange (Eichbaum-Brauereien AG, Mannheim), Herrn Dr. Herbert Boll (LWA, Robert Bosch GmbH), Herrn Dr. Manfred Onderka (Robert Bosch GmbH, Geschäftsbereich Elektrowerkzeuge, Leinfelden-Echterdingen), Herrn Dr. Dietrich Meier-Bartlog, Frau Dr. Inge Sadorf (DaimlerChrysler AG, Werk Untertürkheim, Stuttgart), Herrn Dr. Hermann Kreiling (DaimlerChrysler AG, Werk Mettingen, Esslingen-Mettingen), Herrn Erich Schweickhardt (Weingärtnergenossenschaft Bad Cannstatt, Stuttgart), Herrn Günter Hübner (Weingärtnergenossenschaft Untertürkheim, Stuttgart), Herrn Reiner Bubek (Weingärtnergenossenschaft Obertürkheim, Stuttgart), Herrn Franz Plappert (Weingärtnergenossenschaft Fellbach e.G., Fellbach), Herrn Daniel Schäuße (Felsengartenkellerei Besigheim, Hessigheim), den Mitarbeitern der Robert Bosch GmbH der Zentrale Gerlingen-Schillerhöhe, des Werks Feuerbach, des Entwicklungszentrums Schwieberdingen und des Geschäftsbereichs Elektrowerkzeuge, der DaimlerChrysler AG Werk Untertürkheim und Mettingen und des Robert-Bosch-Krankenhauses.

Meinen ehemaligen MitarbeiterInnen im Robert-Bosch-Krankenhaus sowie in der Fachgruppe Ernährungsphysiologie der Universität Hohenheim danke ich für das angenehme Arbeitsklima, Herrn Diplom-Ernährungswissenschaftler Markus Klingbeil für die Unterstützung bei der Messung von Homocystein, Frau Dr. Christel Job für die Messung der Glutathionreduktaseaktivität und Herrn PD Dr. Alexandr Parlesak für seine Hilfestellung bei statistischen Fragestellungen.

Schließlich danke ich ganz besonders meiner lieben Ehefrau und meinen Eltern für die Geduld und tatkräftige Unterstützung.

Dieses Forschungsprojekt wurde z.T. finanziell durch die Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V. (Forschungsvorhaben Nr. B 70) unterstützt.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung.....	2
Inhaltsverzeichnis.....	3
Abkürzungen.....	9
1 EINLEITUNG.....	12
1.1 Grundlagen des Lipoproteinstoffwechsels.....	12
1.1.1 Einteilung der Lipoproteine.....	12
1.1.2 Lipoproteinstoffwechsel.....	12
1.1.3 HDL-Stoffwechsel und Cholesterinrücktransport.....	13
1.1.4 Atherogener Lipoprotein-Phänotyp.....	13
1.2 Verlauf einer Arteriosklerose.....	14
1.3 Mechanismus einer Arteriosklerose.....	14
1.4 Risikofaktoren für die Entwicklung einer KHK.....	14
1.4.1 Klassische Risikofaktoren.....	14
1.4.2 „Neuere“ Risikofaktoren.....	14
1.5 Epidemiologische Befunde.....	15
1.5.1 Alkohol beeinflusst Risikofaktoren für KHK.....	15
1.5.2 Rolle des Getränketyps.....	16
1.5.3 Rolle der Ernährung.....	17
1.5.4 Genetische Beeinflussung.....	18
1.6 Zielsetzung.....	18
2 MATERIAL UND METHODEN.....	20
2.1 Studiendesign und Gruppeneinteilung.....	20
2.1.1 Studiendesign.....	20
2.1.2 Gruppeneinteilung.....	20
2.1.2.1 Höhe des Alkoholkonsums.....	20
2.1.2.2 Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks.....	21
2.1.2.3 Ausschlusskriterien.....	21
2.1.3 Rauchverhalten.....	22
2.1.4 Zufuhr von Nahrungsergänzungsmitteln, Vitamin- und Mineralstoffpräparaten.....	22
2.2 Ernährungsanamnese.....	22
2.3 Gewinnung, Aufarbeitung und Aufbewahrung der Blutproben.....	23

2.4	Bestimmungsmethoden.....	24
2.4.1	HPLC-Methoden.....	24
2.4.1.1	Bestimmung von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Plasma	24
2.4.1.2	Bestimmung fettlöslicher Vitamine, Carotinoide, Xanthophylle im Plasma	28
2.4.1.3	Bestimmung von Thiolen in Blutplasma.....	33
2.4.2	Messung der Enzymaktivität zur Bestimmung des Vitaminstatus.....	37
2.4.2.1	Bestimmung des Thiaminstatus über die Transketolaseaktivität im Erythrozyten.....	37
2.4.2.2	Bestimmung des Riboflavinstatus über die Glutathionreduktaseaktivität im Erythrozyten	40
2.4.2.3	Bestimmung des Pyridoxalstatus über die Aktivität der Aspartatamino-transferase im Erythrozyten.....	43
2.4.3	Analytik der Lipoproteine im Blutplasma.....	46
2.4.3.1	Auftrennung des Plasmalipide in einzelne Lipoproteinfraktionen mittels sequentieller Ultrazentrifugation.....	46
2.4.3.2	Auftrennung der Low-density und High-density Lipoproteine in Subfraktionen mittels Dichte-Gradienten-Ultrazentrifugation.....	49
2.4.3.3	Analytik der Lipide und Lipoproteine in den VLDL, IDL, LDL, HDL und den Subfraktionen von LDL und HDL.....	52
2.4.3.3.1	Bestimmung von Gesamtcholesterin.....	52
2.4.3.3.2	Bestimmung von freiem Cholesterin.....	53
2.4.3.3.3	Bestimmung von Phospholipiden.....	55
2.4.3.3.4	Bestimmung von Triglyceriden.....	56
2.4.3.3.5	Bestimmung von Apolipoprotein A-1 (Apo A-1).....	58
2.4.3.3.6	Bestimmung von Apolipoprotein A-2 (Apo A-2).....	59
2.4.3.3.7	Bestimmung von Apolipoprotein B (Apo B).....	60
2.4.3.3.8	Bestimmung von Lipoprotein (a) (Lp(a)).....	62
2.4.4	Bestimmung des ADH3 Polymorphismus.....	63
2.5	Statistik.....	66
2.5.1	Festlegung primärer Zielgrößen und Fallzahlbestimmung.....	66
2.5.2	Test auf Normalverteilung, Varianzanalyse.....	67
3	ERGEBNISSE.....	68
3.1	Allgemeine und anthropometrische Daten.....	68
3.1.1	Allgemeine Daten.....	68
3.1.2	Alter.....	68
3.1.3	Body-Mass-Index (BMI).....	69
3.1.4	Rauchen.....	72
3.1.5	Rolle des Getränketyps.....	72
3.2	Klinisch-chemische Parameter.....	72
3.2.1	Blutbild.....	72
3.2.2	Leberenzyme.....	73

3.2.3	Entzündungsparameter.....	74
3.2.4	Gerinnungswerte.....	75
3.2.5	Weitere klinisch-chemische Parameter.....	75
3.3	Ernährungsanamnese.....	76
3.3.1	Energiezufuhr, Nährwertrelationen mit / ohne Alkohol, Zufuhr ausgewählter Nährstoffe (Fettsäuren, Cholesterin und Ballaststoffe).....	76
3.3.1.1	Energiezufuhr.....	76
3.3.1.2	Energiebedarf.....	77
3.3.1.3	Proteinzufuhr.....	77
3.3.1.4	Kohlenhydratzufuhr.....	78
3.3.1.5	Fettzufuhr.....	79
3.3.1.6	Zufuhr von Fettsäuren.....	79
3.3.1.7	Zufuhr von Cholesterin.....	81
3.3.1.8	Ballaststoffzufuhr.....	84
3.3.1.9	Zufuhr von Harnsäure.....	84
3.3.2	Zufuhr ausgewählter Lebensmittelgruppen.....	84
3.4	Vitaminkonzentrationen im Plasma, Konzentrationen an Carotinoiden und Xanthophyllen, Vitaminstatusbestimmungen.....	89
3.4.1	Konzentration von wasserlöslichen Vitaminen im Plasma, Aktivitätskoeffizienten bei Enzymaktivitätsmessungen.....	89
3.4.1.1	Ascorbinsäure.....	89
3.4.1.2	Vitamin B ₁	90
3.4.1.3	Vitamin B ₂	90
3.4.1.4	Vitamin B ₆	92
3.4.1.5	Vitamin B ₁₂	98
3.4.1.6	Folsäure.....	98
3.4.2	Konzentration von fettlöslichen Vitaminen, Carotinoiden und Xanthophyllen im Plasma.....	98
3.4.2.1	α -Tocopherol.....	98
3.4.2.2	Retinol.....	99
3.4.2.3	β -Carotin.....	99
3.4.2.4	Weitere Carotine, Xanthophylle.....	99
3.5	Konzentration von Thiolen im Plasma.....	100
3.6	Lipide, Apolipoproteine und Lipoproteine	102
3.6.1	Konzentration von Lipiden und Apolipoproteinen im Serum.....	102
3.6.2	Untersuchung von Serumlipiden in den einzelnen Lipidfraktionen und Subfraktionen.....	106
3.6.2.1	Konzentration von Cholesterin in den Lipoproteinfraktionen im Serum (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL).....	107
3.6.2.2	Konzentration von freiem Cholesterin (FC) in den Lipoproteinfraktionen im Serum (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL).....	107

3.6.2.3	Konzentration von Cholesterinestern (CE) in den Serum-Lipoproteinen (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL).....	112
3.6.2.4	Konzentration von Phospholipiden (PL) in den Lipoproteinenfraktionen im Serum (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL).....	112
3.6.2.5	Konzentration von Triglyceriden (TG) in den Lipoproteinenfraktionen im Serum (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL).....	112
3.6.2.6	Konzentration von Lipoprotein (a) in den LDL-Subfraktionen LDL ₅ und LDL ₆ sowie in den HDL (einschließlich Subfraktionen).....	113
3.6.2.7	Konzentration von Apolipoprotein A-1 und A-2 in HDL mit Subfraktionen, Apolipoprotein B in VLDL, IDL und LDL mit Subfraktionen, Apolipoprotein E in VLDL.....	113
3.6.2.8	Zusammensetzung der Lipoproteinenfraktionen im Serum – qualitative Veränderungen der HDL-Fraktion.....	113
3.7	ADH3-Polymorphismus.....	116
4	DISKUSSION.....	120
4.1	Allgemeine und anthropometrische Daten.....	120
4.1.1	Allgemeine Daten.....	120
4.1.2	Alter.....	121
4.1.3	Body-Mass-Index (BMI)	121
4.1.4	Rauchen.....	122
4.1.5	Rolle des Getränketyps.....	122
4.2	Klinisch-chemische Parameter.....	123
4.3	Ernährungsanamnese.....	124
4.3.1	Energiezufuhr, Nährwertrelationen mit / ohne Alkohol, Zufuhr ausgewählter Nährstoffe (Fettsäuren, Cholesterin und Ballaststoffe).....	125
4.3.1.1	Energiezufuhr.....	125
4.3.1.2	Energiebedarf.....	125
4.3.1.3	Proteinzufuhr.....	125
4.3.1.4	Zufuhr von Kohlenhydraten.....	126
4.3.1.5	Fettzufuhr.....	126
4.3.1.6	Zufuhr von Fettsäuren.....	127
4.3.1.7	Zufuhr von Cholesterin.....	128
4.3.1.8	Ballaststoffzufuhr.....	128
4.3.1.9	Zufuhr von Harnsäure.....	129
4.4	Zufuhr und Plasmakonzentrationen bzw. Statusbestimmungen ausgewählter wasser- und fettlöslicher Vitamine, Carotinoide und Spurenelemente.....	129
4.4.0	Antioxidanzien und oxidativer Stress.....	129
4.4.1	Zufuhr und Konzentration von wasserlöslichen Vitaminen im Plasma, Aktivitätskoeffizienten bei Enzymaktivitätsmessungen.....	131
4.4.1.1	Vitamin C (Ascorbinsäure).....	131
4.4.1.2	Vitamin B ₁	132
4.4.1.3	Vitamin B ₂	132

4.4.1.4	Vitamin B ₆	133
4.4.1.5	Vitamin B ₁₂	134
4.4.1.6	Folsäure.....	134
4.4.2	Zufuhr und Konzentration von fettlöslichen Vitaminen, Carotinoiden und Xanthophyllen im Plasma.....	136
4.4.2.1	Vitamin E (α-Tocopherol)	136
4.4.2.2	Vitamin A (Retinol).....	137
4.4.2.3	β-Carotin und andere Carotinoide.....	137
4.5	Zufuhr ausgewählter Lebensmittelgruppen.....	138
4.6	Konzentration von Thiolen im Plasma.....	139
4.6.1	Homocystein.....	139
4.6.2	Glutathion.....	141
4.7	Lipide, Apolipoproteine und Lipoproteine	141
4.7.1	Lipoproteinklassen.....	141
4.7.1.1	VLDL (Very-low-density-Lipoproteine).....	141
4.7.1.2	IDL (Intermediate-density-Lipoproteine).....	141
4.7.1.3	LDL (Low-density-Lipoproteine).....	142
4.7.1.4	HDL (High-density-Lipoproteine).....	143
4.7.2	Zusammensetzung der High-density-Lipoproteine (HDL) einschließlich der Subfraktionen.....	146
4.7.3	Lipoproteinkomponenten.....	147
4.7.3.1	Gesamtcholesterin.....	147
4.7.3.2	Triglyceride.....	148
4.7.3.3	Apolipoproteine.....	149
4.7.3.4	Lipoprotein (a)	150
4.8	ADH3-Polymorphismus.....	150
4.9	Methodenentwicklung.....	151
4.9.1	HPLC-Methoden.....	151
4.9.1.1	Bestimmung von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Plasma	151
4.9.1.2	Bestimmung fettlöslicher Vitamine, Carotinoide, Xanthophylle im Plasma	153
4.9.1.3	Bestimmung von Thiolen in Blutplasma.....	155
4.9.2	Messung der Enzymaktivität zur Bestimmung des Vitaminstatus.....	156
4.9.2.1	Bestimmung des Thiaminstatus über die Transketolaseaktivität im Erythrozyten	
4.9.2.2	Bestimmung des Riboflavinstatus über die Glutathionreduktaseaktivität im Erythrozyten	156
4.9.2.3	Bestimmung des Pyridoxalstatus über die Aktivität der Aspartataminotransferase (AST, ASAT, GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase) im Erythrozyten ...	157

5	ZUSAMMENFASSUNG.....	158
6	LITERATUR.....	161

Lebenslauf

Erklärung

ABKÜRZUNGEN

ADH	Alkoholdehydrogenase
ADMA	asymmetrisches Dimethylarginin
ALAT	Alaninaminotransferase (ALT, Glutamat-Pyruvat-Transaminase)
ALT	Alaninaminotransferase (ALAT, Glutamat-Pyruvat-Transaminase)
AP	Alkalische Phosphatase
Apo A-1	Apolipoprotein A-1
Apo A-2	Apolipoprotein A-2
Apo B	Apolipoprotein B
Apo C-2	Apolipoprotein C-2
Apo C-3	Apolipoprotein C-3
Apo E	Apolipoprotein E
ASAT	Aspartataminotransferase (AST, GOT)
AST	Aspartataminotransferase (ASAT, GOT)
BHT	Butylhydroxytoluol
BLS	Bundeslebensmittelschlüssel
BMI	Body Mass Index
Bp	Basenpaare
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
CDT	Desialotransferrin (DST, carbohydrate deficient transferrin)
CE	Cholesterinester
CETP	Cholesterinester-Transferprotein
Chol	Gesamt-Cholesterin
95% CI	95% Credible Interval (95%-Konfidenzintervall)
CRP	C-reaktives Protein
CV	coefficient of variation (Variationskoeffizient)
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	Desoxycytidintriphosphat
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxynukleotide
DST	Desialotransferrin (CDT)
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
EBIS	Ernährungsanamnese, Beratungs- und Informations-System

EDTA	Ethylendiaminotetraessigsäure
EGRAC	erythrocyte glutathione reductase activation coefficient
FAD	Flavin-adenin-dinucleotid
FC	freies Cholesterin
FMN	Flavin-mononucleotid
GC	Gaschromatographie
GDH	Glycerol-3-phosphat-dehydrogenase
GK	Glycerinkinase
GOT	Aspartataminotransferase (ASAT, AST)
GPO	Glycerin-3-phosphatoxidase
GPT	Alaninaminotransferase (Glutamat-Pyruvat-Transaminase)
Gr.	Gruppe
GSH	Glutathion, reduzierte Form
GSSG	oxidiertes Glutathion
γ -GT	γ -Glutamyltransferase
HDAOS	N-(2-hydroxy-3-sulfofpropyl)-3,5-dimethoxyanilin Natriumsalz
HDL	High-density-Lipoproteine
HDL ₂ , HDL ₃	Subfraktionen der High-density-Lipoproteine
HL	hepatische Lipase
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
hs-CRP	hochsensitives C-reaktives Protein
HTGL	hepatische Triglyceridlipase
IDL	Intermediate-density-Lipoproteine
KH	Kohlenhydrate
KHK	koronare Herzkrankheit
LCAT	Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase
LDL	Low-density-Lipoproteine
LDL ₁ ... LDL ₆	Subfraktionen der Low-density-Lipoproteine
Lp(a)	Lipoprotein (a)
LPL	Lipoproteinlipase
MCHC	mittlere Zell-Hämoglobin-Konzentration
MCV	mean corpuscular volume (mittleres Volumen des einzelnen Erythrozyten)
MPG	N-(2-Mercaptopropionyl)-glycine
MUFA	einfach ungesättigte Fettsäuren
MW	Mittelwert

NAD	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-Phosphat
NIST	National Institute of Standards & Technology
NO	Stickstoffmonoxid
n.s.	nicht signifikant
o.	ohne
ODS	Octadecylsilan
Ox-LDL	oxidativ verändertes Low-density-Lipoprotein
PBS	Phosphate buffered saline
PC	Phosphatidylcholin
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PEG	Polyethylenglykol
PL	Phospholipide
PLP	Pyridoxal-5'-phosphat
PLTP	Phospholipid-Transferprotein
PTFE	Polytetrafluorethylen
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren
RP	reversed phase (Umkehrphase)
SBD-F	7-Fluorobenzofurazan-4-sulfonsäure Ammoniumsalz
SD	standard division (Standardabweichung)
SFA	gesättigte Fettsäuren
signif.	signifikant
SPM	Sphingomyelin
TBE	Tris-Borat-EDTA
TBP	Tributyl-phosphin
TCEP	Tris(2-carboxyethyl)phosphin
TDP	Thiamindiphosphat
TG	Triglyceride
THF	5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure
TIM	Triose-phosphat-isomerase
TLC	Thin layer chromatography (Dünnschichtchromatographie)
TPP	Thiaminpyrophosphat (Cocarboxylase Tetrahydrat)
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
VLDL	Very-low-density-Lipoproteine
vs.	versus
WHO	World Health Organization

1 EINLEITUNG

Mit 47,3 % stellen Herz-Kreislaufkrankungen die häufigste Todesursache in Deutschland dar (Quelle: Statistisches Bundesamt, Stand 2001). Diese sind zum größten Teil durch eine Veränderung der Blutgefäße zurückzuführen, die als Arteriosklerose (Arterienverkalkung) bezeichnet wird und sich durch koronare Herzkrankheit (KHK), Herzinfarkt, Schlaganfall, periphere Durchblutungsstörungen und Aneurysmen ausprägen kann.

1.1 Grundlagen des Lipoproteinstoffwechsels

1.1.1 Einteilung der Lipoproteine

Die im Plasma vorhandenen Lipide (freies Cholesterin, Cholesterinester, Triglyceride, Phospholipide) liegen in Verbindung mit Proteinen, den sog. Apolipoproteinen, als Lipoproteine vor. Die Anteile an Lipiden und Apolipoproteinen in den Lipoproteinen unterliegen einem ständigen Wechsel. Die Einteilung der Lipoproteine erfolgt meist aufgrund ihrer hydratisierten Dichte. Daneben unterscheiden sich die Lipoproteine hinsichtlich Partikelgröße, Ladung und Löslichkeit. Die Lipoproteine werden nach ihrer Dichte in die Hauptklassen Chylomikronen, VLDL (Very-low-density-Lipoproteine), IDL (Intermediate-density-Lipoproteine, VLDL-Remnants), LDL (Low-density-Lipoproteine) und HDL (High-density-Lipoproteine) eingeteilt (Havel et al. 1955). Diese Dichteklassen sind nicht homogen, sondern lassen sich anhand ihrer physikalischen Eigenschaften weiter auftrennen. Bei der eigenen Studie wurde nach der Methode von Baumstark (Baumstark et al. 1990) die LDL-Fraktion in 6 Subfraktionen aufgetrennt. Die HDL können in die Unterklassen HDL₂ und HDL₃ unterteilt und weiter in die Subfraktionen HDL_{2a} und HDL_{2b} bzw. HDL_{3a} und HDL_{3b} differenziert werden. Die Auftrennung der HDL₃-Fraktion wurde bei der eigenen Studie nicht vorgenommen (vgl. Kapitel 2.4.3.2).

1.1.2 Lipoproteinstoffwechsel

Im Stoffwechsel der Lipoproteine werden ein exogenes und ein endogenes Transportsystem unterschieden. Im exogenen Weg werden Lipide transportiert, die mit der Nahrung aufgenommen werden. Diese Lipide werden nach Aufnahme der Fettsäuren und anderen Abbauprodukten in der Darmmukosa wieder reesterifiziert, an Apolipoproteine gebunden und als Chylomikronen in den Ductus thoracicus abgegeben. Neu synthetisierte Chylomikronen enthalten Apolipoprotein A I, B 48 und A IV, erst nach ihrer Sekretion nehmen sie Apolipoprotein C aus HDL auf. Apolipoprotein C II aktiviert die Lipoproteinlipase (LPL) – dadurch kommt es zu einer Verminderung der Konzentration von Triglyceriden in den Chylomikronen. Die dabei freigesetzten freien Fettsäuren und β -Monoglyceride werden in Fettgewebe und Muskulatur aufgenommen. Bei diesem Prozess nehmen die Chylomikronen Apolipoprotein E aus den High-density-Lipoproteinen auf, geben gleichzeitig aber Apolipoprotein A I, IV und C an die HDL ab. Die dabei entstehenden Chylomikronen-Remnants sind reich an Cholesterin und Apolipoprotein E und werden vermutlich über hepatische Remnant-Rezeptoren in die Leber aufgenommen (Mahley et al. 1999). Very-low-density-Lipoproteine (VLDL) werden von der Leber synthetisiert und sezerniert (endogener Weg). Wichtigster Proteinbaustein ist das Apolipoprotein B 100; daneben enthalten VLDL auch Apolipoprotein E und C. Nach dem Übergang ins Blut nehmen die VLDL aus HDL Apolipoprotein E und C auf. Durch Apolipoprotein C II wird die Lipoproteinlipase (LPL) aktiviert. Es entstehen kleinere Lipoproteine, die relativ reich an Cholesterinestern und Apolipoprotein E sind, die Intermediate-density-Lipoproteine (IDL). Die IDL werden nun entweder über den LDL-Rezeptor (B,E-Rezeptor) direkt in die Leber aufgenommen oder unter Einwirkung der LPL und der hepatischen Triglyceridlipase unter Aufnahme von Cholesterinester aus den HDL weiter zu LDL abgebaut. Da die Kapazität der LDL-Rezeptoren limitiert ist, werden überschüssige LDL – statt spezifisch über den

LDL-Rezeptor (B,E-Rezeptor) – verstärkt über sog. Scavenger-Rezeptoren („Straßenfeger“-Rezeptoren) der Makrophagen unbegrenzt aufgenommen, wodurch eine Überladung der Makrophagen mit Cholesterin möglich wird. Es kann dabei zur Bildung sog. Schaumzellen kommen, die dann die Entstehung atherosklerotischer Plaques in der Gefäßwand begünstigen (Mahley et al. 1999, Mertens et al. 2001).

1.1.3 HDL-Stoffwechsel und Cholesterinrücktransport

Der erste Schritt des Rücktransports des Cholesterins aus der Peripherie zur Leber ist die Übertragung von Cholesterin aus peripheren Zellen auf HDL-Partikel. Diese primären Akzeptoren von freiem Cholesterin sind diskoidal naszente HDL und kleine HDL-Partikel, wie man sie in der HDL₃-Fraktion findet. Nach Aufnahme von freiem Cholesterin auf HDL₃ wird dieses mit Hilfe der Lezithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) verestert. Durch das Cholesterinester-Transferprotein (CETP) werden die dabei entstehenden Cholesterinester im Austausch mit Triglyceriden auf große, triglyceridreiche Lipoproteine übertragen – vorzugsweise IDL. Im Gegenzug werden Triglyceride auf HDL übertragen, es entstehen HDL₂. HDL₂-Partikel können auch in HDL₃-Partikel umgewandelt werden: Triglyceride der HDL₂ werden durch die hepatische Triglyceridlipase (HTGL) hydrolysiert – es entsteht HDL₃. Das als Cholesterinester auf triglyceridreiche IDL übertragene Cholesterin kann nun wie das gesamte Lipoprotein über Lipoprotein-Rezeptoren überwiegend in extrahepatische Gewebe aufgenommen und verstoffwechselt werden. Andererseits können cholesterinbeladene HDL auch Apolipoprotein E anreichern und zur Leber gelangen. Dort kann Cholesterin von Hepatozyten direkt aufgenommen werden, während die HDL-Partikel erneut Cholesterin aus der Peripherie zur Leber transportieren können (Guerin et al. 2002, Rye et al. 2000).

1.1.4 Atherogener Lipoprotein-Phänotyp

Wie bereits erwähnt, ist die LDL-Fraktion nicht homogen, sondern lässt sich entsprechend ihrer physikochemischen Eigenschaften in große, leichte und kleine, dichte LDL-Subfraktionen mit unterschiedlicher biologischer Wertigkeit auftrennen. Dazu kommt sowohl die Elektrophorese (Trennung nach Größe) als auch die Ultrazentrifugation (Trennung nach Dichte) in Frage. Bei dieser Studie wurden die Lipoproteine zunächst durch sequentielle präparative Ultrazentrifugation voneinander getrennt (Havel 1955) und dann die LDL-Gesamtfraktion in sechs LDL-Subfraktionen aufgetrennt (Baumstark 1990). Zahlreiche Studien haben eine Assoziation zwischen erhöhten Triglyceridspiegeln, vermindertem HDL-Cholesterin (Krauss 1991, Austin 1990) und kleinen, dichten LDL (Austin 1990, Krauss 1991, McNamara 1992) gezeigt. Allerdings können kleine, dichte LDL auch unabhängig von Triglyceriden und HDL-Cholesterin eine endotheliale Dysfunktion verursachen (Vakkilainen 2000). Es wird vermutet, dass bei Vorliegen eines Profils mit kleinen, dichten LDL (Subfraktionen LDL₅ und LDL₆ erhöht) das Risiko für die Entstehung einer KHK um bis zu 7-fach erhöht sein kann (Austin 1990, Campos 1992, Coresh 1993, Griffin 1994, Gardner 1996, Stampfer 1996, Lamarche 1997, Gray 1997). Eine mögliche Erklärung ist die im Vergleich zu großen LDL-Partikeln verminderte Aufnahme durch den LDL-Rezeptor (Nigon 1991). Diskutiert wird eine höhere Anfälligkeit für oxidative Modifikation (Dejager 1993) oder eine erhöhte Affinität für Proteoglykane der Gefäßwand (Anber 1996) sowie die Fähigkeit zur verstärkten Penetration der Gefäßintima (Nordestgaard 1994) bei kleinen LDL-Partikeln. Es konnte außerdem eine positive Korrelation zwischen dem Schweregrad angiographischer Veränderungen an Koronarpatienten mit Ein-, Zwei- oder Dreigeßäßerkrankung und der Höhe des Anteils der kleinen, dichten LDL (LDL₅ und LDL₆) ermittelt werden (Baumstark 1994).

1.2 Verlauf einer Arteriosklerose

Die Arteriosklerose ist eine variable Kombination von Veränderungen der Arterienintima, die mit einer herdförmigen Anhäufung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, von Blut und Blutbestandteilen, ferner mit der Bildung eines fibrösen Gewebes und mit Kalkablagerungen einhergeht sowie mit Veränderungen der Media verbunden sein kann (Definition WHO). Sie entsteht durch die Reaktion auf die Schädigung des Endothels (Gefäßinnenwand), die durch Risikofaktoren wie ungünstiges Lipidprofil, Bluthochdruck, Rauchen oder Diabetes verursacht wird. Monozyten, die zur Gruppe der weißen Blutkörperchen zählen und sich normalerweise nur im strömenden Blut befinden, wandern in die Intima (innerste Schicht der Gefäßwand der Arterien) ein und werden dort in Makrophagen umgewandelt. Aus diesen entstehen durch Anhäufung großer Mengen an Cholesterin Schaumzellen, die sich zu sog. Fettstreifen („fatty streaks“) ansammeln. Dieses anfängliche Stadium der Arteriosklerose kann sich durch Bildung fibröser Plaques, Durchsetzung der Fettablagerungen mit Bindegewebe, Ulzerationen, Blutungen, Mikrothromben und Verkalkungen verstärken. Das Lumen der betroffenen Gefäßabschnitte verengt sich – bis hin zum völligen Verschluss. Diese Prozesse können jahrzehntelang unbemerkt verlaufen, bis sie dann durch Unterschreiten eines kritischen Gefäßlumens klinisch in Erscheinung treten.

1.3 Mechanismus einer Arteriosklerose

Eine besondere Rolle bei der Atherogenese scheint das oxidativ veränderte Low-density-Lipoprotein (Ox-LDL) zu spielen: Ox-LDL wird in erhöhtem Maß durch Makrophagen aufgenommen, aus denen sich dann die Schaumzellen bilden; die Rückkehr von Gewebs-Makrophagen zurück in die Zirkulation wird dadurch verhindert. Es wird eine chemotaktische Aktivität der Ox-LDL für zirkulierende Monozyten und T-Lymphozyten diskutiert. Ox-LDL soll die Vasodilatation durch Stickstoffmonoxid (NO), die am stärksten gefäßerweiternde körpereigene Substanz, inhibieren, sowie Gerinnungs- und Koagulationsprozesse fördern (Aviram et al. 1996). Die Oxidation von LDL kann beeinflusst werden durch ihre Fettsäurezusammensetzung, die Konzentration an Antioxidanzien in den Makrophagen, die Aktivität der Phospholipase A₂ und die Größe der LDL-Partikel. Daneben spielt auch die Konzentration oxidierender (z.B. Spurenelemente) bzw. antioxidativer (z.B. Vitamin C) Komponenten im Plasma und in der Extrazellulärflüssigkeit eine Rolle, sowie die Konzentration an HDL und Faktoren, welche die Aufenthaltszeit von LDL in der Intima (z.B. Lp(a)) bzw. im Plasma beeinflussen (Reaven et al. 1996).

1.4 Risikofaktoren für die Entwicklung einer KHK

1.4.1 Klassische Risikofaktoren

Eine ganze Reihe von sog. Risikofaktoren für die Entstehung von arteriosklerotischen Veränderungen bestimmen das Ausmaß sowie den Zeitpunkt, in dem diese in Erscheinung treten. Als wissenschaftlich gesichert gilt der Einfluss einer Dyslipidämie, von Zigarettenrauchen, Übergewicht, Bluthochdruck, Geschlecht, Diabetes mellitus, Stress, Bewegungsmangel, einer positiven Familienanamnese und einer bestehenden arteriosklerotischen Erkrankung. Daneben wirken sich ein erhöhter Plasmaspiegel an Fibrinogen oder ein niedriger Antioxidanzienstatus negativ aus.

1.4.2 „Neuere“ Risikofaktoren

Neben den klassischen Risikofaktoren wurden in letzter Zeit weitere, „neuere“ Risikofaktoren für die Arteriosklerose genannt. Darunter fällt das hs-CRP (hochsensitive C-reaktive Protein), ein Akut-Phase-Protein, dessen Serumkonzentration bei bakteriellen sowie nichtinfektiösen

entzündlichen und nekrotischen Prozessen ansteigt (Ridker 2004). Zu nennen ist auch das Serumlipoprotein Lipoprotein (a) (Lp(a)) mit atherogener und thrombogener Potenz (Danesh et al. 2000). Ein weiterer Risikofaktor für das Auftreten einer koronaren Herzkrankheit (KHK) ist das Homocystein (1-Amino-3-mercaptoputtersäure), das durch Demethylierung aus der essentiellen Aminosäure Methionin entsteht (Wilson 2004). Es gilt als gesichert, dass ein erhöhter Homocysteinspiegel im Blut an der Schädigung der Blutgefäße beteiligt ist. Dies geschieht vermutlich durch eine erniedrigte NO-Bildung, eine Zerstörung der Endothelschicht, wodurch Gerinnungsprozesse (Anlagerung von Thrombozyten und Fibrin) ausgelöst werden, die Produktion aggressiver Sauerstoffradikale und die gefäßschädigende Oxidation des LDL-Cholesterins (Ox-LDL). Als weitere Faktoren, die für ein erhöhtes KHK-Risiko verantwortlich gemacht werden, stehen u.a. ADMA (asymmetrisches Dimethylarginin), Apo E-Polymorphismus, Endothelin-I in der Diskussion (vgl. Tab. 1.1). Bakterien der Spezies *Chlamydia pneumoniae* können chronisch verlaufende Infektionen der Atemwege verursachen und stehen im Verdacht, eine Rolle bei der Pathogenese der Arteriosklerose zu spielen. In einer Studie wurden in Läsionen von Koronararterien junger Erwachsener (15-34 Jahre) mit Arteriosklerose immunhistologisch bzw. mittels PCR *Chlamydia pneumoniae*-Antigene in einem höheren Prozentsatz nachgewiesen (Kuo et al. 1995).

Homocystein	Aminosäurederivat
CRP (C-reaktives Protein)	Akut-Phase-Protein
hs-CRP (hochsensitives C-reaktives Protein)	Akut-Phase-Protein
Lipoprotein (a)	Plasmalipoprotein
Serum-Amyloid-A	Akut-Phase-Protein
8-Iso-Prostaglandin (PG) F _{2alpha}	Hormon
Soluble endothelial selectin (sE-Selectin)	zelluläre Adhäsionsmoleküle
Soluble vascular cell adhesion molecule (s-VCAM)	zelluläre Adhäsionsmoleküle
Soluble intercellular adhesion molecule (s-ICAM-1)	zelluläre Adhäsionsmoleküle
von Willebrand factor (vWF)	Blutgerinnungsfaktor
Leptin	Hormon
Metalloproteinasen	Enzyme

Tab. 1.1: „Neuere“ Risikofaktoren für die Entwicklung der Arteriosklerose (nach Wilson 2004, Wolk et al. 2004, Mukamal et al. 2004, Schwedhelm et al. 2004, Ferroni et al. 2003, Grewal et al. 2003)

1.5 Epidemiologische Befunde

1.5.1 Alkohol beeinflusst Risikofaktoren für KHK

In zahlreichen epidemiologischen Studien wurde ein niedrigeres relatives Risiko durch geringen bis moderaten Alkoholkonsum (ein bis drei oder vier „drinks“ pro Tag) für eine koronare Herzerkrankung verglichen mit Alkoholabstinenz festgestellt. Darunter war eine große Studie mit fast einer halben Million Amerikanern: Männer und Frauen mit einem Durchschnittsalter von 56 Jahren wurden über einen Zeitraum von 9 Jahren beobachtet. Dabei zeigte sich, dass die Mortalität infolge von Herz-Kreislaufkrankungen und die Gesamtmortalität bei den Probanden mit einem täglichen Alkoholkonsum von mindestens einem „drink“ pro Tag (entsprechend 12 g Alkohol) um 30 bis 40 % niedriger war als bei den Abstinenzlern. Uneinheitlich waren die Ergebnisse jedoch bei stärkerem Alkoholkonsum (Thun et al. 1997). In einer amerikanischen Studie an 38.000 Beschäftigten im Gesundheitswesen erlitten die Probanden, die an drei bis vier Tagen pro Woche Alkohol zuführten mit einer um 32 % geringeren Wahrscheinlichkeit ein kardiales Ereignis als Probanden mit einem Alkoholkonsum seltener als einmal pro Woche. Die entsprechende Verminderung des Risikos bei

Männern, die an fünf bis sieben Tagen pro Woche Alkohol konsumierten, lag bei 37 %. Die unterschiedlichen Arten alkoholhaltiger Getränke ergaben keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die „Schutzwirkung“. Es machte auch keinen Unterschied, ob die Männer während des Essens oder zu anderen Zeiten tranken (Mukamal et al. 2003). In einer weiteren Studie mit 128.000 Personen war bei den Personen, die ein bis zwei „drinks“ pro Tag zu sich nahmen, die Wahrscheinlichkeit eines ischämischen Schlaganfalls um 20 % geringer als bei den Personen, die niemals Alkohol konsumiert hatten. Bei 3 bis 5 oder mehr „drinks“ pro Tag konnte jedoch keine schützende Wirkung festgestellt werden (Klatsky et al. 2001). In einer australischen Studie mit 1235 Männern und 1570 Frauen über 60 Jahre wurde ebenso nur bei moderatem Alkoholkonsum eine signifikant niedrigere Sterberate im Vergleich zu den Abstinenzlern festgestellt, wobei die „Schutzwirkung“ zum großen Teil auf ein niedrigeres KHK-Risiko zurückzuführen war. Dagegen ging die Sterberate bei starkem Alkoholkonsum (über 50 g Alkohol/Tag bei Männern, über 30 g Alkohol/Tag bei Frauen) nicht zurück (Simons et al. 2000, Stockwell 2000). Bei einer Metaanalyse von 35 epidemiologischen Studien war bei Personen mit einem täglichen Alkoholkonsum von mehr als 60 g das Risiko eines ischämischen Schlaganfalls um 69 % und das Risiko eines hämorrhagischen Schlaganfalls um über 100 % höher im Vergleich zu Abstinenzlern. Moderater Alkoholkonsum (12 bis 24 g Alkohol/Tag) dagegen senkte die Wahrscheinlichkeit eines ischämischen Schlaganfalls um 28 % (Reynolds et al. 2003). Eine weitere Metaanalyse untersuchte die Ergebnisse von 61 Studien aus den Jahren 1965 bis 1998 zum Einfluss eines mäßigen Alkoholkonsums auf Veränderungen in der Zusammensetzung des Blutes. Dabei wurde errechnet, dass ein durchschnittlicher täglicher Alkoholkonsum von 30 g die Wahrscheinlichkeit einer koronaren Herzkrankung um 24,7 % verringert. Berechnet wurde bei einem Alkoholkonsum von 30 g pro Tag eine höhere Konzentration an HDL-Cholesterin (+ 4,0 mg/dL, 95% CI: 3,3-4,7 mg/dL), Apolipoprotein A-1 (+ 8,8 mg/dL, 95% CI: 7,8-9,9 mg/dL) sowie Triglyceriden (+ 5,7 mg/dL, 95% CI: 2,5-8,9 mg/dL) im Serum, während die Abnahme der Konzentration an Fibrinogen im Serum (um 7,5 mg/dL, 95% CI: -17,7-32,7 mg/dL) kein Signifikanzniveau erreichte. Ebenfalls fand sich kein Zusammenhang zwischen der Konzentration von LDL-Cholesterin und Lipoprotein (a) im Serum und dem Konsum alkoholhaltiger Getränke (durchschnittlicher täglicher Alkoholkonsum von 30 g) (Rimm et al. 1999).

1.5.2 Rolle des Getränketyps

Uneinheitlich ist die Aussage in der Literatur hinsichtlich eines möglichen Vorteils eines bestimmten alkoholhaltigen Getränketyps gegenüber anderen. In einer Studie mit über 36.000 Männern in Frankreich wurde bei einem täglichen Konsum von zwei bis fünf Gläsern Wein eine um 29-33 % niedrigere Sterberate verzeichnet, während es bei mäßigem Bierkonsum keine Senkung der Gesamtmortalität gab (Renaud et al. 1999). In einigen weiteren Studien scheinen Weintrinker im Vergleich zu den Biertrinkern besser gestellt zu sein (Grønbaek et al. 1995 und 2000). In einer experimentellen Studie an Rinderzellen wurde der hemmende Einfluss von Polyphenolen in Rotwein auf die Synthese von Endothelin-I, einer gefäßschädigenden Substanz, nachgewiesen (Corder et al. 2001). In einer Interventionsstudie an 11 gesunden Freiwilligen, die in einer wechselnden Reihenfolge entweder Bier, Rotwein, Mineralwasser oder Spirituosen zu trinken bekamen, wurde die Konzentration an Homocystein im Blutplasma gemessen. Dabei stieg nach Bierkonsum der Homocysteinspiegel nicht an, beim Konsum von Wein und Spirituosen dagegen um 8 bzw. 9 %, was einer Erhöhung des KHK-Risikos um 10 bis 20 % entspricht. Das im Bier enthaltene Vitamin B₆ wird für den beobachteten, günstigen Effekt verantwortlich gemacht (Van der Gaag et al. 2000). In einer großen Studie in Bayern (MONICA-Projekt) führte ein moderater Alkoholkonsum in Form von Bier zu einer deutlichen Senkung des Herzinfarktrisikos (Keil et al. 1997). In einer Metastudie wurden in drei Fallkontrollstudien keine Unterschiede bei einer positiven Wirkung hinsichtlich Herzerkrankungen zwischen Wein, Bier und Spirituosen gesehen, unter den

untersuchten prospektiven Kohortenstudien sprachen je 4 Studien für Wein, Bier oder Spirituosen (Rimm 1996). Zu der uneinheitlichen, teilweise widersprüchlichen Datenlage kommt noch hinzu, dass in den meisten Fällen Trinkmuster nicht mit einbezogen wurden, was möglicherweise zu irreführenden Schlussfolgerungen hinsichtlich der Bevorzugung eines bestimmten alkoholhaltigen Getränketyps kommen könnte. Weintrinker könnten z.B. ein eher einheitlicheres tägliches Trinkmuster im Vergleich zu Biertrinkern haben. In einer finnischen Studie mit über 1.500 hauptsächlich Bier trinkenden Männern wurde festgestellt, dass sog. Binge-drinking (Alkoholkonsum in Form von Trinkgelagen) die Gesamtmortalität und die Mortalität aufgrund von Herzinfarkten stark erhöhte (Kauhanen et al. 1997).

1.5.3 Rolle der Ernährung

Diskutierte Ernährungsfaktoren, welche – neben dem Alkoholkonsum – die Entstehung einer Arteriosklerose beeinflussen können, sind u.a. die über die Nahrung aufgenommene Menge an Fetten, Cholesterin, Ballaststoffen, Antioxidanzien, Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen. Sowohl mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) als auch einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA) führen zu einer Senkung des LDL-Cholesterins, aber nur bei letzteren kommt es zu einem günstigen Anstieg des HDL-Cholesterins. Gesättigte Fettsäuren (SFA) führen meist zu einer Erhöhung des LDL-Cholesterins, besonders ungünstig wirken trans-Fettsäuren. Die mediterrane Küche hat aufgrund des reichlichen Gebrauchs von Olivenöl (enthält 64-86 % MUFA) einen positiven Effekt auf den Cholesterinspiegel. Die in den westlichen Industrieländern insgesamt zu hohe Fettzufuhr sollte allerdings generell auf einen Grenzwert von 30 Energieprozent der Gesamtenergieaufnahme (vgl. DGE-Empfehlung) gesenkt werden, wobei dann die Art der Fettsäuren hinsichtlich der Cholesterinsenkung ihre Bedeutung verliert (German et al. 2004). In epidemiologischen Studien wurde in Populationen mit einer hohen Zufuhr an Ballaststoffen – wie z.B. in den Mittelmeerländern – ein niedriger Cholesterinspiegel gemessen. Für die Cholesterinsenkung werden vor allem wasserlösliche (z.B. Pektine) oder leicht fermentierbare Ballaststoffe (z.B. Haferkleie), weniger die wasserunlöslichen Ballaststoffe (z.B. Weizenkleie) verantwortlich gemacht. Es bleibt jedoch unklar, inwieweit ein erhöhter Ballaststoffverzehr mit generell anderen Ernährungsgewohnheiten wie einer geringeren Fett- oder Zuckeraufnahme einhergeht (German et al. 2004). Antioxidanzien wie z.B. Vitamin E oder Flavonoide aus Gemüse oder Obst sollen die Bildung von freien Radikalen verhindern. Diese werden für eine Schädigung der Endothelschicht der Arterien verantwortlich gemacht, die zum Fortschreiten der arteriosklerotischen Prozesse führt. Neben den Vitaminen haben auch einige Mineralstoffe und Spurenelemente die Funktion von Antioxidanzien und Membranstabilisatoren. Zur Gruppe der enzymatischen Antioxidanzien zählen die den Abbau von Peroxiden katalysierende Glutathionperoxidase (Cofaktor Selen), die Peroxidradikale zu Wasserstoffperoxid umsetzende Superoxiddismutase (enthält Mangan und Kupfer) und die Wasserstoffperoxid abbauende Katalase (enthält Eisen). Bei den verschiedenen antioxidativen Schutzmechanismen handelt es sich um ein System voneinander abhängiger Reaktionen, das bei unausgeglichene Plasmaspiegeln bestimmter Mineralstoffe (z.B. Eisen, Kupfer) ins Gegenteil umschlagen und prooxidativ und damit atherogen wirken kann (Kontush et al. 1996). Zink ist ein essentielles Spurenelement, Cofaktor vieler Enzyme und Bestandteil aller Biomembranen und unentbehrlich zur Erhaltung von Struktur und Funktion (Bettger et al. 1981, Vallee et al. 1993). Experimentell wurde gezeigt, dass die atherogene Oxidation von LDL durch Zink verhindert werden kann (Wilkins et al. 1994). Bei Patienten mit Arteriosklerose wurde im Plasma eine Abnahme des Zink/Kupfer-Quotienten gefunden (Iskra et al. 1993). Homocystein wurde in vielen epidemiologischen Studien als Risikofaktor für Arteriosklerose gesehen. Erhöhte Spiegel von Homocystein im Plasma sind nur selten angeboren und durch einen Mangel an dem Enzym Methylentetrahydrofolat-Reduktase bedingt. Meist ist die erhöhte Konzentration an Homocystein durch einen Mangel der Vitamine Folsäure, Vitamin B₆ und Vitamin B₁₂ erworben. Die Versorgung mit Folsäure

ist in fast allen Bevölkerungsgruppen als kritisch zu bezeichnen (Stanger et al. 2003). In einer Studie mit älteren Patienten (67-96 Jahre) nahmen etwa 40 % nicht genug Folsäure zu sich, um den Homocysteinspiegel niedrig zu halten (Selhub et al. 1993).

1.5.4 Genetische Beeinflussung

Es wird vermutet, dass Alkoholkonsumenten, die aufgrund ihrer genetischen Prädisposition Alkohol im Körper langsamer abbauen, ein niedriges KHK-Risiko haben. Das alkoholabbauende Enzym Alkoholdehydrogenase weist an den Loci ADH2 und ADH3 einen genetischen Polymorphismus auf, d.h. in einer Population kommen gleichzeitig unterschiedliche Phänotypen vor, die in ihrer Abbaugeschwindigkeit von Ethanol zu Acetaldehyd verschieden sind. In einer Studie wurden 374 Probanden von der US Physicans' Health Study, die im Beobachtungszeitraum von zwölf Jahren erstmals einen Myokardinfarkt erlitten hatten, mit 770 Kontrollen hinsichtlich ADH3-Genotyp und HDL-Cholesterin verglichen. Moderat Alkohol trinkende Männer (mindestens ein „drink“ pro Tag) mit dem Allel ADH3*2 in homozygoter Ausprägung hatten mit $RR = 0,14$ (95% CI: 0,04-0,45) die größte Reduzierung des Herzinfarkttrisikos gegenüber den Abstinenzlern im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen (ADH3*1/*1: $RR = 0,62$ (95% CI: 0,34-1,13), $p < 0,01$ bzw. ADH3*1/*2: $RR = 0,68$ (95% CI: 0,40-1,15), $p < 0,01$). Als Hauptursache wurden die signifikant ($p < 0,05$) höheren Plasmaspiegel von HDL-Cholesterin bei den moderaten Alkoholtrinkern mit dem Genotyp ADH3*2/*2 gesehen (Hines et al. 2001).

1.6 Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden epidemiologischen Studie war es zu prüfen, inwieweit moderater Alkoholkonsum (durchschnittlicher täglicher Alkoholkonsum von 5,1 bis 30,0 g) im Vergleich zu Alkoholabstinenz oder sehr niedrigem Alkoholkonsum (bis 5,0 g Alkohol pro Tag) zu einer Beeinflussung von Risikofaktoren führt, die für das Auftreten arteriosklerotischer Herz- und Gefäßerkrankungen verantwortlich gemacht werden.

Hierbei wurden speziell untersucht:

- ▶ das Plasmalipidprofil, insbesondere die Untersuchung der Lipoproteinfraktionen HDL und LDL,
- ▶ die Plasmakonzentration an Homocystein und Vitaminen, die mit dem Stoffwechsel von Homocystein in Zusammenhang stehen (Folsäure, Vitamin B₆ und B₁₂),
- ▶ antioxidativ wirksame Verbindungen im Plasma (z.B. Carotinoide, Ascorbinsäure, α -Tocopherol),
- ▶ weitere Laborparameter, die mit der Entstehung arteriosklerotischer Erkrankungen in Verbindung gebracht werden, beispielsweise
- ▶ Gerinnungsparameter (z.B. Fibrinogen), Entzündungsparameter (z.B. hochsensitives C-reaktives Protein), genetische Polymorphismen (ADH3)

Um außer dem Faktor Alkoholkonsum den Einfluss der Ernährung und weiterer Lebensgewohnheiten (Rauchen, sportliche Aktivität) auf die o.g. Parameter genauer zu erfassen, wurde jeder Proband einem ausführlichen Ernährungsinterview unterzogen. Dabei wurde durch eine computerunterstützte standardisierte Ernährungsanamnese neben der Aufnahme von Lebensmitteln der Konsum alkoholhaltiger Getränke, Tabak, sowie die Einnahme von Medikamenten und Nahrungsergänzungsmitteln abgefragt. Im methodischen Teil der Arbeit wurden

insbesondere Methoden der Bestimmung wasser- und fettlöslicher Vitamine sowie von Homocystein weiterentwickelt.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studiendesign und Gruppeneinteilung

2.1.1 Studiendesign

In die Studie wurden interessierte berufstätige Männer zwischen 18 und 65 Jahren eingeschlossen. Die Durchführung der Untersuchung fand im Zeitraum zwischen November 2000 und Juni 2002 statt und war von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Tübingen genehmigt worden (Projekt-Nummer 328/99). In größeren Industrieunternehmen im Großraum Stuttgart sowie in Brauereien und bei Weingärtnergenossenschaften wurden Termine für Informationsveranstaltungen per Aushang bekannt gegeben. Dort wurden allgemeine Angaben über Ziel und Ablauf der Studie sowie zu den Ein- und Ausschlusskriterien gemacht. Die Interessenten erklärten ihre Einwilligung in schriftlicher Form und bekamen im Anschluss die Termine für die Blutentnahme und die Ernährungsanamnese mitgeteilt. Die Blutentnahme fand morgens im Zeitraum zwischen 6:30 und 9:30 Uhr statt. Die Probanden waren zum Zeitpunkt der Blutentnahme mindestens 10 Stunden nüchtern, d.h. ohne Aufnahme von fester oder flüssiger Nahrung.

Die jetzige Studie basiert auf einem Antrag an die Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V. (Forschungsvorhaben Nr. B 70: Alkoholkonsum zur Prophylaxe von Herzinfarkt und ischämischem Schlaganfall: Werden durch Bierkonsum bestimmte Risikofaktoren positiv beeinflusst? – Eine prospektive kontrollierte Langzeitstudie). Dort wurden als primäre Zielmessgrößen die Konzentration von Homocystein sowie die Konzentration von LDL- und HDL-Cholesterin (einschließlich Subfraktionen HDL₂ und HDL₃) im Plasma festgelegt. Als sekundäre Zielvariablen wurden die Konzentrationen der als Antioxidanzien bezeichneten Substanzen α -Tocopherol und Carotine (β -Carotin, Lycopin) im Blut angegeben, sowie die Konzentration der Vitamine, die für den Stoffwechsel von Homocystein bedeutsam sind: Folsäure, Vitamin B₆ und Vitamin B₁₂. Aus dem Bereich der Lipide und Lipoproteine wurden die Konzentration von Triglyceriden, den Apolipoproteinen A-1 und A-2 im Plasma, die Konzentration von Serumlipiden in den Lipoproteinfraktionen im Serum – unter Einschluss der Subfraktionen der Low-density-Lipoproteine (LDL), an weiteren klinisch-chemischen Parametern wurden das kleine Blutbild, die Aktivität der Enzyme γ -Glutamyltransferase (γ -GT) und Aspartataminotransferase (AST, ASAT, GOT), die Konzentration von Glukose, Kreatinin und Desialotransferrin (DST, CDT, carbohydrate deficient transferrin) als weitere sekundäre Zielvariablen genannt. Diese Zuordnung wurde vor Beginn der Messungen verändert (vgl. Kapitel 2.5).

2.1.2 Gruppeneinteilung

2.1.2.1 Höhe des Alkoholkonsums

Auf der Basis des durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsums wurde folgende Gruppeneinteilung vorgenommen. Der durchschnittliche tägliche Alkoholkonsum wurde über eine Ernährungsanamnese evaluiert (vgl. 2.2).

- Gruppe 1: Alkoholabstinenz oder sehr niedriger täglicher Alkoholkonsum
Die Gruppe 1 setzte sich aus Personen mit Alkoholabstinenz oder sehr niedrigem Alkoholkonsum von durchschnittlich bis zu 5,0 g Alkohol pro Tag zusammen.

- ▶ Gruppe 2: moderater Alkoholkonsum
Die Gruppe mit geringem bis mäßigem Alkoholkonsum schloss Personen mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum zwischen 5,1 und 30,0 g ein.
Es erfolgte eine weitere Unterteilung in folgende Untergruppen:
 - Biergruppe (Gruppe 2B): über 80 % der aufgenommenen Alkoholmenge als Bier
 - Weingruppe (Gruppe 2W): über 80 % der aufgenommenen Alkoholmenge als Wein
 - Mischgruppe (Gruppe 2M): nicht Gruppe 2B oder 2W zuzuordnen
- ▶ Gruppe 3: höherer Alkoholkonsum
Höherer Alkoholkonsum wurde definiert als ein durchschnittlicher täglicher Alkoholkonsum zwischen 30,1 und 70,0 g.
Entsprechend zur Gruppe 2 erfolgte eine Unterteilung in folgende Untergruppen:
 - Biergruppe (Gruppe 3B): über 80 % des täglichen Alkoholkonsums als Bier
 - Weingruppe (Gruppe 3W): über 80 % des täglichen Alkoholkonsums als Wein
 - Mischgruppe (Gruppe 3M): nicht Gruppe 3B oder 3W zuzuordnen

2.1.2.2 Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks

In einer weiteren Analyse wurden die Probanden der eigenen Studie entsprechend der Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks nach Auswertung der Ernährungsanamnese wie folgt eingeteilt:

- ▶ Gruppe „Biertrinker Gr. 2+3“
Die Probanden führten über 80 % der aufgenommenen Alkoholmenge in Form von Bier zu sich. Unter der Gruppe „Biertrinker Gr. 2+3“ wurden die Probanden der Untergruppen 2 B und 3 B zusammengefasst.
- ▶ Gruppe „Weintrinker Gr. 2+3“
Über 80 % des durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsums nahmen die Probanden als Wein zu sich. Die Gruppe „Weintrinker Gr. 2+3“ entspricht der Summe der Probanden aus den Untergruppen 2 W und 3 W.
- ▶ Gruppe „Mischtrinker Gr. 2+3“
Die Probanden dieser Gruppe konnten nicht den beiden Gruppen „Biertrinker Gr. 2+3“ und „Weintrinker Gr. 2+3“ zugeordnet werden. Sie entsprechen der Untergruppen 2 M + 3 M.

Bei den Probanden der drei Gruppen „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“ war der durchschnittliche Alkoholkonsum zwischen 5,1 und 70,0 g pro Tag.

2.1.2.3 Ausschlusskriterien

Allgemein:

- Alter unter 18 und über 65 Jahren
- sehr starker bis exzessiver Alkoholkonsum (über 70,1 g Alkohol / Tag)
- unregelmäßiger, von Zeit zu Zeit exzessiver Alkoholkonsum (sog. binge drinking)
- Änderungen der Ernährungsgewohnheiten innerhalb der letzten 6 Monate vor der Blutabnahme

Erkrankungen:

- Typ-1-Diabetes-mellitus (Insulin-abhängig)
- Malabsorptions- oder Maldigestions-Syndrom (z.B. Sprue, chronische Pankreatitis)
- chronische entzündliche Erkrankungen
- chronische Hepatitis
- Herzinfarkt oder Schlaganfall in der Vorgeschichte

- koronare Herzerkrankung, Angina pectoris, Herzinsuffizienz
- Fettstoffwechselstörungen (z.B. Hyperlipoproteinämien)
- fortgeschrittene Organerkrankungen jeder Art

Medikamenteneinnahme:

- Lipidsenker (z.B. Statine)

2.1.3 Rauchverhalten

Bezüglich der Rauchgewohnheiten wurden die Probanden der eigenen Studie wie folgt eingeteilt:

- Nichtraucher: zum Zeitpunkt der Untersuchung sowie mindestens ein Jahr davor vollständige Nicotinabstinenz oder ein durchschnittlicher täglicher Konsum von weniger als einer Zigarette bzw. der einer Zigarette entsprechenden Menge Tabak (bei Pfeifen-, Zigarrenrauchern oder den Konsumenten von Schnupftabak)
- Raucher: ein durchschnittlicher täglicher Konsum von mindestens einer Zigarette bzw. der einer Zigarette entsprechenden Menge Tabak (bei Pfeifen-, Zigarrenrauchern oder den Konsumenten von Schnupftabak).

2.1.4 Zufuhr von Nahrungsergänzungsmitteln, Vitamin- und Mineralstoffpräparaten

Ein Nahrungsergänzungsmittel ist ein Lebensmittel, das „ein Konzentrat von Nährstoffen oder sonstigen Stoffen mit ernährungsspezifischer oder physiologischer Wirkung allein oder in Zusammensetzung dargestellt und in dosierter Form, insbesondere in Form von Kapseln, Pastillen, Tabletten, Pillen und anderen ähnlichen Darreichungsformen von Flüssigkeiten und Pulvern zur Aufnahme in abgemessenen kleinen Mengen in den Verkehr gebracht wird“ (aus: Verordnung über Nahrungsergänzungsmittel, NemV 2004). Eine Zufuhr von Nahrungsergänzungsmitteln, Vitamin- und Mineralstoffpräparaten wurde unter folgenden Voraussetzungen als relevant eingestuft:

- Zufuhr in mindestens wöchentlichem Turnus
- Supplementation mindestens einer Vitamin- oder Mineralstoffverbindungen in Höhe der von der DGE angegebenen Referenzwerte (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000).

2.2 Ernährungsanamnese

Zur Erfassung der Zufuhr von Nährstoffen, Genussmitteln, Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen wurde das Computerprogramm EBIS (Ernährungsanamnese, Beratungs- und Informationssystem) verwendet. Dieses wurde im Arbeitskreis im Rahmen der Diplom- und Doktorarbeit von Dr. J. Erhardt entwickelt und bereits für zahlreiche Studien eingesetzt und validiert (Landig et al. 1998, Böhm et al. 1999, Walti et al. 2002, Wolfgarten et al. 2001). Es basiert auf dem Bundeslebensmittelschlüssel (BLS) des ehemaligen Bundesgesundheitsamts – die größte verfügbare deutsche Lebensmitteldatenbank mit über 11 000 Lebensmittelinträgen und mehr als 150 Angaben zu jedem Lebensmittel. Unbekannte Werte sind durch Schätzwerte ersetzt, um das Rechnen mit Nullwerten zu vermeiden. Zur Gruppierung der Lebensmittel wurde jedes Lebensmittel mit einem Code versehen. So ließen sich neben der Zufuhr von Nährstoffen und Vitaminen auch Angaben z.B. über die Zufuhr von Zitrusfrüchten oder von Alkohol aus Spirituosen machen.

Speziell für klinische Studien wurde ein Ernährungsinterview auf der Basis einer Ernährungsanamnese („Diet History“) in das Programm integriert, mit dem eine Erfassung der Ernährungsgewohnheiten über einen größeren Zeitraum möglich ist. Bei der vorliegenden klinischen Studie wurden die Probanden in einem Vieraugengespräch mahlzeitenabhängig nach ihren Ernährungsgewohnheiten befragt. Dabei wurde Art, Häufigkeit und Menge der aufgenommenen Lebens- und Genussmittel in den letzten drei Monaten erfragt. Um den Studienteilnehmern die Abschätzung der Mengen zu erleichtern, wurde in dieser Studie eine Fotomappe mit den am häufigsten verzehrten Speisen in unterschiedlichen Portionsgrößen verwendet. Zusätzlich können im Programm Standardportionsgrößen abgerufen werden. Außerdem wurden Alter, Größe, Gewicht, Familienstand, Rauchverhalten, allgemeiner Gesundheitszustand, Familienhistorie, körperliche Aktivität, Zufuhr von Medikamenten oder Nahrungsergänzungsmitteln, berufliche Belastung sowie Blutdruckwerte erfragt. Nach Ende des Interviews wurde zur Überprüfung, inwieweit die ermittelte Energie mit der tatsächlich verbrauchten Energie übereinstimmte, eine Energiebedarfsberechnung durchgeführt. Zuerst wurde anhand von Geschlecht, Gewicht und Größe der Person der Grundumsatz nach Kleiber (Kleiber 1947) berechnet:

$$\text{Grundumsatz} = 297,9 * \text{KG}^{0,75} * [1 + 0,004 * (30 - A) + 0,010 * ((L / \text{KG}^{1/3}) - 43,4)]$$

(Männer, KG = Körpergewicht in kg, L = Größe in cm, A = Alter in Jahren)

Anschließend wurde durch Eingabe der durchgeführten Tätigkeiten in Stunden pro Tag der Leistungsumsatz nach Rutenfranz (Rutenfranz et al. 1980) ermittelt. Der sich aus Körpergewicht, Art und Dauer der Tätigkeit ergebende Energiebedarf wurde mit dem Faktor 1,06 multipliziert und dem Grundumsatz zugeschlagen. Der Korrekturfaktor ergab sich durch die Tatsache, dass durch die Nahrungszufuhr der Energiebedarf im Schnitt um 5-7 % ansteigt.

2.3 Gewinnung, Aufarbeitung und Aufbewahrung der Blutproben

Chemikalien:

Natriumchlorid NaCl, p.a.	Merck, Darmstadt
Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat, p.a.	Merck, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat, p.a.	Merck, Darmstadt
Metaphosphorsäure-Zubereitung, ca. 65 %ig	Fluka, Buchs/Schweiz
Desinfektionsspray (Kodan-Spray)	

Lösungen:

- A. PBS-Puffer („phosphate buffered saline“), pH 7,4:
 Natriumchlorid NaCl 0,9 %
 Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M
 Kaliumdihydrogenphosphat KH_2PO_4 0,1 M
- B. Metaphosphorsäurelösung in Aqua bidest.:
 15,4 g ca. 65%ige Metaphosphorsäure-Zubereitung in 100 g Aqua bidest.
 Haltbarkeit: etwa eine Woche bei +2 bis +10 °C.

Geräte:

Zentrifuge	Hettich, Tuttlingen
------------	---------------------

Verbrauchsmaterialien:

9 mL Ammoniumheparinat Monovetten (15 I.E. Heparin/mL Blut)	Sarstedt, Nümbrecht
5 mL Serum Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht
9 mL EDTA Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht
3 mL EDTA Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht
3 mL Citrat Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht
BSG-Röhrchen (Blutsenkungsgeschwindigkeit)	Sarstedt, Nümbrecht

Blutabnahme:

Nach gründlicher Desinfektion der Haut mit Kodan-Spray erfolgte die Abnahme von peripher venösem Blut in der Zeit zwischen 6:30 und 9:30 Uhr. Die Probanden hatten zuvor eine mindestens 10stündige Nahrungskarenz eingehalten.

Probenaufarbeitung:

Das Blut wurde zwischen Entnahme und endgültiger Verarbeitung gekühlt (bei etwa +2 bis +5 °C) gelagert – entweder im Kühlschrank oder in einer Kühltasche (Einsatz von – 18 °C-Kälteakkus). Nach längstens 2 Stunden wurden zur Gewinnung des Plasmas die Heparin-Monovetten 10 Minuten bei 3000 g zentrifugiert, sowie die Serum-, EDTA- und Citrat-Monovetten zur Bestimmung einer Reihe von klinisch-chemischen Messgrößen ins Zentrallabor des Robert-Bosch-Krankenhauses weitergeleitet. Weitere EDTA-Monovetten wurden zur Bestimmung der Lipidparameter per Post dem Zentrallabor der Uniklinik Freiburg übersandt. Für die Bestimmung von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Plasma wurde 500 µL Blutplasma (Antikoagulan: Ammoniumheparin) durch Zugabe von 500 µL 10%iger Metaphosphorsäurelösung stabilisiert und nach sofortigem Mischen bei –80 °C eingefroren. Die Erythrozyten wurden dreimal mit PBS-Puffer gewaschen, jeweils 10 Minuten bei 1000 g zentrifugiert und in 1 mL-Aliquoten bei –80 °C eingefroren.

Poolplasma:

Poolplasma bezeichnet eine Mischung von Blutplasmen dreier gesunder männlicher Probanden.

Gepoolte Erythrozyten:

Gepoolte Erythrozyten bezeichnet eine Mischung von Erythrozyten dreier gesunder, männlicher Personen.

2.4 Bestimmungsmethoden

2.4.1 HPLC-Methoden

2.4.1.1 Bestimmung von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Plasma

Chemikalien:

Methanol, HPLC-grade	Carl Roth, Karlsruhe
Essigsäure, p.a.	Merck, Darmstadt
Ammoniakwasser 25 %ig, p.a.	Merck, Darmstadt
meta-Phosphorsäure, 65 %ige Zubereitung	Fluka, Buchs/Schweiz

Standards:

Ascorbinsäure, $\geq 99\%$	Aldrich, Steinheim
Riboflavin, $\geq 98\%$	Fluka, Buchs/Schweiz
Pyridoxal-5-phosphat Monohydrat, $> 98\%$	Sigma-Aldrich, Steinheim
Harnsäure, 99%	Merck, Darmstadt

Lösungen:

- A. mobile Phase:
Eluent A:
1 mL Eisessig ad 1 L (bidest. Wasser)
pH 3,6 (mit Ammoniakwasser 25% eingestellt); Haltbarkeit: ca. 3 Wochen
Eluent B:
350 mL Methanol + 650mL Eluent A; Haltbarkeit: unbegrenzt
- B. Fällungsreagenz: 10%ige meta-Phosphorsäurelösung
15,4 g ca. 65%ige meta-Phosphorsäure-Zubereitung in 100 g (bidest. Wasser);
Haltbarkeit: ca. 1 Woche (bei 4 °C)
- C. Standards:
- Ascorbinsäure: Stammlösung 1: c = 103,0 mg/L, Stammlösung 2: c = 86,0 mg/L
- Riboflavin: Stammlösung 1: c = 15,86 mg/L, Stammlösung 2: c = 10,0 mg/L
- Pyridoxalphosphat: Stammlösung 1: c = 16,50 mg/L, Stammlösung 2: c = 13,0 mg/L
- Harnsäure Stammlösung 1: c = 152,4 mg/L, Stammlösung 2: c = 273 mg/L
Ascorbinsäure, Riboflavin und Pyridoxalphosphat wurden in 10%iger meta-Phosphorsäurelösung, Harnsäure in bidest. Wasser gelöst. Bei der Herstellung der Harnsäurelösung muss unter ständigem Rühren bis zum Sieden erhitzt werden.

Geräte:

HPLC-Pumpe M 480 G	GynkoteK, Germering
Degasser ERC 3315	ERC, Riemerling
HPLC-Autosampler GINA 50	GynkoteK, Germering
Diodenarraydetektor UVD 340 S	GynkoteK, Germering
Fluoreszenzdetektor RF-551	Shimadzu, Duisburg
HPLC-Auswertungssoftware Chromeleon Version 6.11	Dionex, Idstein
HPLC-Fertigsäule LiChrospher 100 RP18 5 μ m, 125 x 4,0 mm (end-capped)	CS Service, Langerwehe
Vorsäule LiChrospher 100 RP18 5 μ m, 20 x 3,0 mm (end-capped)	CS Service, Langerwehe
Tischzentrifuge	Eppendorf, Hamburg
Schüttler Vortex Genie 2	Scientific Industries, New York/USA
Grobwaage (± 10 mg) Modell 510-37	Kern, Albstadt
Feinwaage ($\pm 0,01$ mg) Modell MC 1	Sartorius, Göttingen

Verbrauchsmaterialien:

Reaktionsgefäße 1,5 mL	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Latexhandschuhe	Meditrade, Kiefersfelden
Gewindeflaschen G 1s, braun	CS Service, Langerwehe
Schraubkappen G 8 für Gewindeflaschen	CS Service, Langerwehe

Chromatographische Bedingungen:

Fluss: 0,7 mL/min (Gradient), Druck ca. 200 bar

Injektionsvolumen: 50 µL

Temperatur Autosampler: 5 °C

Zeit in min	0	1,5	2,5	7	7,5	15
A in %	100	100	0	0	100	100
B in %	0	0	100	100	0	0

Tab. 2.1: Verlauf des Gradienten bei der hochleistungsflüssigchromatographischen Methode zur Bestimmung von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Plasma

Detektion:

A. UV (Diodenarray-Detektor):

244 nm (Kanal UV_VIS_1): Ascorbinsäure

284 nm (Kanal UV_VIS_2): Harnsäure

B. Fluoreszenzdetektor:

Ex 295 nm / Em 410 nm (Kanal Emission): Pyridoxalphosphat

Ex 455 nm / Em 524 nm (Kanal Emission): Riboflavin

Methode:

Die Methode zur Bestimmung von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Plasma wurde an unserem Institut auf der Grundlage der Forschungsergebnisse von Albala-Hustado (Albala-Hurtado et al. 1997) und Rokitzki (Rokitzki et al. 1989) entwickelt. Zur Stabilisierung der oxidationsempfindlichen Ascorbinsäure sowie zur Entfernung der Proteine wurde vor der Lagerung bei – 80 °C Meta-Phosphorsäure zugesetzt. Die aufgetauten Proben wurden zur HPLC eingesetzt und die mittels HPLC getrennten Substanzen über UV- bzw. Fluoreszenzbestimmung detektiert.

Durchführung:

Das mit 10%iger Meta-Phosphorsäurelösung stabilisierte und bei –80 °C gelagerte Blutplasma (siehe Kapitel 2.3) wurde aufgetaut und mit Hilfe des elektrischen Schüttlers kurz intensiv vermischt. Es schloss sich eine Zentrifugation (5 Minuten bei 20000 g, Temperatur: 5 °C) an, bei der sich die ausgefällten Proteine am Boden des Reaktionsgefäßes absetzten. Etwa 200 µL der überstehenden klaren Lösung wurde abgenommen, in ein braunes Gewindefläschchen überführt und mit einer Schraubkappe (mit PTFE-Dichtscheibe) dicht verschlossen. Bei einer Temperatur von 5 °C wurden je 50 µL auf die HPLC-Säule aufgegeben, bei einem Fluss von 0,5 mL/min aufgetrennt und mittels Diodenarraydetektor und Fluoreszenzdetektor analysiert. Jede zehnte Probe wurde ein Poolplasma eingesetzt. Abbildung 2.1 zeigt von oben nach unten Beispielchromatogramme von Probandenplasmen mit niedrigem und hohem Ascorbinsäurespiegel (Kanal UV_VIS_1), durchschnittlicher Harnsäurekonzentration (Kanal UV_VIS_2) und durchschnittlicher Konzentration an Pyridoxalphosphat sowie Riboflavin (Kanal Emission).

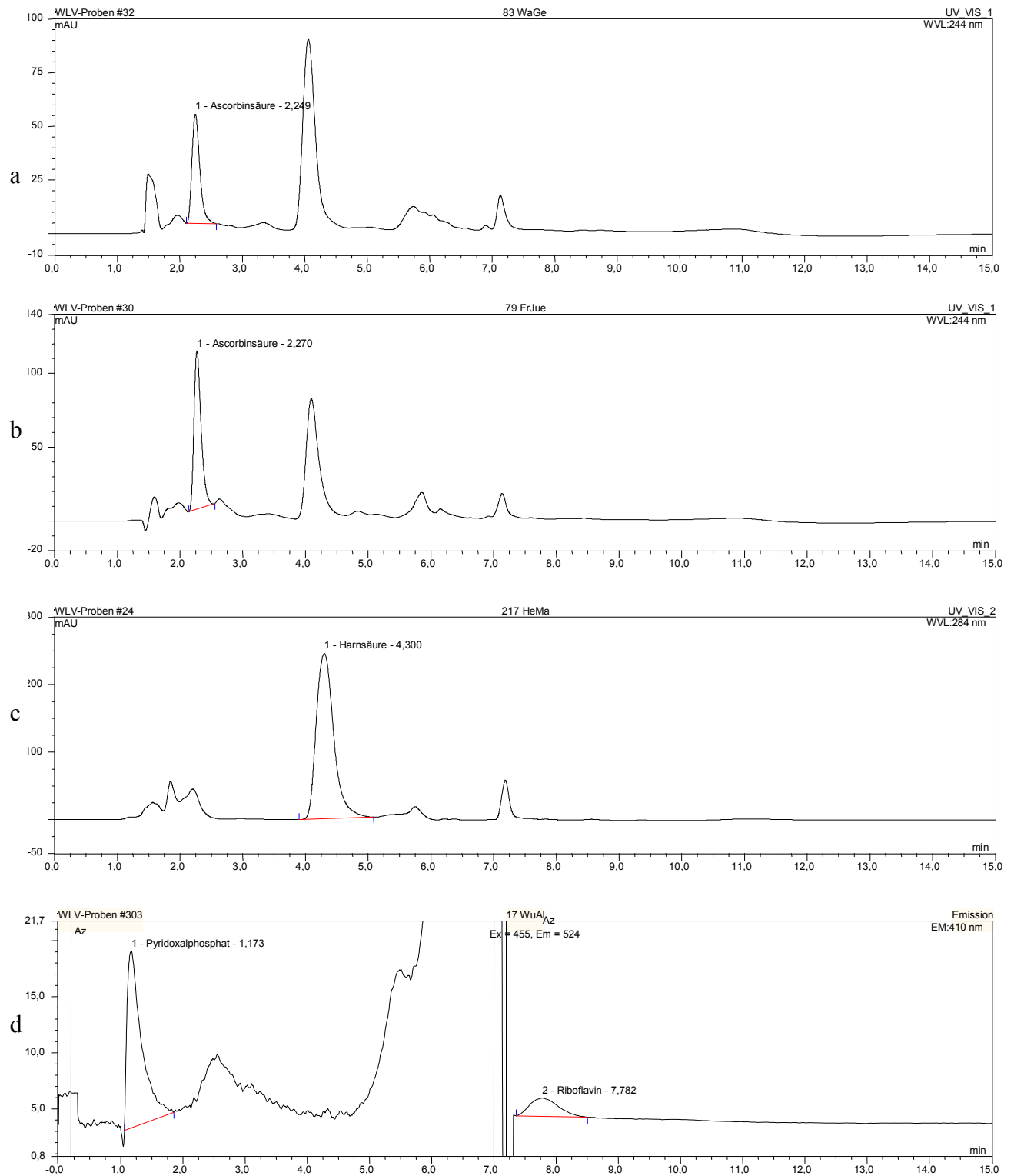


Abb. 2.1: Beispielchromatogramme Probandenplasma Bestimmung von a: Ascorbinsäure (niedrig), b: Ascorbinsäure (hoch), c: Harnsäure, d: Pyridoxalphosphat und Riboflavin

Retentionszeiten:

Ascorbinsäure	2,2 Minuten
Riboflavin	7,8 Minuten
Pyridoxalphosphat	1,2 Minuten
Harnsäure	4,3 Minuten

Auswertung:

Die Quantifizierung durch Vergleich von Peakflächen erfolgte mittels externer Standards.

Qualitätskontrolle:

Zur Qualitätskontrolle wurde jede 10. Probe ein Poolplasma (vgl. 2.3) eingesetzt. Bei der Probenaufarbeitung der Poolplasmen wurde genau so verfahren wie bei den Probandenproben.

n = 5	Mittelwert	SD	CV [%]
Ascorbinsäure	10,21 [mg/L]	0,68 [mg/L]	6,6
Riboflavin	8,21 [µg/L]	0,61 [µg/L]	7,5
Pyridoxalphosphat	8,26 [µg/L]	0,48 [µg/L]	5,8
Harnsäure	38,80 [mg/L]	3,48 [mg/L]	9,0

Tab. 2.2: Intraday-Varianz der Konzentration von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Poolplasma (vgl. Kap. 2.3)

n = 12	Mittelwert	SD	CV [%]
Ascorbinsäure	10,56 [mg/L]	0,92 [mg/L]	8,8
Riboflavin	8,08 [µg/L]	0,56 [µg/L]	6,9
Pyridoxalphosphat	8,30 [µg/L]	0,85 [µg/L]	10,2
Harnsäure	37,83 [mg/L]	2,19 [mg/L]	5,8

Tab. 2.3: Interday-Varianz der Konzentration von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Poolplasma (vgl. Kap. 2.3)

Nachweisgrenze:

Die Nachweisgrenze, d.h. die Konzentration, bei der die Peakhöhe weniger als das Dreifache des Signalrauschens beträgt, wurde wie folgt bestimmt:

Ascorbinsäure:	0,05 [mg/L]
Riboflavin:	0,001 [mg/L]
Pyridoxalphosphat:	0,01 [mg/L]
Harnsäure:	0,1 [mg/L]

Wiederfindung:

Poolplasma wurde mit definierten Konzentrationen der Standards versetzt („aufgestockt“).

Die Wiederfindung [% ± SD] ergibt sich daraus zu:

Ascorbinsäure:	91,2 ± 3,4 %
Riboflavin:	97,7 ± 2,8 %
Pyridoxalphosphat:	88,8 ± 9,6 %
Harnsäure:	98,1 ± 5,5 %

2.4.1.2 Bestimmung fettlöslicher Vitamine, Carotinoide, Xanthophylle im Plasma

Chemikalien:

Acetonitril, HPLC-grade	Carl Roth, Karlsruhe
Tetrahydrofuran, HPLC-grade	Carl Roth, Karlsruhe
Methanol, HPLC-grade	Carl Roth, Karlsruhe
Ammoniumacetat, p.a.	Merck, Darmstadt
1-Butanol, ≥ 99 %	Carl Roth, Karlsruhe
Ethanol, abs., ≥ 99,9 %	Merck, Darmstadt

BHT (Butylhydroxytoluol)
Tocol, 98 % (GC)

Sigma-Aldrich, Steinheim
Biotrend, Köln

Standards und Referenzstandards:

all-trans- β -Carotin, ≥ 97 %	Fluka, Buchs/Schweiz
Lycopin, rein (TLC)	Extrasynthese, Lyon/Frankreich
Lutein, rein (TLC)	Extrasynthese, Lyon/Frankreich
Zeaxanthin, rein (TLC)	Extrasynthese, Lyon/Frankreich
β -Cryptoxanthin, rein (TLC)	Extrasynthese, Lyon/Frankreich
DL- α -Tocopherol, 98,0 – 102,0 % (GC)	Merck, Darmstadt
all-trans-Retinol, ≥ 98 %	Sigma-Aldrich, Steinheim
NIST-Standard SRM 968c (Standard Reference Material Fat-Soluble Vitamins, Carotenoids, and Cholesterol in Human Serum)	National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg/USA

Lösungen:

- A. mobile Phase:
Acetonitril / Tetrahydrofuran / Methanol / 1 %ige wässrige Ammoniumacetatlösung
im Verhältnis 684 : 220 : 68 : 28 (v/v/v/v)
- B. Fällungs-/Extraktionsreagenz:
1-Butanol / Ethanol im Verhältnis 1 : 1 (v/v)
enthält 2 mg/mL BHT und 2 mg/mL Tocol
- C. Standards:
- | | | |
|--------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| - all-trans- β -Carotin: | Stammlösung 86,0 mg/L, | Mischstandard: 7,17 mg/L |
| - Lycopin: | Stammlösung 16,0 mg/L, | Mischstandard: 4,67 mg/L |
| - Lutein: | Stammlösung 22,2 mg/L, | Mischstandard: 3,70 mg/L |
| - Zeaxanthin: | Stammlösung 37,0 mg/L, | Mischstandard: 1,54 mg/L |
| - β -Cryptoxanthin: | Stammlösung 30,0 mg/L, | Mischstandard: 2,50 mg/L |
| - α -Tocopherol: | Stammlösung 619,5 mg/L, | Mischstandard: 51,6 mg/L |
| - all-trans-Retinol: | Stammlösung 72,1 mg/L, | Mischstandard: 6,01 mg/L |

Geräte:

HPLC-Pumpe M 480 G	GynkoteK, Germering
Degasser ERC 3315	ERC, Riemerling
HPLC-Autosampler GINA 50	GynkoteK, Germering
Diodenarraydetektor UVD 340 S	GynkoteK, Germering
HPLC-Auswertungssoftware Chromeleon Version 6.11	Dionex, Idstein
HPLC-Fertigsäule Spherisorb ODS2 3 μ m, 125 x 4,0 mm	Trentec, Gerlingen
Vorsäule ODS2 3 μ m, 20 x 3,0 mm	Trentec, Gerlingen
Tischzentrifuge	Eppendorf, Hamburg
Schüttler Vortex Genie 2	Scientific Industries, New York/USA
Grobwaage (± 10 mg) Modell 510-37	Kern, Albstadt
Feinwaage ($\pm 0,01$ mg) Modell MC 1	Sartorius, Göttingen

Verbrauchsmaterialien:

Reaktionsgefäße 1,5 mL	Eppendorf, Hamburg
------------------------	--------------------

Pipettenspitzen
Latexhandschuhe
Microvials PP 0,3 mL mit Schnappring
(Art.-Nr. 5480120)
Verschlusskappen für Microvials
(Art.-Nr. 5480016)

Eppendorf, Hamburg
Meditrade, Kiefersfelden

VWR, Darmstadt

VWR, Darmstadt

Chromatographische Bedingungen:

Fluss: 1,0 mL/min (isokratisch), Druck ca. 100 bar

Säulentemperatur: 20 °C

Injektionsvolumen: 50 µL

Temperatur Autosampler: 5 °C

Detektion: UV (Diodenarray-Detektor)

457 nm (Kanal UV_VIS_1): all-trans-β-Carotin, Lutein, β-Cryptoxanthin, Zeaxanthin

325 nm (Kanal UV_VIS_2): all-trans-Retinol

276 / 293 nm (Kanal UV_VIS_3): α-Tocopherol, Tocol (interner Standard)

475 nm (Kanal UV_VIS_4): Lycopin

Methode:

Die Bestimmung fettlöslicher Vitamine, Carotinoide, Xanthophylle im Plasma wurde in modifizierter Form entsprechend der Methode von Erhardt (Erhardt et al. 2002) durchgeführt. Die fettlöslichen Vitamine, Carotinoide, Xanthophylle wurden nach Proteinfällung im Fällungs-/Extraktionsreagenz aufgenommen und direkt zur HPLC eingesetzt. Das Fällungs-/Extraktionsreagenz enthielt als Oxidationsschutz das Antioxidanz Butylhydroxytoluol sowie den internen Standard Tocol zur Kontrolle von Geräte- oder Aufarbeitungsfehlern.

Durchführung:

Die in 200 µL Aliquoten vorliegenden nach Kapitel 2.3 gewonnenen Plasmaproben wurden mit 600 µL Fällungs-/ Extraktionsreagenz unter Zuhilfenahme des elektrischen Schüttlers 10 Sekunden intensiv vermischt. Nach der Zentrifugation (5 Minuten bei 20000 g, Temperatur: 5 °C) setzten sich die ausgefällten Proteine am Boden des Reaktionsgefäßes ab. Etwa 200 µL der darüber stehenden klaren Lösung wurden abgenommen, in ein Microvial überführt und sofort mit einer Verschlusskappe (mit Teflonseptum) dicht verschlossen. Bei einer Temperatur von 5 °C wurden je 50 µL auf die HPLC-Säule aufgegeben, bei einem Fluss von 1,0 mL/min aufgetrennt und mittels Diodenarraydetektor bei vier verschiedenen Wellenlängen analysiert. Jede zehnte Probe wurde ein Poolplasma (vgl. 2.3) eingesetzt. Abbildung 2.2 zeigt ein Beispielchromatogramm eines solchen Poolplasmas.

Retentionszeiten:

BHT (Antioxidanz):	ca. 1,2 min
all-trans-Retinol:	1,8 min
Lutein:	2,0 min
Zeaxanthin:	2,0 min
β-Cryptoxanthin:	3,5 min
α-Tocopherol:	4,0 min
Lycopin:	4,4 min
all-trans-β-Carotin:	6,9 min
Tocol (interner Standard):	2,8 min

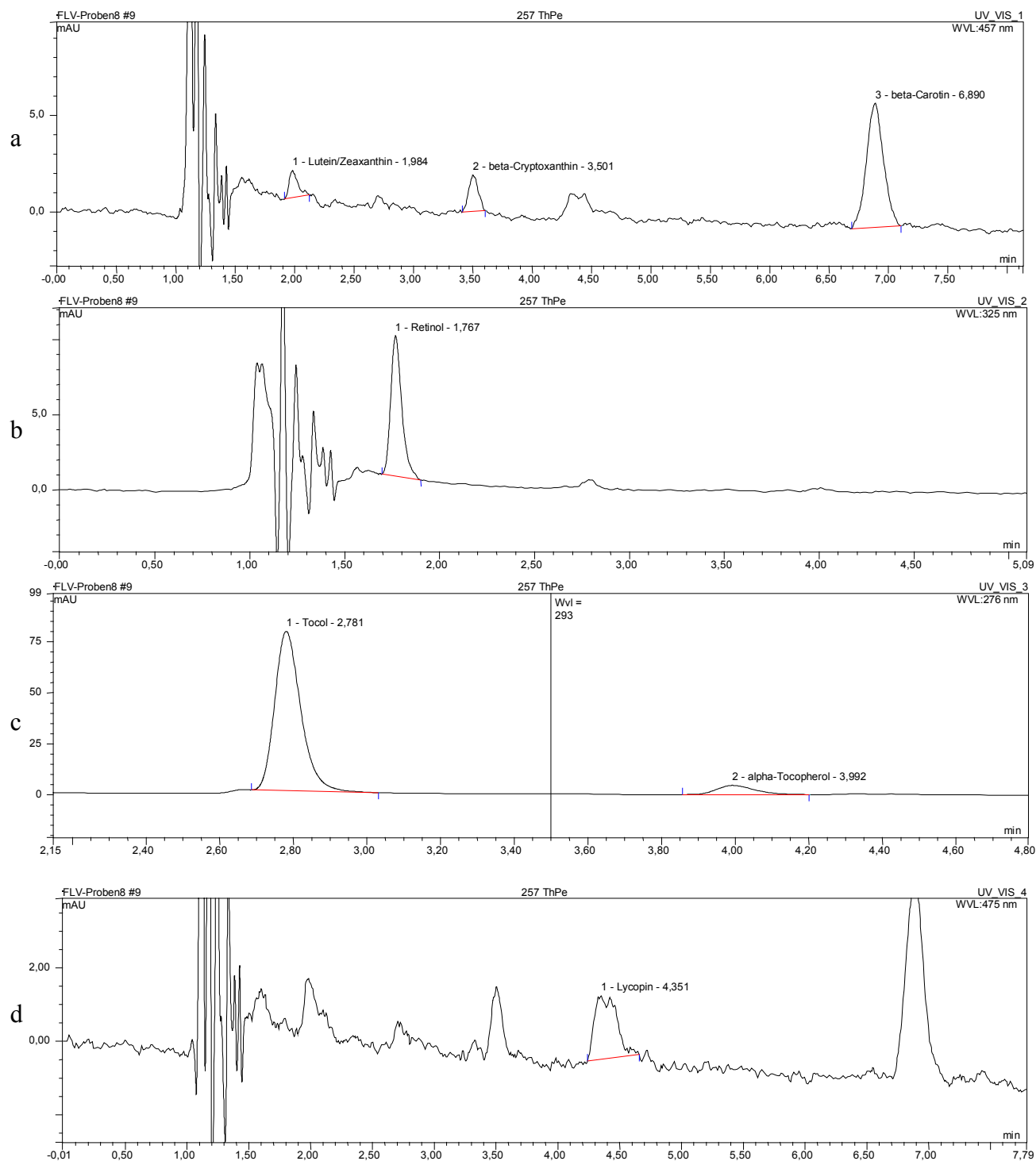


Abb. 2.2: Beispielchromatogramme Probandenplasma Bestimmung fettlöslicher Vitamine, Carotinoide, Xanthophylle. a: Lutein/Zeaxanthin, β -Cryptoxanthin, all-trans- β -Carotin, b: all-trans-Retinol, c: Tocol (interner Standard), α -Tocopherol, d: Lycopin

Auswertung:

Die Quantifizierung durch Vergleich von Peakflächen erfolgte mittels externen Standards, bei denen zusätzlich eine photometrische Konzentrationsbestimmung mit Hilfe der Extinktionskoeffizienten nach Craft (Craft et al. 1988) durchgeführt wurde:

	Absorptions- maximum [nm]	Extinktions- koeffizient ϵ [L mol ⁻¹ cm ⁻¹]
Retinol	325	1780
Lutein	452	2350
Zeaxanthin	452	2350
β -Cryptoxanthin	452	2370
α -Tocopherol	292	75,8
Lycopin	472	3450
β -Carotin	453	2590

Qualitätskontrolle:

Zur Qualitätskontrolle wurde jede 10. Probe ein mit dem NIST-Standard kalibriertes Poolplasma eingesetzt, das eine Mischung von Blutplasmen dreier Probanden darstellte. Bei der Probenaufarbeitung der Poolplasmen wurde genau so verfahren wie bei den Probandenproben.

n = 10	Mittelwert [mg/L]	SD [mg/L]	CV [%]
Retinol	0,176	0,014	7,9
Lutein+Zeaxanthin	0,0311	0,0029	9,3
β -Cryptoxanthin	0,0224	0,0025	11,2
α -Tocopherol	2,44	0,18	7,5
Lycopin	0,0222	0,0031	14,0
β -Carotin	0,246	0,030	12,0

Tab. 2.4: Intraday-Varianz der Konzentration fettlöslicher Vitamine, Carotinoide und Xanthophylle im Poolplasma (vgl. Kap. 2.3)

n = 6	Mittelwert [mg/L]	SD [mg/L]	CV [%]
Retinol	0,208	0,043	20,7
Lutein+Zeaxanthin	0,0346	0,0084	24,2
β -Cryptoxanthin	0,0262	0,0067	25,6
α -Tocopherol	2,79	0,49	17,5
Lycopin	0,0272	0,0121	44,5
β -Carotin	0,256	0,056	22,0

Tab. 2.5: Interday-Varianz der Konzentration fettlöslicher Vitamine, Carotinoide und Xanthophylle im Poolplasma (vgl. Kap. 2.3)

Nachweisgrenze:

Die Nachweisgrenze, d.h. die Konzentration, bei der die Peakhöhe weniger als das Dreifache des Signalrauschens beträgt, wurde wie folgt bestimmt:

all-trans-Retinol:	0,002 [mg/L]
Lutein:	0,01 [mg/L]
Zeaxanthin:	0,01 [mg/L]
β -Cryptoxanthin:	0,005 [mg/L]
α -Tocopherol:	0,1 [mg/L]
Lycopin:	0,01 [mg/L]

all-trans- β -Carotin: 0,02 [mg/L]

Wiederfindung:

„Aufstockungsversuch“: Poolplasma wurde mit definierten Konzentrationen der jeweiligen Standards versetzt. Die Wiederfindung [% $\pm$ SD] ergibt sich daraus zu:

all-trans-Retinol: 89,2 $\pm$ 6,6 %
Lutein+Zeaxanthin: 68,8 $\pm$ 4,1 %
 β -Cryptoxanthin: 84,8 $\pm$ 4,6 %
 α -Tocopherol: 88,4 $\pm$ 6,5 %
Lycopin: 52,4 $\pm$ 6,1 %
all-trans- β -Carotin: 71,6 $\pm$ 5,4 %

2.4.1.3 Bestimmung von Thiolen in Blutplasma

Chemikalien:

Methanol, HPLC-grade	Carl Roth, Karlsruhe
Essigsäure, p.a.	Merck, Darmstadt
Natriumacetat, p.a. (≥ 99 %)	Merck, Darmstadt
Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP), ≥ 98 %	Fluka, Buchs/Schweiz
Trichloressigsäure, p.a. ($\geq 99,5$ %)	Merck, Darmstadt
EDTA Natriumsalz (Titriplex III), p.a.	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid, p.a. (ca. 99 %)	Merck, Darmstadt
Borsäure, $\geq 99,9$ %	Roth, Karlsruhe
SBD-F (7-Fluorobenzofurazan-4-sulfonsäure Ammoniumsalz), p.a. (> 99 %)	Fluka, Buchs/Schweiz

Standards:

L-Cystein Hydrochlorid Monohydrat, ≥ 99 %	Fluka, Buchs/Schweiz
Homocystein, ca. 99 %	Fluka, Buchs/Schweiz
Cysteinylglycin, 90 %	Bachem, Heidelberg
Glutathion (reduziert), > 99 %	Merck, Darmstadt
Cystamin-Dihydrochlorid (interner Standard), ≥ 98 %	Fluka, Buchs/Schweiz

Lösungen:

- A. mobile Phase:
wässriger Acetatpuffer 0,1 mol/L mit 1 % Methanol, pH 4,0
(ca. 795 mL 0,1 mol/L Essigsäure + ca. 195 mL 0,1 mol/L Natriumacetat-Lösung + 10 mL Methanol, mit Essigsäure bzw. 10 mol/L Natronlauge pH genau eingestellt)
- B. Reduktionsreagenz mit internem Standard:
30 g/L TCEP und 2 mg/L Cystamin-Hydrochlorid (bidest. Wasser)
- C. Proteinfällungsreagenz:
90 g/L Trichloressigsäure und 0,37 g/L EDTA Natriumsalz (Titriplex III) (bidest. Wasser)
- D. Boratpuffer:
15 mL 0,52 mol/L Natronlauge

+ 60 mL 0,125 mol/L Boratpuffer pH 9,5 (7,73 g/L Borsäure, 1,49 g/L EDTA Natriumsalz (Titriplex III) in bidest. Wasser, pH 9,5 – mit 10 mol/L Natronlauge eingestellt)

E. Derivatisierungslösung:
1 mg/mL SBD-F in Boratpuffer pH 9,5 (siehe D)

F. Standards:

- Cystein:	Stammlösung 229,8 mg/L,	Mischstandard: 46,0 mg/L
- Homocystein:	Stammlösung 20,29 mg/L,	Mischstandard: 4,06 mg/L
- Cysteinylglycin:	Stammlösung 42,26 mg/L,	Mischstandard: 8,45 mg/L
- Glutathion:	Stammlösung 49,76 mg/L,	Mischstandard: 9,95 mg/L
- Cystamin-Dihydrochlorid:	Lösung B mit internem Standard: 2,06 mg/L	

(Interner Standard)

Geräte:

HPLC-Pumpe L-6200	Merck Hitachi, Darmstadt
HPLC-Autosampler SIL-6 B	Shimadzu, Duisburg
HPLC-Controller SCR-6 B	Shimadzu, Duisburg
Fluoreszenzdetektor RF 1002	GynkoteK, Germering
Wasserbad (temperierbar) Frigostat	Desaga, Heidelberg
HPLC-Auswertungssoftware Chromeleon Version 6.11	Dionex, Idstein
HPLC-Fertigsäule Prodigy ODS2 5µm, 150 x 3,2 mm	Phenomenex, Aschaffenburg
Vorsäule ODS2 5µm, 20 x 3,0 mm	CS Service, Langerwehe
Tischzentrifuge	Eppendorf, Hamburg
Trockenschrank	Memmert, Schwabach
Schüttler Vortex Genie 2	Scientific Industries, New York/USA
Messpipetten, Multipetten	Eppendorf, Hamburg
Grobwaage (± 10 mg) Modell 510-37	Kern, Albstadt
Feinwaage (± 0,01 mg) Modell MC 1	Sartorius, Göttingen

Verbrauchsmaterialien:

Reaktionsgefäße 1,5 mL	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Latexhandschuhe	Meditrade, Kiefersfelden
Microvials PP 0,3 mL mit Schnappiring (Art.-Nr. 5480120)	VWR, Darmstadt
Verschlusskappen für Microvials (Art.-Nr. 5480016)	VWR, Darmstadt

Chromatographische Bedingungen:

Fluss: 1,0 mL/min (isokratisch), Druck ca. 230 bar
 Injektionsvolumen: 20 µL
 Temperatur Autosampler: 5 °C
 Temperatur Säule: 20 °C
 Detektion: Fluoreszenz (Excitation 385 nm, Emission 515 nm)

Methode:

Die Bestimmung von Thiolen im Blutplasma wurde in Anlehnung an die Methode von Pfeiffer et al. (1999), Araki et al. (1987) und Garcia et al. (2002) durchgeführt. Nach der Reduktion der thiolischen Verbindungen durch Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP) wurden die Proteine mit Trichloressigsäure entfernt. Durch das Derivatisierungsreagenz SBD-F wurden die Thiole umgesetzt und die Fluoreszenz an der HPLC gemessen. Zur Kontrolle von Geräte- oder Aufarbeitungsfehlern wurde der interne Standard Cystamin-Dihydrochlorid eingesetzt.

Durchführung:

Zu den in 100 µL-Portionen vorliegenden nach Kapitel 2.3 gewonnenen Plasmaproben wurde je 100 µL Reduktionsreagenz TCEP (mit internem Standard) gegeben, intensiv geschüttelt und 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Im Anschluss daran wurden 200 µL Proteinfällungsreagenz (90 g/L Trichloressigsäure mit 0,37 g/L Titriplex III) hinzugefügt und mittels elektrischem Schüttler 5 Sekunden intensiv vermischt. Nach der Zentrifugation (4 Minuten bei 20000g, Temperatur: 4 °C) wurde genau 25 µL der darüber stehenden klaren Lösung abgenommen und in ein Microvial überführt. Per Multipette wurde 75 µL Boratpuffer und 25 µL Derivatisierungslösung (1 g/L SBD-F) zugegeben, mit einer Verschlusskappe dicht verschlossen und geschüttelt. Im Trockenschrank wurden die Proben 1 Stunde bei 60 °C ± 1 °C inkubiert, im Kühlschrank abgekühlt und nach maximal 24 Stunden Lagerung bei + 4 °C hochdruckflüssigchromatographisch analysiert. Unbedingt zu beachten war, dass die derivatisierten Proben nicht eingefroren werden durften. Bei einer Temperatur von 5 °C wurden je 20 µL auf die Säule aufgegeben, bei einem Fluss von 1,0 mL/min aufgetrennt und die Thiole durch einen Fluoreszenzdetektor bei der Anregungswellenlänge von 385 nm und einer Emissionswellenlänge von 515 nm detektiert. Regelmäßig alle zehnte Probe wurde ein Poolplasma eingesetzt. Abbildung 2.3 zeigt zwei Beispielchromatogramme eines Blutplasmas mit normalem und eines mit erhöhtem Homocysteinspiegel.

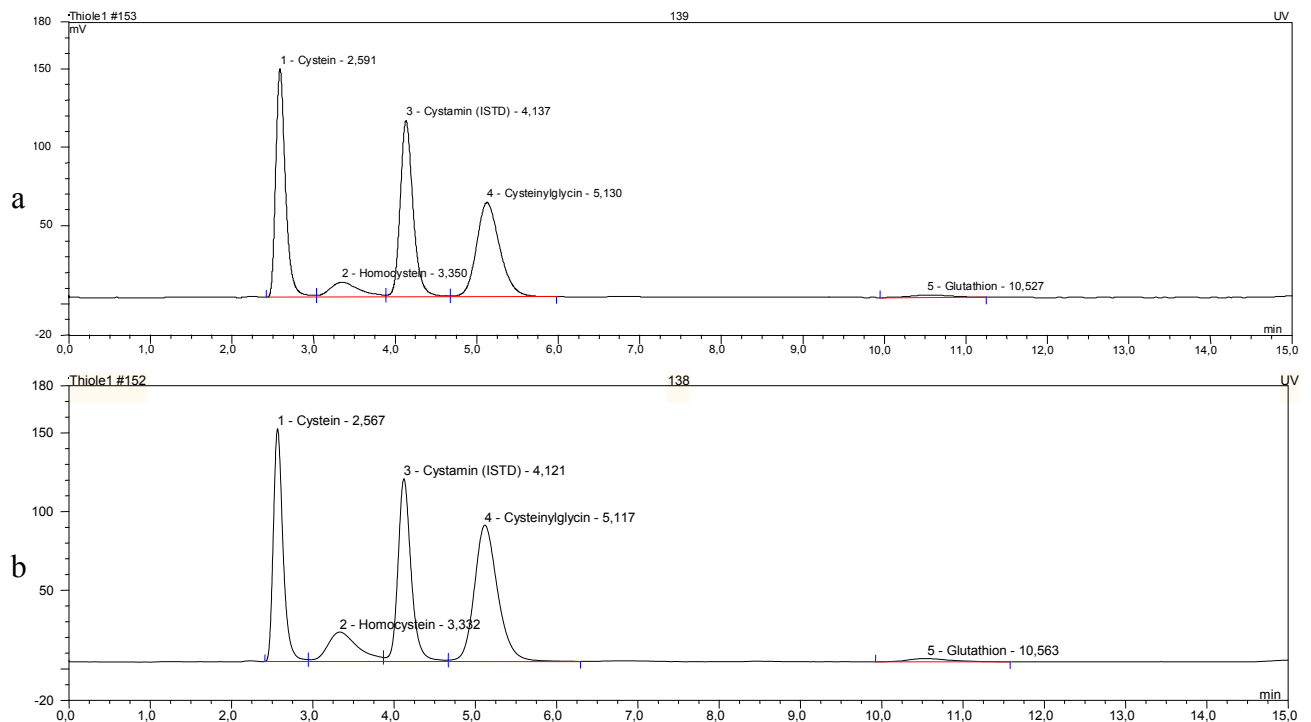


Abb. 2.3: Beispielchromatogramme Probandenplasma Thiole: a: normaler Homocysteinspiegel, b: erhöhter Homocysteinspiegel.

Retentionszeiten:

Cystein:	2,6 min
Homocystein:	3,3 min
Cysteinylglycin:	5,1 min
Glutathion:	10,6 min
Cystamin-Hydrochlorid:	4,1 min

Auswertung:

Die Quantifizierung durch Vergleich von Peakflächen erfolgte mittels externen Standards.

Qualitätskontrolle:

Zur Qualitätskontrolle wurde jede 10. Probe ein mittels externer Standards kalibriertes Poolplasma eingesetzt, das eine Mischung von Blutplasmen dreier Probanden darstellte (vgl. Kap. 2.3). Bei der Probenaufarbeitung der Poolplasmen wurde entsprechend verfahren wie bei den Probandenproben.

n = 10	Mittelwert [mg/L]	SD [mg/L]	CV [%]
Cystein	60,2	3,1	5,1
Homocystein	1,539	0,160	10,4
Cysteinylglycin	9,61	0,49	5,1
Glutathion	12,70	0,95	7,5

Tab. 2.6: Intraday-Varianz der Konzentration von Thiolen im Poolplasma (vgl. 2.3)

n = 8	Mittelwert [mg/L]	SD [mg/L]	CV [%]
Cystein	59,5	5,2	8,7
Homocystein	1,525	0,222	14,6
Cysteinylglycin	9,71	0,66	6,8
Glutathion	12,41	1,80	14,5

Tab. 2.7: Interday-Varianz der Konzentration von Thiolen im Poolplasma (vgl. 2.3)

Nachweisgrenze:

Die Nachweisgrenze, d.h. die Konzentration, bei der die Peakhöhe weniger als das Dreifache des Signalrauschens beträgt, wurde wie folgt bestimmt:

Cystein:	0,05 [mg/L]
Homocystein:	0,05 [mg/L]
Cysteinylglycin:	0,05 [mg/L]
Glutathion:	0,1 [mg/L]

Wiederfindung:

Poolplasma wurde mit definierten Konzentrationen der Standards versetzt („aufgestuckt“).

Die Wiederfindung (in % $\pm$ SD) wurde errechnet zu

Cystein:	98,2 $\pm$ 2,8 %
Homocystein:	93,7 $\pm$ 8,4 %
Cysteinylglycin:	96,6 $\pm$ 4,0 %
Glutathion:	92,2 $\pm$ 10,0 %

2.4.2 Messung der Enzymaktivität zur Bestimmung des Vitaminstatus

2.4.2.1 Bestimmung des Thiaminstatus über die Transketolaseaktivität (EC-Nummer 2.2.1.1) im Erythrozyten

Chemikalien:

Natriumchlorid NaCl, $\geq 99,5\%$	Roth, Karlsruhe
Coccarboxylase Tetrahydrat, 99 % (enzym.)	Sigma-Aldrich, Steinheim
D-Ribose-5-phosphat Dinatriumsalz Dihydrat 98-100 %	Sigma-Aldrich, Steinheim
Magnesiumsulfat Heptahydrat, $> 99,5\%$	Merck, Darmstadt
Glycerol-3-phosphat-dehydrogenase (GDH) / Triose-phosphat-isomerase (TIM) Suspension in 2,4 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung, pH 6 7,4 mg Protein/mL (Biuret); 141 U α -GDH /mg Protein, 1120 U TIM /mg Protein	Sigma-Aldrich, Steinheim
NADH Dinatriumsalz	Roche, Mannheim
Saponin	Sigma-Aldrich, Steinheim
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS)	Roth, Karlsruhe

Referenzstandard:

Transketolase (EC-Nummer 2.2.1.1) von E. coli (Fluka, Buchs/Schweiz):
ca. 0,5 U/mg ($T = 25^\circ\text{C}$)

Der Referenzstandard wurde bei -18°C gelagert.

Zum Zeitpunkt der Probenmessungen gab es bei der Transketolase Lieferschwierigkeiten, so dass ein Referenzstandard nicht eingesetzt werden konnte. Als Qualitätskontrolle wurde Poolplasma verwendet.

Lösungen:

- A. isotonischer PBS-Puffer: 9 g/L Natriumchlorid NaCl, 0,27 g/L Kaliumdihydrogenphosphat, 1,43 g/L Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat in H_2O bidest., pH 7,4 (25°C), siehe 2.3
- B. Natriumchloridlösung: 9 g/L Natriumchlorid NaCl in H_2O bidest.
- C. Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Puffer (TRIS-Puffer): 0,1 mol/L (= 12,11 g/L) in H_2O bidest., pH 7,5 (25°C), mit 1 mol/L HCl eingestellt[^]. Die TRIS-Pufferlösung war im Kühlschrank mindestens 2 Wochen haltbar.
- D. TPP-Lösung 613 $\mu\text{mol/L}$: 2,83 g/L Coccarboxylase Tetrahydrat (TPP) in TRIS-Puffer (s.o.) Die Haltbarkeit bei $+5^\circ\text{C}$ betrug mindestens 1 Woche.
- E. NADH-Lösung 764 $\mu\text{mol/L}$: 5,42 g/L NADH Dinatriumsalz (NADH) in TRIS-Puffer (s.o.) Die Haltbarkeit bei $+5^\circ\text{C}$ betrug mindestens 1 Woche.
- F. Ribose-5-phosphat-Lösung 4,84 mmol/L (mit 5 mmol/L Mg^{2+}) : 1,50 g/L Ribose-5-phosphat Dinatriumsalz Dihydrat und 1,232 g/L Magnesiumsulfat Heptahydrat in TRIS-Puffer (s.o.) Die Haltbarkeit bei $+5^\circ\text{C}$ betrug mindestens 1 Woche.
- G. Saponin-Lösung 3,7 g/L: 3,7 g/L Saponin in TRIS-Puffer (s.o.) Die Haltbarkeit bei $+5^\circ\text{C}$ betrug mindestens 1 Woche.

Cary 1 Bio Spektralphotometer	Varian, Darmstadt
Software Varian Kinetics 3.00	Varian, Darmstadt
Thermostat Eppendorf 2761	Eppendorf, Hamburg
Küvettenthermometer	
pH-Meter 70	Beckmann Coulter, Krefeld
Kolbenhubpipetten, Multipetten	Eppendorf, Hamburg
Schüttler Vortex Genie 2	Scientific Industries, New York/USA
Grobwaage (± 10 mg) Modell 510-37	Kern, Albstadt
Feinwaage ($\pm 0,01$ mg) Modell MC 1	Sartorius, Göttingen

Küvetten aus Polystyrol	Roth, Karlsruhe
Reaktionsgefäße 1,5 mL	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Latexhandschuhe	Meditrade, Kiefersfelden

Die Bestimmung der Transketolaseaktivität erfolgte durch eine leicht modifizierte Methode nach Bayoumi (Bayoumi et al. 1976). Ribose-5-phosphat und Xylulose-5-phosphat, das durch Epimerisierung aus Ribose-5-phosphat entsteht, wird durch die von Thiaminpyrophosphat und Mg^{2+} -Ionen abhängige Transketolase in Seduheptulose-7-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat umgesetzt. Durch die zugesetzte Triose-phosphat-Isomerase (EC-Nummer 5.3.1.1) wird Glycerinaldehyd-3-phosphat zu Dihydroxyaceton-phosphat isomerisiert, das mit NADH als Cosubstrat durch Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.8) zu sn-Glycerol-3-phosphat und NAD^+ umgesetzt wird. Die Oxidation von NADH zu NAD^+ führt zu einer Abnahme der Extinktion bei 340 nm, die photometrisch gemessen wurde.

$$\begin{array}{lcl}
 \text{Ribose-5-phosphat} & \xleftarrow{\text{Ribulose-5-phosphat-Isomerase}} & \text{Ribulose-5-phosphat} \\
 \text{Ribulose-5-phosphat} & \xleftarrow{\text{Ribulose-5-phosphat-Epimerase}} & \text{Xylulose-5-phosphat} \\
 \text{Ribose-5-phosphat} + \text{Xylulose-5-phosphat} & \xleftarrow{\text{Transketolase}} & \text{Seduheptulose-7-phosphat} \\
 & & + \text{Glycerinaldehyd-3-phosphat} \\
 \text{Glycerinaldehyd-3-phosphat} & \xleftarrow{\text{Triose-phosphat-Isomerase}} & \text{Dihydroxyaceton-phosphat} \\
 \text{Dihydroxyaceton-phosphat} & \xleftarrow{\text{Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase}} & \text{sn-Glycerol-3-phosphat} \\
 + \text{NADH} + \text{H}^+ & & + \text{NAD}^+
 \end{array}$$

38

unspezifische Enzymreaktionen zu berücksichtigen, wurde im sog. Vorlauf die Änderung der Extinktion bei 340 nm gemessen und vom Hauptlauf abgezogen.

Durchführung:

1. Gewinnung des Hämolysats:

Die bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagerten, isolierten Erythrozyten wurden aufgetaut und 45 Volumenteile in 55 Volumenteilen 0,9 %iger Natriumchloridlösung suspendiert. 200 μL dieser Erythrozytensuspension wurden mit 850 μL bidest. H_2O versetzt, wodurch die Erythrozyten lysierten („Hämolysat“).

2. Vorlauf:

Die Temperatur im Photometer wurde regelmäßig – mindestens dreimal täglich – gemessen und sollte vor Beginn der Messung im Bereich $37,0 \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ liegen.

30 μL Hämolysat wurden mit 700 μL Ribose-5-phosphat-Lösung, 50 μL TPP-Lösung bzw. 50 μL TRIS-Puffer versetzt, gut vermischt und 10 Minuten bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubiert. Anschließend wurde die Extinktion bei 340 nm 10 Minuten bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ gegen Luft gemessen.

4. Hauptlauf:

Durch Zugabe von 10 μL GDH/TIM-Suspension (1:10-Verdünnung) wurde die Reaktion gestartet und nach einer Wartezeit von 10 Minuten für 20 Minuten die Extinktion bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ bei der Wellenlänge 340 nm gegen Luft gemessen.

Auswertung:

Mit Hilfe der Kinetics-Software 3.00 von Varian wurde sowohl beim Vorlauf als auch beim Hauptlauf die Extinktionsabnahme pro Zeiteinheit über den gesamten Messzeitraum von 0 bis 20 Minuten bestimmt.

Berechnung der Enzymaktivität EA von Vollblut:

Aus der Extinktionsabnahme ΔE , dem molaren Extinktionskoeffizienten ϵ von NADH ($6,3\text{ cm}^2/\mu\text{mol}$ bei 340 nm), der Schichtdicke der Küvetten d (1 cm) und des Verdünnungsfaktors des Blutes (bei einem angenommenen Hämatokrit von 0,45: Vorlauf: $\text{VF} = 106,25$, Hauptlauf: $\text{VF} = 107,67$) lässt sich die Enzymaktivität EA (in U/mL Vollblut) wie folgt berechnen:

$$\text{EA}_{\text{Vorlauf}} = \frac{\Delta E / \text{min} * \text{VF}}{d * \epsilon} = \Delta E / \text{min} * 16,87$$

$$\text{EA}_{\text{Hauptlauf}} = \frac{\Delta E / \text{min} * \text{VF}}{d * \epsilon} = \Delta E / \text{min} * 17,09$$

Berechnung des Aktivitätskoeffizienten AK:

$$\text{AK} = \frac{\text{EA}_{\text{Hauptlauf mit TPP}} - \text{EA}_{\text{Vorlauf mit TPP}}}{\text{EA}_{\text{Hauptlauf ohne TPP}} - \text{EA}_{\text{Vorlauf ohne TPP}}}$$

Qualitätskontrolle:

Statt des vorgesehenen Einsatzes eines Referenzstandards zu Beginn einer Messreihe wurde mindestens bei jeder zehnten Messung gepoolte Erythrozyten (von drei gesunden, männlichen Personen, vgl. Kap. 2.3) eingesetzt und so verfahren wie bei der Bestimmung der Proben oben bereits beschrieben. Wurden dabei die bei einer 12fach-Bestimmung ermittelte Standardabweichung um das Doppelte überschritten, so wurde die Messreihe wiederholt.

n = 12	Mittelwert [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
EA Vorlauf ohne Aktivierung mit Aktivierung	0,057 0,092	0,106 0,076	186 82,4
EA Hauptlauf ohne Aktivierung mit Aktivierung	0,747 0,800	0,118 0,078	15,8 9,7
Aktivitätskoeffizient	1,079	0,150	13,9

Tab. 2.8: Intraday-Varianz der Enzymaktivität und des Aktivitätskoeffizienten der Transketolase in gepoolten Erythrozyten (vgl. 2.3)

n = 12	Mittelwert [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
EA Vorlauf ohne Aktivierung mit Aktivierung	0,090 0,084	0,087 0,107	96,7 127
EA Hauptlauf ohne Aktivierung mit Aktivierung	0,0590 0,0645	0,247 0,255	41,9 39,5
Aktivitätskoeffizient	1,085	0,182	16,7

Tab. 2.9: Interday-Varianz der Enzymaktivität und des Aktivitätskoeffizienten der Transketolase in gepoolten Erythrozyten (vgl. 2.3)

2.4.2.2 Bestimmung des Riboflavinstatus über die Glutathionreduktaseaktivität (E.C.1.6.4.2.) im Erythrozyten (EGRAC = erythrocyte glutathione reductase activation coefficient)

Chemikalien:

Natriumchlorid NaCl, $\geq 99,5\%$	Roth, Karlsruhe
Flavin-adenin-dinucleotid (FAD), di-Natriumsalz	Fluka, Buchs/Schweiz
Glutathion, oxidierte Form (GSSG)	Boehringer Mannheim
NADPH, tetra-Natriumsalz	Roche diagnostics, Mannheim
Dikaliumhydrogenphosphat K_2HPO_4	Merck, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat KH_2PO_4	Merck, Darmstadt
Natriumcarbonat Na_2CO_3	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid NaOH	Merck, Darmstadt
Titriplex-III, di-Natriumsalz	Merck, Darmstadt

Lösungen:

- A. isotonischer PBS-Puffer:
 9 g/L Natriumchlorid NaCl, 0,27 g/L Kaliumdihydrogenphosphat, 1,43 g/L
 Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat in H_2O bidest., pH 7,4 (25 °C), siehe Kap. 2.3

- B. FAD-Lösung: 0,246 mmol/L in aqua bidest.
- C. GSSG-Lösung: 47,34 mmol/L in NaOH-Lösung (2 g/L aqua bidest.)
- D. Titriplex-III-Lösung: 75,7 mmol/L in aqua bidest.
- E. Kaliumphosphatpuffer: 0,1 mol/L pH 7,4
Vorgelegt wurde eine 0,1 M K₂HPO₄-Lösung (alkalisch) und durch Zumischen einer 0,1 M KH₂PO₄-Lösung (sauer) ein pH von 7,4 eingestellt. Dieser Lösung wurden 3 % Titriplex-III-Lösung zugesetzt.
- F. Na₂CO₃-Lösung: 10 g/L in aqua bidest.
- G. NADPH-Lösung: 7,4 mM/L in Na₂CO₃-Lösung.

Geräte:

Cary 1 Bio Spektralphotometer	Varian, Darmstadt
Software Varian Kinetics 3.00	Varian, Darmstadt
Thermostat Eppendorf 2761 mit Thermometer	Eppendorf, Hamburg
Küvettenthermometer	
pH-Meter 70	Beckmann Coulter, Krefeld
Kolbenhubpipetten, Multipetten	Eppendorf, Hamburg
Schüttler Vortex Genie 2	Scientific Industries, New York/USA
Grobwaage (± 10 mg) Modell 510-37	Kern, Albstadt
Feinwaage (± 0,01 mg) Modell MC 1	Sartorius, Göttingen

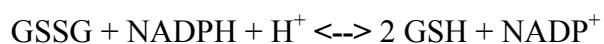
Verbrauchsmaterialien:

Küvetten aus Polystyrol	Roth, Karlsruhe
Reaktionsgefäße 1,5 mL	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Latexhandschuhe	Meditrade, Kiefersfelden

Methode:

Riboflavin (Vitamin B₂) ist der elektronenübertragende Teil der Coenzyme Flavin-mono-nucleotid (FMN) und Flavin-adenin-dinucleotid (FAD). Glutathionreduktase besitzt als prosthetische Gruppe ein Molekül Flavin-adenin-dinucleotid (FAD) pro Untereinheit.

Mit Hilfe des reduzierten Pyridinnukleotids NADPH reduziert FAD oxidiertes Glutathion (GSSG) zu Glutathion (GSH):



Bei Riboflavinmangel können Erythrozyten und andere Zellen nicht genügend FAD als prosthetische Gruppe der Flavoproteine synthetisieren. Davon ist auch das Flavoenzym Glutathionreduktase betroffen. Hierauf beruht der sogenannte EGRAC-Test (erythrocyte glutathione reductase activation coefficient). Bei diesem Test werden im Hämolystat die Aktivitäten der Glutathionreduktase mit und ohne FAD-Zusatz bestimmt. Der Quotient aus beiden Aktivitäten ist ein Maß für einen bestehenden Riboflavinmangel.

Durchführung:

Die Bestimmung des EGRAC (erythrocyte glutathione reductase activation coefficient) erfolgte entsprechend der Methode von Bayoumi (Bayoumi et al. 1976), die einer Anpassung unterzogen wurde.

(1) Gewinnung des Hämolysats:

Die bei - 80 °C gelagerten Erythrozyten wurden aufgetaut und 45 Volumenteile in 55 Volumenteilen 0,9 %iger Natriumchloridlösung suspendiert. 200 µL dieser Erythrozyten-suspension wurden mit 850 µL bidest. H₂O versetzt, wodurch die Erythrozyten lysierten („Hämolysat“).

(2) Präinkubation:

Die Temperatur im Photometer wurde regelmäßig – mindestens dreimal täglich – gemessen und sollte vor Beginn der Messung im Bereich $37,0 \pm 0,4$ °C liegen. Pro Einmalküvette wurden je 600 µL Phosphatpuffer mit 50 µL Erythrozytensuspension sowie 50 µL FAD-Lösung (mit Aktivierung) oder 50 µL aqua bidest. (ohne Aktivierung) versetzt und mit einem Rührspatel gut vermischt. Die Mischung wurde im Photometer 30 Min. bei 37 °C inkubiert.

(3) Enzymreaktion:

Im Anschluss daran wurde durch die Zugabe von 30 µL NADPH-Lösung die Enzymreaktion gestartet und die Extinktion 20 Min. bei 37 °C und 340 nm im Photometer alle 15 Sekunden gemessen.

Auswertung:

Zur Auswertung wurde die Kinetics-Software 3.00 des Varian-Photometers herangezogen, bei der die Extinktionsabnahme pro Zeiteinheit bestimmt wurde. Zur Ermittlung des EGRAC wurde der Quotient $\Delta E/t$ zwischen 5 und 15 min ausgewertet.

Berechnung der Enzymaktivität EA von Vollblut:

Aus der Extinktionsabnahme ΔE , dem molaren Extinktionskoeffizienten ϵ von NADPH ($3,5\text{cm}^2/\mu\text{mol}$ bei 340 nm), der Schichtdicke der Küvetten d (1 cm) und des Verdünnungsfaktors des Blutes (bei einem angenommenen Hämatokrit von 0,45: $VF = 41,25$) lässt sich die Enzymaktivität EA (in U/mL Vollblut) wie folgt berechnen:

$$EA = \frac{\Delta E / \text{min} * VF}{d * \epsilon} = \Delta E / \text{min} * 11,8$$

Berechnung des Aktivitätskoeffizienten AK:

$$AK = \frac{EA_{\text{mit FAD}}}{EA_{\text{ohne FAD}}}$$

Qualitätskontrolle:

Als Qualitätskontrolle wurden gepoolte Erythrozytenproben eingesetzt, die zu Beginn jeder Messreihe in einer Doppeltbestimmung gemessen wurden (Interday-Varianz). Zusätzlich wurden dieselben Poolproben 18 mal in Folge bestimmt (Intraday-Varianz). Die Standardabweichung lag bei den Messungen nur in Ausnahmefällen mehr als 5 % des Mittelwerts der beiden Messwerte. Die Probenmessungen erfolgten als Doppeltbestimmungen.

n = 18	Mittelwert [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Aktivitätskoeffizient	1,271	0,0407	3,21

Tab. 2.10: Intraday-Varianz des Aktivitätskoeffizienten der Glutathionreduktase in in gepoolten Erythrozyten (vgl. Kap. 2.3)

n = 12	Mittelwert [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Aktivitätskoeffizient	1,243	0,0426	3,43

Tab. 2.11: Interday-Varianz des Aktivitätskoeffizienten der Glutathionreduktase in in gepoolten Erythrozyten (vgl. 2.3)

2.4.2.3 Bestimmung des Pyridoxalstatus über die Aktivität der Aspartataminotransferase (AST, ASAT, GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, EC-Nummer 2.6.1.1) im Erythrozyten

Chemikalien:

Natriumchlorid NaCl, $\geq 99,5\%$	Roth, Karlsruhe
L-Asparaginsäure Mononatriumsalz, 99 % (enzym.)	Merck, Darmstadt
L-Malatdehydrogenase (L-MDH, EC 1.1.1.37): Suspension	Roche, Mannheim
NADH Dinatriumsalz	Roche, Mannheim
2-Oxoglutarat Dinatriumsalz Dihydrat	Roche, Mannheim
Pyridoxal-5-phosphat Monohydrat, $> 98\%$	Sigma-Aldrich, Steinheim
Tris(hydroxymethyl)aminomethan $> 99,9\%$	Roth, Karlsruhe
Salzsäure konz., p.a.	Merck, Darmstadt

Referenzstandard:

Universal-Kontrollserum Precinorm U (Roche Diagnostics, Mannheim)
 AST (ASAT / GOT = Aspartataminotransferase): $T = 37\text{ °C}$
 ohne Pyridoxalphosphat: 37,6 U/L (Bereich: 29,8 – 45,4 U/L)
 mit Pyridoxalphosphat, ohne Leerwert: 47,7 U/L (Bereich: 37,8 – 57,6 U/L)
 Das Kontrollserum Precinorm U wurde bei -18 °C gelagert.

Lösungen:

- A. isotonischer PBS-Puffer:
 9 g/L Natriumchlorid NaCl, 0,27 g/L Kaliumdihydrogenphosphat, 1,43 g/L Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat in H_2O bidest., pH 7,4 (25 °C), siehe 2.3
- B. Natriumchloridlösung:
 9 g/L Natriumchlorid NaCl in H_2O bidest.
- C. Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Puffer (TRIS-Puffer):
 0,1 mol/L (= 12,11 g/L) TRIS in H_2O bidest., pH 7,5 (25 °C), mit 1 mol/L HCl eingestellt
 Die TRIS-Pufferlösung war im Kühlschrank mindestens zwei Wochen haltbar.
- D. AST-Substratmischung in TRIS-Puffer:
 L-Asparaginsäure Mononatriumsalz 217,5 mmol/L (= 37,65 g/L), NADH Dinatriumsalz 0,141 mmol/L (= 100 mg/L), L-Malatdehydrogenase-Suspension 1 $\mu\text{L/mL}$
 Die AST-Substratmischung wurde täglich frisch hergestellt, während die AST-Substratmischung ohne NADH und ohne L-MDH-Suspension im Kühlschrank mindestens eine Woche lang haltbar war.
- E. 2-Oxoglutarat-Lösung (α -Ketoglutarat-Lösung):
 422 mmol/L (= 61,65 g/L) 2-Oxoglutarat (α -Ketoglutarat) in TRIS-Puffer (s.o.)

Die Haltbarkeit bei +2 bis +10 °C betrug mindestens eine Woche.

F. Pyridoxal-5-phosphat-Lösung:

1,056 mmol/L (= 260,9 mg/L) Pyridoxal-5-phosphat in H₂O bidest.

Diese Lösung wurde wöchentlich frisch hergestellt und lichtgeschützt im Kühlschrank aufbewahrt.

Geräte:

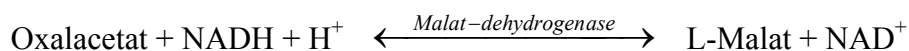
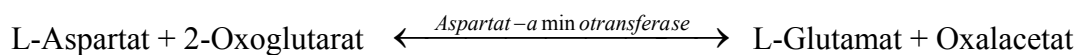
Cary 1 Bio Spektralphotometer	Varian, Darmstadt
Software Varian Kinetics 3.00	Varian, Darmstadt
Thermostat Eppendorf 2761 mit Thermometer	Eppendorf, Hamburg
Küvettenthermometer	
pH-Meter 70	Beckmann Coulter, Krefeld
Kolbenhubpipetten, Multipetten	Eppendorf, Hamburg
Schüttler Vortex Genie 2	Scientific Industries, New York/USA
Grobwaage (± 10 mg) Modell 510-37	Kern, Albstadt
Feinwaage (± 0,01 mg) Modell MC 1	Sartorius, Göttingen

Verbrauchsmaterialien:

Küvetten aus Polystyrol	Roth, Karlsruhe
Reaktionsgefäße 1,5 mL	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Latexhandschuhe	Meditrade, Kiefersfelden

Methode:

Die Bestimmung der Aktivität der Aspartataminotransferase erfolgte durch eine leicht modifizierte Methode nach Bayoumi et al. (1975). Der Reaktionsverlauf ist in folgender Abbildung dargestellt:



Pyridoxalphosphat (PLP) wirkt als Coenzym der Aspartat-aminotransferase (GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase), die bei der Transaminierung der Aminogruppe von L-Aspartat auf 2-Oxoglutarat (α -Ketoglutarat) beteiligt ist. Dabei entsteht L-Glutamat und Oxalacetat, welches mit NADH als Cosubstrat katalysiert durch L-Malatdehydrogenase zu L-Malat reduziert wird. Die Oxidation von NADH zu NAD⁺ führt zu einer Abnahme der Extinktion bei 340 nm, die photometrisch erfasst wurde.

Durch Zugabe von Pyridoxalphosphat im Überschuss wird die Aspartat-aminotransferase mit Coenzym abgesättigt und erreicht damit die höchstmögliche Enzymaktivität. Zur Bestimmung des Vitamin B₆-Status wurden vier Messungen durchgeführt: der optimale Zustand („mit Aktivierung“) – erreicht durch Zusatz von Pyridoxalphosphat – wurde ins Verhältnis gesetzt zum tatsächlichen Zustand („ohne Aktivierung“). Um unspezifische Enzymreaktionen zu berücksichtigen, wurde im sog. Vorlauf die Änderung der Extinktion bei 340 nm gemessen und vom Hauptlauf abgezogen.

Durchführung:

1. Gewinnung des Hämolyсата:

Die bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagerten Erythrozyten wurden aufgetaut und 45 Volumenteile in 55 Volumenteilen 0,9 %iger Natriumchloridlösung suspendiert. 200 μL dieser Erythrozytensuspension wurden mit 850 μL bidest. H_2O versetzt, wodurch die Erythrozyten lysierten („Hämolysat“).

2. Präinkubation:

50 μL Hämolysat wurden mit 307 μL Pyridoxal-5-phosphat-Lösung bzw. 307 μL bidest. H_2O versetzt und 30 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur präinkubiert.

3. Vorlauf:

Die Temperatur im Photometer wurde regelmäßig – mindestens dreimal täglich – gemessen und sollte vor Beginn der Messung im Bereich $37,0 \pm 0,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ liegen.

Jeweils 75 μL präinkubiertes Hämolysat wurde mit 750 μL AST-Substratmischung gründlich vermischt und im Photometer 10 Minuten bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubiert. Anschließend wurde die Extinktion bei 340 nm 10 Minuten bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ gegen Luft gemessen.

4. Hauptlauf:

Durch Zugabe von 50 μL 2-Oxoglutarat-Lösung wurde die Reaktion gestartet und für 10 Minuten die Extinktion bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ bei der Wellenlänge 340 nm gegen Luft gemessen.

Auswertung:

Mit Hilfe der Kinetics-Software 3.00 von Varian wurde sowohl beim Vor- als auch beim Hauptlauf die Extinktionsabnahme pro Zeiteinheit über den gesamten Messzeitraum von 0 bis 10 Minuten bestimmt.

Berechnung der Enzymaktivität EA von Vollblut:

Aus der Extinktionsabnahme ΔE , dem molaren Extinktionskoeffizienten ϵ von NADH ($6,3\text{ cm}^2/\mu\text{mol}$ bei 340 nm), der Schichtdicke der Küvetten d (1 cm) und des Verdünnungsfaktors des Blutes (bei einem angenommenen Hämatokrit von 0,45: Vorlauf: $\text{VF} = 916,7$, Hauptlauf: $\text{VF} = 972,2$) lässt sich die Enzymaktivität EA (in U/mL Vollblut) wie folgt berechnen:

$$\text{EA}_{\text{Vorlauf}} = \frac{\Delta E / \text{min} * \text{VF}}{d * \epsilon} = \Delta E / \text{min} * 145,5$$

$$\text{EA}_{\text{Hauptlauf}} = \frac{\Delta E / \text{min} * \text{VF}}{d * \epsilon} = \Delta E / \text{min} * 154,3$$

Berechnung des Aktivitätskoeffizienten AK:

$$\text{AK} = \frac{\text{EA}_{\text{Hauptlauf mit PLP}} - \text{EA}_{\text{Vorlauf mit PLP}}}{\text{EA}_{\text{Hauptlauf ohne PLP}} - \text{EA}_{\text{Vorlauf ohne PLP}}}$$

Qualitätskontrolle:

Zu Beginn einer Messreihe wurde mindestens einmal täglich das Universal-Kontrollserum Precinorm U (Roche Diagnostics, Mannheim) in einer Doppeltbestimmung gemessen. Dabei wurde bei den Verdünnungen wie folgt verfahren:

Precinorm U ohne Aktivierung: 50 µL Precinorm U + 50 µL bidest. H₂O

Precinorm U mit Aktivierung: 50 µL Precinorm U + 50 µL Pyridoxal-5-phosphat-Lösung

Bei der sich anschließenden Präinkubation wurden die Lösungen 30 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur stehen gelassen.

Danach wurde weiter verfahren wie unter Punkt 3 und 4 (Vorlauf, Hauptlauf) beschrieben.

Bei der Berechnung musste ein Verdünnungsfaktor von 2 berücksichtigt werden. Sollten die unter Referenzstandard angegebenen Messbereiche nicht eingehalten werden, so wurde die Messung mit neuem Precinorm U-Kontrollserum wiederholt.

n = 12	Mittelwert [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
EA Vorlauf ohne Aktivierung	0,0015	0,0007	49,3
mit Aktivierung	0,0018	0,0014	79,9
EA Hauptlauf ohne Aktivierung	0,0375	0,0040	10,5
mit Aktivierung	0,0490	0,0048	9,8
Aktivitätskoeffizient	1,271	0,057	4,5

Tab. 2.12: Intraday-Varianz der Enzymaktivität und des Aktivitätskoeffizienten der Aspartataminotransferase im Precinorm U-Kontrollserum

n = 12	Mittelwert [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
EA Vorlauf ohne Aktivierung	0,0014	0,0013	97,1
mit Aktivierung	0,0016	0,0025	153
EA Hauptlauf ohne Aktivierung	0,0403	0,0034	8,5
mit Aktivierung	0,0504	0,0053	10,6
Aktivitätskoeffizient	1,246	0,081	6,5

Tab. 2.13: Interday-Varianz der Enzymaktivität und des Aktivitätskoeffizienten der Aspartataminotransferase im Precinorm U-Kontrollserum

2.4.3 Analytik der Lipoproteine im Blutplasma

2.4.3.1 Auftrennung des Plasmalipide in einzelne Lipoproteinfraktionen mittels sequentieller Ultrazentrifugation

Chemikalien:

Natriumchlorid NaCl, reinst

Merck, Darmstadt

Natriumbromid NaBr

Merck, Darmstadt

Natriumazid NaN₃

Merck, Darmstadt

Titriplex III (EDTA)

Merck, Darmstadt

Lösungen:

A. Lösung I der Dichte 1,0063 kg/L (0,196 mol/L NaCl)
11,45 g Natriumchlorid, 0,5 g Natriumazid und 100 mg EDTA wurden mit 1000 mL bidest. Wasser versetzt. Durch Zugabe von Natriumbromid wurden die Dichten der folgenden Lösungen eingestellt.

B. Lösung I a der Dichte 1,0443 kg/L
5,04 g Natriumbromid wurden in 101,21 g der Lösung I gelöst.

C. Lösung I b der Dichte 1,1468 kg/L
19,8 g Natriumbromid wurden in 101,21 g der Lösung I gelöst.

D. Lösung II der Dichte 1,4699 kg/L
779,03 g Natriumbromid wurden in 1000 g Lösung I gelöst.

Die Dichte errechnete sich nach folgender Formel:

$$D_3 = \frac{V_1 * D_1 + V_2 * D_2}{(V_1 + V_2)}$$

D_3 gesuchte Dichte [kg/L]

D_1, D_2 Dichten der Lösungen 1 und 2 [kg/L]

V_1, V_2 Volumina der Lösungen 1 und 2 [L]

Die Menge an Kaliumbromid, die in fester Form zugegeben wird, um eine bestimmte Dichte einzustellen, errechnete sich nach folgender Formel:

$$X = \frac{V_0 * (D_1 - D_0)}{1 - V * D_1}$$

X Salzmenge, die zugegeben werden muss [g]

V_0 Ausgangsvolumen [L]

D_1 einzustellende Dichte [g/L]

D_0 Ausgangsdichte [g/L]

V partielles spezifisches Volumen [L]

Verbrauchsmaterialien:

EDTA Monovetten (9 mL)

Sarstedt, Nümbrecht

Dialysesschläuche Spectrapor 4,

15,9 mm Durchmesser, MG 12 – 14 kD

Serva Electrophoresis, Heidelberg

Wägebapier MN 226

Macherey-Nagel, Düren

UZ-Röhrchen aus Polycarbonat (10 mL)

Beckmann Coulter, Krefeld

Glaspipetten

Geräte:

Zentrifuge

Hettich, Tuttlingen

Präparative Ultrazentrifuge LE 80 K

Beckmann Coulter, Krefeld

Festwinkelrotor 50 Ti (12 Positionen)

Beckmann Coulter, Krefeld

Methode:

Ausgehend von Blutplasma wurden die Lipoproteine zuerst mittels sequentieller Ultrazentrifugation nach der Methode von Havel et al. (1955) in folgende Fraktionen aufgetrennt:

	Dichte [kg/L]
VLDL	< 1,006
IDL	1,006 – 1,019
LDL	1,019 – 1,063
HDL	1,063 – 1,210

Durchführung:

(1) Blutabnahme:

Wie unter Kap. 2.3 beschrieben wurde in der Zeit zwischen 6:30 und 9:30 Uhr peripher venöses Blut nach gründlicher Desinfektion der Haut abgenommen. Die Probanden versicherten, eine mindestens 10stündige Nahrungskarenz eingehalten zu haben.

(2) Probenaufarbeitung:

Zwei EDTA-Monovetten (9 mL) wurden zur Bestimmung der Lipidparameter per Express-Post an das Zentrallabor der Uniklinik Freiburg gesendet. Zur Gewinnung des EDTA-Plasmas wurden die EDTA-Monovetten 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen (Hettich Zentrifuge) zentrifugiert.

(3) Gewinnung der VLDL-Fraktion:

Jeweils 6 mL EDTA-Plasma wurde in ein Polycarbonatröhrchen gefüllt und bei Eigendichte in der Ultrazentrifuge 22 h bei 40 000 Umdrehungen / min ($T = 17\text{ °C}$) zentrifugiert. Dadurch trennte sich das Flotat vom Unterstand und wurde abgesaugt. Dabei wurden vorsichtig 2 mL der oberen, leicht weißlich trüben Fraktion mittels Glaspipette abgenommen.

Für den Fall, dass es nicht gelang, die VLDL-Fraktion vollständig abzutrennen, wurden 2 mL Lösung I (Dichte 1,0063 kg/L) zu den verbleibenden 4 mL gegeben. Hinweise auf eine unvollständige Abtrennung der VLDL-Fraktion bekam man unter anderem durch eine Trübung an der Gefäßwand. Im Anschluss daran wurde die Ultrazentrifugation wiederholt und weiter verfahren wie oben beschrieben. Das dadurch vorliegende doppelte Volumen der VLDL-Fraktion musste durch einen Korrekturfaktor bei der Auswertung berücksichtigt werden.

(4) Gewinnung der IDL-Fraktion:

Um die Dichte auf 1,019 kg/L einzustellen wurden zu den verbleibenden 4 mL aus dem vorausgegangenen Aufarbeitungsschritt 2 mL der Lösung I a (Dichte 1,0443 kg/L) pipettiert und gut durchmischt. Im Anschluss daran wurde in der Ultrazentrifuge 20 h bei 45 000 Umdrehungen / min ($T = 17\text{ °C}$) zentrifugiert. Analog zur Gewinnung der VLDL-Fraktion wurden 2 mL Flotat vom Unterstand abgetrennt. Die IDL- ist im Unterschied zur VLDL-Fraktion klar und ebenfalls farblos.

(5) Gewinnung der LDL-Fraktion:

Der Unterstand aus dem vorherigen Lauf wurde mit 2 mL Lösung I b (Dichte 1,1468 kg/L) auf 6 mL gebracht und dadurch eine Dichte von 1,063 kg/L eingestellt. Nach der

Ultrazentrifugation (z.B. 20 h bei 45 000 Umdrehungen / min, T = 17 °C) wurden 2 mL der oberen Fraktion abgetrennt. Die klare LDL-Fraktion wies eine schwach gelbe Färbung auf.

(6) Gewinnung der HDL-Fraktion:

Zum Unterstand aus der Gewinnung der LDL-Fraktion wurden 2 mL der Lösung II (Dichte 1,4699 kg/L) pipettiert und gut durchmischt, wodurch sich eine Dichte von 1,210 kg/L ergab. Das Material wurde im Festwinkelrotor z.B. bei 42 000 U/min und 17 °C 25 h zentrifugiert. Die flotierten HDL zeigten eine gelbliche bis braune Farbe und wurden abgetrennt. Mittels Glaspipette wurde dabei 1 mL der oberen Fraktion abgenommen, im Unterstand befand sich lipoproteinfreies Plasma.

2.4.3.2 Auftrennung der Low-density- und High-density-Lipoproteine in Subfraktionen mittels Dichte-Gradienten-Ultrazentrifugation

Chemikalien:

Natriumchlorid NaCl, reinst	Merck, Darmstadt
Natriumbromid NaBr	Merck, Darmstadt
Natriumazid NaN ₃	Merck, Darmstadt
Titriplex III (EDTA)	Merck, Darmstadt

Lösungen:

A. Lösung I der Dichte 1,0063 kg/L (0,196 mol/L NaCl)
11,45 g Natriumchlorid, 0,5 g Natriumazid und 100 mg EDTA wurden mit 1000 mL bidest. Wasser versetzt. Durch Zugabe von Natriumbromid wurden die Dichten der folgenden Lösungen eingestellt.

B. Lösung IV der Dichte 1,110 kg/L
143,05 g Natriumbromid wurden in 1000 g Lösung I gelöst.

C. Dialyselösung 1 der Dichte 1,038 kg/L
0,399 mol/kg NaBr, 0,196 mol/kg NaCl, 0,1 g/L EDTA und 0,5 g/L NaN₃

D. Dialyselösung 2 der Dichte 1,110 kg/L
1,155 mol/kg NaBr, 0,567 mol/kg NaCl, 0,1 g/L EDTA und 0,5 g/L NaN₃

Die Dichte errechnete sich nach folgender Formel:

$$D_3 = \frac{V_1 * D_1 + V_2 * D_2}{(V_1 + V_2)}$$

D₃ gesuchte Dichte [kg/L]

D₁, D₂ Dichten der Lösungen 1 und 2 [kg/L]

V₁, V₂ Volumina der Lösungen 1 und 2 [L]

Die Menge an Kaliumbromid, die in fester Form zugegeben wurde, um eine bestimmte Dichte einzustellen, errechnete sich nach folgender Formel:

$$X = \frac{V_0 * (D_1 - D_0)}{1 - V * D_1}$$

X Salzmenge, die zugegeben musste [g]

V₀ Ausgangsvolumen [L]

D₁ einzustellende Dichte [g/L]

D₀ Ausgangsdichte [g/L]

V partielles spezifisches Volumen [L]

Verbrauchsmaterialien:

EDTA Monovetten (9 mL)

Sarstedt, Nümbrecht

Dialyseschläuche Spectrapor 4,

15,9 mm Durchmesser, MG 12 – 14 kD

Serva Electrophoresis, Heidelberg

Wägebapier MN 226

Macherey-Nagel, Düren

UZ-Röhrchen aus Polycarbonat (10 mL)

Beckmann Coulter, Krefeld

Glaspipetten

Geräte:

Zentrifuge

Hettich, Tuttlingen

Präparative Ultrazentrifuge LE 80 K

Beckmann Coulter, Krefeld

Festwinkelrotor 50 Ti (12 Positionen)

Beckmann Coulter, Krefeld

Pyknometer

Dichtemessgerät DMA 48

Anton Paar, Graz/Österreich

Methode:

Die durch sequentielle präparative Ultrazentrifugation nach der Methode von Havel et al. (1955) gewonnenen Low-density-Lipoproteine (LDL) wurden durch Gleichgewichts-Gradienten-Ultrazentrifugation in sechs Dichteklassen fraktioniert. Entsprechend wurden die High Density Lipoproteine (HDL) in vier Unterklassen fraktioniert. Die Dichtebereiche der LDL- und HDL-Subfraktionen waren:

	Dichte [kg/L]
LDL ₁	1,028 – 1,031
LDL ₂	1,031 – 1,034
LDL ₃	1,034 – 1,037
LDL ₄	1,037 – 1,040
LDL ₅	1,040 – 1,044
LDL ₆	1,044 – 1,047

	Dichte [kg/L]
HDL _{2b}	1,063 – 1,100
HDL _{2a}	1,100 – 1,150
HDL _{2a1}	1,100 – 1,110
HDL _{2a2}	1,110 – 1,150
HDL ₃	1,150 – 1,210

Durchführung:

Die Gewinnung der LDL- und der HDL-Fraktion wird unter 2.4.3.1 beschrieben.

(1) Gewinnung der LDL-Subfraktionen:

Die Low Density Lipoproteine wurden wie unter 2.4.3.1 beschrieben isoliert und einer Dialyse unterworfen. Dabei wurden zu den abgenommenen 2 mL LDL-Fraktion 4 mL Lösung I (Dichte 1,0063 kg/L) gegeben und gut durchmischt. 1 mL davon wurde für die Bestimmung der „LDL recovery“ zurückgehalten. Die restlichen 5 mL wurden in einen Dialyseschlauch gefüllt und in ein großes Becherglas mit Dialyselösung 1 der Dichte 1,038 kg/L eingetaucht. Bei 6 Proben à 5 mL wurde etwa 3 L Dialyselösung 1 angesetzt. Im Kühlraum wurde innerhalb von 24 Stunden bei 4 °C eine Dichte von 1,035 kg/L eingestellt. Nach Abschluss der Dialyse wurde mit Dialyselösung 1 vom Vortag (Dichte 1,038 kg/L) auf ein Gesamtvolumen von 6 mL aufgefüllt. Es schloss sich eine Ultrazentrifugation der dialysierten Proben in Polycarbonat-Röhrchen 6 mL (Rotor 50 Ti, Beckmann Coulter, Krefeld) bei 50 000 Umdrehungen / min für 48 Stunden und bei 18 °C an. Es kam dabei zur Ausbildung eines Dichtegradienten zwischen 1,028 und 1,047 kg/L. Durch vorsichtige Abnahme von jeweils 1 mL durch eine Glaspipette wurden sechs Subfraktionen gewonnen, die der Reihenfolge nach von oben beginnend mit LDL₁ bis LDL₆ durchnummeriert wurden.

(2) Gewinnung der HDL-Subfraktionen:

Die gemäß 2.4.3.1 gewonnene HDL-Fraktion (1 mL) wurde mit 790 µL Lösung I (Dichte 1,0063 kg/L) versetzt und mit Lösung IV (1,110 kg/L) auf 6 mL aufgefüllt. Nach dem Durchmischen wurde 1 mL für die Ermittlung der „HDL recovery“ abgezweigt. Analog zu Punkt 1 wurde die verbleibende Lösung in einen Dialyseschlauch überführt und einer Dialyse unterworfen. Innerhalb von 24 Stunden bei 4 °C wurde durch die Dialyselösung 2 eine Dichte von 1,110 kg/L eingestellt. Im Anschluss wurde mit der Dialyselösung 2 vom Vortag (Dichte 1,110 kg/L) auf ein Gesamtvolumen von 6 mL ergänzt. Danach wurden die dialysierten Proben in 6 mL Polycarbonat-Röhrchen 48 Stunden bei 18 °C ultrazentrifugiert (50 000 Umdrehungen / min, Rotor 50 Ti, Beckmann Coulter, Krefeld). Von oben nach unten wurden vorsichtig nacheinander 1,5 mL (HDL_{2b}), 3,0 mL (HDL_{2a}) und 1,5 mL (HDL₃) mittels Glaspipette abgenommen.

(3) Analyse der LDL- und HDL-Subfraktionen:

Die Analysen wurden am Vollautomaten (Autoanalyser) Olympus AU 640 durchgeführt. Für eine ausführliche Beschreibung der einzelnen Methoden vgl. Kap. 2.4.3.3.

Lipide:

In allen Subfraktionen wurden Gesamtcholesterin (Wako Chemikals, Neuss), freies Cholesterin (Wako Chemikals, Neuss), Triglyceride (Wako Chemikals, Neuss) und Phospholipide (Wako Chemikals, Neuss) gemessen. Cholesterinester wurden berechnet durch die Formel $1,68 \times (\text{Gesamtcholesterin} - \text{freies Cholesterin})$.

Lipoproteine:

Die Bestimmung der Apolipoproteine Apo A-1 (Greiner BioChemica, Flacht bei Limburg an der Lahn), Apo A-2 (Kamiya Biomedical, Seattle USA), Apo B (Greiner, Flacht) erfolgte immunoturbidimetrisch, ebenso die Bestimmung von Lipoprotein (a) (Greiner, Flacht). Um den Einfluss von Apolipoprotein E und C zu reduzieren, wurde nur LDL des Dichtebereichs $d = 1,034$ und $d = 1,044$ kg/L für diesen Test eingesetzt. Die erhaltenen Proteinkonzentrationen wurden für die folgenden Berechnungen auf ein Molekulargewicht des Apo B von 513 000 D bezogen (Knott et al. 1986, Yang et al. 1986).

(4) Qualitätskontrolle: “LDL recovery” und “HDL recovery” (Wiederfindung)

Die unter Punkt 3 beschriebenen Analysen wurden in der zurückbehaltenen LDL- und HDL-Fraktionen ebenfalls durchgeführt und ins Verhältnis gesetzt zur Summe der Messparameter bei den einzelnen Subfraktionen.

2.4.3.3 Analytik der Lipide und Lipoproteine in den VLDL, IDL, LDL, HDL und den Subfraktionen von LDL und HDL

2.4.3.3.1 Bestimmung von Gesamtcholesterin

Lösungen:

A. Reagenz R1

Good's Puffer (pH 7,0)	0,1 mol/L
N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyanilin Natriumsalz (HDAOS)	0,53 mmol/L
Cholesterinesterase	0,4 U/mL
Ascorbatoxidase	1 U/mL
Haltbarkeit: 1 Monat bei 2 bis 10 °C	

B. Reagenz R2

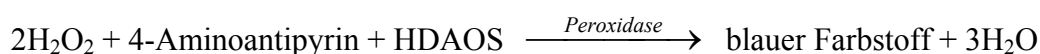
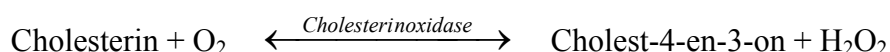
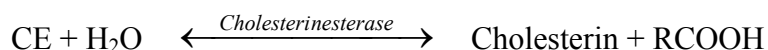
Good's Puffer (pH 6,5)	50 mmol/L
Cholesterinoxidase	1,2 U/mL
Peroxidase	6 U/mL
4-Aminoantipyrin	3,6 mmol/L
Haltbarkeit: 1 Monat bei 2 bis 10 °C	

Geräte:

Vollautomat (Autoanalyser) Olympus AU 640 Olympus Deutschland, Hamburg

Methode:

Die in der Probe enthaltenen Cholesterinester (CE) werden durch Cholesterinesterase zu freiem Cholesterin und Fettsäuren hydrolysiert. Das auf diese Weise gebildete Cholesterin wird gemeinsam mit bereits ursprünglich vorhandenem freiem Cholesterin durch Cholesterinoxidase unter Bildung von Wasserstoffperoxid oxidiert. Durch Peroxidase katalysiert kommt es zu einer Kondensationsreaktion zwischen N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyanilin Natriumsalz (HDAOS) und 4-Aminoantipyrin unter Bildung eines blauen Farbstoffs. Die Intensität des blauen Farbstoffs ist proportional zur Gesamtcholesterinkonzentration in der Probe und wird bei 600 nm gemessen.



Durchführung:

Photometrische Messung bei $\lambda = 600 \text{ nm}$ (Absorptionsmaximum)

Temperatur: 37 °C

	Reagenzienleerwert	Probe / Referenzstandard
Probe / Referenzstandard	–	2,5 µL
Reagenz R1	180 µL	180 µL
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E ₁ bei $\lambda = 600$ nm messen		
Reagenz R2	60 µL	60 µL
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E ₂ bei $\lambda = 600$ nm messen		

Qualitätskontrolle:

(1) Zur Qualitätskontrolle wurde jeweils ein lyophilisiertes Kontrollserum (Wako Chemicals, Neuss) für den Normbereich und für den pathologischen Bereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Wako Control Serum I: Sollwert für Gesamtcholesterin: 157 mg/dL

Wako Control Serum II (pathologischer Bereich): Sollwert für Gesamtcholesterin: 237 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das lyophilisierte Kontrollserum wurde bei Erreichen des auf der Packung angegeben Verfallsdatums nicht mehr eingesetzt. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 5 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug einen Tag bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

(2) Außerdem wurde ein weiteres lyophilisiertes Kontrollserum auf Humanserumbasis (Roche Diagnostics, Mannheim) für den Normbereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Roche Precinorm L: Sollwert für Gesamtcholesterin: 179 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das lyophilisierte Kontrollserum wurde bei Erreichen des auf der Packung angegeben Verfallsdatums nicht mehr eingesetzt. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 3 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug zwei Tage bei +15 bis +25 °C, fünf Tage bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

2.4.3.3.2 Bestimmung von freiem Cholesterin

Lösungen:

A. Pufferlösung

Phosphatpuffer (pH 7,0) 0,1 mol/L

Phenol 0,1 %

Lagerung bei 2 bis 10 °C

B. Farbreagenz

Cholesterinoxidase 0,04 U/mL

Peroxidase 0,8 U/mL

4-Aminoantipyrin 0,015 %

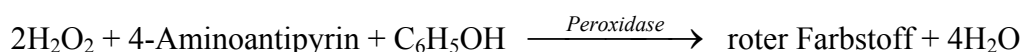
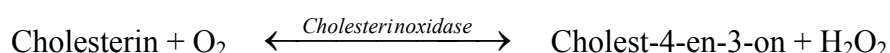
Lagerung bei 2 bis 10 °C

Geräte:

Vollautomat (Autoanalyser) Olympus AU 640 Olympus Deutschland, Hamburg
Wasserbad (37 °C)
Pipetten, Messzylinder
Stoppuhr

Methode:

Das freie Cholesterin wird – katalysiert durch das Enzym Cholesterinoxidase – unter Bildung von Wasserstoffperoxid oxidiert. Bei Anwesenheit von Peroxidase kommt es zu einer Kondensationsreaktion zwischen 4-Aminoantipyrin und Phenol unter Bildung eines roten Farbstoffs, dessen Intensität proportional zur Konzentration an freiem Cholesterin in der Probe ist und bei 505 nm gemessen wird.



Durchführung:

Photometrische Messung bei $\lambda = 505 \text{ nm}$ (Absorptionsmaximum)
Temperatur: 37 °C

	Reagenzienleerwert	Probe / Referenzstandard
dest. Wasser	50 μL	–
Probe / Referenzstandard	–	50 μL
Farbreagenz	3,0 mL	3,0 mL
Mischen, 15 Minuten bei 37 °C inkubieren, E bei $\lambda = 505 \text{ nm}$ messen		

Qualitätskontrolle:

(1) Zur Qualitätskontrolle wurde jeweils ein lyophilisiertes Kontrollserum (Wako Chemicals, Neuss) für den Normbereich und für den pathologischen Bereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Wako Control Serum I: Sollwert für freies Cholesterin: 34 mg/dL

Wako Control Serum II (pathologischer Bereich): Sollwert für freies Cholesterin: 54 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das lyophilisierte Kontrollserum wurde bei Erreichen des auf der Packung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr eingesetzt. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 5 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug einen Tag bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

(2) Außerdem wurde ein weiteres lyophilisiertes Kontrollserum auf Humanserumbasis (Roche Diagnostics, Mannheim) für den Normbereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Roche Precinorm L: Sollwert für freies Cholesterin: 40 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das lyophilisierte Kontrollserum wurde bei Erreichen des auf der Packung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr eingesetzt. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe

von genau 3 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug zwei Tage bei +15 bis +25 °C, fünf Tage bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

2.4.3.3.3 Bestimmung von Phospholipiden

Lösungen:

A. Puffer

TRIS-Puffer (pH 8,0) 50 mmol/L

Phenol 5,3 mmol/L

B. Farbreagenz

Phospholipase D 0,355 U/mL

Cholinoxidase 1,67 U/mL

Peroxidase 4,22 U/mL

4-Aminoantipyrin 0,74 mmol/L

C. Mischung A in B

Der vollständige Inhalt von Lösung A wurde vorsichtig unter Vermeidung von Schaumbildung in Lösung B gelöst.

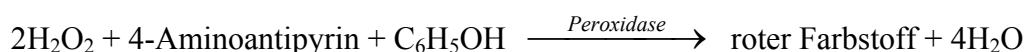
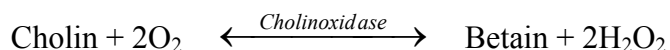
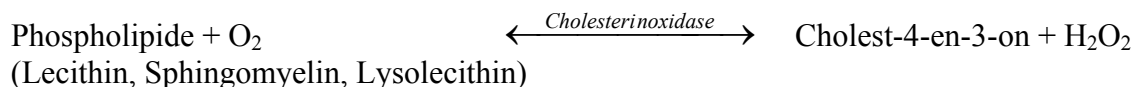
Haltbarkeit: 2 Wochen bei 2 – 10 °C, 3 Tage bei 15 – 25 °C

Geräte:

Vollautomat (Autoanalyser) Olympus AU 640 Olympus Deutschland, Hamburg

Methode:

Zuerst werden die in der Probe enthaltenen Phospholipide (PL) durch das Enzym Phospholipase D zu Cholin hydrolysiert, das katalysiert durch das Enzym Cholinoxidase unter Bildung von Wasserstoffperoxid zu Betain oxidiert wird. Bei Anwesenheit von Peroxidase kommt es zu einer Kondensationsreaktion zwischen 4-Aminoantipyrin und Phenol unter Bildung eines roten Farbstoffs. Dieser wurde bei 505 nm gemessen und kolorimetrisch die Konzentration an Phospholipiden bestimmt.



Durchführung:

Photometrische Messung Probe bei $\lambda = 500 \text{ nm}$ (Absorptionsmaximum)

Temperatur: 37 °C

	Reagenzienleerwert	Probe / Referenzstandard
Probe / Referenzstandard	–	3 μL
Lösung C	300 μL	300 μL
Mischen, 10 Minuten inkubieren, E bei $\lambda = 500 \text{ nm}$ messen		

Qualitätskontrolle:

(1) Zur Qualitätskontrolle wurde jeweils ein lyophilisiertes Kontrollserum (Wako Chemicals, Neuss) für den Normbereich und für den pathologischen Bereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Wako Control Serum I: Sollwert für Phospholipide: 204 mg/dL

Wako Control Serum II (pathologischer Bereich): Sollwert für Phospholipide: 274 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das lyophilisierte Kontrollserum wurde bei Erreichen des auf der Packung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr eingesetzt. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 5 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug einen Tag bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

(2) Außerdem wurde ein weiteres lyophilisiertes Kontrollserum auf Humanserumbasis (Roche Diagnostics, Mannheim) für den Normbereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Roche Precinorm L: Sollwert für Phospholipide: 216 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das lyophilisierte Kontrollserum wurde bei Erreichen des auf der Packung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr eingesetzt. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 3 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug zwei Tage bei +15 bis +25 °C, fünf Tage bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

2.4.3.3.4 Bestimmung von Triglyceriden

Lösungen:

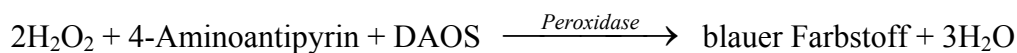
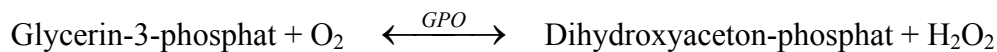
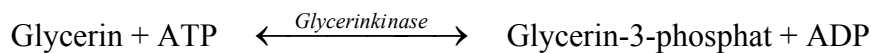
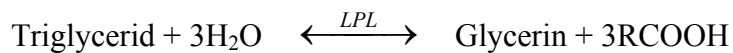
A. Farbreagenz A	
Good's Puffer (pH 7,5)	50 mmol/L
Lipoproteinlipase	67 U/mL
Glycerinkinase (GK)	17 U/mL
Adenosin-5'-triphosphat (ATP)	1,8 mmol/L
N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyanilin Dinatriumsalz (HDAOS)	0,53 mmol/L
Ascorbatoxidase	1 U/mL
Haltbarkeit: 1 Monat bei 2 – 10 °C	
B. Farbreagenz B	
Good's Puffer (pH 6,5)	50 mmol/L
Glycerin-3-phosphatoxidase (GPO)	5 U/mL
Peroxidase	9 U/mL
4-Aminoantipyrin	2,6 mmol/L
Haltbarkeit: 1 Monat bei 2 bis 10 °C	

Geräte:

Vollautomat (Autoanalyser) Olympus AU 640 Olympus Deutschland, Hamburg

Methode:

Im ersten Schritt wurden die in der Probe enthaltenen Triglyceride (TG) unter Mitwirkung des Enzyms Lipoproteinlipase (LPL) zu Glycerin und freien Fettsäuren hydrolysiert. Glycerin wird in Anwesenheit von ATP durch Glycerinkinase (GK) in Glycerin-3-phosphat umgewandelt und durch Glycerin-3-phosphatoxidase (GPO) unter Bildung von Wasserstoffperoxid oxidiert. Durch Peroxidase katalysiert kommt es zu einer Kondensationsreaktion zwischen N-(2-hydroxy-3-sulfoethyl)-3,5-dimethoxyanilin Natriumsalz (HDAOS) und 4-Aminoantipyrin unter Bildung eines blauen Farbstoffs. Die Triglyceridkonzentration in der Probe wird kolorimetrisch durch Messung der Absorption bei 600 nm bestimmt. Ascorbinsäure im Serum wird durch das Enzym Ascorbatoxidase oxidiert, um eine Interferenz mit Ascorbinsäure zu vermeiden.



Durchführung:

Photometrische Messung bei $\lambda = 600 \text{ nm}$ (Absorptionsmaximum)
Temperatur: 37°C

	Reagenzienleerwert	Probe / Referenzstandard
Probe / Referenzstandard	–	2,5 μL
Farbreagenz A	260 μL	260 μL
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E_1 bei $\lambda = 600 \text{ nm}$ messen		
Farbreagenz B	130 μL	130 μL
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E_2 bei $\lambda = 600 \text{ nm}$ messen		

Qualitätskontrolle:

(1) Zur Qualitätskontrolle wurde jeweils ein lyophilisiertes Kontrollserum (Wako Chemicals, Neuss) für den Normbereich und für den pathologischen Bereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Wako Control Serum I: Sollwert für Triglyceride: 98 mg/dL

Wako Control Serum II (pathologischer Bereich): Sollwert für Triglyceride: 192 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das lyophilisierte Kontrollserum wurde bei Erreichen des auf der Packung angegeben Verfallsdatums nicht mehr eingesetzt. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 5 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug einen Tag bei $+2$ bis $+10^\circ \text{C}$ und einen Monat bei -20°C .

(2) Außerdem wurde ein weiteres lyophilisiertes Kontrollserum auf Humanserumbasis (Roche Diagnostics, Mannheim) für den Normbereich in einer 20fach-Bestimmung an 20

verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Roche Precinorm L: Sollwert für Triglyceride: 157 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das lyophilisierte Kontrollserum wurde bei Erreichen des auf der Packung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr eingesetzt. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 3 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug zwei Tage bei +15 bis +25 °C, fünf Tage bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

2.4.3.3.5 Bestimmung von Apolipoprotein A-1 (Apo A-1)

Lösungen:

A. Puffer

TRIS-Puffer (pH 7,5) 100 mmol/L

Natriumazid 0,095 %

PEG, Detergenzien und Stabilisatoren

B. Reagenz mit Antiserum

TRIS-Puffer (pH 7,5) 100 mmol/L

Anti-human Apolipoprotein A-1 Antikörper (Ziege)

Natriumazid 0,095 %

Stabilisatoren

Geräte:

Vollautomat (Autoanalyser) Olympus AU 640 Olympus Deutschland, Hamburg

Methode:

Die Bestimmung der Konzentration von Apolipoprotein A-1 erfolgte mittels eines immunologischen Trübungstests durch photometrische Messung der Antigen-Antikörper-Reaktion nach der Endpunktmethode (Greiner BioChemica, Flacht bei Limburg an der Lahn). Die Agglutination führt zu einer Trübung, die bei einer Wellenlänge von 580 nm gemessen wurde.

Durchführung:

Photometrische Messung der Trübung bei $\lambda = 580$ nm

Temperatur: 37 °C

Messung gegen Reagenzienleerwert

	Reagenzienleerwert	Probe / Referenzstandard
Probe / Referenzstandard	–	2 μ L
Puffer	250 μ L	250 μ L
Mischen, 3 – 5 Minuten inkubieren, E_1 bei $\lambda = 580$ nm messen		
Reagenz mit Antiserum	50 μ L	50 μ L
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E_2 bei $\lambda = 580$ nm messen		

Bei Konzentrationen über 250 mg/dL wurde die Probe in gleichem Volumenverhältnis mit physikalischer Kochsalzlösung verdünnt und das Ergebnis mit dem Faktor 2 multipliziert.

	Reagenzienleerwert	Probe / Referenzstandard
Probe / Referenzstandard	–	3 µL
Puffer	350 µL	350 µL
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E ₁ bei $\lambda = 600$ und 700 nm messen		
Reagenz mit Antiserum	50 µL	50 µL
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E ₂ bei $\lambda = 600$ und 700 nm messen		

Bei Konzentrationen über 250 mg/dL wurde die Probe in gleichem Volumenverhältnis mit physikalischer Kochsalzlösung verdünnt und das Ergebnis mit dem Faktor 2 multipliziert.

Qualitätskontrolle:

(1) Es wurde jeweils ein lyophilisiertes Kontrollserum (Wako Chemicals, Neuss) für den Normbereich und für den pathologischen Bereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Wako Control Serum I (Normbereich): Sollwert für Apo A-2: 49,1 mg/dL

Wako Control Serum II (pathologischer Bereich): Sollwert für Apo A-2: 31,5 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das Verfallsdatum für das lyophilisierte Kontrollserum war auf der Packung angegeben. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 5 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug einen Tag bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

(2) Für die Erstellung von Eichgeraden wurde ein Apolipoprotein A-2-Standardserum (Kamiya Biomedical, Seattle/USA) mit der Konzentration 940 mg/L eingesetzt:

Durch Verdünnung wurden folgende Konzentrationen eingestellt:

470 mg/L 235 mg/L 118 mg/L 59 mg/L

2.4.3.3.7 Bestimmung von Apolipoprotein B (Apo B)

Lösungen:

A. Puffer

TRIS-Puffer (pH 7,5) 100 mmol/L

Natriumazid 0,095 %

PEG, Detergenzien und Stabilisatoren

B. Reagenz mit Antiserum

TRIS-Puffer (pH 7,5) 100 mmol/L

Anti-human Apolipoprotein B Antikörper (Ziege) 0,095 %

Natriumazid

Stabilisatoren

Geräte:

Vollautomat (Autoanalyser) Olympus AU 640 Olympus Deutschland, Hamburg

Methode:

Die Bestimmung der Konzentration von Apolipoprotein B erfolgte mittels eines immunologischen Trübungstests (Greiner BioChemica, Flacht bei Limburg an der Lahn) durch photometrische Messung der Antigen-Antikörper-Reaktion nach der Endpunktmethode. Die Agglutination führte zu einer Trübung, die bei einer Wellenlänge von 340 nm gemessen wurde.

Durchführung:

Photometrische Messung der Trübung bei $\lambda = 340 \text{ nm}$

Temperatur: 37 °C

Messung gegen Reagenzienleerwert

	Reagenzienleerwert	Probe / Referenzstandard
Probe / Referenzstandard	–	2,5 μL
Puffer	250 μL	250 μL
Mischen, 3 – 5 Minuten inkubieren, E_1 bei $\lambda = 580 \text{ nm}$ messen		
Reagenz mit Antiserum	50 μL	50 μL
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E_2 bei $\lambda = 580 \text{ nm}$ messen		

Bei Konzentrationen über 250 mg/dL wurde die Probe in gleichem Volumenverhältnis mit physikalischer Kochsalzlösung verdünnt und das Ergebnis mit dem Faktor 2 multipliziert.

Qualitätskontrolle:

(1) Es wurde jeweils ein lyophilisiertes Kontrollserum (Wako Chemicals, Neuss) für den Normbereich und für den pathologischen Bereich in einer 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen eingesetzt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Wako Control Serum I (Normbereich): Sollwert für Apo B: 70,0 mg/dL

Wako Control Serum II (pathologischer Bereich): Sollwert für Apo B: 50,6 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das Verfallsdatum für das lyophilisierte Kontrollserum war auf der Packung angegeben. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 5 mL dest. Wasser und Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug einen Tag bei +2 bis +10 °C und einen Monat bei -20 °C.

(2) Für die Erstellung von Eichgeraden wurde ein Apolipoprotein-Standardserum (Dade Behring, Marburg) mit folgenden Konzentrationen eingesetzt:

Apolipoprotein A-1	1590 mg/L
Apolipoprotein B	984 mg/L
Apolipoprotein E	40 mg/L

Durch Verdünnung wurden folgende Konzentrationen eingestellt:

Apolipoprotein A-1	795 mg/L	398 mg/L	199 mg/L	99 mg/L
Apolipoprotein B	492 mg/L	246 mg/L	123 mg/L	62 mg/L
Apolipoprotein E	20 mg/L	10 mg/L	5 mg/L	2,5 mg/L

2.4.3.3.8 Bestimmung von Lipoprotein (a) (Lp(a))

Lösungen:

A. Puffer

TRIS-Puffer (pH 7,5) 80 mmol/L

Natriumazid 0,095 %

PEG, Detergenzien und Stabilisatoren

B. Reagenz mit Antiserum

MES-Puffer (pH 7,5) 4 mmol/L

Anti-human Lipoprotein (a) Antikörper (Ziege)

Natriumazid 0,095 %

Stabilisatoren

Geräte:

Vollautomat (Autoanalyser) Olympus AU 640 Olympus Deutschland, Hamburg

Methode:

Die Bestimmung der Konzentration von Lipoprotein (a) erfolgte mittels eines immunologischen Trübungstests (Greiner BioChemica, Flacht bei Limburg an der Lahn) durch photometrische Messung der Antigen-Antikörper-Reaktion nach der Endpunktmethode. Die Agglutination führte zu einer Trübung, die bei einer Wellenlänge von 340 nm gemessen wurde.

Durchführung:

Photometrische Messung der Trübung bei $\lambda = 340 \text{ nm}$

Temperatur: 37 °C

Messung gegen Reagenzienleerwert

	Reagenzienleerwert	Probe / Referenzstandard
Probe / Referenzstandard	–	7,5 μL
Puffer	250 μL	250 μL
Mischen, 3 – 5 Minuten inkubieren, E_1 bei $\lambda = 580 \text{ nm}$ messen		
Reagenz mit Antiserum	50 μL	50 μL
Mischen, 5 Minuten inkubieren, E_2 bei $\lambda = 580 \text{ nm}$ messen		

Bei Konzentrationen über 250 mg/dL wurde die Probe in gleichem Volumenverhältnis mit physikalischer Kochsalzlösung verdünnt und das Ergebnis mit dem Faktor 2 multipliziert.

Qualitätskontrolle:

Es wurde jeweils ein lyophilisiertes Kontrollserum auf Humanserumbasis (Roche Diagnostics, Mannheim) mit Konzentrationen im niedrigen und erhöhten Bereich eingesetzt. Es wurde je eine 20fach-Bestimmung an 20 verschiedenen Tagen durchgeführt. Als zulässig wurde eine Abweichung in Höhe der einfachen Standardabweichung festgelegt.

Roche Lp(a) Control Set Level I (niedriger Bereich): Sollwert für Lp(a): 28,1 mg/dL

Roche Lp(a) Control Set Level II (erhöhter Bereich): Sollwert für Lp(a): 114,3 mg/dL

Vorbereitung und Haltbarkeit:

Das Verfallsdatum für das lyophilisierte Kontrollserum war auf der Packung angegeben. Das rekonstituierte Kontrollserum wurde durch Zugabe von genau 1 mL dest. Wasser und

Schwenkung unter Vermeidung von Schaumbildung hergestellt. Die Haltbarkeit betrug 24 Stunden bei +18 bis +25 °C, 30 Tage bei +2 bis +10 °C und drei Monate bei -20 °C.

2.4.4 Bestimmung des ADH3 Polymorphismus

Chemikalien:

Kaliumchlorid KCl, p.a.	Merck, Darmstadt
Magnesiumchlorid MgCl ₂ , p.a.	Merck, Darmstadt
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS)	Merck, Darmstadt
Salzsäure konz., p.a.	Merck, Darmstadt
Gelatine	Sigma Aldrich, Steinheim
Tween 20	Sigma Aldrich, Steinheim
Taq-Polymerase	Roche Diagnostics, Mannheim
Nukleotid-Mix dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	Roche Diagnostics, Mannheim
Primer	MWG Biotec, Ebersberg

Lösungen: in bidest. Wasser

- A. 10 x Puffer:
500 mmol/L KCl
100 mmol/L TRIS-HCl (pH 8,3, mit konz. HCl eingestellt)
- B. Detergenzpuffer:
50 mmol/L KCl
2,5 mM MgCl₂
10 mmol/L TRIS-HCl (pH 8,3)
0,01 % (w/v) Gelatine
0,45 % (w/v) Tween 20
- C. Magnesiumchloridlösung: 25 mmol/L
- D. Nukleotid-Mix:
10 mM dATP, 10 mM dCTP, 10 mM dGTP, 10 mM dTTP
- E. Primer:
ADH3-1*: 5'-gct tta aga gta aag aat ctg tcc c-3' (10 pmol/μl)
ADH3 Exon 8 Antisense: 5'-aat cta cct ctt tcc aga gc-3' (10 pmol/μl)
- F. Taq-Polymerase:
5 U/μL

Geräte:

Thermocycler PTC 200	Biozym, Hess. Oldendorf
----------------------	-------------------------

Verbrauchsmaterialien:

96-well-plates 0,20 mL, RNase-, DNase-frei	AB-Gene, Hamburg
--	------------------

Durchführung:

(1) Mastermix ansetzen:

Zunächst wurde der Mastermix angesetzt wie in der folgenden Tabelle dargestellt:

	500	1000	2000
10 x Puffer	50	100	200
Detergenzpuffer	175	350	700
25 mM MgCl ₂	15	30	60
Nukleotid-Mix	5	10	20
5'Primer	10	20	40
3'Primer	10	20	40
Taq-Polymerase	2,5	5	10
H ₂ O	232,5	465	930

Für jede Probe wurden 20 µl Mastermix vorgelegt.

(2) PCR:

Zu dem vorgelegten Mastermix wurde 1 µl genomische DNA gegeben.

PCR-Programm:

	Temperatur	Zeit in min	Zyklen
Prä-Denaturierung	95 °C	3:00	1
Denaturierung	95 °C	0:30	} 35
Annealing	52 °C	1:00	
Elongation	72 °C	0:45	
Post-Elongation	72 °C	5:00	1

(3) Nachweis des Amplikons mittels Agarosegelelektrophorese und Ethidiumbromidfärbung:

Chemikalien:

Agarose	Eurobio, Les Ulis Cedex B/Frankreich
Nu Sieve Agarose (low-melting Agarose)	Biozym, Hess. Oldendorf
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS)	Merck, Darmstadt
Borsäure	Merck, Darmstadt
EDTA	Merck, Darmstadt
Etidiumbromidlösung	Sigma Aldrich, Steinheim
Restriktionsenzym SspI (Endonuklease)	New England Biolabs, Schwalbach
100 Bp-Marker	New England Biolabs, Schwalbach
25 Bp-Marker	Invitrogen, Karlsruhe

Lösungen:

A. 10 x TBE-Puffer (pH 8,3):

TRIS	54,5 g (= 900 mM)
Borsäure	27,8 g (= 900 mM)
EDTA	0,47 g (= 2,5 mM)
H ₂ O bidest. (RNase-frei)	ad 500 mL

Der Puffer wurde bei Raumtemperatur aufbewahrt.

B. 1 x TBE-Puffer (pH 8,3):

Für den 1 x TBE-Puffer wurde ein Teil 10 x TBE mit 9 Teilen bidest. Wasser verdünnt.

C. 2 % Agarosegel in 1 x TBE-Puffer mit Etidiumbromid:

2 % Agarose wurde in TBE-Puffer durch Aufkochen gelöst und nach dem Abkühlen Etidiumbromidlösung (ca. 1 µL / 10 mL) zugegeben.

D. 4 % Agarosegel in 1 x TBE-Puffer mit Etidiumbromid:

4 % low-melting Agarose (Nu Sieve Agarose, Biozym) wurde in TBE-Puffer durch Aufkochen gelöst und nach dem Abkühlen Etidiumbromidlösung (ca. 1 µL / 10 mL) zugegeben.

E. 6 x Ladungspuffer:

Bromphenolblau 0,25 g

Saccharose 40 g

H₂O bidest. 49,75 g

Lagerung bei -20 °C, bei Gebrauch bei +4 °C aufbewahrt.

Geräte:

Gelelektrophoresekammer Sub-Cell Modell 96	Biorad, München
Kamerasystem	MWG Biotech, Ebersberg

Verbrauchsmaterialien:

Pipettenspitzen, RNase-, DNase-frei	Roth, Karlsruhe
-------------------------------------	-----------------

Auswertung:

(1) Analyse der PCR-Reaktion durch Gelelektrophorese:

Zur Analyse der PCR-Reaktion wurde ein 8 µL-Aliquot auf einem Ethidiumbromid-haltigen 2%-igem Agarosegel aufgetragen. Das 2%-ige Agarosegel wurde in der Form hergestellt, dass die entsprechende Menge handelsüblicher Agarose mit 1 x TBE-Puffer durch Erhitzen bis zum Kochen – in einer Haushaltsmikrowelle – in Lösung gebracht wurde. Nach einer kurzen Abkühlzeit und Zugabe von Etidiumbromidlösung wurde die Agaroselösung möglichst zügig und blasenfrei in die Kammer gegossen. Je 8 µL der DNA-Proben und des DNA-Standards (10 ng Gesamt-DNA / 10 µL) wurden mit 2 µL 6 x Ladungspuffer vermischt und in die Slots des ausgehärteten Gels geladen. Zusätzlich wurde auf jedem Gel ein 100 Bp-Marker (1 µL 100 Bp-Marker versetzt mit 1 µL 6 x Ladungspuffer und 3 µL bidestilliertem Wasser) als Größenmarker mitgeführt. Die Gelelektrophorese führt man bei konstanter Spannung von 90 V für 45 min in einer mit 1 x TBE-Puffer gefüllten Kammer durch. Anschließend wurde das Gel 25-30 min in ethidiumbromidhaltigen 1 x TBE-Puffer gefärbt (100 µg Ethidiumbromid / 100 mL 1 x TBE). Die Banden des DNA-Ethidiumbromidkomplexes wurden mittels UV-Bestrahlung (300 nm) visualisiert und mit einem Kamerasystem dokumentiert. Erwartet wurde dabei eine Bande von 146 Basenpaaren.

(2) Überprüfung des Polymorphismus mittels SspI-Verdau:

Ansatz:

20 µL PCR-Ansatz

+ 2,5 µL 10 x Puffer

+ 0,5 µL Enzym SspI

+ 2 µL H₂O

SspI-Verdau:

drei Stunden bei 37 °C inkubieren

Analyse des Verdau durch Gelelektrophorese:

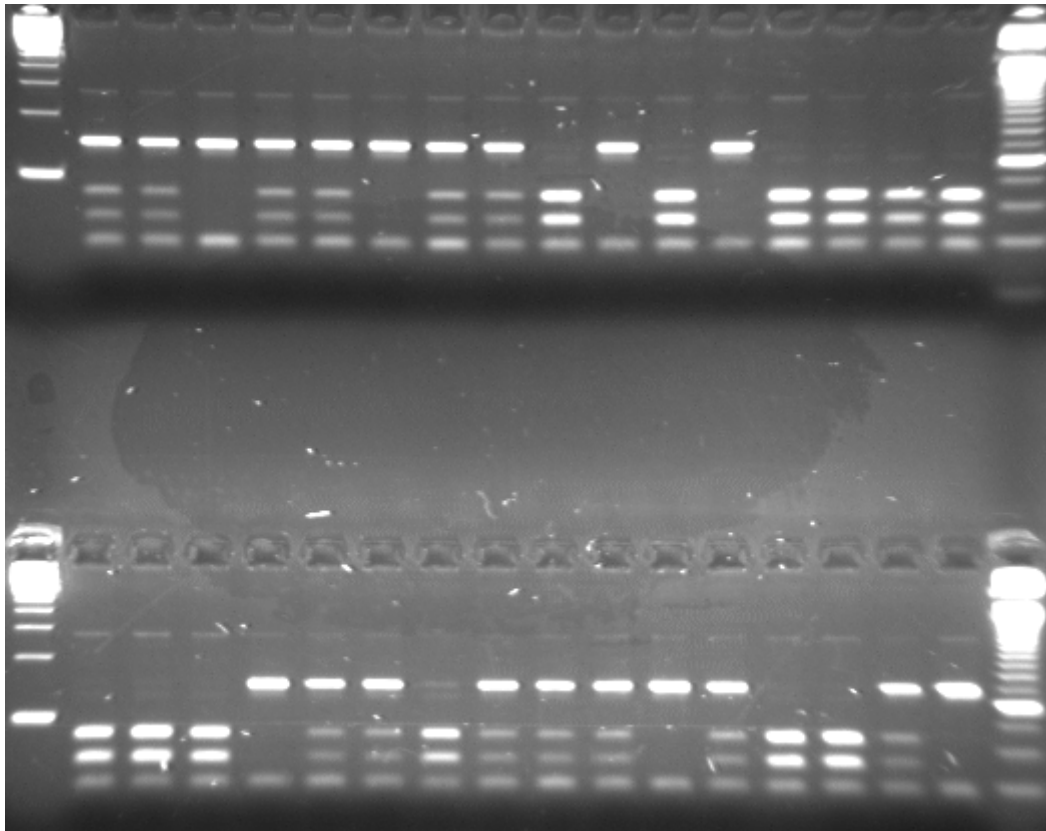
Der gesamte Ansatz wurde auf ein Ethidiumbromid-haltiges 4 % low-melting Agarosegel aufgetragen. Die Gelelektrophorese wurde entsprechend durchgeführt wie unter Punkt 1 beschrieben.

Folgende Banden wurden erwartet:

146 Bp Val (G)

83 + 63 Bp Ile (A)

AA ist der Wildtyp (homozygot).



Im vorliegenden Gel sind 32 Proben und viermal Marker aufgetragen. Links außen ist der 100 Bp-Marker mit Banden bei 100, 200, 300 und 400 Bp zu sehen, rechts außen der 25 Bp-Marker mit Banden bei 25, 50, 75, 100, 125 und 150 Bp. Bei den Proben ist von unten nach oben betrachtet immer zuerst eine unspezifische Primerbande zu erkennen, es folgen Banden mit 63, 83 und 146 Basenpaaren.

Basenpaare Phänotyp Alkoholabbau	AA (Wildtyp) ADH3*1/*1 „schnell“	GA ADH3*1/*2	GG ADH3*2/*2 „langsam“
63	Bande	Bande	
83	Bande	Bande	
146		Bande	Bande

2.5 Statistik

2.5.1 Festlegung primärer Zielgrößen und Fallzahlbestimmung

Bezüglich primärer Zielmessgrößen wurde vor Beginn der Messungen durch das Institut für Medizinische Informationsverarbeitung des Universitätsklinikums Tübingen als primäre Zielmessgröße der Studie die Konzentration von HDL-Cholesterin im Plasma festgelegt. Primär sollten die Gruppen 1 und 2 miteinander verglichen werden, da vor allem der Vergleich zwischen moderatem (Gruppe 2) und sehr niedrigem (Gruppe 1) Alkoholkonsum interessierte und höherer Alkoholkonsum (Gruppe 3) von nachrangiger Bedeutung war. Aus diesem Grund orientierte sich die Fallzahlbestimmung an Gruppe 1 und 2. Bei der Bestim-

mung der Fallzahl wurde davon ausgegangen, dass nach Abschluss der Studie die primäre Zielgröße der Studie in beiden Gruppen mit einem Zweistichproben-t-Test verglichen werden sollte – mit dem Ziel einen klinisch relevanten Unterschied statistisch abzusichern. Bei $n = 10$ Probanden mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum von 0-5 g, welche die Einschlusskriterien der eigenen Studie erfüllt hatten, wurde die Konzentration von HDL-Cholesterin im Plasma zu 42,6 mg/dL (Mittelwert) bestimmt. Es wurde angenommen, dass Literaturdaten eines vergleichbaren Kollektivs über die Streuung (Gaziano et al. 1993) einer Gruppe von Probanden aus der Gruppe 2 der eigenen Studie entspricht (Standardabweichung 11,7 mg/dL). Außerdem wurde angenommen, dass die HDL-Cholesterinwerte in beiden Gruppen normalverteilt und damit die Verteilungsvoraussetzung für die Anwendung des t-Tests erfüllt waren. Die Fallzahlberechnung mit dem Programm nQuery Advisor 4.0 (Statsol) errechnete bei einer Stichprobengröße von 41 in jeder der beiden Gruppen für den Zweistichproben-t-Test eine Power von 90 % um eine Differenz der Mittelwerte in den beiden Gruppen von 8,5 mg/dL statistisch auf einem Signifikanzniveau von 5 % (zweiseitig) abzusichern. Dabei wurde angenommen, dass eine Mittelwertdifferenz von 20 % zwischen den beiden Gruppen klinisch relevant ist. Bei einer Erhöhung der Fallzahl oder einem noch größeren Unterschied erhöhte sich die Power des Tests entsprechend.

Alle anderen im Rahmen dieser Studie erhobenen Merkmale (z.B. Homocystein, LDL-Cholesterin, Vergleiche mit Gruppen höheren Alkoholkonsums, Unterscheidung nach Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks) sollten zusätzlich im Rahmen einer explorativen statistischen Analyse ausgewertet werden. Aussagen zur statistischen Signifikanz könnten jedoch nicht getroffen werden, wären aber als Planungsgrundlage für eventuelle Folgestudien verwendbar.

2.5.2 Test auf Normalverteilung, Varianzanalyse

Die Bestimmung der Signifikanzen erfolgte mit dem Programm STATISTICA für Windows (StatSoft Inc.(1997), USA). Als Test auf Normalverteilung wurde der Kolmogorov-Smirnov-Einstichprobentest auf Normalverteilung angewendet. Wenn die Kolmogorov-Smirnov'sche D-Statistik Signifikanzniveau erreicht ($p\text{-Niveau} \leq 0,05$), dann wurde die Hypothese abgelehnt, dass die vorliegende Verteilung eine Normalverteilung ist. Für diesen Fall wurde mittels Logarithmierung eine Transformation der Zufuhr- und Messwerte vorgenommen und der Kolmogorov-Smirnov-Einstichprobentest auf Normalverteilung wiederholt. Bei vorliegender Normalverteilung aller zu vergleichender Gruppen wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) vorgenommen, um die Signifikanz von Mittelwertdifferenzen zu testen. Bei nicht-normalverteilten Werten wurde der Kruskal-Wallis-ANOVA-Test der Ränge (Rangvarianzanalyse) durchgeführt. Als Post hoc-Test wurde der Tukeys Honest Significant Difference-Test (HSD) eingesetzt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Allgemeine und anthropometrische Daten

3.1.1 Allgemeine Daten

Wie bereits unter Kap. 2.1.2.3 erläutert wurden in der eigenen Studie sowohl Probanden mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum von über 70,1 g Alkohol als auch Probanden mit gelegentlichem, exzessivem Alkoholkonsum (sog. Binge-drinking) ausgeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien wie bestimmte Erkrankungen oder die Einnahme bestimmter Medikamente sind unter 2.1.2.3 aufgelistet. In die Untersuchung wurden damit insgesamt 284 Personen aufgenommen. Davon waren 62 in Gruppe 1 mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum bis 5,0 g (22 %), 175 in Gruppe 2 mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum von 5,1 bis 30,0 g (62 %) und 47 in Gruppe 3 mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum von 30,1 bis 70,0 g (17 %) (vgl. Tab. 3.1, S. 70 und Abb. 3.1). Insgesamt 14 Probanden mussten aus der Bewertung ausgeschlossen werden, davon 4 wegen sog. Binge-drinking, 6 wegen sehr starken Alkoholkonsums ($> 70,1$ g Alkohol pro Tag), 3 aufgrund eines durchgemachten Herzinfarkts oder Schlaganfalls, 6 wegen Einnahme von Lipidsenkern, ein Proband wegen Änderung der Trinkgewohnheiten und ein Proband wegen unzuverlässiger Angaben beim Interview, wobei teilweise mehrere Ausschlusskriterien pro Proband zutreffend waren.

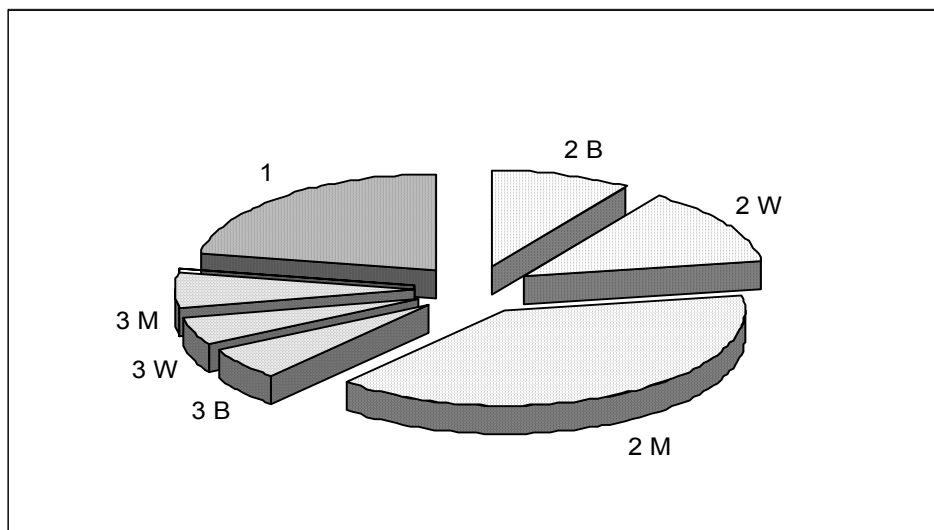


Abb. 3.1: Zahlenmäßige Verteilung der Probanden in den einzelnen Gruppen: Gruppe 1: Alkoholabstinenz oder sehr niedriger täglicher Alkoholkonsum, Gruppe 2: moderater Alkoholkonsum, Gruppe 3: höherer Alkoholkonsum, B: über 80 % der aufgenommenen Alkoholmenge als Bier, W: über 80 % der aufgenommenen Alkoholmenge als Wein (vgl. Kap. 2.1.2.1).

3.1.2 Alter

Tabelle 3.1 und Abbildung 3.2 sind zu entnehmen, dass die Probanden der Gruppe 3 mit $47,8 \pm 10,2$ Jahren sowohl im Vergleich zur Gruppe 1 ($42,0 \pm 8,7$ Jahre), als auch zur Gruppe 2 ($43,2 \pm 10,5$ Jahre) signifikant älter waren ($p < 0,05$). Damit nahmen die älteren Probanden der eigenen Studie im Durchschnitt mehr Alkohol zu sich als dies bei den jüngeren Probanden der Fall war (vgl. Tab. 3.1, S. 70, und Abb. 3.2).

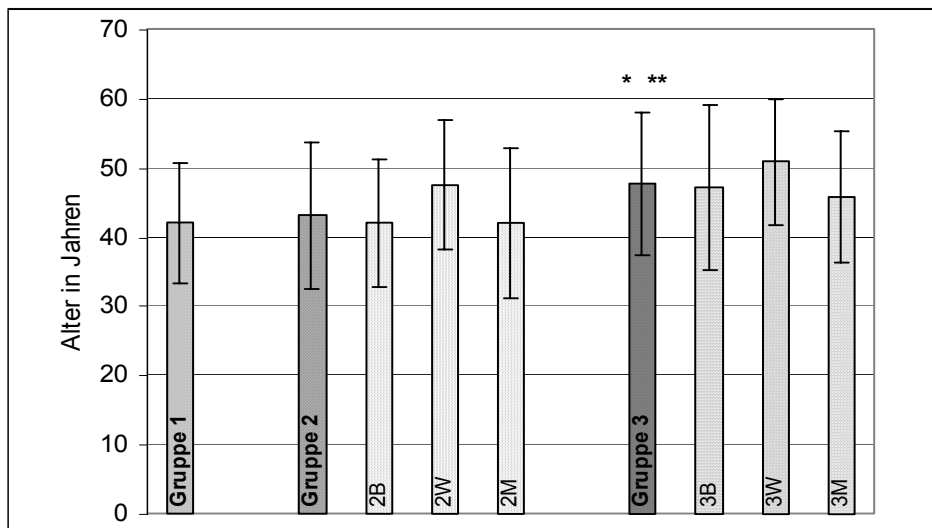


Abb. 3.2 Alter der Probanden in den Gruppen 1 bis 3, einschließlich der Untergruppen (vgl. Kap. 2.1.2.1), angegeben in Jahren (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 1, ** signifikant mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 2.

3.1.3 Body-Mass-Index (BMI)

Ein Gewichtskriterium ist der Body-Mass-Index (BMI), der sich aus dem Quotienten von Körpergewicht (in kg) und dem Quadrat der Körperhöhe (in m^2) errechnet. Der BMI betrug bei den Probanden der eigenen Studie (Gruppen 1 bis 3) $25,1 \pm 3,3 \text{ kg/m}^2$ und war damit knapp über dem Normbereich, der von der DGE für Erwachsene auf 18,5 bis $24,9 \text{ kg/m}^2$ festgelegt wurde (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Die Gruppe 3 hatte im Vergleich zur Gruppe 2 einen signifikant höheren Body-Mass-Index (+ 5 %, $p < 0,05$) (vgl. Tab. 3.1, S. 70 und Abb. 3.3).

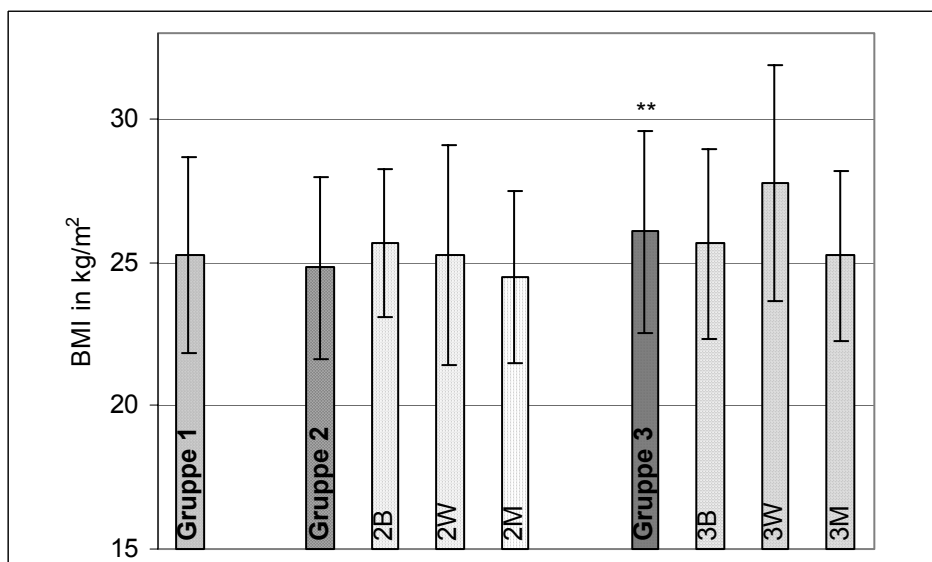


Abb. 3.3 BMI (Body-Mass-Index) der Probanden in den Gruppen 1 bis 3, einschließlich der Untergruppen (vgl. Kap. 2.1.2.1), angegeben in kg/m^2 (Mittelwert $\pm$ SD); ** signifikant mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 2.

	Gruppe 1	Gruppe 2	2 B	2 W	2 M	Gruppe 3	3 B	3 W	3 M
Anzahl der Personen (Anteil in %)	63 (22,2%)	174 (61,3%)	27 (15,4%)	37 (21,1%)	111 (63,4%)	47 (16,5%)	16 (34,0%)	13 (27,7%)	18 (38,3%)
Alter in Jahren	42,0 ± 8,7	43,2 ± 10,5	42,0 ± 9,2	47,5 ± 9,4	42,0 ± 10,8	47,8 ± 10,2	47,3 ± 11,8	50,9 ± 9,1	45,9 ± 9,5
log(Alter)	1,614 ± 0,091	1,621 ± 0,108				1,668 ± 0,098 ^{1,2}			
Gewicht in kg	80,5 ± 12,9	79,9 ± 11,7	82,2 ± 9,6	80,9 ± 13,5	79,0 ± 11,5	82,3 ± 12,4	82,6 ± 14,1	87,2 ± 12,4	78,5 ± 10,0
Größe in cm	178,4 ± 6,6	179,3 ± 6,3	179 ± 6,9	178,9 ± 6,7	179,5 ± 6,1	177,6 ± 6,8	179,1 ± 7,1	177,5 ± 6,6	176,4 ± 6,9
BMI in kg/m ²	25,2 ± 3,4	24,8 ± 3,2	25,7 ± 2,6	25,3 ± 3,8	24,5 ± 3,0	26,1 ± 3,5	25,6 ± 3,3	27,8 ± 4,1	25,2 ± 3,0
log(BMI)	1,400 ± 0,056	1,391 ± 0,053				1,412 ± 0,057 ²			
Raucher (mind. 1 Zig./Tag) in %	14,5	9,7	18,5	0,0	10,8	25,5 ²	37,5	7,7	27,8
Zigaretten/Tag	3,1 ± 8,4	0,9 ± 3,7	1,9 ± 5,3	0,0	1,0 ± 3,8	4,2 ± 8,7 ²	7,3 ± 10,2	0,2 ± 0,8	4,5 ± 9,6

¹signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

²signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

Tab. 3.1: Allgemeine und anthropometrische Daten der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	Norm-bereich	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
MCV in fL	80 - 96	87,6 ± 3,1	89,1 ± 3,3 ¹	88,7 ± 4,1	89,1 ± 4,1	89,2 ± 3,1	90,6 ± 4,0 ^{1,§§}	90,6 ± 3,4	90,7 ± 4,5	90,6 ± 4,4
Leukozyten in GIGA/L	4,4 - 11,3	5,93 ± 1,54	5,72 ± 1,58	6,04 ± 2,20	5,69 ± 1,33	5,65 ± 1,48	6,01 ± 1,56	5,96 ± 1,68	6,23 ± 1,53	5,90 ± 1,54
Thrombozyten in GIGA/L	150 - 450	243 ± 47	253 ± 58	239 ± 54	259 ± 51	254 ± 61	248 ± 61	229 ± 61	252 ± 57	262 ± 62
BSG in mm/h	1 - 20	6,27 ± 5,16	6,55 ± 6,05	5,69 ± 4,58	7,72 ± 9,17	6,37 ± 5,00	7,32 ± 6,37	6,44 ± 3,22	9,92 ± 11,52	6,25 ± 4,81
CRP in mg/dL	0,1 - 0,5	0,46 ± 0,40	0,43 ± 0,43	0,38 ± 0,35	0,37 ± 0,24	0,47 ± 0,49	0,61 ± 0,65	0,48 ± 0,24	0,91 ± 1,08	0,49 ± 0,43
hs-CRP in mg/L		2,31 ± 4,80	2,34 ± 6,05	1,79 ± 4,95	1,79 ± 1,77	2,66 ± 7,14	3,14 ± 8,33	1,64 ± 1,09	6,81 ± 14,81	1,45 ± 1,01
AST in U/L	2 - 19	12,4 ± 2,7	12,9 ± 3,8	12,4 ± 2,3	13,3 ± 5,0	12,8 ± 3,6	13,6 ± 3,0	13,4 ± 2,4	13,9 ± 3,8	13,4 ± 3,0
ALT in U/L	5 - 24	17,5 ± 6,2	17,5 ± 8,4	17,8 ± 6,8	19,0 ± 11,8	16,9 ± 7,4	19,0 ± 6,6	20,6 ± 6,1	20,2 ± 8,2	16,8 ± 5,6
gamma-GT in U/L	6 - 28	13,1 ± 7,9	14,2 ± 8,9	16,0 ± 12,1	16,4 ± 10,3	13,0 ± 7,2	27,4 ± 37,4 [§]	40,1 ± 58,8	26,4 ± 24,1	16,9 ± 7,4
AST/ALT-Quotient		0,75 ± 0,18	0,78 ± 0,19	0,74 ± 0,16	0,77 ± 0,21	0,80 ± 0,19	0,76 ± 0,21	0,69 ± 0,19	0,73 ± 0,19	0,85 ± 0,21
Alkalische Phosphatase in U/L	50 - 180	88 ± 21	85 ± 21	83 ± 19	84 ± 25	86 ± 21	93 ± 19	98 ± 20	92 ± 21	89 ± 17
Bilirubin, gesamt in mg/dL	0,2 - 1,4	0,89 ± 0,57	0,84 ± 0,42	0,86 ± 0,49	0,81 ± 0,39	0,84 ± 0,42	0,75 ± 0,27	0,73 ± 0,21	0,76 ± 0,33	0,75 ± 0,30
Quick-Wert in %	70 - 100	92,1 ± 7,1	92,5 ± 7,1	92,4 ± 6,5	94,9 ± 5,0	91,7 ± 7,8	93,8 ± 8,7	93,9 ± 6,2	90,9 ± 13,7	95,5 ± 6,2
dto. Ausschluss Marcumar	70 - 100	92,1 ± 7,1	92,7 ± 6,1	92,4 ± 6,5	94,8 ± 5,0	92,1 ± 6,3	94,7 ± 6,1	93,9 ± 6,2	94,6 ± 6,4	95,5 ± 6,2
Fibrinogen	180 - 350	280,6 ± 44,8	283,4 ± 53,2	267,6 ± 56,9	284,4 ± 52,6	286,6 ± 52,4	295,0 ± 53,3	281,3 ± 32,1	309,5 ± 54,3	296,8 ± 66,6
Harnsäure in mg/dL	3,5 - 8,5	5,17 ± 1,35	4,88 ± 1,41	5,19 ± 1,28	4,82 ± 1,83	4,84 ± 1,27	4,76 ± 1,31	4,87 ± 1,77	4,47 ± 1,03	4,90 ± 1,20
Serum-Albumin in g/dL	3,5 - 5,0	4,10 ± 0,31	4,18 ± 0,29	4,20 ± 0,28	4,13 ± 0,27	4,19 ± 0,30	4,11 ± 0,33	4,18 ± 0,32	4,02 ± 0,36	4,12 ± 0,32
Magnesium in mmol/L	0,70 - 1,00	0,82 ± 0,06	0,82 ± 0,06	0,81 ± 0,07	0,83 ± 0,06	0,83 ± 0,06	0,85 ± 0,07	0,86 ± 0,07	0,80 ± 0,04	0,87 ± 0,08

¹signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

^{§§}signifikant mit p < 0,001 vs. Gruppe 2

¹signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

^{||}signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

[§]signifikant mit p < 0,0005 vs. Gruppe 1

Tab. 3.2: Klinisch-chemische Parameter der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	"Biertrinker Gr. 2+3"	"Weintrinker Gr. 2+3"	"Mischtrinker Gr. 2+3"
Anzahl der Personen (Anteil in %)	41 (= 18,5%)	50 (= 22,5%)	131 (= 59,0%)
Alter in Jahren	43,8 ± 10,6	48,4 ± 9,3	42,5 ± 10,7
log(Alter)	1,628 ± 0,110	1,676 ± 0,088 ^m	1,615 ± 0,110 ^w
Gewicht in kg	82,3 ± 13,4	82,6 ± 13,4	79,0 ± 11,2
Größe in cm	179,5 ± 6,7	178,5 ± 6,6	179,0 ± 6,4
BMI in kg/m ²	25,5 ± 2,8	25,9 ± 4,0	24,6 ± 3,0
Alkohol in g/Tag	27,0 ± 17,0 ^m	22,3 ± 15,1	20,1 ± 11,3 ^b
Raucher (mind. 1 Zig./Tag) in %	24,4 ^w	2,0 ^{m,b}	13,7 ^w
Zigaretten/Tag	3,8 ± 7,9 ^w	0,1 ± 0,4 ^{m,b}	1,5 ± 5,1 ^w

^w signifikant mit $p < 0,05$ im Vergleich zur Gruppe der Weintrinker

^m signifikant mit $p < 0,05$ im Vergleich zur Gruppe der Mischtrinker

^b signifikant mit $p < 0,05$ im Vergleich zur Gruppe der Biertrinker

Tab. 3.1A: Allgemeine und anthropometrische Daten der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

	Norm-bereich	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
MCV in fL	80 - 96	89,5 ± 3,9	89,5 ± 3,7	89,4 ± 3,3
Thrombozyten in GIGA/L	150 - 450	238,9 ± 55,3	257,0 ± 52,5	254,2 ± 61,1
CRP in mg/dL	0,1 - 0,5	0,42 ± 0,33	0,51 ± 0,62	0,47 ± 0,48
hs-CRP in mg/L		2,08 ± 4,94	3,53 ± 9,42	2,82 ± 7,53
AST in U/L	2 - 19	12,8 ± 2,3	13,5 ± 4,7	13,0 ± 3,6
ALT in U/L	5 - 24	18,6 ± 6,5	19,3 ± 10,9	17,0 ± 7,2
gamma-GT in U/L	6 - 28	25,4 ± 39,2	19,0 ± 15,5	13,7 ± 7,3
AST/ALT-Quotient		0,71 ± 0,17	0,75 ± 0,20	0,82 ± 0,20
Alkalische Phosphatase in U/L	50 - 180	88,7 ± 20,9	86,0 ± 23,9	86,3 ± 20,1
Bilirubin, gesamt in mg/dL	0,2 - 1,4	0,83 ± 0,41	0,80 ± 0,37	0,82 ± 0,41
Quick-Wert in %	70 - 100	92,8 ± 6,3	93,9 ± 7,9	92,3 ± 7,7
dto. Ausschluss Marcumar	70 - 100	92,8 ± 6,3	94,8 ± 5,3	92,6 ± 6,4
Fibrinogen	180 - 350	275,7 ± 47,8	287,0 ± 51,9	283,7 ± 50,6
Harnsäure in mg/dL	3,5 - 8,5	5,41 ± 1,38	4,82 ± 1,90	4,89 ± 1,27
Serum-Albumin in g/dL	3,5 - 5,0	4,21 ± 0,30	4,13 ± 0,29	4,19 ± 0,31
Magnesium in mmol/L	0,70 - 1,00	0,83 ± 0,07	0,82 ± 0,05	0,83 ± 0,07

¹ signifikant mit $p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe

² signifikant mit $p < 0,05$ im Vergleich zu Gruppe 2

¹ signifikant mit $p < 0,0001$ im Vergleich zur Kontrollgruppe

¹¹ signifikant mit $p < 0,0001$ im Vergleich zu Gruppe 2

Tab. 3.2A: Klinisch-chemische Parameter im Blut der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

3.1.4 Rauchen

Von den 284 Probanden waren insgesamt 38 Personen Raucher, davon rauchten 3 Probanden pro Tag 1 Zigarette, 2 Probanden pro Tag 2 Zigaretten und 4 Probanden täglich 3 Zigaretten oder die einer Zigarette entsprechende Menge Tabak. 29 Probanden rauchten 5 Zigaretten und mehr. Starke Raucher nach der Definition der WHO (mehr als 20 Zigaretten pro Tag) waren 7 Probanden (18 % der Raucher). Während 9 Raucher der Gruppe 1 zugeordnet wurden (14,5 %), fanden sich 17 Raucher in Gruppe 2 (9,7 %) und 12 Raucher in Gruppe 3 (25,5 %). Zwischen Gruppe 2 und 3 waren die Unterschiede signifikant ($p < 0,05$) (vgl. Tab. 3.1).

3.1.5 Rolle des Getränketyps

Nach der Art der bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränke wurde eine Unterteilung in „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“ vorgenommen (vgl. Kapitel 2.1.2.2). Die entsprechenden allgemeinen und anthropometrischen Daten sind der Tabelle 3.1A zu entnehmen. Von den insgesamt 222 Personen waren 41 „Bier-“ (18 %), 50 „Wein-“ (23 %) und 131 Personen „Mischtrinker Gr. 2+3“ (59 %).

Bei den Probanden der Gruppen 2 bzw. 3 errechnete sich jeweils kein Zusammenhang zwischen der Menge an getrunkenem Alkohol und der Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks. Wurden jedoch die Personen der Gruppen 2 und 3, die überwiegend Bier tranken zusammengefasst („Biertrinker Gr. 2+3“), so war der durchschnittliche tägliche Alkoholkonsum von $27,0 \pm 17,0$ g höher als bei den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ ($20,1 \pm 11,3$ g/Tag, + 35 %, $p < 0,05$), unterschied sich jedoch nicht signifikant von den „Weintrinkern Gr. 2+3“ mit $22,3 \pm 15,1$ g/Tag (vgl. Tab. 3.1A, S. 71).

In Bezug auf Alter und BMI war zwischen den „Bier-“ und „Weintrinkern Gr. 2+3“ (vgl. 2.1.2.2) kein Unterschied. Die „Weintrinker Gr. 2+3“ hatten im Vergleich zu den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ ein höheres Alter (+ 14 %, $p < 0,05$) sowie im Vergleich zu den „Biertrinkern Gr. 2+3“ sowie den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ einen niedrigeren Anteil an Rauchern (- 92 % bzw. - 85 %, $p < 0,005$ bzw. $p < 0,05$). Während die „Biertrinker Gr. 2+3“ im Mittel $3,8 \pm 7,9$ Zigaretten pro Tag rauchten, waren es bei den „Weintrinkern Gr. 2+3“ nur $0,1 \pm 0,4$ und bei den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ $1,5 \pm 5,1$ Zigaretten pro Tag („Biertrinker Gr. 2+3“ vs. „Weintrinker Gr. 2+3“ $p < 0,005$, „Biertrinker Gr. 2+3“ vs. „Mischtrinker Gr. 2+3“ $p < 0,05$).

3.2 Klinisch-chemische Parameter

Die im Blut der Probanden gemessenen klinisch-chemischen Parameter der einzelnen Gruppen sind in Tab. 3.2 (mit Untergruppen, S. 70) und Tab. 3.2A (aufgeschlüsselt nach bevorzugt konsumiertem alkoholhaltigen Getränketyp, S. 71) dargestellt.

3.2.1 Blutbild

Das **MCV** (mean corpuscular volume) gibt das mittlere Volumen des einzelnen Erythrozyten an (Hämatokrit/Erythrozytenzahl) und ist bei sehr starkem Alkoholkonsum erhöht. Diese Messgröße war im Durchschnitt bei allen Personen im Normbereich, nur bei vier Personen wurde ein Wert außerhalb des Normbereichs von 96 fL gemessen: von diesen waren alle vier in Gruppe 3 (entsprechend 9 %). Jedoch war bei den Probanden der Gruppe 3 das mittlere Zellvolumen der Erythrozyten (MCV) höher als bei den Probanden der Gruppe 1 (+ 3,4 %, $p < 0,0001$) sowie der Gruppe 2 (+ 1,7 %, $p < 0,001$). Während in der Gruppe 1 nur 2 % der Probanden ein MCV von 95 fL und mehr hatten, waren es 6 % in der Gruppe 2 und 19 % in der Gruppe 3 (vgl. Tab. 3.2 und Abb. 3.4).

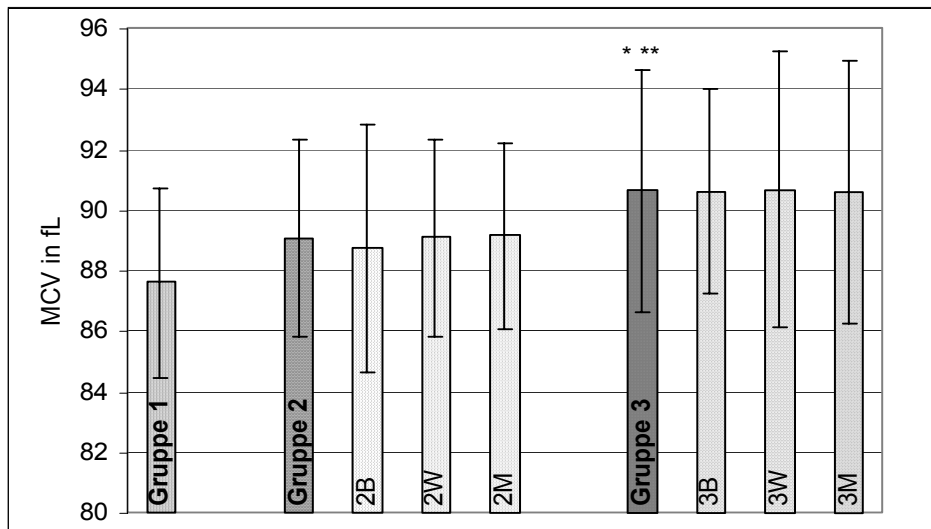


Abb. 3.4 Mittleres Volumen des einzelnen Erythrozyten (MCV) im Blut der Probanden der Gruppen 1 bis 3, unter Einschluss der Untergruppen (vgl. Kap. 2.1.2.1), angegeben in fL (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,0001$ vs. Gruppe 1, ** signifikant mit $p < 0,001$ vs. Gruppe 2.

Die Probanden dieser Studie (Gruppe 1 bis 3) hatten mit $5,8 \pm 1,6 \times 10^6/L$ im Mittel weder eine erhöhte Zahl von **Leukozyten** im Blut noch konnten Unterschiede bezüglich der Leukozytenzahl zwischen den Gruppen 1 bis 3 errechnet werden. Alle drei Probanden mit einer Leukozytenzahl von über 10.000 pro mm^3 Blut, davon ein Proband aus Gruppe 1 und drei Probanden aus Gruppe 2, hatten im Rahmen des Ernährungsinterviews einen aktuellen Infekt angegeben. Da infektiöse Prozesse meist mit einem Anstieg der Zahl von Leukozyten im Blut verbunden sind, konnte bei diesen Probanden nicht von einem Zusammenhang der erhöhten Leukozytenzahl im Blut mit Alkoholhepatitis ausgegangen werden. Bei Patienten mit Alkoholhepatitis und -zirrhose kann bei der Granulozytopenie (Bildung und Entwicklung der Granulozyten) eine Vermehrung der Leukozytenzahl im Blut über $10 \times 10^6/L$ ($10.000 / mm^3$) mit einem vermehrten Auftreten von Metamyelozyten (stabkernigen und jugendlichen Granulozyten), einer sog. Linksverschiebung – ohne gleichzeitig bestehende bakterielle Infektion – in etwa 20 bis 40 % der Fälle auftreten (Meuret et al. 1976). Als Ursache wird die bei diesen Patienten häufig nachweisbare Endotoxinämie angesehen.

Bei akuter Alkoholintoxikation kommt es zu einer Verminderung der Zahl an **Thrombozyten** (Thrombopenie). Diese ist unter Abstinenz innerhalb einiger Tage bis Wochen reversibel. Die Thrombopenie wird auf eine direkt toxische Wirkung des Alkohols und einen erhöhten Thrombozytenverbrauch in der Peripherie zurückgeführt. Die Zahl der gemessenen Thrombozyten war mit $250 \pm 56 \times 10^6/L$ bei den Probanden der Gruppen 1 bis 3 im Mittel innerhalb des Normbereichs (vgl. Tab. 3.2). Werte unter $150 \times 10^6/L$ hatten nur zwei Probanden: je einer aus Gruppe 1 und Gruppe 2. Zwischen den drei Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede.

3.2.2 Leberenzyme

Hohe Serumwerte an dem Enzym **γ -GT** (γ -Glutamyltransferase), welches überwiegend in Leber und Nieren vorkommt, legen einen Verdacht auf Erkrankungen der Leber (wie Hepatitis, Fettleber, Lebertumore), Gallenwege (z.B. Cholestase), Pankreatitis nahe. γ -GT kann ohne jedes Vorliegen einer Lebererkrankung erhöht sein, da die Bildung dieses Enzyms durch Alkohol induziert wird. Leicht bis mäßig erhöhte Aktivität der Transaminasen im Blut mit einem Quotienten ASAT:ALAT über 1 deuten auf eine alkoholbedingte Lebererkrankung

hin (Renner 1992). In Bezug auf die Aktivität der γ -GT im Serum der Probanden war der Mittelwert bei der Untergruppe 3 B (Alkoholkonsum hauptsächlich in Form von Bier) mit 40,1 Units/L außerhalb des Normbereichs. Zwischen der Gruppe 1 ($13,1 \pm 7,9$ Units/L) und der Gruppe 3 ($27,4 \pm 37,4$ Units/L) wurde ein signifikanter Unterschied errechnet ($p < 0,0005$) (vgl. Abb. 3.5).

Die **Alkalische Phosphatase (AP)** ist ein zu den Esterasen gehörendes Enzym, das v.a. in der Leber vorkommt und das organische Phosphorsäuremonoester bei einem pH-Optimum von 7-8 spaltet. Bei Lebererkrankungen und gelegentlich auch bei Alkoholhepatitis mit Störungen im Bereich der Gallengänge gelangt das Enzym AP bei Zelluntergang ins Blut. In der eigenen Studie wurde die Aktivität der AP im Serum der Probanden der Gruppen 1 bis 3 im Mittel zu 87 ± 21 Units/L berechnet. Ein Wert oberhalb des Normbereichs von über 180 Units/L war bei keinem der Probanden zu messen. Demnach gab es bei keinem der Studienteilnehmer einen Hinweis auf eine solche Form der Lebererkrankung oder Alkoholhepatitis. Zwischen den Gruppen 1 bis 3 ließen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede errechnen (vgl. Tab. 3.2).

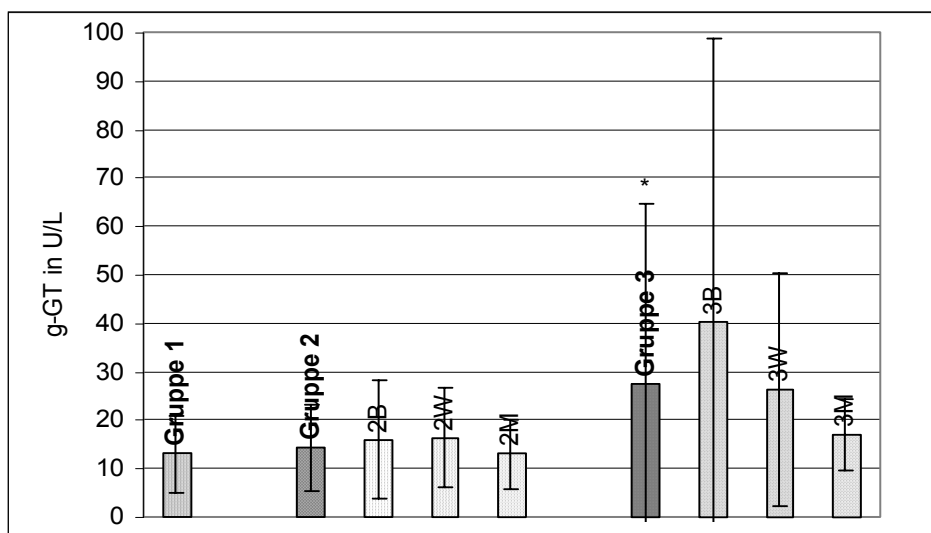


Abb. 3.5: Aktivität der γ -GT (γ -Glutamyltransferase) im Blut der Probanden der Gruppen 1 bis 3, unter Einschluss der Untergruppen (vgl. Kap. 2.1.2.1), angegeben in U/L (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,0005$ vs. Gruppe 1.

3.2.3 Entzündungsparameter

Die Arterioskleroseforschung hat gezeigt, dass der Prozess der Gefäßwandschädigung mit entzündlichen Veränderungen (Einwanderung von Makrophagen, Ausschüttung von Entzündungsmediatoren) einhergeht. Entzündliche Veränderungen lassen die Entzündungsparameter im Blut ansteigen. Biomarker für Entzündungen sind u.a. eine Beschleunigung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit **BSG** (> 20 mm/h) oder der Anstieg der Konzentration von Akut-Phase-Proteinen wie z.B. C-reaktivem Protein **CRP** ($> 0,5$ mg/dL). In der eigenen Studie konnten bezüglich der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen sowie der Konzentration von C-reaktivem Protein im Serum der Probanden im Durchschnitt keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen errechnet werden. Eine BSG von über 20 mm/h wurde bei Blutproben von zwei Probanden aus der Gruppe 1 (3 %), 7 aus Gruppe 2 (4 %) und 2 aus Gruppe 3 (5 %) gemessen, eine BSG von über 15 mm/h bei 6 % der Probanden aus Gruppe 1, 9 % aus Gruppe 2 bzw. 5 % aus Gruppe 3. Konzentrationen von CRP von über 0,5 mg/dL waren bei 35 % der Probanden aus Gruppe 1, 29 % der Probanden aus Gruppe 2 und 45 % der Probanden aus Gruppe 3 im Serum zu messen. Bei 8, 6 bzw. 11 % der

Probanden aus Gruppe 1, 2 bzw. 3 waren die Werte für C-reaktives Protein (CRP) im Serum größer als 1 mg/dL (vgl. Tab. 3.2). In einem hochempfindlichen Testverfahren wurde mittels Immunoassay die Konzentration dieses Proteins im Serum der Probanden gemessen. Dieser Parameter („hochsensitives“ C-reaktives Protein, **hs-CRP**) war bei den Probanden der Gruppen 1 bis 3 vergleichbar. Zusammenfassend konnten die Messungen der Entzündungsparameter Blutkörperchen-Senkungsgeschwindigkeit BSG, C-reaktives Protein CRP und hochsensitives C-reaktives Protein hs-CRP bei den Probanden der Gruppen 1 bis 3 keine Hinweise auf Entzündungen in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum liefern.

3.2.4 Gerinnungswerte

Gerinnungsfaktoren haben einen Einfluss auf den Blutstrom und können zur Anlagerung von Gerinnseln an die Gefäßwand beitragen. Die **Thromboplastinzeit** (Prothrombinzeit) wird als sog. Quick-Wert in Prozent der Gerinnungszeit eines Referenznormalplasmas angegeben. Chronischer Alkoholmissbrauch führt durch eine Störung der Leberfunktion zu einer Verzögerung der Gerinnungszeit. Es resultiert sowohl eine Abnahme der Zahl als auch eine Störung der Funktion der Thrombozyten (Lee et al. 2003). **Fibrinogen** ist ein weiterer Faktor der Blutgerinnung. In einigen Studien wurde eine inverse Korrelation der Konzentration von Fibrinogen im Plasma und der Höhe des Alkoholkonsums gemessen – in einer Metastudie (Rimm et al. 1999) konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang errechnet werden (mittlere Abnahme bei einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum von 30 g um 7,5 mg/dL, 95% CI: -17,7-32,7). In der eigenen Studie war bezüglich der von uns gemessenen Gerinnungsparameter im Mittel kein Unterschied zwischen den Gruppen 1 bis 3 messbar (vgl. Tab. 3.2).

3.2.5 Weitere klinisch-chemische Parameter

Der klinisch-chemische Parameter **Bilirubin** (Grenzwert Serum: 34 μ mol/L = 2,0 mg/dL) ist eine gute Messgröße für die Konjugations- und Ausscheidungsfunktion der Leber. Der Grenzwert von Bilirubin im Serum von 2,0 mg/dL (34 μ mol/L) wurde in jetziger Studie in Gruppe 1 bei 5 %, in Gruppe 2 bei 3 % und in Gruppe 3 bei 0 % der Probanden überschritten; über 1,5 mg/dL Bilirubin im Serum hatten 6 %, 7 % bzw. 0 % der Probanden in Gruppe 1, 2 bzw. 3. Ein Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Alkohol und der Konzentration von Gesamt-Bilirubin im Serum der Probanden war nicht zu erkennen.

Die Konzentration von **Harnsäure** im Plasma betrug im Durchschnitt bei den Probanden dieser Studie $5,0 \pm 1,4$ mg/dL und war damit innerhalb des Normbereichs von 3,5-8,5 mg/dL. Zwischen den Probanden der Gruppen 1 bis 3 waren keine signifikanten Unterschiede zu errechnen. Bei 7 Probanden wurde im Plasma ein höherer Wert für Harnsäure als 7,5 mg/dL gemessen, dies entspricht 2,5 % des Probandenkollektivs. Bei Trinkmengen von 50-70 g Alkohol / Tag kann es infolge einer Laktatazidose bei entsprechender Veranlagung zu erhöhten Harnsäurekonzentrationen im Plasma kommen.

In jetziger Studie waren durchschnittlich sowohl das **Serumalbumin** mit 42 ± 3 g/L als auch das Gesamtprotein mit 73 ± 4 g/L innerhalb des Referenzbereichs (35-52 bzw. 62-80 g/L). Zwischen den Gruppen 1 bis 3 traten keine signifikanten Unterschiede hervor. Einen Albuminspiegel von 35 g/L und weniger hatten 1 Proband aus Gruppe 1 (2 %), 3 Probanden aus Gruppe 2 (2 %) und 2 Probanden aus Gruppe 3 (4 %).

Bei Menschen mit überhöhtem Alkoholkonsum tritt als Folge einer erhöhten renalen Ausscheidung und von Durchfällen häufig ein erniedrigter **Magnesium**spiegel im Serum auf. In der eigenen Studie war bei den Probanden der Gruppe mit dem höchsten Alkoholkonsum (Gruppe 3) im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen keine niedrigere Konzentration von Magnesium im Serum zu errechnen.

Bezüglich aller anderen untersuchten klinisch-chemischen Parameter (Nüchtern-glucose im Serum, Calcium im Serum, Eisen im Serum, Kreatinin im Serum, Aktivität der Enzyme Lipase und Creatinkinase im Serum, Transferrin im Serum, Ferritin im Serum) waren die Werte im Normbereich und unterschieden sich nicht signifikant zwischen den untersuchten Gruppen.

3.3 Ernährungsanamnese

3.3.1 Energiezufuhr, Nährwertrelationen mit bzw. ohne Alkohol, Zufuhr ausgewählter Nährstoffe (Fettsäuren, Cholesterin und Ballaststoffe)

Die Auswertung der Ernährungsanamnesen nach dem Bundeslebensmittelschlüssel (Klemm et al. 2000) (vgl. 2.2) führte zu den in Tabellen 3.3 und 3.3A (aufgeschlüsselt nach „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“) aufgeführten Werten.

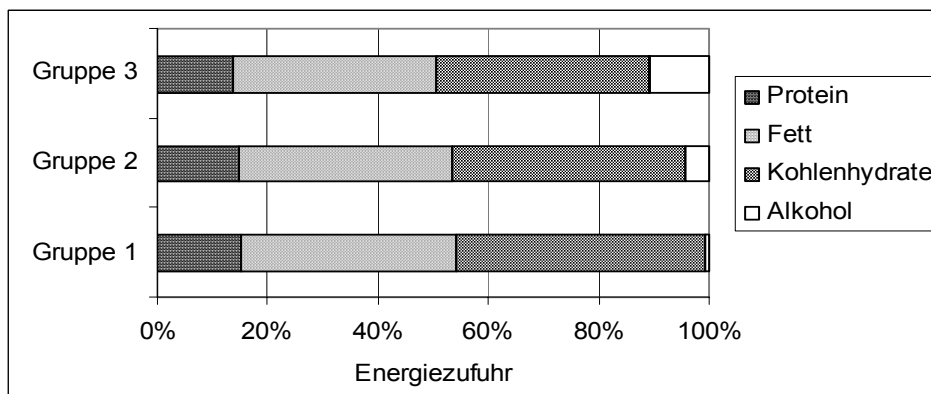


Abb. 3.6: Nährwertrelationen mit Berücksichtigung der Alkoholkalorien bei den Probanden der Gruppen 1 bis 3 (vgl. Kap. 2.1.2.1), angegeben in %.

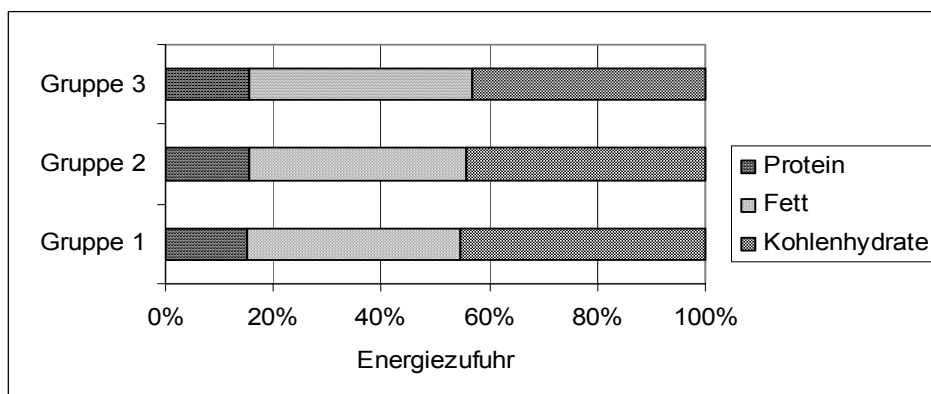


Abb. 3.7: Nährwertrelationen ohne Berücksichtigung der Alkoholkalorien bei den Probanden der Gruppen 1 bis 3 (vgl. Kap. 2.1.2.1), angegeben in %.

3.3.1.1 Energiezufuhr

Die Zufuhrempfehlung für gesunde Erwachsene mit überwiegend sitzender Tätigkeit wurde von der DGE für Männer zwischen 19 und 25 Jahren auf 2600 kcal/Tag, für Männer zwischen 26 und 50 Jahren auf 2400 kcal/Tag und für Männer zwischen 51 und 65 Jahren auf 1900 kcal/Tag festgelegt (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). In Tab. 3.4.1 wurde die Energieaufnahme bei den Probanden der eigenen Studie (Gruppen 1 bis 3) den Daten des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) gegenübergestellt, in dem das

Robert Koch-Institut für das Jahr 1998 bei 1.763 Männern nach 6 Altersgruppen aufgeschlüsselt repräsentative Angaben zum Ernährungsverhalten in Deutschland erhob.

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Energiezufuhr in kcal/Tag		Ernährungssurvey Energiezufuhr in kcal/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	2.964 $\pm$ 371	3	3.388 $\pm$ 1.052	205
25-34	2.823 $\pm$ 513	62	2.917 $\pm$ 906	340
35-44	2.708 $\pm$ 423	101	2.723 $\pm$ 755	382
45-54	2.676 $\pm$ 381	65	2.495 $\pm$ 730	277
55-64	2.681 $\pm$ 396	49	2.239 $\pm$ 602	346
65-79	2.708 $\pm$ 292	4	2.101 $\pm$ 621	213

Tab. 3.4.1: Energiezufuhr in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

In der eigenen Studie hatten die Probanden der Gruppen 1 bis 3 bei einem Durchschnittsalter von 44 ± 10 Jahren eine mittlere Energieaufnahme von 2720 ± 430 kcal/Tag (mit Alkohol) bzw. 2600 ± 440 kcal/Tag (ohne Alkohol). Daraus ergab sich für die Studienteilnehmer im Mittel eine ähnlich hohe Energieaufnahme verglichen mit den Teilnehmern des Ernährungssurvey (2630 ± 750 kcal/Tag). Die Unterschiede zwischen beiden Kollektiven waren statistisch nicht relevant, so dass von einer Vergleichbarkeit beider Kollektive ausgegangen werden konnte (vgl. Tab. 3.4.1). Allerdings war die altersabhängige Abnahme der Energiezufuhr in der eigenen Studie nicht erkennbar. Die durchschnittliche Energiezufuhr war bei den Probanden beider Kollektive deutlich über den Empfehlungen der DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Die Energiezufuhr war bei den Personen der eigenen Studie unter Berücksichtigung der Alkoholkalorien in Gruppe 3 im Mittel um 7 % höher im Vergleich zur Gruppe 1 (nicht signifikant) und um 6 % höher im Vergleich zur Gruppe 2 ($p < 0,05$). Wurde dagegen bei der Energiezufuhr die Aufnahme von Energie durch Alkohol nicht berücksichtigt, so konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen errechnet werden (vgl. Tab. 3.3, S. 82, Abb. 3.6 und 3.7).

3.3.1.2 Energiebedarf

Über die Energiebedarfsberechnung nach Kleiber (Kleiber 1947) wurde der Energiebedarf unter Berücksichtigung von Größe, Gewicht, Alter und körperlicher Aktivität durch Bewegung und Sport errechnet. Der nach Kleiber berechnete Energiebedarf war bei den Probanden der eigenen Studie mit durchschnittlich 2840 ± 380 kcal/Tag 4 bzw. 9 % über der mittels Ernährungsinterview erfassten Energieaufnahme (mit/ohne Berücksichtigung der Alkoholkalorien) – ein signifikanter Unterschied konnte jedoch nicht errechnet werden.

3.3.1.3 Proteinzufuhr

Mit 1,2 g pro kg Körpergewicht war die tägliche Proteinaufnahme der Probanden der Gruppen 1 bis 3 höher als die von der DGE angegebene Empfehlung für gesunde Erwachsene von 0,8 g pro kg Körpergewicht (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Dies steht in Übereinstimmung mit der im Rahmen des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) als Teil des Bundes-Gesundheitssurvey erhobenen durchschnittlichen Zufuhr von Proteinen in Deutschland, die ebenfalls deutlich höher als die DGE-Empfehlung war. Im Unterschied zu den Probanden der eigenen Studie zeigten die Daten des Bundes-Ernährungssurvey bezüglich der Proteinzufuhr – entsprechend der Energieaufnahme – bei Männern eine Abnahme mit dem Alter. Statistisch signifikante Unterschiede waren zwischen beiden

Probandenkollektiven jedoch nicht zu errechnen. Damit waren die beiden Kollektive hinsichtlich der Proteinaufnahme vergleichbar (vgl. Tab. 3.4.2).

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Proteinaufnahme in g/Tag		Ernährungssurvey Proteinaufnahme in g/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	114,9 $\pm$ 6,5	3	127,3 $\pm$ 40,6	205
25-34	100,9 $\pm$ 20,3	62	110,3 $\pm$ 36,4	340
35-44	99,2 $\pm$ 19,3	101	105,3 $\pm$ 35,9	382
45-54	95,7 $\pm$ 15,5	65	96,8 $\pm$ 30,6	277
55-64	97,3 $\pm$ 16,2	49	88,2 $\pm$ 22,2	346
65-79	97,1 $\pm$ 16,4	4	81,7 $\pm$ 24,1	213

Tab. 3.4.2: Proteinzufuhr in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

Die Proteinzufuhr war bei den Probanden dieser Studie mit $98,6 \pm 18,1$ g vergleichbar mit den Ergebnissen des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999), bei dem die Probanden durchschnittlich $101,3 \pm 35,0$ g Protein pro Tag zuführten. In der eigenen Studie war der mittlere Anteil von Protein an der täglichen Energiezufuhr unter Berücksichtigung der Energie durch die Aufnahme von Alkohol in Gruppe 3 mit $14,1 \pm 1,8$ % niedriger als in der Gruppe 1 ($15,4 \pm 2,5$ %, $p < 0,005$) und als in Gruppe 2 ($15,0 \pm 2,1$ %, $p < 0,05$). Wurde die Energieaufnahme durch Alkohol nicht berücksichtigt, so errechneten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Proteinaufnahme zwischen den einzelnen Gruppen und Untergruppen (vgl. Tab. 3.3, Abb. 3.6 und 3.7).

3.3.1.4 Kohlenhydratzufuhr

Der Energieanteil, der durch Kohlenhydrate abgedeckt wurde, war in der eigenen Studie mit $45,2 \pm 5,8$ % (ohne Berücksichtigung der Alkoholkalorien) deutlich niedriger als die DGE-Empfehlung von 55 % der Energie (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) (vgl. Tab. 3.3). Dies stand in Übereinstimmung mit Daten des Ernährungssurvey, bei dem weniger als der Hälfte der Teilnehmer den von der DGE empfohlenen Anteil an Kohlenhydraten von 50 % der Gesamtenergie erreichten (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999). Beide Probandenkollektive waren hinsichtlich der Zufuhr von Kohlenhydraten vergleichbar, da keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen errechnet werden konnten. Die Probanden des Ernährungssurvey hatten im Gegensatz zu den Probanden der eigenen Studie entsprechend zur Energie-, Fett- und Proteinzufuhr eine mit dem Alter abnehmende Zufuhr von Kohlenhydraten (vgl. Tab. 3.4.3). Die mittlere tägliche Zufuhr von Kohlenhydraten war bei den Probanden der eigenen Studie mit $287,0 \pm 63,2$ g vergleichbar mit der Zufuhr der Probanden des Ernährungssurvey ($295,6 \pm 90,0$ g, Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999). Unter Berücksichtigung der Energieaufnahme durch Alkohol war der durch Kohlenhydrate abgedeckte Energieanteil in Gruppe 3 mit 39,3 % niedriger als in Gruppe 1 (45,9 %, $p < 0,0001$) als auch in Gruppe 2 (43,2 %, $p < 0,0001$). Zusätzlich unterscheidet sich die Gruppe 1 signifikant ($p < 0,05$) von Gruppe 2. Wurden die Alkoholkalorien jedoch nicht zur Energieaufnahme gerechnet, so konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen mehr errechnet werden (vgl. Tab. 3.3, Abb. 3.6 und 3.7).

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Kohlenhydrataufnahme in g/Tag		Ernährungssurvey Kohlenhydrataufnahme in g/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	292,9 $\pm$ 44,9	3	393,2 $\pm$ 130,8	205
25-34	307,1 $\pm$ 77,0	62	331,7 $\pm$ 117,8	340
35-44	285,8 $\pm$ 64,4	101	301,7 $\pm$ 97,4	382
45-54	276,8 $\pm$ 51,4	65	271,5 $\pm$ 89,9	277
55-64	278,9 $\pm$ 54,4	49	249,6 $\pm$ 80,1	346
65-79	268,7 $\pm$ 32,9	4	239,2 $\pm$ 79,6	213

Tab. 3.4.3: Zufuhr von Kohlenhydraten in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

3.3.1.5 Fettzufuhr

Die Probanden der eigenen Studie (Gruppen 1 bis 3) hatten im Mittel eine Fettzufuhr von 115 $\pm$ 25 g pro Tag. Damit wurden 39 bzw. 41 % der Energiezufuhr (mit bzw. ohne Alkoholkalorien) durch Fett abgedeckt – deutlich mehr als die von der DGE für Erwachsene empfohlenen 25 bis 30 % der Energieaufnahme (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Der durchschnittliche Energieanteil von Fetten in der Ernährung der Deutschen betrug im Jahr 1999 35 Prozent (Ernährungssurvey: Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999). Die Probanden der eigenen Studie hatten eine mittlere Fettzufuhr und einen mittleren Energieanteil von Fetten in der Ernährung, der vergleichbar war mit den im Rahmen des Ernährungssurvey – eine für die Ernährung der Deutschen repräsentative Erhebung – evaluierten Daten. Eine Abnahme der Fettzufuhr mit dem Alter wurde in der eigenen Studie im Unterschied zum Ernährungssurvey nicht errechnet (vgl. Tab. 3.4.4).

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Fettaufnahme in g/Tag		Ernährungssurvey Fettaufnahme in g/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	141,2 $\pm$ 20,4	3	129,2 $\pm$ 47,7	205
25-34	117,4 $\pm$ 28,4	62	111,8 $\pm$ 40,2	340
35-44	114,4 $\pm$ 23,5	101	104,9 $\pm$ 33,2	382
45-54	113,5 $\pm$ 23,6	65	94,7 $\pm$ 36,7	277
55-64	112,1 $\pm$ 26,9	49	82,2 $\pm$ 26,6	346
65-79	107,7 $\pm$ 36,7	4	75,8 $\pm$ 28,1	213

Tab. 3.4.4: Fettzufuhr in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

Die mittlere Fettzufuhr war bei den Probanden der eigenen Studie mit 114,6 $\pm$ 25,4 g vergleichbar mit den Fettzufuhr der Probanden des Ernährungssurvey von 99,5 $\pm$ 35,0 g (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999). Die Gruppen 1 bis 3 der eigenen Studie waren hinsichtlich der Zufuhr von Fett vergleichbar (vgl. Tab. 3.3, Abb. 3.6 und Abb. 3.7).

3.3.1.6 Zufuhr von Fettsäuren

Die Probanden der eigenen Studie nahmen von den täglich 105 g Fettsäuren 48 % in Form von gesättigten Fettsäuren (SFA), 35 % als einfach ungesättigte (MUFA) und 17 % als mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) zu sich. Diese Ergebnisse decken sich im Wesentlichen mit den Daten des groß angelegten Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998,

Mensink et al. 1999) in Deutschland, bei dem eine Aufnahme von 46 % der Fettsäuren als SFA, 39 % als MUFA und 15 % als PUFA errechnet wurde. Die Zufuhr von Fettsäuren war dabei entsprechend der Fettzufuhr vom Alter der Probanden abhängig.

Die Aufnahme gesättigter Fettsäuren (SFA), einfach ungesättigter Fettsäuren (MUFA) mit deren Hauptvertreter Ölsäure, sowie die Aufnahme mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PUFA) war bei den Personen aller Gruppen und Untergruppen der eigenen Studie vergleichbar.

In den folgenden Tabellen wird die Aufnahme der jeweiligen Fettsäuren bei den Probanden der eigenen Studie altersabhängig der Aufnahme der Probanden des Ernährungssurvey gegenübergestellt (vgl. Tab. 3.4.5, 3.4.6 und 3.4.7). Im Hinblick auf die Zufuhr von Fettsäuren war kein Unterschied zwischen beiden Kollektiven zu berechnen. Die im Rahmen des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) registrierte Abnahme der Zufuhr von Fettsäuren mit dem Alter wurde in der eigenen Studie nicht errechnet.

a) gesättigte Fettsäuren (SFA):

Die mittlere Tageszufuhr von gesättigten Fettsäuren (SFA) war bei den Probanden der eigenen Studie mit $50,1 \pm 13,5$ g vergleichbar mit den Ergebnissen des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999), bei dem die Probanden durchschnittlich $42,5 \pm 16,0$ g SFA pro Tag zuführten (vgl. Tab. 3.4.5).

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Aufnahme an SFA in g/Tag		Ernährungssurvey Aufnahme an SFA in g/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	$60,8 \pm 8,9$	3	$55,6 \pm 21,3$	205
25-34	$51,8 \pm 16,6$	62	$47,4 \pm 18,5$	340
35-44	$48,9 \pm 11,6$	101	$44,7 \pm 15,8$	382
45-54	$49,5 \pm 12,1$	65	$40,7 \pm 16,8$	277
55-64	$50,4 \pm 14,5$	49	$34,9 \pm 12,7$	346
65-79	$48,6 \pm 17,8$	4	$32,9 \pm 13,2$	213

Tab. 3.4.5: Aufnahme an gesättigten Fettsäuren (SFA) in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

b) einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA):

Die Probanden der eigenen Studie hatten mit durchschnittlich $37,3 \pm 8,6$ g eine mit den Probanden des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) vergleichbare Zufuhr einfach ungesättigter Fettsäuren (MUFA). Diese nahmen täglich $35,7 \pm 12,9$ g zu sich (vgl. Tab. 3.4.6).

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Aufnahme an MUFA in g/Tag		Ernährungssurvey Aufnahme an MUFA in g/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	$42,1 \pm 7,7$	3	$46,1 \pm 17,4$	205
25-34	$37,7 \pm 10,0$	62	$40,5 \pm 14,8$	340
35-44	$36,7 \pm 7,4$	101	$38,0 \pm 12,8$	382
45-54	$37,2 \pm 8,4$	65	$34,1 \pm 14,0$	277
55-64	$37,9 \pm 9,0$	49	$29,1 \pm 9,9$	346
65-79	$37,5 \pm 11,7$	4	$26,5 \pm 9,9$	213

Tab. 3.4.6: Zufuhr von einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

c) mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA):

Bezüglich der Zufuhr von mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) konnte zwischen den Probanden des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) und den Probanden der eigenen Studie keine Unterschiede errechnet werden ($14,3 \pm 7,0$ g vs. $18,0 \pm 6,4$ g). Während die Probanden der eigenen Studie in Gruppe 1 18,1 % der Fettsäuren als mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) zuführten, waren es in Gruppe 2 (moderater Alkoholkonsum) 17,1 % und in Gruppe 3 (hoher Alkoholkonsum) 15,5 % (n.s.).

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Aufnahme an PUFA in g/Tag		Ernährungssurvey Aufnahme an PUFA in g/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	$26,8 \pm 11,7$	3	$18,1 \pm 9,5$	205
25-34	$18,8 \pm 5,8$	62	$16,1 \pm 7,6$	340
35-44	$17,8 \pm 5,9$	101	$15,0 \pm 6,6$	382
45-54	$17,9 \pm 7,5$	65	$13,3 \pm 5,9$	277
55-64	$17,0 \pm 6,0$	49	$12,4 \pm 4,5$	346
65-79	$14,1 \pm 4,8$	4	$11,1 \pm 6,0$	213

Tab. 3.4.7: Zufuhr von mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PUFA) in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

d) trans-Fettsäuren (TFA):

Die Bestimmung der trans-Fettsäuren war mit dem für die Ernährungsanamnese verwendeten Computerprogramm EBIS nicht vorgesehen. Ein Grund dafür ist die starke Abhängigkeit der Bildung der trans-Fettsäuren von den Zubereitungsbedingungen, vor allem der Temperatur.

3.3.1.7 Zufuhr von Cholesterin

Bezüglich der Cholesterinaufnahme waren die Probanden der eigenen Studie (Gruppen 1 bis 3) vergleichbar.

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Cholesterinzufuhr in mg/Tag		Ernährungssurvey Cholesterinzufuhr in mg/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	$365,4 \pm 43,3$	3	$502,0 \pm 199,9$	205
25-34	$349,5 \pm 95,0$	62	$448,0 \pm 194,8$	340
35-44	$347,9 \pm 84,3$	101	$424,2 \pm 166,2$	382
45-54	$341,4 \pm 80,6$	65	$387,0 \pm 166,3$	277
55-64	$369,3 \pm 105,4$	49	$342,2 \pm 124,9$	346
65-79	$341,4 \pm 73,4$	4	$317,8 \pm 130,1$	213

Tab. 3.4.8: Aufnahme an Cholesterin in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

Bei den Probanden des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) wurde die tägliche Aufnahme von Nahrungscholesterin im Durchschnitt zu 403 ± 170 mg bestimmt, bei den Probanden der eigenen Studie im Durchschnitt zu 351 ± 89 mg Cholesterin pro Tag. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Kollektiven konnten nicht errechnet werden, so dass eine Vergleichbarkeit beider Gruppen vorlag (vgl. Tab. 3.4.8).

	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Energiezufuhr in kcal/Tag	2685 ± 421	2698 ± 441	2787 ± 484	2641 ± 536	2695 ± 395	2864 ± 392	2812 ± 381	2985 ± 468	2823 ± 342
log(Energiezufuhr)	3,424 ± 0,067	3,426 ± 0,069				3,453 ± 0,058 ²			
Energiezufuhr in MJ/Tag	11,24 ± 1,76	11,29 ± 1,85	11,67 ± 2,03	11,05 ± 2,24	11,28 ± 1,65	11,99 ± 1,64	11,77 ± 1,60	12,49 ± 1,96	11,81 ± 1,43
log(Energiezufuhr)	1,052 ± 0,021	1,054 ± 0,021				1,079 ± 0,018 ²			
Alkoholzufuhr in kcal/Tag	16 ± 11	113 ± 50 ¹	107 ± 48	106 ± 48	118 ± 52	308 ± 71 ^{1,II}	331 ± 59	307 ± 88	289 ± 65
in kJ/Tag	69 ± 46	475 ± 211 ¹	446 ± 200	443 ± 199	493 ± 217	1291 ± 297 ^{1,II}	1385 ± 248	1286 ± 369	1210 ± 270
Energiezufuhr ohne Alkohol in kcal/Tag	2669 ± 422	2585 ± 448	2681 ± 496	2536 ± 536	2577 ± 402	2556 ± 397	2481 ± 363	2678 ± 493	2533 ± 349
in MJ/Tag	11,17 ± 1,77	10,82 ± 1,88	11,22 ± 2,08	10,61 ± 2,25	10,79 ± 1,69	10,70 ± 1,66	10,38 ± 1,52	11,21 ± 2,06	10,60 ± 1,46
Energiebedarf in kcal/Tag	2835 ± 379	2836 ± 387	2936 ± 421	2777 ± 415	2831 ± 367	2856 ± 348	2866 ± 405	2964 ± 325	2770 ± 304
in kJ/Tag	11,86 ± 1,59	11,87 ± 1,62	12,29 ± 1,76	11,62 ± 1,74	11,85 ± 1,54	11,95 ± 1,46	11,99 ± 1,69	12,41 ± 1,36	11,59 ± 1,27
Energiezufuhr/-bedarf in %	94,9 ± 9,4	95,4 ± 10,9	95,1 ± 10,6	95,0 ± 10,0	95,6 ± 11,4	100,8 ± 11,4	99,5 ± 15,9	100,4 ± 7,6	102,1 ± 9,2
- ohne Alkohol/-bedarf in %	94,3 ± 9,5	91,3 ± 11,1	91,4 ± 10,8	91,1 ± 10,1	91,4 ± 11,6	89,8 ± 10,9	87,7 ± 14,1	89,9 ± 9,04	91,5 ± 8,9
Protein in % Energiezufuhr	15,44 ± 2,45	14,97 ± 2,11	15,16 ± 2,49	14,92 ± 1,64	14,94 ± 2,17	14,06 ± 1,78 ^{§,2}	14,44 ± 2,12	13,43 ± 1,09	14,18 ± 1,83
in % Energie o. Alkohol	15,54 ± 2,47	15,66 ± 2,27	15,81 ± 2,72	15,58 ± 1,80	15,65 ± 2,31	15,79 ± 1,95	16,38 ± 2,32	15,03 ± 1,18	15,82 ± 1,94
in g/kg Körpergewicht	1,26 ± 0,21	1,24 ± 0,24	1,25 ± 0,23	1,19 ± 0,26	1,25 ± 0,24	1,20 ± 0,19	1,21 ± 0,18	1,13 ± 0,21	1,25 ± 0,18
Fett in % Energiezufuhr	39,66 ± 6,19	39,24 ± 5,44	37,80 ± 5,81	40,09 ± 6,07	39,30 ± 5,10	37,49 ± 5,03	37,28 ± 4,20	35,71 ± 7,21	38,97 ± 3,37
in % Energie o. Alkohol	39,91 ± 6,21	41,02 ± 5,62	39,37 ± 6,04	41,81 ± 6,18	41,15 ± 5,28	42,09 ± 5,34	42,31 ± 4,73	39,91 ± 7,70	43,46 ± 3,14
KH in % Energiezufuhr	45,90 ± 6,16	43,24 ± 5,68 ¹	44,52 ± 6,14	42,66 ± 5,54	43,12 ± 5,61	39,34 ± 4,63 ^{III}	38,30 ± 4,27	41,94 ± 6,41	38,37 ± 2,37
in % Energie o. Alkohol	46,19 ± 6,20	45,18 ± 5,74	46,34 ± 6,08	44,49 ± 5,62	45,14 ± 5,71	44,19 ± 5,13	43,46 ± 4,77	46,94 ± 7,06	42,85 ± 2,77
Alkohol in % Energiezufuhr	0,63 ± 0,45	4,33 ± 2,07 ¹	3,98 ± 2,06	4,12 ± 1,84	4,49 ± 2,14	10,95 ± 2,86 ^{1,III}	11,86 ± 2,06	10,61 ± 3,81	10,38 ± 2,63

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

^{II} signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.3: Energiezufuhr und Nährwertrelationen mit bzw. ohne Alkohol der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Zufuhr in g/Tag									
Brot (Lebensmittelgruppe B)	161,5 ± 61,4	165,4 ± 64,6	172,0 ± 61,3	153,4 ± 55,4	167,7 ± 68,1	180,0 ± 66,9	142,3 ± 57,3	215,1 ± 71,6	188,2 ± 57,0
Cerealien, Getreide (C)	75,3 ± 43,3	61,2 ± 39,8	55,9 ± 35,7	55,2 ± 44,2	64,4 ± 39,2	38,3 ± 29,3 ¹	37,6 ± 24,0	34,3 ± 21,2	41,8 ± 38,3
Dauer-/Feinbackwaren (D)	60,8 ± 50,1	60,5 ± 46,3	60,5 ± 53,9	63,9 ± 47,2	59,3 ± 44,4	62,4 ± 47,5	47,8 ± 42,9	75,2 ± 49,4	66,2 ± 49,3
Eier- und Teigwaren (E)	83,0 ± 51,8	88,4 ± 43,2	73,6 ± 30,3	90,9 ± 47,0	91,1 ± 44,2	78,9 ± 38,0	72,9 ± 34,9	69,9 ± 41,4	90,8 ± 37,2
Früchte, Obst (F)	393 ± 282	333 ± 222	389 ± 244	325 ± 172	322 ± 231	232 ± 226	164 ± 150	352 ± 308	207 ± 188
wurzel (Früchte, Obst)	393 ± 282	333 ± 222				232 ± 226 ^{§,2}			
Gemüse (G)	177,8 ± 87,1	166,5 ± 69,7	142,3 ± 80,4	175,6 ± 69,7	169,4 ± 66,2	150,0 ± 83,1	127,8 ± 91,7	157,4 ± 89,5	164,6 ± 69,8
log (Gemüse)	2,200 ± 0,207	2,188 ± 0,175				2,109 ± 0,255 ^{1,2}			
Hülsenfrüchte, Schalenobst, Ölfrüchte (H)	12,2 ± 15,0	9,0 ± 11,1	9,4 ± 10,7	9,6 ± 14,0	8,7 ± 10,1	8,2 ± 10,7	4,1 ± 7,7	15,5 ± 14,3	6,7 ± 7,5
Kartoffeln, Pilze (K)	70,3 ± 42,1	75,6 ± 37,4	67,9 ± 44,5	78,4 ± 40,3	76,6 ± 34,5	70,4 ± 35,6	73,6 ± 40,7	81,5 ± 26,1	59,6 ± 35,4
Milch/-produkte (M)	303 ± 233	284 ± 202	367 ± 231	263 ± 191	271 ± 195	175 ± 151	179 ± 164	136 ± 66	200 ± 181
log (Milch/-produkte)	2,353 ± 0,350	2,351 ± 0,315				2,136 ± 0,317 ^{§,§§}			
Süßwaren (S)	68,6 ± 44,2	59,9 ± 42,3	57,4 ± 44,1	63,2 ± 54,9	59,4 ± 37,2	54,8 ± 35,5	46,2 ± 37,3	75,5 ± 32,1	47,4 ± 31,7
Fisch/-erzeugnisse (T)	22,0 ± 18,2	18,8 ± 15,3	17,5 ± 16,8	18,5 ± 13,9	19,2 ± 15,4	21,8 ± 20,1	21,1 ± 18,8	21,0 ± 13,2	23,1 ± 25,5
Fleisch in Stücken (U)	43,4 ± 28,4	50,5 ± 29,7	54,1 ± 26,9	54,5 ± 35,7	48,4 ± 28,2	56,5 ± 23,4	61,8 ± 28,8	58,5 ± 17,5	50,4 ± 21,5
log (Fleisch in Stücken)	1,570 ± 0,332	1,666 ± 0,267				1,705 ± 0,184 ¹			
Geflügel, Wild, Innereien (V)	25,8 ± 23,6	25,6 ± 19,7	19,4 ± 12,6	27,1 ± 18,9	26,6 ± 21,2	22,7 ± 29,9	33,1 ± 46,0	16,1 ± 13,9	18,2 ± 16,1
Fleisch-/Wurstwaren (W)	72,9 ± 53,4	66,4 ± 48,5	73,3 ± 48,7	64,9 ± 55,0	65,2 ± 46,3	90,6 ± 39,22	104,0 ± 38,9	94,3 ± 37,4	75,9 ± 37,9
wurzel (Fleisch-/Wurstwaren)	8,12 ± 3,53	7,63 ± 3,19				9,16 ± 2,47 ²			

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

[§] signifikant mit p < 0,0005 vs. Gruppe 1

Tab. 3.5: Zufuhr ausgewählter Lebensmittelgruppen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Energiezufuhr in kcal/Tag in MJ/Tag	2810 ± 449 11,76 ± 1,88	2736 ± 526 11,45 ± 2,20	2710 ± 389 11,34 ± 1,63
Alkoholzufuhr in kcal/Tag in kJ/Tag	192 ± 121 782 ± 493	158 ± 107 646 ± 439	142 ± 80 580 ± 327
Energiezufuhr o. Alk. in kcal/Tag in MJ/Tag	2619 ± 461 10,96 ± 1,93	2578 ± 515 10,79 ± 2,16	2568 ± 395 10,75 ± 1,65
Energiebedarf in kcal/Tag in kJ/Tag	2923 ± 417 12,23 ± 1,75	2828 ± 398 11,84 ± 1,67	2821 ± 358 11,81 ± 1,50
Protein in % Energiezufuhr in % Energie o. Alkohol	14,95 ± 2,38 16,08 ± 2,56	14,54 ± 1,65 15,43 ± 1,67	14,83 ± 2,13 15,68 ± 2,25
Fett in % Energiezufuhr in % Energie o. Alkohol	37,68 ± 5,32 40,55 ± 5,77	38,94 ± 6,60 41,30 ± 6,58	39,25 ± 4,87 41,26 ± 5,56
KH in % Energiezufuhr in % Energie o. Alkohol	41,98 ± 6,14 45,04 ± 5,72	42,50 ± 5,71 45,15 ± 6,04	42,44 ± 5,51 44,81 ± 5,42

**Tab. 3.3A: Energiezufuhr und Nährwertrelationen der Probanden der Gruppen
"Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)**

Zufuhr in g/Tag	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Brot (Lebensmittelgruppe B)	160,6 ± 61,6	169,4 ± 65,3	170,2 ± 66,7
Cerealien, Getreide (C)	49,9 ± 33,4	49,8 ± 40,4	61,1 ± 39,6
Dauer-/Feinbackwaren (D)	57,4 ± 50,6	66,8 ± 47,5	60,1 ± 44,9
Eier- und Teigwaren (E)	73,1 ± 31,9	85,5 ± 46,2	91,2 ± 43,0
Früchte, Obst (F)	300 ± 243	339 ± 209	317 ± 225
Gemüse (G)	138,3 ± 85,8	170,1 ± 74,8	168,4 ± 66,3
log(Gemüse)	2,06 ± 0,27 ^{W,M}	2,19 ± 0,19	2,20 ± 0,16
Hülsenfrüchte, Schalenobst, Ölfrüchte (H)	7,2 ± 10,1	11,2 ± 14,2	8,4 ± 9,7
Kartoffeln, Pilze (K)	70,6 ± 43,6	79,2 ± 36,9	74,1 ± 34,9
Milch/-produkte (M)	301 ± 230	230 ± 176	260 ± 193
Süßwaren (S)	53,7 ± 42,1	66,4 ± 50,0	57,4 ± 36,6
Fisch/-erzeugnisse (T)	17,8 ± 15,9	19,1 ± 13,6	20,1 ± 17,6
Fleisch in Stücken (U)	57,8 ± 27,9	55,5 ± 31,9	48,5 ± 27,2
Geflügel, Wild, Innereien (V)	24,7 ± 30,6	24,3 ± 18,2	25,5 ± 20,6
Fleisch-/Wurstwaren (W)	86,3 ± 46,6	72,5 ± 52,3	66,7 ± 45,1

^W signifikant mit $p < 0,005$ vs. "Weintrinker"

^M signifikant mit $p < 0,0005$ vs. "Mischtrinker"

**Tab. 3.5A: Zufuhr ausgewählter Lebensmittelgruppen der Probanden der Gruppen
"Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)**

3.3.1.8 Ballaststoffzufuhr

In der eigenen Studie nahmen die Probanden der Gruppe 3 mit $22,3 \pm 6,8$ g/Tag weniger Ballaststoffe zu sich als die Probanden der Gruppe 1 ($26,4 \pm 8,6$ g/Tag, $p < 0,01$). Im Hinblick auf die Art der bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränke hatten die „Biertrinker Gr. 2+3“ eine tendenziell niedrigere Aufnahme an Ballaststoffen im Vergleich zu den „Weintrinkern Gr. 2+3“ (- 12 %, $p = 0,08$) und zu den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ (- 10 %, $p = 0,07$).

Altersgruppe in Jahren	eigene Studie Ballaststoffzufuhr in g/Tag		Ernährungssurvey Ballaststoffzufuhr in g/Tag	
	MW $\pm$ SD	n	MW $\pm$ SD	n
18-24	$26,7 \pm 10,3$	3	$30,4 \pm 10,7$	205
25-34	$25,9 \pm 7,6$	62	$28,6 \pm 10,6$	340
35-44	$24,0 \pm 7,3$	101	$28,7 \pm 10,3$	382
45-54	$24,3 \pm 5,5$	65	$28,7 \pm 12,0$	277
55-64	$26,0 \pm 7,2$	49	$28,3 \pm 9,1$	346
65-79	$26,5 \pm 3,5$	4	$26,7 \pm 9,8$	213

Tab. 3.4.9: Aufnahme an Ballaststoffen in Abhängigkeit vom Alter bei den Probanden der eigenen Studie im Vergleich zu den Probanden des Ernährungssurvey.

Die mittlere tägliche Zufuhr von Ballaststoffen war bei den Probanden der eigenen Studie mit $24,9 \pm 7,0$ g vergleichbar mit der Ballaststoffzufuhr der Probanden des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) in Höhe von $28,6 \pm 10,5$ g pro Tag. Der von der DGE herausgegebene Richtwert für die tägliche Ballaststoffzufuhr von mindestens 30 g (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) wurde von den Probanden beider Kollektive im Mittel nicht erreicht. Die Ballaststoffaufnahme ist gemäß des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) über alle Alterklassen hinweg relativ konstant (vgl. Tab. 3.4.9).

3.3.1.9 Zufuhr von Harnsäure

In der eigenen Studie wurde Harnsäure von den Personen der Gruppe „Biertrinker Gr. 2+3“ mit 636 ± 109 mg pro Tag in höherer Menge aufgenommen als von den Personen der Gruppe „Weintrinker Gr. 2+3“ (574 ± 112 mg/Tag, $p < 0,05$).

3.3.2 Zufuhr ausgewählter Lebensmittelgruppen

Die Gruppierung einiger ausgewählter Lebensmittel wurde von der im Bundeslebensmittelschlüssel (Klemm et al. 2000) vorgenommenen Einteilung übernommen (vgl. Tab. 3.5, S. 82, und 3.5A, S. 83 sowie Abb. 3.8).

Bezüglich der Zufuhr von Brot (Lebensmittelgruppe B), von Dauer- und Feinbackwaren (Lebensmittelgruppe D), von Eier- und Teigwaren (Lebensmittelgruppe E), von Hülsenfrüchten, Schalenobst und Ölfrüchten (Lebensmittelgruppe H), von Kartoffeln und Pilzen (Lebensmittelgruppe K), von Süßwaren (Lebensmittelgruppe S) und von Fisch und Fischerzeugnissen (Lebensmittelgruppe T) waren die Gruppen 1 bis 3 vergleichbar (vgl. Tab. 3.5, S. 82).

Dagegen nahmen die Probanden der Gruppe 3 weniger Cerealien (Lebensmittelgruppe C) zu sich als die Probanden der Gruppe 1 (- 49 %, $p < 0,0001$) und aßen weniger Früchte und Obst als die Probanden der Gruppe 1 (- 41 %, $p < 0,0005$) und die Probanden der Gruppe 2 (- 30 %, $p < 0,05$). Dasselbe galt für den Verzehr an Gemüse: signifikante Unterschiede konnten gegenüber der Gruppe 1 (- 16 %, $p < 0,05$) und der Gruppe 2 (- 10 %, $p < 0,05$) errechnet werden. Auch der Konsum an Milch(produkten) war in Gruppe 3 niedriger als in den beiden anderen Gruppen (- 42 % bzw. - 38 %, jeweils $p < 0,005$). Im Gegensatz dazu war der

Konsum an Fleisch und Wurstwaren in der Gruppe 3 höher: sowohl bei der Lebensmittelgruppe U (Fleisch in Stücken / ohne Wild, Geflügel) (+ 30 %, $p < 0,05$ vs. Gruppe 1) als auch bezüglich der Lebensmittelgruppe W (Fleisch- und Wurstwaren) hatten die Probanden aus Gruppe 3 einen höheren Verzehr (+ 36 %, $p < 0,05$ vs. Gruppe 2). Die „Biertrinker Gr. 2+3“ aßen weniger Gemüse als die Probanden der Gruppe „Weintrinker Gr. 2+3“ (- 19 %, $p < 0,005$) und weniger als die Probanden der Gruppe „Mischtrinker Gr. 2+3“ (- 18 %, $p < 0,0005$) (vgl. Tab. 3.5A und Abb. 3.9).

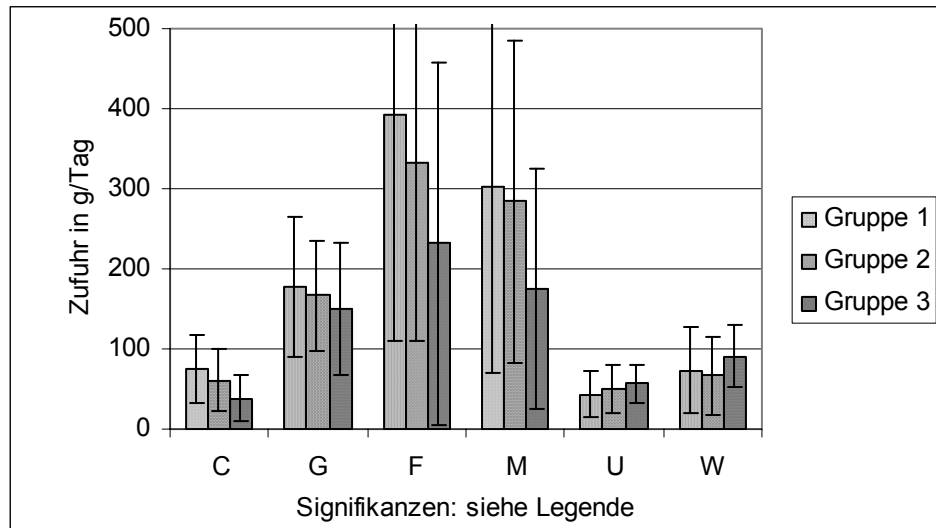


Abb. 3.8: Mittlere Zufuhr der Probanden der Gruppen 1 bis 3 (vgl. Kap. 2.1.2.1) von einer Auswahl einzelner Lebensmittelgruppen des Bundeslebensmittelschüssels in g/Tag (Mittelwert $\pm$ SD). Abkürzungen der Lebensmittelgruppen: C = Cerealien und Getreide, G = Gemüse, F = Früchte und Obst, M = Milch und -produkte, U = Fleisch in Stücken, W = Fleisch- und Wurstwaren. Signifikanzen: Cerealien und Getreide: Gr. 1 vs. Gr. 3 mit $p < 0,0001$, Gemüse: Gr. 1 vs. Gr. 3 mit $p < 0,05$ und Gr. 2 vs. Gr. 3 mit $p < 0,05$, Früchte und Obst: Gr. 1 vs. Gr. 3 mit $p < 0,0005$, Gr. 2 vs. Gr. 3 mit $p < 0,05$, Milch und -produkte: Gr. 1 vs. Gr. 3 mit $p < 0,005$ und Gr. 2 vs. Gr. 3 mit $p < 0,005$, Fleisch in Stücken: Gr. 1 vs. Gr. 3 mit $p < 0,05$, Fleisch- und Wurstwaren: Gr. 2 vs. Gr. 3 mit $p < 0,05$.

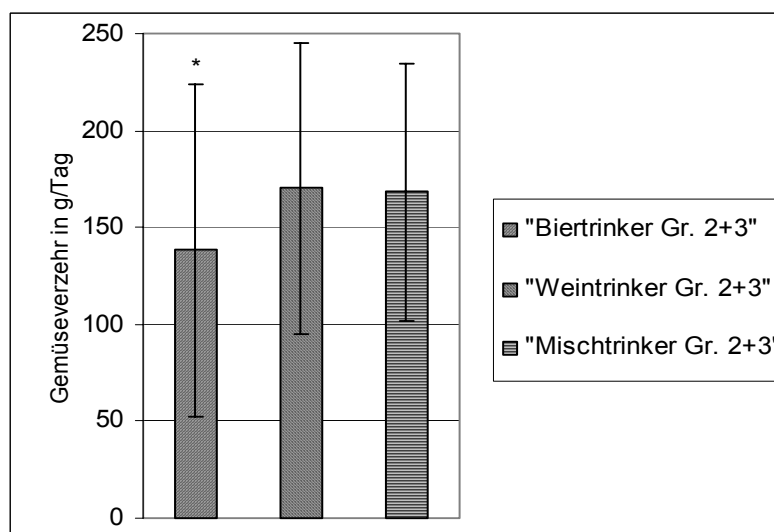


Abb. 3.9: Gemüseverzehr der Probanden in den Gruppen „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“ (vgl. Kap. 2.1.2.1), angegeben in g/Tag (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,005$ vs. „Weintrinker Gr. 2+3“ und mit $p < 0,0005$ vs. „Mischtrinker Gr. 2+3“.

Zufuhr an ...	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
SFA in g/Tag	50,0 ± 13,5	49,6 ± 13,9	51,9 ± 15,0	47,5 ± 15,0	49,7 ± 13,3	51,9 ± 12,4	49,0 ± 10,6	52,5 ± 16,6	54,2 ± 11,2
MUFA in g/Tag	37,5 ± 8,8	36,8 ± 8,7	37,0 ± 8,8	36,9 ± 9,4	36,7 ± 8,5	38,9 ± 8,0	38,1 ± 7,7	39,5 ± 11,7	39,2 ± 5,4
Ölsäure in g/Tag	32,9 ± 7,7	32,2 ± 7,7	32,1 ± 7,8	32,5 ± 8,4	32,1 ± 7,6	34,0 ± 7,0	33,4 ± 6,6	34,4 ± 10,2	34,2 ± 4,8
PUFA in g/Tag	19,3 ± 6,6	17,8 ± 6,2	17,7 ± 7,0	18,2 ± 6,9	17,7 ± 5,85	16,7 ± 6,7	17,3 ± 7,0	16,7 ± 7,8	16,1 ± 6,0
Linolsäure in g/Tag	16,2 ± 6,0	15,2 ± 5,7	15,0 ± 6,7	15,9 ± 6,5	15,1 ± 5,2	14,5 ± 6,2	14,5 ± 6,3	15,3 ± 7,5	14,0 ± 5,5
Linolensäure in g/Tag	2,11 ± 0,68	2,01 ± 0,71	2,17 ± 0,85	1,89 ± 0,70	2,01 ± 0,67	1,93 ± 0,78	1,98 ± 0,82	1,85 ± 0,79	1,93 ± 0,78
Cholesterin in mg/Tag	338 ± 107	348 ± 83	348 ± 83	343 ± 97	349 ± 79	376 ± 82	366 ± 83	389 ± 111	377 ± 56
Ballaststoffe in g/Tag	26,4 ± 8,6	25,0 ± 6,2	24,4 ± 6,6	25,3 ± 5,2	25,0 ± 6,5	22,3 ± 6,8 ^s	18,6 ± 6,2	24,6 ± 5,5	23,8 ± 7,1
Vitamin C in mg/Tag	136,3 ± 62,1	117,5 ± 49,3	129,5 ± 67,2	117,4 ± 42,7	114,6 ± 46,2	111,8 ± 54,1	103,8 ± 55,7	126,5 ± 62,8	108,2 ± 46,5
log(Vitamin C)	2,090 ± 0,197	2,038 ± 0,167				2,004 ± 0,195 ¹			
Vitamin B ₁ in mg/Tag	1,61 ± 0,38	1,48 ± 0,33	1,52 ± 0,38	1,45 ± 0,38	1,48 ± 0,30	1,49 ± 0,26	1,54 ± 0,25	1,54 ± 0,26	1,39 ± 0,25
log(Vitamin B ₁)	0,195 ± 0,101	0,159 ± 0,097 ¹				0,165 ± 0,079			
Vitamin B ₂ in mg/Tag	1,83 ± 0,44	1,80 ± 0,42	2,01 ± 0,55	1,71 ± 0,37	1,78 ± 0,39	1,77 ± 0,29	1,83 ± 0,28	1,66 ± 0,31	1,80 ± 0,29
Vitamin B ₆ in mg/Tag	1,96 ± 0,44	1,90 ± 0,34	1,99 ± 0,39	1,79 ± 0,34	1,91 ± 0,32	1,94 ± 0,31	2,10 ± 0,29	1,92 ± 0,30	1,82 ± 0,29
Vitamin B ₁₂ in µg/Tag	3,99 ± 1,29	4,08 ± 1,67	4,63 ± 1,79	4,23 ± 2,18	3,89 ± 1,42	5,03 ± 2,41	4,89 ± 1,45	5,11 ± 2,67	5,11 ± 3,01
Folsäure in µg/Tag	132,9 ± 43,9	128,9 ± 29,7	136,7 ± 32,5	118,2 ± 26,5	130,5 ± 29,3	129,0 ± 26,9	134,3 ± 24,7	116,5 ± 26,7	133,4 ± 27,4
Retinol in µg/Tag	672 ± 314	688 ± 392	770 ± 494	718 ± 648	658 ± 225	863 ± 847	661 ± 265	895 ± 871	1033 ± 1148
Retinoläquivalente in mg/Tag	1,22 ± 0,41	1,21 ± 0,49	1,28 ± 0,60	1,24 ± 0,77	1,18 ± 0,33	1,37 ± 1,01	1,12 ± 0,37	1,39 ± 1,07	1,59 ± 1,34
beta-Carotin in mg/Tag	1,40 ± 0,45	1,36 ± 0,50	1,33 ± 0,52	1,38 ± 0,70	1,36 ± 0,42	1,43 ± 0,90	1,22 ± 0,47	1,47 ± 0,89	1,59 ± 1,17
Carotinoide in mg/Tag	4,03 ± 2,01	3,58 ± 1,66	3,14 ± 1,04	3,64 ± 2,02	3,66 ± 1,64	3,29 ± 1,71	3,04 ± 2,31	3,49 ± 1,52	3,37 ± 1,25
alpha-Tocopherol in mg/Tag	12,77 ± 5,48	12,19 ± 4,01	10,26 ± 3,37	13,19 ± 4,18	12,32 ± 3,96	10,28 ± 3,27	9,07 ± 2,73	11,44 ± 3,26	10,52 ± 3,53
log(alpha-Tocopherol)	1,069 ± 0,172	1,065 ± 0,137				0,990 ± 0,140 ^{1,s}			

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

^s signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

^{ss} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

Tab. 3.6: Aufnahme von Nährstoffen, Ballaststoffen, wasser- und fettlöslichen Vitaminen, Mineralstoffen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Homocystein in mg/dL	1,98 ± 0,66	1,99 ± 0,43	2,04 ± 0,41	2,09 ± 0,37	1,95 ± 0,45	2,12 ± 0,56	1,93 ± 0,36	2,15 ± 0,55	2,23 ± 0,67
in µmol/L	146,6 ± 48,5	147,2 ± 31,9	150,9 ± 30,3	154,6 ± 27,6	143,9 ± 33,2	156,8 ± 41,5	142,5 ± 26,6	159,2 ± 40,5	165,0 ± 49,8
Glutathion in mg/dL	1,40 ± 0,50	1,41 ± 0,53	1,38 ± 0,57	1,25 ± 0,43	1,48 ± 0,53	1,23 ± 0,43	1,36 ± 0,50	1,19 ± 0,45	1,15 ± 0,37
in µmol/L	45,4 ± 16,3	46,0 ± 17,1	45,0 ± 18,6	40,7 ± 14,0	48,0 ± 17,4	39,9 ± 14,0	44,3 ± 16,2	38,9 ± 14,6	37,6 ± 11,9
Cystein in mg/dL	65,5 ± 6,8	66,3 ± 7,0	65,4 ± 6,8	68,9 ± 7,3	65,6 ± 6,7	67,1 ± 7,2	68,5 ± 6,0	66,7 ± 7,9	66,6 ± 7,7
in mmol/L	5,41 ± 0,56	5,47 ± 0,57	5,40 ± 0,56	5,69 ± 0,60	5,42 ± 0,56	5,54 ± 0,60	5,65 ± 0,50	5,50 ± 0,66	5,50 ± 0,64
Cysteinylglycin in mg/dL	7,87 ± 1,27	8,13 ± 1,46	8,43 ± 1,54	7,79 ± 1,64	8,17 ± 1,36	8,48 ± 1,63	9,06 ± 1,44	8,84 ± 1,70	7,78 ± 1,53
in mmol/L	0,442 ± 0,071	0,456 ± 0,082	0,473 ± 0,086	0,437 ± 0,092	0,458 ± 0,077	0,476 ± 0,092	0,508 ± 0,081	0,496 ± 0,096	0,437 ± 0,086

Tab. 3.9: Konzentration von Thiolen im Plasma der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

Zufuhr an ...	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
SFA in g/Tag	51,0 ± 13,7	48,8 ± 15,4	50,4 ± 13,0
MUFA in g/Tag	37,7 ± 8,4	37,6 ± 10,0	37,0 ± 8,1
Ölsäure in g/Tag	32,9 ± 7,4	33,0 ± 8,8	32,3 ± 7,3
PUFA in g/Tag	17,8 ± 7,0	17,9 ± 7,1	17,5 ± 5,9
Linolsäure in g/Tag	15,1 ± 6,5	15,7 ± 6,7	14,9 ± 5,2
Linolensäure in g/Tag	2,11 ± 0,85	1,88 ± 0,71	2,00 ± 0,68
Cholesterin in mg/Tag	356 ± 83	356 ± 101	353 ± 77
Ballaststoffe in g/Tag	22,3 ± 7,1 ^{wt,mt}	25,2 ± 5,1	24,8 ± 6,5
Harnsäure in g/Tag	636 ± 109 ^w	574 ± 112 ^b	593 ± 106
Vitamin C in mg/Tag	119,8 ± 65,0	120,1 ± 48,0	114,0 ± 46,1
Vitamin B ₁ in mg/Tag	1,54 ± 0,34	1,47 ± 0,35	1,46 ± 0,29
Vitamin B ₂ in mg/Tag	1,97 ± 0,47 ^w	1,70 ± 0,35 ^B	1,78 ± 0,38
Vitamin B ₆ in mg/Tag	2,04 ± 0,36 ^{wx}	1,83 ± 0,32 ^{bx}	1,90 ± 0,31
Vitamin B ₁₂ in µg/Tag	4,77 ± 1,67	4,46 ± 2,32	4,07 ± 1,77
Folsäure in µg/Tag	137,3 ± 29,3 ^w	118,0 ± 26,1 ^{B,m}	130,8 ± 28,9 ^w
Retinol in µg/Tag	740 ± 428	764 ± 706	711 ± 490
Retinoläquivalente in mg/Tag	1,22 ± 0,52	1,28 ± 0,85	1,24 ± 0,60
beta-Carotin in mg/Tag	1,31 ± 0,51	1,41 ± 0,74	1,39 ± 0,58
Carotinoide in mg/Tag	3,13 ± 1,63	3,62 ± 1,88	3,61 ± 1,59
alpha-Tocopherol in mg/Tag	9,85 ± 3,22	12,75 ± 3,99	12,06 ± 3,93
log(alpha-Tocopherol)	0,972 ± 0,138 ^{wx}	1,086 ± 0,130 ^{bx}	1,060 ± 0,138 ^B

^b signifikant mit p < 0,05 vs. "Biertrinker"

^w signifikant mit p < 0,05 vs. "Weintrinker"

^m signif. mit p < 0,05 vs. "Mischtrinker"

^{bx} signifikant mit p < 0,001 vs. "Biertrinker"

^{wx} signif. mit p < 0,001 vs. "Weintrinker"

^B signifikant mit p < 0,005 vs. "Biertrinker"

^w signif. mit p < 0,005 vs. "Weintrinker"

^{Bx} signifikant mit p < 0,0005 vs. "Biertrinker"

^{wx} signif. mit p < 0,0005 vs. "Weintrinker"

^{wt,mt} Tendenz mit p = 0,08 bzw. p = 0,07 "Wein-" bzw. "Mischtrinker"

Tab. 3.6A: Aufnahme von Nährstoffen, Ballaststoffen, wasser- und fettlöslichen Vitaminen und Mineralstoffen der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Homocystein in mg/dL	2,01 ± 0,43	2,15 ± 0,64	1,98 ± 0,49
in µmol/L	148,9 ± 31,5	159,1 ± 47,3	146,5 ± 35,9
Glutathion in mg/dL	1,33 ± 0,53	1,26 ± 0,46	1,41 ± 0,53
in µmol/L	43,4 ± 17,1	41,1 ± 14,9	45,9 ± 17,1
Cystein in mg/dL	66,7 ± 7,0	67,2 ± 7,8	65,9 ± 6,8
in mmol/L	5,51 ± 0,58	5,55 ± 0,65	5,44 ± 0,56
Cysteinylglycin in mg/dL	8,68 ± 1,38	7,91 ± 1,66	8,06 ± 1,38
in mmol/L	0,487 ± 0,078	0,444 ± 0,093	0,452 ± 0,078

Tab. 3.9A: Konzentration von Thiolen im Plasma der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

	NICHT RAUCHER			RAUCHER		
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Zufuhr an ...						
SFA in g/Tag	49,9 ± 14,1	50,1 ± 14,3	53,9 ± 13,5	50,1 ± 9,5	46,1 ± 9,7	46,6 ± 6,8
MUFA in g/Tag	37,0 ± 9,2	37,2 ± 9,0	39,6 ± 8,9	39,8 ± 5,4	34,0 ± 5,3	36,9 ± 4,6
Ölsäure in g/Tag	32,4 ± 8,0	32,5 ± 8,0	34,7 ± 7,7	35,3 ± 5,1	29,7 ± 4,8	32,2 ± 4,0
PUFA in g/Tag	18,8 ± 6,4	18,1 ± 6,4	17,5 ± 7,5	21,3 ± 7,5	15,7 ± 4,5	14,4 ± 2,5
Linolsäure in g/Tag	15,6 ± 5,7	15,5 ± 5,8	15,4 ± 7,0	18,5 ± 6,9	13,2 ± 4,1	12,1 ± 2,3
Linolensäure in g/Tag	2,07 ± 0,64	2,02 ± 0,73	2,06 ± 0,86	2,27 ± 0,84	1,94 ± 0,60	1,58 ± 0,34
Cholesterin in mg/Tag	337 ± 111	349 ± 84	378 ± 89	335 ± 84	347 ± 72	372 ± 60
Ballaststoffe in g/Tag	27,8 ± 8,0	25,4 ± 6,2	23,4 ± 6,1 [§]	17,6 ± 5,9	22,0 ± 5,5	18,9 ± 7,9
Harnsäure in g/Tag	612 ± 140	589 ± 106	616 ± 101	557 ± 92	589 ± 109	646 ± 108
Vitamin C in mg/Tag	145,5 ± 60,8	118,3 ± 46,5	115,6 ± 52,7	76,2 ± 20,7	112,0 ± 72,6	100,7 ± 59,1
log(Vitamin C)	2,126 ± 0,185	2,044 ± 0,157 [§]	2,025 ± 0,179 ¹	1,869 ± 0,108	1,981 ± 0,238	1,943 ± 0,231
Vitamin B ₁ in mg/Tag	1,61 ± 0,40	1,48 ± 0,34	1,48 ± 0,25	1,59 ± 0,26	1,48 ± 0,25	1,51 ± 0,28
log(Vitamin B ₁)	0,195 ± 0,106	0,159 ± 0,099 ^T	0,163 ± 0,078	0,196 ± 0,066	0,165 ± 0,074	0,171 ± 0,084
Vitamin B ₂ in mg/Tag	1,89 ± 0,44	1,81 ± 0,43	1,76 ± 0,30	1,50 ± 0,26	1,75 ± 0,34	1,80 ± 0,29
Vitamin B ₆ in mg/Tag	2,01 ± 0,44	1,91 ± 0,34	1,96 ± 0,33	1,67 ± 0,27	1,83 ± 0,28	1,89 ± 0,27
Vitamin B ₁₂ in µg/Tag	3,81 ± 1,17	4,06 ± 1,68	4,75 ± 1,92 ¹	4,74 ± 1,60	4,38 ± 1,59	5,78 ± 3,37
Folsäure in µg/Tag	140,0 ± 40,2	130,6 ± 30,2	130,8 ± 27,8	85,7 ± 36,6	115,5 ± 19,2	123,9 ± 24,5
Retinol in µg/Tag	634 ± 221	695 ± 400	791 ± 560	837 ± 590	647 ± 333	1058 ± 1365
Retinoläquivalente in mg/Tag	1,22 ± 0,33	1,22 ± 0,50	1,31 ± 0,69	1,24 ± 0,72	1,08 ± 0,40	1,52 ± 1,61
beta-Carotin in mg/Tag	1,41 ± 0,41	1,38 ± 0,51	1,42 ± 0,65	1,26 ± 0,66	1,24 ± 0,46	1,46 ± 1,45
Carotinoide in mg/Tag	4,29 ± 1,98	3,67 ± 1,70	3,53 ± 1,88	2,32 ± 1,19	2,82 ± 0,88	2,60 ± 0,84
alpha-Tocopherol in mg/Tag	13,14 ± 5,42	12,52 ± 4,04	10,74 ± 3,34	9,94 ± 5,23	9,45 ± 2,19	8,93 ± 2,79
log(alpha-Tocopherol)	1,088 ± 0,161	1,076 ± 0,136	1,010 ± 0,141 ^{1,2}	0,954 ± 0,199	0,964 ± 0,102	0,934 ± 0,126

¹signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§]signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

¹signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

²signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

^{§§}signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹¹signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

[§]signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^TTendenz mit p = 0,05 vs. Gruppe 1

^{§§}signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

Tab. 3.6B: Aufnahme von Nährstoffen, Ballaststoffen, wasser- und fettlöslichen Vitaminen, Mineralstoffen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, jeweils unterteilt in Raucher und Nichtraucher (vgl. Kap. 2.1.3) (MW ± SD)

	NICHT RAUCHER			RAUCHER		
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Homocystein in mg/dL	1,974 ± 0,698	2,000 ± 0,439	2,056 ± 0,465	2,037 ± 0,147	1,915 ± 0,364	2,323 ± 0,794
Glutathion in mg/dL	1,365 ± 0,494	1,420 ± 0,534	1,209 ± 0,429	1,62 ± 0,54	1,38 ± 0,47	1,28 ± 0,46
Cystein in mg/dL	65,6 ± 7,0	66,4 ± 7,0	66,8 ± 7,6	64,8 ± 5,6	65,6 ± 6,8	68,2 ± 6,0
Cysteinylglycin in mg/dL	7,85 ± 1,30	8,14 ± 1,46	8,36 ± 1,66	8,06 ± 1,01	8,10 ± 1,43	8,86 ± 1,58

Tab. 3.9B: Konzentration von Thiolen im Plasma der Probanden der Gruppen 1 bis 3, jeweils unterteilt in Raucher und Nichtraucher (vgl. Kap. 2.1.3) (MW ± SD)

3.4 Vitaminkonzentrationen im Plasma, Konzentrationen an Carotinoiden und Xanthophyllen, Vitaminstatusbestimmungen

3.4.1 Konzentration von wasserlöslichen Vitaminen im Plasma, Aktivitätskoeffizienten bei Enzymaktivitätsmessungen

3.4.1.1 Ascorbinsäure

Zufuhr:

Die Probanden unserer Studie nahmen mit durchschnittlich 121 ± 54 mg pro Tag mehr Vitamin C zu sich als die Empfehlung der DGE für Vitamin C von 100 mg Vitamin C pro Tag angibt (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Eine gute Versorgung der deutschen Bevölkerung mit Vitamin C wurde auch bei den Personen des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) errechnet. Bei den Probanden der Gruppe 1 war die Aufnahme von Ascorbinsäure über die Nahrung höher als bei den Probanden der Gruppe 3 (+ 22 %, $p < 0,05$).

Konzentration im Plasma:

Die Konzentration von Ascorbinsäure im Plasma wurde mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie in Verbindung mit UV-Detektion gemessen. Im Mittel wurde bei den Probanden der eigenen Studie (Gruppen 1 bis 3) eine Konzentration im Plasma von $9,1 \pm 4,8$ mg/L gemessen. Dieser Wert steht in Übereinstimmung mit dem Normbereich von 10 mg/L (Brubacher et al. 2000). Die Konzentration von Vitamin C im Plasma war bei den Probanden im Mittel in den einzelnen Gruppen gleich (vgl. Tab. 3.7 und 3.7A, S. 94 und S. 95, Abb. 3.10 und 3.11). Da Raucher einen höheren Bedarf an Ascorbinsäure haben, wurde das Probandenkollektiv zusätzlich in Nichtraucher und Raucher unterteilt: Wie der Tab. 3.7B und 3.7C / Abb. 3.10 zu entnehmen unterschieden sich die Gruppen in Bezug auf die Konzentration von Ascorbinsäure im Plasma auch nach Ausschluss der Raucher und Personen mit der Einnahme von Vitaminpräparaten nicht voneinander. Ein Zusammenhang zwischen der Zufuhr von Ascorbinsäure und dem Plasmaspiegel der Probanden konnte nicht errechnet werden.

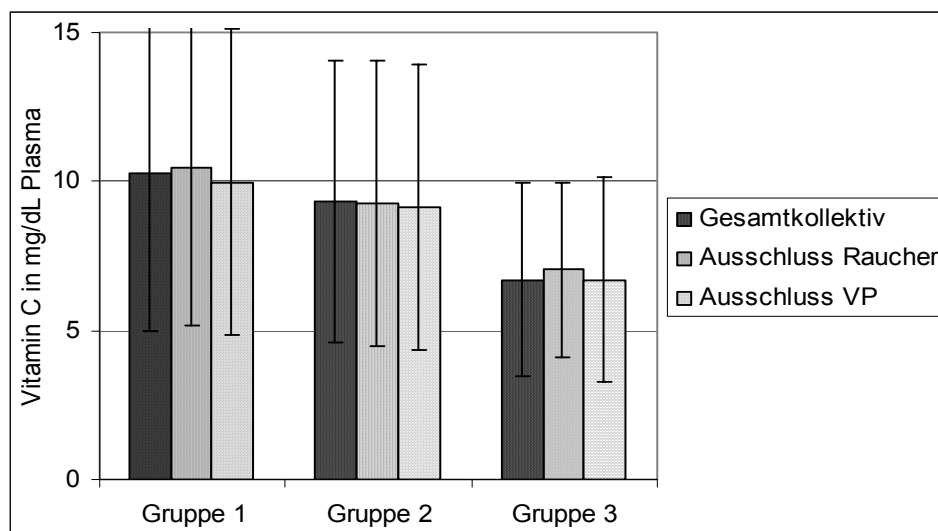


Abb. 3.10: Konzentration von Vitamin C im Plasma der Probanden der Gruppen 1 bis 3 unter Berücksichtigung von Rauchen (vgl. Kap. 2.1.3) und Einnahme von Vitaminpräparaten (VP) (vgl. Kap. 2.1.4), angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD).

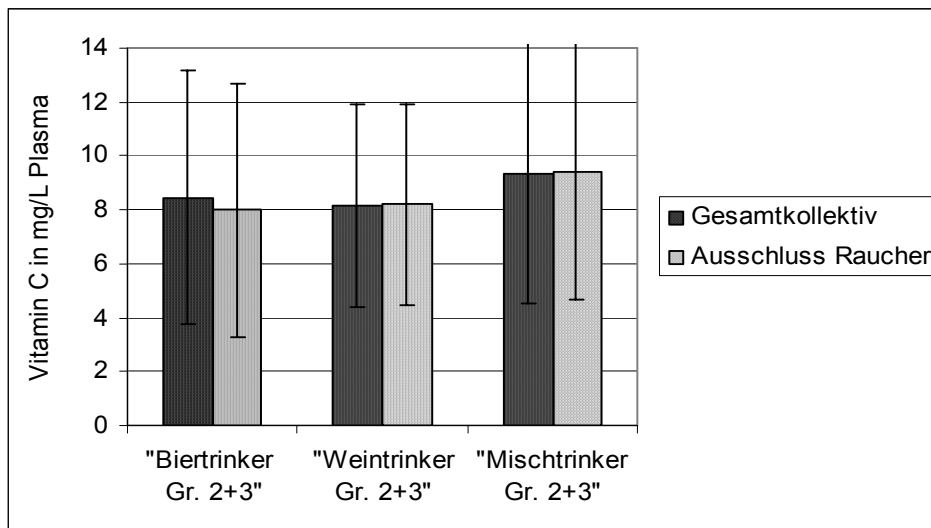


Abb. 3.11: Konzentration von Vitamin C im Plasma der Probanden der Gruppen „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“ unter Berücksichtigung von Rauchen (vgl. Kap. 2.1.3), angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD).

3.4.1.2 Vitamin B₁

Zufuhr:

Die Aufnahme an Thiamin war bei den Probanden der eigenen Studie mit $1,5 \pm 0,3$ mg/Tag etwas höher als die Zufuhrempfehlung der DGE von 1,3 mg/Tag für männliche Erwachsene ab 25 Jahren (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). 87,2 % der Probanden der eigenen Studie erreichten den Referenzwert der DGE für Thiamin. Die wichtigsten Quellen von Thiamin waren 1998 bei Männern in Deutschland in absteigender Reihenfolge: Wurstwaren, Fleisch, Brot, Milchprodukte, Kartoffeln und Gemüse (Ernährungssurvey, Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999). Die durchschnittliche Thiaminaufnahme betrug bei Männern 1,6 mg pro Tag und nahm mit zunehmendem Alter von 1,9 mg bei der Altersgruppe 18-24 Jahre stetig bis zu 1,3 mg bei der Altersgruppe 65-79 Jahre ab. Statistisch signifikante Unterschiede zu den Personen der eigenen Studie konnten nicht evaluiert werden. In der eigenen Studie war die tägliche Aufnahme von Thiamin über die Nahrung bei den Personen der Gruppe 1 im Vergleich zu den Personen der Gruppe 2 im Mittel um 9 % höher ($p < 0,05$) (vgl. Tab. 3.6).

Vitamin B₁-Status (Enzymaktivität):

Der Vitamin B₁-Status wurde über den Aktivitätskoeffizienten der Enzymaktivität der Transketolase bestimmt. Messungen ergaben, dass die höhere Zufuhr von Vitamin B₁ bei der Gruppe 1 keinen Einfluss auf den Aktivitätskoeffizient der Transketolase und damit auf den Vitamin B₁-Status hatte. Zwischen den Gruppen 1 bis 3 konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede errechnet werden (vgl. Tab. 3.7, S. 94).

3.4.1.3 Vitamin B₂

Zufuhr:

Das in Getreidekeimen, Gemüse, Kartoffeln, Hülsenfrüchten, Hefe, Leber, Ei, Milch, Fleisch und Fisch vorkommende Riboflavin wurde im Durchschnitt von den Probanden der eigenen Studie mit $1,8 \pm 0,4$ mg/Tag in ausreichendem Maße aufgenommen (Empfehlung für Männer ab 19 Jahren: 1,7 mg Riboflavin/Tag, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Dieser Wert steht nahezu in Übereinstimmung mit den Erhebungen des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999), das bei Männern eine Zufuhr von 1,9 mg Riboflavin pro Tag

errechnete. Riboflavin wird bei Männern hauptsächlich durch Milchprodukte, Fleisch, Wurstwaren, Brot, Bier und Gemüse (in absteigender Reihenfolge) gedeckt. Es fand sich entsprechend zur Thiaminzufuhr eine inverse Beziehung der Riboflavinzufuhr zum Alter (Altersgruppe 18-24: 2,3 mg/Tag, Altersgruppe 65-79: 1,7 mg/Tag). In der eigenen Studie konnten zwischen den einzelnen Gruppen in Bezug auf die Zufuhr von Vitamin B₂ über die Nahrung keine signifikanten Unterschiede errechnet werden (vgl. Tab. 3.6, S. 86). Nach der Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks unterschieden wurde bei der Gruppe der „Biertrinker Gr. 2+3“ eine höhere Aufnahme an Vitamin B₂ im Vergleich zur Gruppe der „Weintrinkern Gr. 2+3“ berechnet (+ 16 %, $p < 0,005$) (vgl. Tab. 3.6A, S. 87).

Vitamin B₂-Status (Enzymaktivität):

Bei den Probanden der Gruppe 3 war der Aktivitätskoeffizient der Glutathionreduktase (EGRAC = erythrocyte glutathione reductase activation coefficient) mit $1,293 \pm 0,131$ im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen signifikant höher (vs. Gruppe 1: $1,207 \pm 0,144$, $p < 0,01$, vs. Gruppe 2: $1,216 \pm 0,110$, $p < 0,005$) und damit der Vitamin B₂-Status niedriger (vgl. Tab. 3.7 und Abb. 3.12). Dagegen hatte die Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks keinen Einfluss auf den Aktivitätskoeffizient der Glutathionreduktase (vgl. Tab. 3.7A). Nach Ausschluss der Probanden mit der Einnahme von Vitaminpräparaten konnte zwischen Gruppe 3 ($1,295 \pm 0,120$) und Gruppe 1 ($1,201 \pm 0,116$) ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) und zwischen Gruppe 3 und Gruppe 2 ($1,238 \pm 0,104$) eine Tendenz ($p = 0,10$) errechnet werden (vgl. Tab. 3.7C, S. 96).

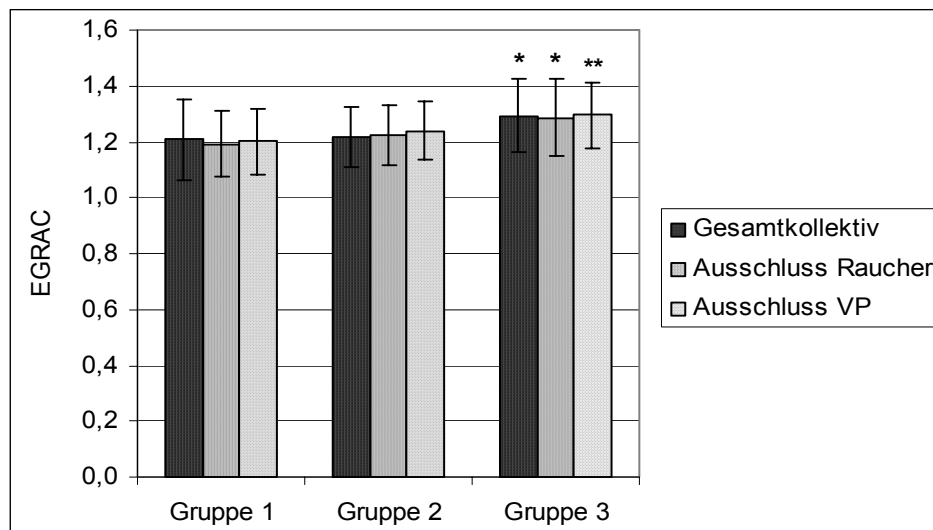


Abb. 3.12: Aktivitätskoeffizient der Glutathionreduktase (EGRAC) im Blut der Probanden der Gruppen 1 bis 3 unter Berücksichtigung von Rauchen (vgl. Kap. 2.1.3) und Einnahme von Vitaminpräparaten (vgl. Kap. 2.1.4) zur Bestimmung des Vitamin B₂-Status (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,01$ vs. Gruppe 1 und mit $p < 0,005$ vs. Gruppe 2 (Gesamtkollektiv und Ausschluss der Raucher), ** signifikant mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 1 und Tendenz mit $p = 0,10$ vs. Gruppe 2 (Ausschluss der Probanden mit der Einnahme von Vitaminpräparaten).

Konzentration im Plasma:

Im Gegensatz zur Bestimmung des Vitamin B₂-Status durch den Aktivitätskoeffizient der Glutathionreduktase (EGRAC) waren die Konzentrationen von Riboflavin im Plasma, die mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion gemessen wurde, im Mittel in den einzelnen Gruppen gleich. Die Werte für die Konzentrationen an Riboflavin im Plasma der Probanden waren niedriger als erwartet und streuten außerdem sehr stark.

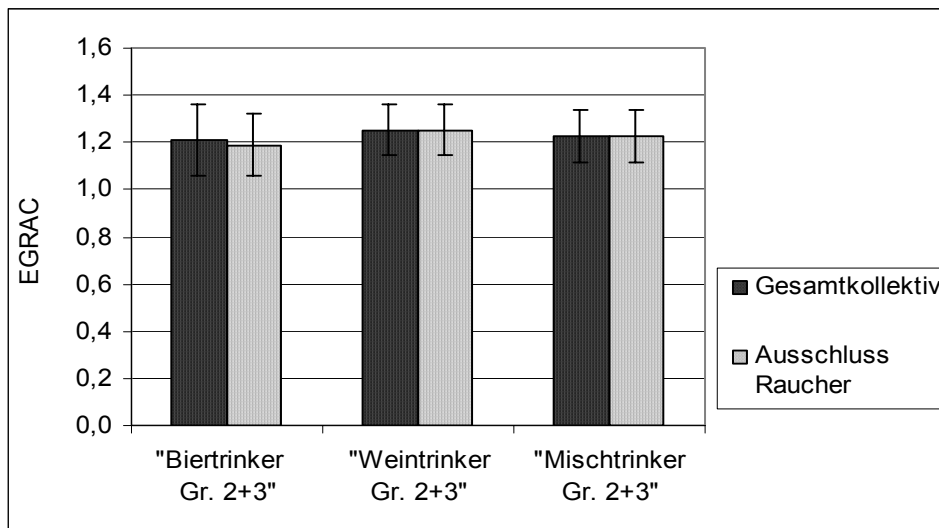


Abb. 3.13: Aktivitätskoeffizient der Glutathionreduktase (EGRAC) im Blut der Probanden der Gruppen „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“ unter Berücksichtigung von Rauchen (vgl. Kap. 2.1.3) zur Bestimmung des Vitamin B₂-Status (Mittelwert $\pm$ SD).

3.4.1.4 Vitamin B₆

Zufuhr:

Vitamin B₆ wird von Männern über die Nahrung hauptsächlich durch Kartoffeln, Fleisch, Wurstwaren, Brot, Obst, Milchprodukte, Gemüse und Bier zugeführt (Ernährungssurvey, Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999). Die Aufnahme von Vitamin B₆ nahm in dieser groß angelegten Untersuchung mit dem Alter geringfügig ab und betrug im Mittel 2,2 mg/Tag. Mit $1,9 \pm 0,4$ mg/Tag hatten die Probanden der eigenen Studie die von der DGE empfohlene Zufuhr von Vitamin B₆ (Männer ab 19 Jahren: 1,8 mg/Tag, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) im Mittel erreicht. Die durchschnittliche tägliche Zufuhr von Vitamin B₆ über die Nahrung war bei den von uns untersuchten Personen in Gruppe 1, 2 und 3 vergleichbar ($1,96 \pm 0,44$ mg, $1,90 \pm 0,34$ mg und $1,94 \pm 0,31$ mg). Wurde jedoch die Vitamin B₆-Aufnahme für die Personen der Gruppen 2 und 3 getrennt berechnet, die vorwiegend Bier als Alkohol enthaltendes Getränk zu sich nahmen („Biertrinker Gr. 2+3“), so war im Vergleich zu den Personen, die vorwiegend Wein als Alkohol enthaltendes Getränk zu sich nahmen („Weintrinker Gr. 2+3“), die Vitamin B₆-Aufnahme höher ($2,04 \pm 0,36$ mg/Tag vs. $1,83 \pm 0,32$ mg/Tag, $p < 0,001$). Analog zur Vitamin B₆-Zufuhr war die Zufuhr von Vitamin B₂ (Riboflavin) und Folsäure bei der Gruppe der „Biertrinker Gr. 2+3“ im Vergleich zu den „Weintrinkern Gr. 2+3“ höher (Vitamin B₂: $1,97 \pm 0,47$ mg/Tag vs. $1,70 \pm 0,35$ mg/Tag bzw. Folsäure: $137,3 \pm 29,3$ µg/Tag vs. $118,0 \pm 26,1$ µg/Tag, jeweils $p < 0,005$). Bezüglich der Zufuhr von Folsäure konnte zusätzlich auch zwischen der Gruppe der „Mischtrinker Gr. 2+3“ ($130,8 \pm 28,9$ µg/Tag) und der Gruppe der „Weintrinker Gr. 2+3“ ($118,0 \pm 26,1$ µg/Tag) ein Unterschied ($p < 0,05$) errechnet werden (vgl. Tab. 3.6A, S. 87).

Vitamin B₆-Status (Enzymaktivität):

Der Aktivitätskoeffizient der Aspartataminotransferase (ASAT) der Probanden aus Gruppe 3 war mit $1,737 \pm 0,210$ niedriger und damit der Vitamin B₆-Status höher als bei den Probanden aus Gruppe 1 ($1,904 \pm 0,265$, $p < 0,05$). Die „Weintrinker Gr. 2+3“ (Aktivitätskoeffizient der ASAT: $1,874 \pm 0,334$) hatten einen niedrigeren Vitamin B₆-Status im Vergleich zu den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ ($1,826 \pm 0,232$, $p < 0,005$) bzw. einen tendenziell unterschiedlichen Vitamin B₆-Status im Vergleich zu den „Biertrinkern Gr. 2+3“ ($1,793 \pm 0,225$, $p = 0,10$) (vgl. Tab. 3.7A, S. 95).

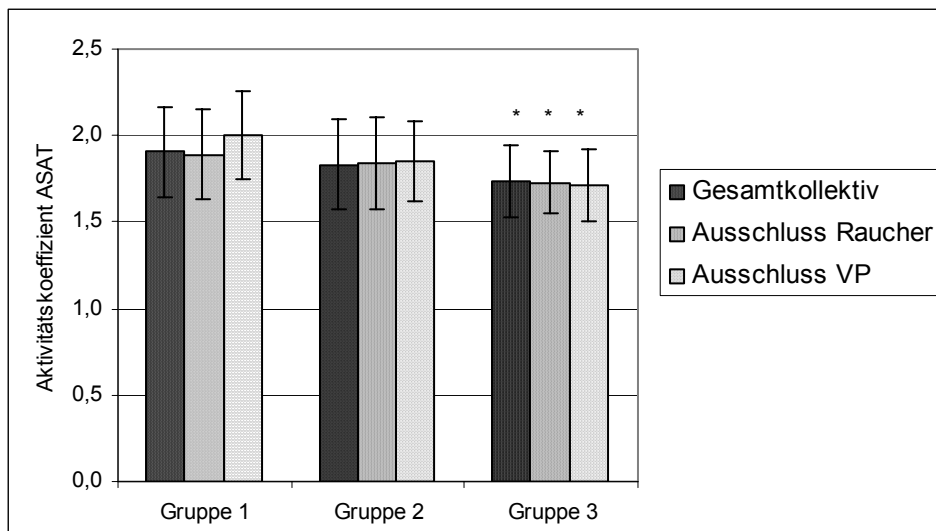


Abb. 3.14: Aktivitätskoeffizient der Aspartataminotransferase (ASAT) im Blut der Probanden der Gruppen 1 bis 3 unter Berücksichtigung von Rauchen (vgl. Kap. 2.1.3) und Einnahme von Vitaminpräparaten (vgl. Kap. 2.1.4) zur Bestimmung des Vitamin B₆-Status (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 1 (Gesamtkollektiv, Ausschluss der Raucher und Ausschluss der Probanden mit der Einnahme von Vitaminpräparaten).

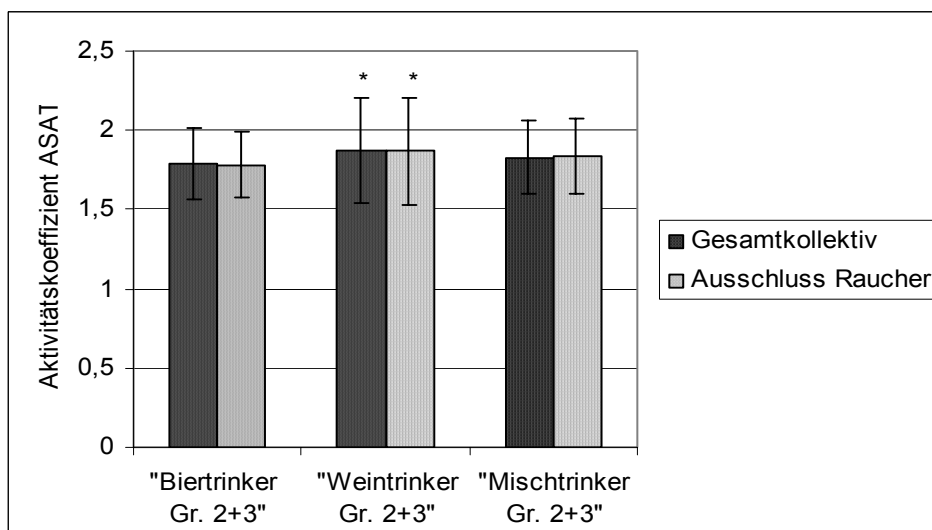


Abb. 3.15: Aktivitätskoeffizient der Aspartataminotransferase (ASAT) im Blut der Probanden der Gruppen „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“ unter Berücksichtigung von Rauchen (vgl. Kap. 2.1.3) zur Bestimmung des Vitamin B₆-Status (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,005$ vs. Gruppe „Mischtrinker Gr. 2+3“ und mit Tendenz $p = 0,10$ vs. Gruppe „Biertrinker Gr. 2+3“ (Gesamtkollektiv und Ausschluss der Raucher).

Konzentration im Plasma:

Die durchschnittliche Konzentration von im Plasma frei vorliegendem Pyridoxal-5'-phosphat war in Gruppe 3 höher als in Gruppe 1 (+ 60 %, $p < 0,05$) (vgl. Tab. 3.7, S. 94). Die „Weintrinker Gr. 2+3“ hatten einen signifikant höheren Plasmaspiegel an Pyridoxal-5'-phosphat von 10,3 mg/dL im Vergleich zu den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ (6,3 mg/dL, $p < 0,005$).

	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Vitamin B ₁ -Status (Enzymaktivität)	1,182 ± 0,237	1,186 ± 0,191	1,209 ± 0,218	1,232 ± 0,215	1,166 ± 0,175	1,189 ± 0,125	1,151 ± 0,084	1,213 ± 0,182	1,208 ± 0,110
Vitamin B ₂ -Status (Enzymaktivität)	1,207 ± 0,144	1,216 ± 0,110	1,177 ± 0,138	1,227 ± 0,111	1,220 ± 0,104	1,293 ± 0,131 ^{§§}	1,226 ± 0,149	1,322 ± 0,092	1,329 ± 0,134
Vitamin B ₂ (frei im Plasma) in µg/L	10,9 ± 23,7	7,5 ± 15,2	6,2 ± 6,7	6,4 ± 4,4	8,1 ± 18,8	7,0 ± 9,0	7,8 ± 8,8	5,1 ± 4,1	8,0 ± 12,0
in nmol/L	29,0 ± 62,9	19,9 ± 40,5	16,5 ± 17,8	17,1 ± 11,6	21,6 ± 49,9	18,6 ± 23,9	20,7 ± 23,4	13,6 ± 10,8	21,4 ± 32,0
Vitamin B ₆ -Status (Enzymaktivität)	1,904 ± 0,265	1,833 ± 0,261	1,790 ± 0,199	1,877 ± 0,382	1,830 ± 0,224	1,737 ± 0,210 ¹	1,707 ± 0,202	1,841 ± 0,196	1,700 ± 0,216
Pyridoxalphosphat (frei) in µg/L	5,89 ± 4,71	7,17 ± 6,97	6,50 ± 4,86	10,78 ± 11,92	6,23 ± 4,76	9,42 ± 6,08	9,01 ± 7,41	12,17 ± 4,68	7,43 ± 5,61
in nmol/L	23,9 ± 19,1	29,0 ± 28,2	26,3 ± 19,6	43,6 ± 48,2	25,2 ± 19,3	38,1 ± 24,6	36,5 ± 30,0	49,2 ± 19,0	30,1 ± 22,7
Wurzel (PLP, frei)	2,24 ± 0,95	2,43 ± 1,13				2,90 ± 1,03 ¹			
Vitamin B ₁₂ in ng/L	368 ± 138	356 ± 137	365 ± 130	346 ± 112	358 ± 147	341 ± 189	420 ± 203	260 ± 97	329 ± 207
in pmol/L	271 ± 102	263 ± 101	269 ± 96	255 ± 83	264 ± 108	252 ± 139	310 ± 150	192 ± 72	242 ± 153
Folsäure in pg/L	8,46 ± 3,30	8,98 ± 2,68	8,95 ± 2,98	9,36 ± 2,70	8,87 ± 2,61	9,37 ± 3,30	10,69 ± 2,51	6,34 ± 1,60	10,37 ± 3,53
in fmol/L	19,2 ± 7,5	20,3 ± 6,1	20,3 ± 6,8	21,2 ± 6,1	20,1 ± 5,9	21,2 ± 7,5	24,2 ± 5,7	14,4 ± 3,6	23,5 ± 8,0
Vitamin C in mg/L	10,28 ± 5,29	9,33 ± 4,73	9,35 ± 5,31	8,57 ± 4,27	9,59 ± 4,75	6,70 ± 3,26	7,08 ± 3,09	6,59 ± 2,60	6,53 ± 3,93
in µmol/L	58,4 ± 30,0	53,0 ± 26,8	53,1 ± 30,1	48,7 ± 24,2	54,4 ± 27,0	38,0 ± 18,5	40,2 ± 17,5	37,4 ± 14,7	37,1 ± 22,3

¹signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§]signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§}signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

Tab. 3.7: Konzentration von wasserlöslichen Vitaminen und Vitaminstatusbestimmungen im Plasma der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
alpha-Tocopherol in mg/L	11,2 ± 3,9	11,9 ± 3,7	10,4 ± 2,9	12,6 ± 4,2	12,0 ± 3,7	12,8 ± 3,6	12,3 ± 4,0	13,0 ± 3,3	13,1 ± 3,6
in µmol/L	25,9 ± 9,1	27,5 ± 8,6	24,2 ± 6,8	29,2 ± 9,8	27,8 ± 8,5	29,7 ± 8,4	28,6 ± 9,4	30,2 ± 7,8	30,3 ± 8,4
Retinol in mg/L	0,778 ± 0,269	0,857 ± 0,272	0,797 ± 0,293	0,892 ± 0,308	0,860 ± 0,254	0,885 ± 0,303	0,868 ± 0,397	0,850 ± 0,198	0,936 ± 0,290
in µmol/L	2,72 ± 0,94	2,99 ± 0,95	2,78 ± 1,02	3,11 ± 1,07	3,00 ± 0,89	3,09 ± 1,06	3,03 ± 1,39	2,97 ± 0,69	3,27 ± 1,01
beta-Carotin in mg/L	0,980 ± 0,935	0,848 ± 0,660	0,846 ± 0,731	0,945 ± 0,794	0,817 ± 0,595	0,537 ± 0,429 [§]	0,400 ± 0,245	0,476 ± 0,304	0,730 ± 0,597
in µmol/L	1,825 ± 1,742	1,580 ± 1,229	1,575 ± 1,362	1,760 ± 1,480	1,522 ± 1,108	1,000 ± 0,799 [§]	0,746 ± 0,456	0,887 ± 0,566	1,359 ± 1,113
Lycopin in mg/L	0,133 ± 0,079	0,132 ± 0,066	0,124 ± 0,060	0,129 ± 0,061	0,134 ± 0,068	0,120 ± 0,103	0,127 ± 0,127	0,091 ± 0,056	0,142 ± 0,115
in µmol/L	0,247 ± 0,147	0,246 ± 0,122	0,231 ± 0,111	0,241 ± 0,114	0,250 ± 0,128	0,223 ± 0,192	0,237 ± 0,236	0,169 ± 0,104	0,264 ± 0,214
beta-Cryptoxanthin in mg/L	0,084 ± 0,056	0,082 ± 0,058	0,072 ± 0,064	0,094 ± 0,078	0,080 ± 0,049	0,071 ± 0,117 ¹	0,037 ± 0,033	0,060 ± 0,051	0,115 ± 0,188
in µmol/L	0,152 ± 0,102	0,148 ± 0,106	0,130 ± 0,116	0,171 ± 0,141	0,145 ± 0,088	0,128 ± 0,212 ¹	0,067 ± 0,059	0,108 ± 0,091	0,209 ± 0,340
Lutein+Zeaxanthin in mg/L	0,153 ± 0,087	0,163 ± 0,101	0,133 ± 0,054	0,185 ± 0,134	0,163 ± 0,096	0,152 ± 0,069	0,148 ± 0,092	0,143 ± 0,044	0,164 ± 0,064
in µmol/L	0,269 ± 0,153	0,287 ± 0,177	0,235 ± 0,095	0,326 ± 0,235	0,286 ± 0,168	0,267 ± 0,121	0,260 ± 0,161	0,252 ± 0,077	0,288 ± 0,113

¹signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§]signifikant mit p < 0,0005 vs. Gruppe 1

²signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

Tab. 3.8: Konzentration von fettlöslichen Vitaminen, Carotinen und Xanthophyllen im Plasma der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Vitamin B ₁ -Status (Enzymaktivität)	1,185 ± 0,181	1,212 ± 0,205	1,183 ± 0,198
Vitamin B ₂ -Status (Enzymaktivität)	1,209 ± 0,153	1,253 ± 0,109	1,225 ± 0,114
Vitamin B ₂ (frei im Plasma) in µg/L	6,46 ± 7,03	6,58 ± 4,97	9,02 ± 21,13
in nmol/L	17,2 ± 18,7	17,5 ± 13,2	24,0 ± 56,1
Vitamin B ₆ -Status (Enzymaktivität)	1,793 ± 0,225	1,874 ± 0,334 ^{b,M}	1,826 ± 0,232
Pyridoxalphosphat (frei) in µg/L	7,11 ± 5,61	10,30 ± 9,97 ^M	6,30 ± 4,81 ^W
in nmol/L	28,8 ± 22,7	41,7 ± 40,3 ^M	25,5 ± 19,5 ^W
Vitamin B ₁₂ in ng/L	385 ± 158	329 ± 124	359 ± 150
in pmol/L	284 ± 117	243 ± 91	265 ± 111
Folsäure in pg/L	9,44 ± 2,90	8,61 ± 2,81	8,91 ± 2,89
in fmol/L	21,4 ± 6,6	19,5 ± 6,4	20,2 ± 6,5
Vitamin C in mg/L	8,46 ± 4,70	8,14 ± 3,76	9,35 ± 4,84
in µmol/L	48,0 ± 26,7	46,2 ± 21,3	53,1 ± 27,5

^W signifikant mit $p < 0,005$ vs. "Weintrinker"

^M signifikant mit $p < 0,005$ vs. "Mischtrinker"

^W Tendenz ($p = 0,10$) vs. "Weintrinker"

^b Tendenz ($p = 0,10$) vs. "Biertrinker"

Tab. 3.7A: Konzentration von wasserlöslichen Vitaminen und Vitaminstatusbestimmungen im Plasma der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
alpha-Tocopherol in mg/L	11,2 ± 3,8	12,5 ± 3,8	11,8 ± 3,8
in µmol/L	26,0 ± 8,8	29,0 ± 8,8	27,4 ± 8,8
Retinol in mg/L	0,816 ± 0,324	0,871 ± 0,269	0,849 ± 0,259
in µmol/L	2,85 ± 1,13	3,04 ± 0,94	2,96 ± 0,90
beta-Carotin in mg/L	0,764 ± 0,916	0,844 ± 0,711	0,813 ± 0,602
in µmol/L	1,423 ± 1,706	1,572 ± 1,324	1,514 ± 1,121
Lycopin in mg/L	0,659 ± 0,478	0,615 ± 0,313	0,666 ± 0,367
in µmol/L	1,228 ± 0,890	1,146 ± 0,583	1,241 ± 0,684
beta-Cryptoxanthin in mg/L	0,059 ± 0,061	0,086 ± 0,070	0,083 ± 0,071
in µmol/L	0,107 ± 0,110	0,156 ± 0,127	0,150 ± 0,128
Lutein+Zeaxanthin in mg/L	0,147 ± 0,090	0,173 ± 0,113	0,158 ± 0,089
in µmol/L	0,258 ± 0,158	0,304 ± 0,199	0,278 ± 0,156

Tab. 3.8A: Konzentration von fettlöslichen Vitaminen, Carotinen und Xanthophyllen im Plasma der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

	NICHTRAUCHER			RAUCHER		
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Vitamin B ₁ -Status (Enzymaktivität)	1,196 ± 0,250	1,180 ± 0,189	1,193 ± 0,139	1,091 ± 0,088	1,193 ± 0,204	1,178 ± 0,077
Vitamin B ₂ -Status (Enzymaktivität)	1,193 ± 0,120	1,223 ± 0,106	1,286 ± 0,137 ^{§,§§}	1,277 ± 0,234	1,194 ± 0,145	1,335 ± 0,086
Vitamin B ₂ (frei im Plasma) in µg/L in nmol/L	12,1 ± 25,1	7,7 ± 15,8	7,5 ± 9,3	2,36 ± 1,48	6,72 ± 10,33	5,76 ± 8,34
	32,1 ± 66,7	20,5 ± 42,0	19,9 ± 24,7	6,28 ± 3,93	17,8 ± 27,4	15,3 ± 22,2
Vitamin B ₆ -Status (Enzymaktivität)	1,892 ± 0,262	1,839 ± 0,265	1,729 ± 0,181 ¹	1,961 ± 0,287	1,799 ± 0,189	1,759 ± 0,283 ¹
Pyridoxalphosphat (frei) in µg/L in nmol/L	6,03 ± 4,70	7,19 ± 7,10	9,24 ± 5,43	5,05 ± 5,27	6,66 ± 5,20	9,93 ± 8,07
	24,4 ± 19,0	29,1 ± 28,7	37,4 ± 22,0	20,4 ± 21,3	27,0 ± 21,0	40,2 ± 32,6
Vitamin B ₁₂ in ng/L in pmol/L	370 ± 139	349 ± 134	326 ± 166	339 ± 139	419 ± 145	385 ± 245
	273 ± 103	257 ± 99	241 ± 122	250 ± 103	309 ± 107	284 ± 181
Folsäure in pg/L in fmol/L	8,65 ± 3,30	8,96 ± 2,71	9,35 ± 3,33	6,89 ± 3,16	9,00 ± 2,16	9,39 ± 3,37
	19,6 ± 7,5	20,3 ± 6,1	21,2 ± 7,5	15,6 ± 7,2	20,4 ± 4,9	21,3 ± 7,6
Vitamin C in mg/L in µmol/L	10,44 ± 5,28	9,27 ± 4,78	7,03 ± 2,92	9,05 ± 5,66	10,57 ± 4,79	5,68 ± 4,15
	59,3 ± 30,0	52,6 ± 27,1	39,9 ± 16,6	51,4 ± 32,1	60,0 ± 27,2	32,2 ± 23,5

¹signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§]signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§}signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

Tab. 3.7B: Konzentration von wasserlöslichen Vitaminen und Vitaminstatusbestimmungen im Plasma der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, jeweils unterteilt in Raucher und Nichtraucher (vgl. Kap. 2.1.3) (MW ± SD)

	NICHTRAUCHER			RAUCHER		
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
alpha-Tocopherol in mg/L in µmol/L	11,5 ± 4,1	11,9 ± 3,6	12,2 ± 3,4	9,0 ± 2,1	12,0 ± 4,2	15,8 ± 3,4
	26,7 ± 9,5	27,6 ± 8,4	28,3 ± 7,9	20,8 ± 4,8	27,8 ± 9,8	36,7 ± 7,9
Retinol in mg/L in µmol/L	0,807 ± 0,272	0,862 ± 0,266	0,867 ± 0,303	0,568 ± 0,140	0,883 ± 0,329	0,974 ± 0,312
	2,82 ± 0,95	3,01 ± 0,93	3,03 ± 1,06	1,98 ± 0,49	3,08 ± 1,15	3,40 ± 1,09
beta-Carotin in mg/L in µmol/L	1,064 ± 0,971	0,850 ± 0,646	0,585 ± 0,452 ¹	0,408 ± 0,269	0,821 ± 0,709	0,302 ± 0,162 [§]
	1,982 ± 1,809	1,583 ± 1,203	1,090 ± 0,842 ¹	0,759 ± 0,500	1,529 ± 1,322	0,563 ± 0,303 [§]
Lycopin in mg/L in µmol/L	0,659 ± 0,357	0,649 ± 0,325	0,638 ± 0,545	0,689 ± 0,592	0,699 ± 0,332	0,390 ± 0,253
	1,228 ± 0,665	1,209 ± 0,605	1,188 ± 1,015	1,283 ± 1,103	1,303 ± 0,618	0,727 ± 0,471
beta-Cryptoxanthin in mg/L in µmol/L	0,090 ± 0,057	0,083 ± 0,059	0,078 ± 0,127	0,039 ± 0,024	0,070 ± 0,046	0,036 ± 0,026
	0,163 ± 0,103	0,150 ± 0,107	0,141 ± 0,230	0,070 ± 0,043	0,126 ± 0,084	0,065 ± 0,047
Lutein+Zeaxanthin in mg/L in µmol/L	0,158 ± 0,090	0,166 ± 0,104	0,148 ± 0,055	0,115 ± 0,058	0,180 ± 0,178	0,172 ± 0,120
	0,278 ± 0,158	0,292 ± 0,183	0,260 ± 0,097	0,203 ± 0,103	0,317 ± 0,314	0,303 ± 0,210

¹signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§]signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

Tab. 3.8B: Konzentration von fettlöslichen Vitaminen, Carotinen und Xanthophyllen im Plasma der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, jeweils unterteilt in Raucher und Nichtraucher (vgl. Kap. 2.1.3) (MW ± SD)

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Einnahme von Vitaminpräparaten in %	33,9 ± 47,7	33,7 ± 47,4	32,6 ± 47,4
Vitamin B ₁ -Status (Enzymaktivität)	1,140 ± 0,135	1,198 ± 0,209	1,192 ± 0,129
Vitamin B ₂ -Status (Enzymaktivität)	1,201 ± 0,116	1,238 ± 0,104	1,295 ± 0,120 ^{1,†}
Vitamin B ₂ (frei im Plasma) in µg/L	11,1 ± 27,9	7,2 ± 17,7	6,9 ± 9,8
Vitamin B ₆ -Status (Enzymaktivität)	2,002 ± 0,251	1,853 ± 0,234 [§]	1,710 ± 0,210 ^{1,§§}
Pyridoxalphosphat (frei) in µg/L	5,55 ± 4,63	7,00 ± 5,21	10,73 ± 6,16 ^{§,2}
Vitamin B ₁₂ in ng/L	335 ± 124	349 ± 135	323 ± 216
Folsäure in pg/L	7,69 ± 2,74	8,54 ± 2,38	8,76 ± 3,00
Vitamin C in mg/L	9,98 ± 5,15	9,13 ± 4,77	6,69 ± 3,43

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

^{§§} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

[†] signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

[†] Tendenz mit p = 0,10 vs. Gruppe 2

Tab. 3.7C: Konzentration von wasserlöslichen Vitaminen und Vitaminstatusbestimmungen im Plasma der Probanden der Gruppen 1 bis 3 ohne die Probanden mit der Zufuhr von Vitaminpräparaten (vgl. Kap. 2.1.4) (MW ± SD)

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Einnahme von Vitaminpräparaten in %	33,9 ± 47,7	33,7 ± 47,4	32,6 ± 47,4
alpha-Tocopherol in mg/L	10,5 ± 3,3	12,2 ± 3,8 ¹	13,1 ± 3,6 [§]
Retinol in mg/L	0,763 ± 0,269	0,881 ± 0,259 ¹	0,873 ± 0,271
beta-Carotin in mg/L	0,726 ± 0,382	0,800 ± 0,634	0,492 ± 0,465 ²
Lycopin in mg/L	0,132 ± 0,073	0,129 ± 0,062	0,108 ± 0,092
beta-Cryptoxanthin in mg/L	0,073 ± 0,035	0,086 ± 0,063	0,052 ± 0,046 [§]
Lutein+Zeaxanthin in mg/L	0,140 ± 0,062	0,172 ± 0,115	0,164 ± 0,076

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

Tab. 3.8C: Konzentration von fettlöslichen Vitaminen, Carotinen und Xanthophyllen im Plasma der Probanden der Gruppen 1 bis 3 ohne die Probanden mit der Zufuhr von Vitaminpräparaten (vgl. Kap. 2.1.4) (MW ± SD)

3.4.1.5 Vitamin B₁₂

Zufuhr:

Die mittlere tägliche Zufuhr von Vitamin B₁₂ über die Nahrung war bei den Probanden der eigenen Studie mit 4,3 µg pro Tag niedriger als bei den männlichen Probanden des groß angelegten Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999), bei denen eine tägliche Zufuhr von durchschnittlich 7 µg Vitamin B₁₂ errechnet wurde. Die von der DGE empfohlenen 3 µg Vitamin B₁₂ pro Tag (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) wurden im Mittel von den Probanden der eigenen Studie jedoch zugeführt. Zwischen den Probanden der einzelnen Gruppen konnten bezüglich der Zufuhr von Vitamin B₁₂ keine signifikanten Unterschiede errechnet werden.

Konzentration im Plasma:

Das Probandenkollektiv hatte mit 356 ± 147 ng/L im Mittel eine dem Normbereich zuordenbare Konzentration von Vitamin B₁₂ im Plasma (Norm: 180 – 1130 ng/L). Die Konzentration von Vitamin B₁₂ im Plasma unterschied sich bei den Probanden der Gruppen 1 bis 3 nicht signifikant voneinander.

3.4.1.6 Folsäure

Zufuhr:

Die DGE legte die Zufuhrempfehlung für Folsäure (Folat-Äquivalente bzw. freie Folsäure) für Erwachsene auf 150 µg/Tag fest (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Die Probanden der eigenen Studie hatten mit $129,8 \pm 32,8$ µg eine um 13 % niedrigere mittlere tägliche Zufuhr von Folsäure im Vergleich zur Zufuhrempfehlung der DGE. Signifikante Unterschiede bei der Zufuhr von Folsäure über die Nahrung konnten zwischen Gruppe 1, 2 und 3 nicht errechnet werden. Dagegen hatten die „Weintrinker Gr. 2+3“ eine niedrigere tägliche Aufnahme an Folsäure als die „Biertrinker Gr. 2+3“ (- 14 %, $p < 0,005$) bzw. die „Mischtrinker Gr. 2+3“ (- 10 %, $p < 0,05$).

Konzentration im Plasma:

Zwischen Gruppe 1 bis 3 sowie den „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinkern Gr. 2+3“ konnten in Bezug auf die Konzentration von Folsäure im Plasma entsprechend zur Zufuhr keine signifikanten Unterschiede errechnet werden.

3.4.2 Konzentration von fettlöslichen Vitaminen, Carotinoiden und Xanthophyllen im Plasma

3.4.2.1 α -Tocopherol

Zufuhr:

Die DGE empfiehlt eine tägliche Zufuhr von 12 mg RRR- α -Tocopherol-Äquivalent (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Diese Zufuhrempfehlung wurde in der eigenen Studie im Mittel von den Personen der Gruppe 1 und der Gruppe 2, sowie den „Wein-“ und „Mischtrinkern Gr. 2+3“, nicht aber von der Gruppe 3 und der Gruppe der „Biertrinker Gr. 2+3“ erfüllt. Die Aufnahme von α -Tocopherol in Form von Lebensmitteln unterschied sich bei Gruppe 3 signifikant sowohl von der Gruppe 1 ($p < 0,05$) als auch von der Gruppe 2 ($p < 0,01$): gegenüber der Gruppe 1 war die Aufnahme von α -Tocopherol um 19 %, im Vergleich zur Gruppe 2 um 16 % niedriger (vgl. Tab. 3.6, S. 86). Die „Biertrinker Gr. 2+3“ hatten mit durchschnittlich 9,8 mg/Tag eine signifikant niedrigere Aufnahme von α -Tocopherol in Form von Lebensmitteln als die „Weintrinker Gr. 2+3“ mit 12,7 mg/Tag ($p < 0,001$) und als die „Mischtrinker Gr. 2+3“ mit 12,1 mg/Tag ($p < 0,005$).

Konzentration im Plasma:

In Bezug auf die Konzentration von α -Tocopherol im Plasma waren die Personen der Gruppen 1 bis 3 sowie die „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“ vergleichbar (vgl. Tab. 3.8 bzw. Tab. 3.8A, S. 94 und S. 95), auch nach Ausschluss der Raucher (vgl. Tab. 3.8B, S. 96). Allerdings hatten die Probanden der Gruppe 1 nach Ausschluss der Probanden mit Einnahme von Vitaminpräparaten niedrigere Konzentration von α -Tocopherol im Plasma im Vergleich zu den Probanden der Gruppe 2 (- 14 %, $p < 0,05$) sowie der Gruppe 3 (- 20 %, $p < 0,01$) (vgl. Tab. 3.8C, S. 97).

3.4.2.2 Retinol

Zufuhr:

Die Zufuhr von Retinol und Retinoläquivalenten (1 mg Retinoläquivalent entsprechen 1 mg Retinol, 6 mg β -Carotin und 12 mg anderer Carotinoide mit Provitamin A-Wirkung) war bei den Probanden der eigenen Studie im Mittel in den einzelnen Gruppen gleich. Dasselbe galt für die tägliche Aufnahme von β -Carotin und für den Summenparameter Carotinoide.

Konzentration im Plasma:

In Bezug auf die Konzentration von Retinol im Plasma der Probanden wurden bei den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede errechnet (vgl. Tab. 3.8, S. 94).

3.4.2.3 β -Carotin

Zufuhr:

Die von der DGE empfohlenen 2 mg β -Carotin pro Tag (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) wurden von den Probanden der eigenen Studie in keiner der Gruppen zugeführt: die mittlere tägliche Zufuhr von β -Carotin war bei den Probanden der Gruppen 1 bis 3 lediglich $1,38 \pm 0,58$ mg. Die Aufnahme von β -Carotin über die Nahrung war zwischen den einzelnen Gruppen vergleichbar (vgl. Tab. 3.6, S. 86).

Konzentration im Plasma:

Die Probanden der Gruppe 3 hatten einen im Mittel um 45 % niedrigeren Plasmaspiegel an β -Carotin im Vergleich zur Gruppe 1 (vgl. Tab. 3.8, Abb. 3.16). Der Unterschied erreichte Signifikanzniveau ($p < 0,0005$). Der Ausschluss der Probanden, die mindestens eine Zigarette pro Tag rauchten, brachte keine wesentlichen Änderungen bei den Verhältnissen zwischen den Gruppen mit sich (vgl. Tab. 3.8B, Abb. 3.16). Durch den Ausschluss der Probanden, die Vitaminpräparate in mindestens wöchentlichem Turnus zuführten, errechnete sich zwischen den Probanden der Gruppe 3 ($0,492 \pm 0,465$) und den Probanden der Gruppe 2 ($0,800 \pm 0,634$) ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) (vgl. Tab. 3.8C, Abb. 3.16). Dagegen spielte der Typ des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks in Bezug auf die Plasmakonzentration von β -Carotin keine Rolle (vgl. Tab. 3.8A, S. 95, und Abb. 3.17).

3.4.2.4 Weitere Carotine, Xanthophylle

Zufuhr:

Die Gruppe der Carotine (β -Carotin, Lycopin) und Xanthophylle (β -Cryptoxanthin, Lutein, Zeaxanthin) wurde als Summenparameter Carotinoide erhoben. Bezüglich der Zufuhr von Carotinoiden als Summenparameter über die Nahrung konnte zwischen den einzelnen Gruppen kein signifikanter Unterschied errechnet werden (vgl. Tab. 3.6, S. 86).

Konzentration im Plasma:

Die Konzentration von Lycopin, Lutein und Zeaxanthin im Blut war durchschnittlich bei den Probanden in den einzelnen Gruppen gleich. Die Probanden der Gruppe 3 hatten jedoch einen signifikant niedrigeren Plasmaspiegel an β -Cryptoxanthin im Vergleich zu den Probanden der Gruppe 1 (- 15 %, $p < 0,05$).

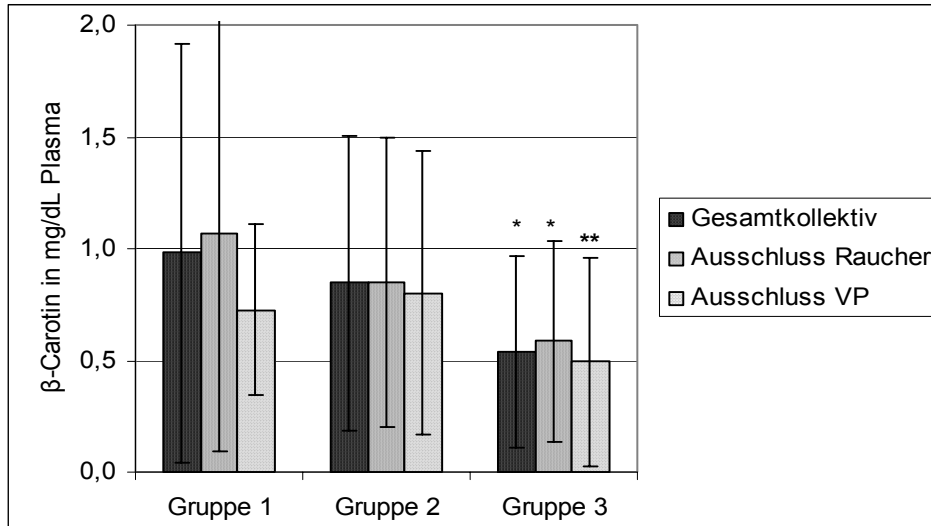


Abb. 3.16: Konzentration von β -Carotin im Plasma der Probanden der Gruppen 1 bis 3, angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,0005$ vs. Gruppe 1 (Gesamtkollektiv und Ausschluss der Raucher), ** signifikant mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 2 (Ausschluss der Probanden mit der Einnahme von Vitaminpräparaten).

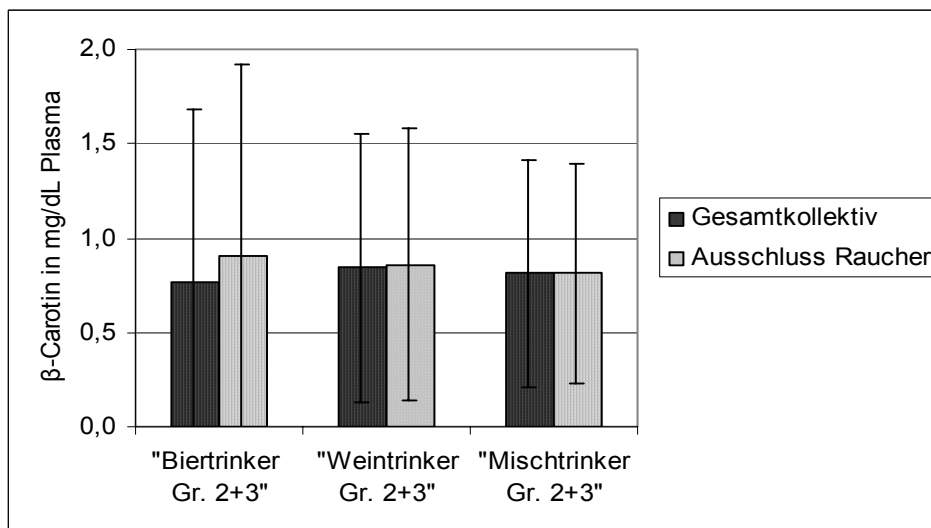


Abb. 3.17: Konzentration von β -Carotin im Plasma der Probanden der Gruppen „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“, angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD)

3.5 Konzentration von Thiolen im Plasma

Die Konzentration von Homocystein im Plasma war im Mittel in den einzelnen Gruppen gleich, auch die Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks beeinflusste die Konzentration von Homocystein im Plasma nicht (vgl. Tab. 3.9, 3.9A und 3.9B, S. 86-88, sowie Abb. 3.18). Entsprechendes galt für die ebenfalls mittels HPLC und Fluoreszenz-Detektion nach Derivatisierung mit SBD-F (7-Fluorobenzofurazan-4-sulfonsäure

Ammoniumsalz) mitbestimmten thiolischen Peptide Glutathion (vgl. Abb. 3.19), Cysteinylglycin sowie die Aminosäure Cystein.

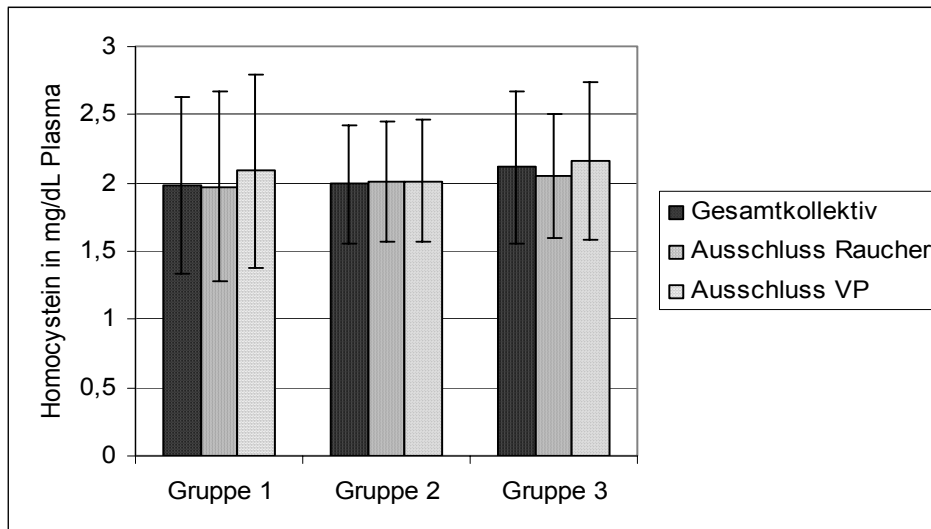


Abb. 3.18: Konzentration von Homocystein im Plasma der Probanden der Gruppen 1 bis 3 unter Berücksichtigung von Rauchen (vgl. Kap. 2.1.3) und Einnahme von Vitaminpräparaten (VP) (vgl. Kap. 2.1.4), angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD)

Bezüglich der Konzentration von Glutathion, Cystein und Cysteinylglycin im Plasma waren im Durchschnitt die einzelnen Probanden der Gruppen 1 bis 3 vergleichbar. Dasselbe galt auch für die Gruppen, in die unsere Probanden nach die Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks eingeteilt wurden.

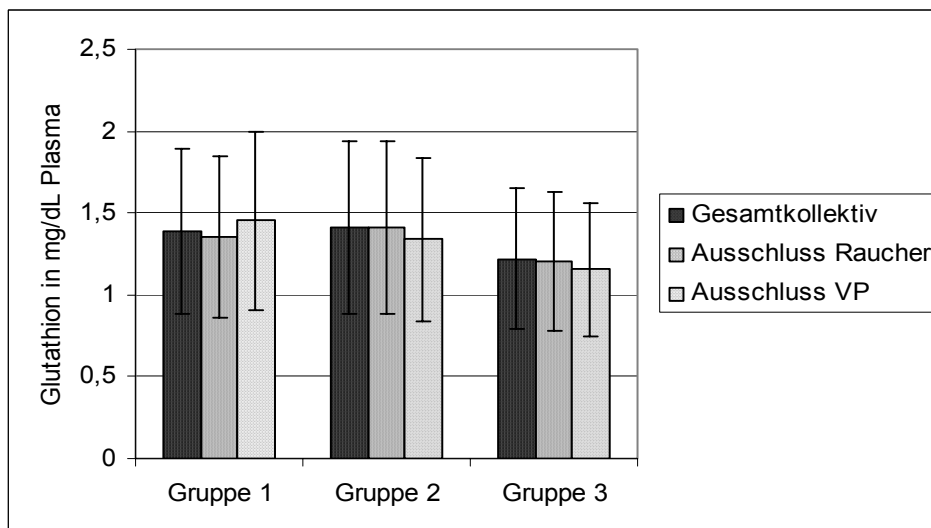


Abb. 3.19: Konzentration von Glutathion im Plasma der Probanden der Gruppen 1 bis 3 unter Berücksichtigung von Rauchen (vgl. Kap. 2.1.3) und Einnahme von Vitaminpräparaten (VP) (vgl. Kap. 2.1.4), angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD)

3.6 Lipide, Apolipoproteine und Lipoproteine

3.6.1 Konzentration von Lipiden und Apolipoproteinen im Serum

Die Konzentrationen von Lipiden und Apolipoproteinen im Serum sind in Tabelle 3.10 angegeben.

Die Konzentration des Gesamtcholesterins (freies + verestertes Cholesterin) im Serum der Probanden der Gruppe 3 war höher im Vergleich zu den Probanden der Gruppe 1 bzw. der Gruppe 2 (+ 10 % bzw. + 8 %, jeweils $p < 0,05$) (vgl. Abb. 3.20). Die Personen des Kollektivs „Weintrinker Gr. 2+3“ (vgl. Kap. 2.1.2.2) hatten mit durchschnittlich 221 ± 45 mg/dL eine höhere Konzentration von Gesamtcholesterin im Serum als die Personen der „Mischtrinker Gr. 2+3“ (202 ± 39 mg/dL, $p < 0,005$) (vgl. Tab. 3.10A, S. 104, und Abb. 3.21).

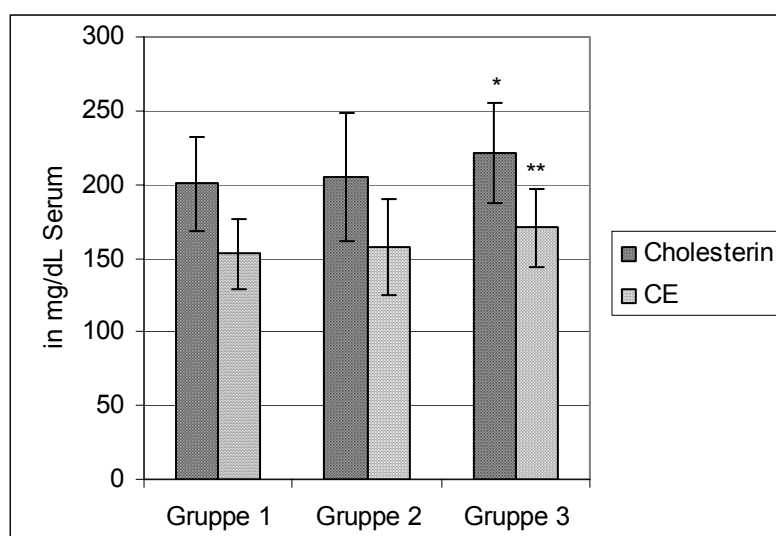


Abb. 3.20: Konzentration des Gesamtcholesterins und Cholesterinesters (CE) im Serum der Probanden der Gruppen 1 bis 3, angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 1 und mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 2, ** signifikant mit $p < 0,01$ vs. Gruppe 1 und mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 2.

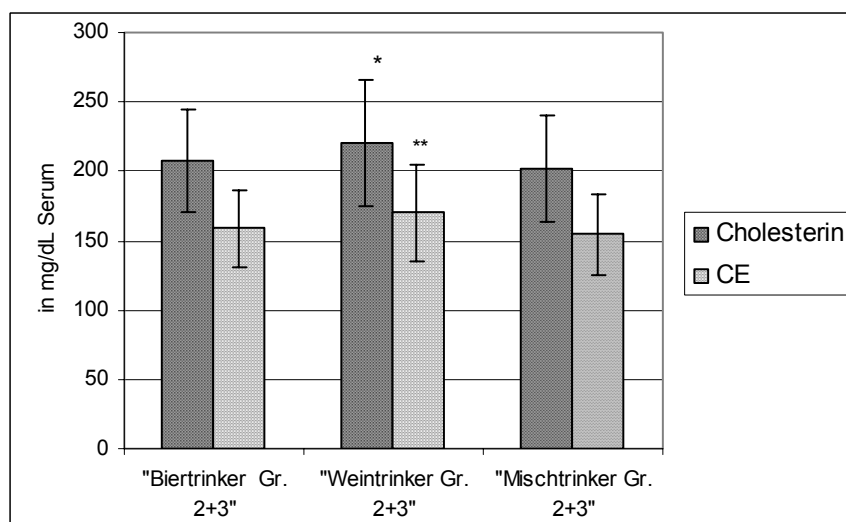


Abb. 3.21: Konzentration des Gesamtcholesterins und Cholesterinesters (CE) im Serum der Probanden der Gruppen „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“, angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,01$ vs. Gruppe „Mischtrinker Gr. 2+3“, ** signifikant mit $p < 0,005$ vs. Gruppe „Mischtrinker Gr. 2+3“.

	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Cholesterin in mg/dL	200,6 ± 31,7	205,1 ± 43,0	195,5 ± 35,3	224,4 ± 52,3	200,4 ± 39,4	221,5 ± 34,3	222,0 ± 35,7	218,8 ± 30,4	223,4 ± 38,2
log (Cholesterin)	2,297 ± 0,067	2,303 ± 0,088				2,341 ± 0,066 ^{1,2}			
freies Cholesterin in mg/dL	48,1 ± 8,1	47,6 ± 10,6	45,6 ± 8,8	51,6 ± 13,2	46,7 ± 9,8	50,8 ± 8,8	52,1 ± 10,2	47,7 ± 6,6	52,3 ± 8,8
Cholesterinester in mg/dL	153,2 ± 23,7	157,3 ± 32,8	149,9 ± 26,9	172,8 ± 39,7	153,7 ± 30,1	170,7 ± 26,6	170,0 ± 25,7	171,2 ± 25,4	171,1 ± 30,2
log (Cholesterinester)	2,179 ± 0,067	2,188 ± 0,087				2,227 ± 0,067 ^{§,2}			
Triglyceride in mg/dL	139,3 ± 106,3	117,0 ± 76,2	114,9 ± 83,3	129,5 ± 77,2	113,3 ± 74,4	161,0 ± 124,8	171,7 ± 122,6	116,8 ± 52,9	188,5 ± 163,0
Phospholipide in mg/dL	212,2 ± 31,7	222,9 ± 37,3	215,4 ± 32,3	240,2 ± 41,5	218,8 ± 35,4	250,0 ± 37,3	253,3 ± 40,8	241,3 ± 25,1	254,1 ± 43,1
Lipoprotein (a) in mg/dL	29,4 ± 31,5	28,0 ± 32,1	26,5 ± 33,2	32,1 ± 30,5	27,0 ± 32,5	33,8 ± 37,3	30,2 ± 30,9	36,5 ± 44,9	35,0 ± 38,4
Apolipoprotein A-1 in mg/dL	134,6 ± 17,4	149,2 ± 22,5 [†]	148,3 ± 20,7	149,4 ± 29,6	149,3 ± 20,4	164,7 ± 19,9	165,1 ± 17,8	167,9 ± 20,1	161,6 ± 22,4
Apolipoprotein A-2 in mg/dL	46,9 ± 6,4	52,3 ± 7,4 [†]	51,7 ± 10,2	52,9 ± 6,9	52,3 ± 6,8	58,4 ± 9,1	59,3 ± 8,3	57,9 ± 8,1	57,8 ± 11,0
Apolipoprotein B in mg/dL	102,9 ± 22,4	99,9 ± 28,7	95,0 ± 27,6	109,6 ± 33,6	97,7 ± 26,7	104,9 ± 19,8	103,2 ± 16,7	103,0 ± 18,6	108,3 ± 24,2
Apolipoprotein C-2 in mg/dL	4,03 ± 1,97	4,05 ± 1,99	3,71 ± 1,99	4,36 ± 2,31	4,02 ± 1,87	4,54 ± 1,81	4,93 ± 2,38	3,78 ± 1,16	4,80 ± 1,49
Apolipoprotein C-3 in mg/dL	11,02 ± 4,30	11,30 ± 3,73	10,95 ± 4,87	12,42 ± 4,68	11,00 ± 2,94	13,39 ± 4,07 ^{1,2}	13,55 ± 4,84	12,68 ± 2,07	13,83 ± 4,68
Apolipoprotein E in mg/dL	9,03 ± 2,64	8,99 ± 3,16	8,04 ± 2,30	10,09 ± 5,12	8,84 ± 2,28	10,89 ± 4,64	11,20 ± 6,51	9,48 ± 1,83	11,79 ± 4,08
log (Apolipoprotein E)	0,939 ± 0,118	0,934 ± 0,128				1,011 ± 0,139 ^{T,2}			

[†] signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

[†] signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

^{||} signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^T Tendenz mit p = 0,06 vs. Gruppe 2

Tab. 3.10: Konzentration von Lipiden, Lipoprotein (a) und Apolipoproteinen im Serum der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Cholesterin in ...									
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	27,9 ± 23,2	23,8 ± 21,7	23,3 ± 17,9	31,2 ± 36,0	21,4 ± 14,6	35,1 ± 35,7	39,6 ± 49,6	23,8 ± 13,2	40,5 ± 32,2
log (VLDL)	1,335 ± 0,298	1,276 ± 0,284				1,419 ± 0,301 ²			
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	12,0 ± 4,6	12,2 ± 6,3	10,2 ± 5,1	14,6 ± 8,2	11,8 ± 5,6	13,6 ± 5,4	12,4 ± 4,3	13,3 ± 4,6	15,1 ± 6,7
log (IDL)	1,047 ± 0,159	1,036 ± 0,211				1,109 ± 0,170 ²			
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	111,1 ± 22,6	110,0 ± 30,3	102,8 ± 28,1	116,9 ± 36,0	109,4 ± 28,6	109,4 ± 26,5	107,4 ± 26,3	114,8 ± 22,9	106,5 ± 30,5
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	21,6 ± 7,7	21,2 ± 7,0	19,0 ± 6,8	23,6 ± 8,2	20,8 ± 6,4	22,4 ± 8,5	19,6 ± 6,2	25,0 ± 9,2	22,8 ± 9,5
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	17,5 ± 7,3	16,8 ± 6,2	15,4 ± 5,4	18,8 ± 7,3	16,4 ± 5,8	16,8 ± 7,2	15,6 ± 6,9	18,7 ± 6,9	16,5 ± 8,0
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	19,7 ± 6,8	19,4 ± 7,2	17,8 ± 6,8	21,0 ± 8,3	19,2 ± 6,9	19,3 ± 7,4	19,0 ± 8,2	20,8 ± 6,1	18,2 ± 8,0
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	20,0 ± 6,4	20,4 ± 8,3	19,4 ± 8,4	21,1 ± 9,3	20,4 ± 7,9	19,8 ± 6,6	20,5 ± 6,5	20,6 ± 5,8	18,3 ± 7,3
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	16,6 ± 7,6	17,0 ± 8,4	16,0 ± 7,0	17,3 ± 10,0	17,1 ± 8,2	16,2 ± 6,1	17,3 ± 6,7	15,7 ± 5,4	15,5 ± 6,3
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	15,9 ± 8,8	15,3 ± 7,3	15,2 ± 6,8	15,2 ± 8,2	15,4 ± 7,2	14,8 ± 5,0	15,2 ± 4,1	13,9 ± 4,4	15,3 ± 6,4
High-density-L. (HDL) in mg/dL	43,8 ± 9,7	51,2 ± 10,7 [†]	49,8 ± 10,1	52,5 ± 12,8	51,1 ± 10,1	56,3 ± 10,6 ^{1,2}	55,3 ± 6,7	58,9 ± 11,8	55,1 ± 12,8
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	12,0 ± 4,3	14,8 ± 6,0	13,9 ± 4,9	16,8 ± 6,9	14,4 ± 5,8	16,1 ± 5,5	14,8 ± 3,8	16,4 ± 5,3	17,3 ± 7,1
log (HDL _{2b})	1,046 ± 0,171	1,138 ± 0,168 [§]				1,183 ± 0,144 [§]			
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	15,1 ± 4,2	18,8 ± 4,3 [†]	17,7 ± 4,5	19,7 ± 4,2	18,7 ± 4,3	21,2 ± 4,4 ^{1,§§}	20,9 ± 3,9	22,8 ± 4,3	20,1 ± 4,9
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	14,5 ± 2,9	15,9 ± 2,9 [†]	15,2 ± 3,4	15,5 ± 2,7	16,1 ± 2,8	16,4 ± 3,5 [§]	17,0 ± 3,5	17,1 ± 3,3	15,1 ± 3,4

[†] signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

[†] signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

^{||} signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.11: Konzentration von Cholesterin in den Serum-Lipoproteinen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Cholesterin in mg/dL	207,6 ± 36,8	220,5 ± 45,3 ^m	201,8 ± 38,6 ^w
freies Cholesterin in mg/dL	48,8 ± 9,7	50,4 ± 11,3	47,2 ± 9,5
Cholesterinester in mg/dL	158,8 ± 27,6	170,1 ± 34,9	154,6 ± 29,5
log (Cholesterinester)	2,195 ± 0,074	2,222 ± 0,084 ^m	2,182 ± 0,082 ^w
Triglyceride in mg/dL	150,8 ± 121,1	122,5 ± 68,0	125,9 ± 92,1
Phospholipide in mg/dL	231,3 ± 39,5	237,4 ± 36,5 ^M	219,8 ± 37,4 ^w
Lipoprotein (a) in mg/dL	26,7 ± 30,5	32,1 ± 35,2	28,4 ± 32,6
Apolipoprotein A I in mg/dL	152,3 ± 21,6	152,4 ± 27,6	147,0 ± 21,5
Apolipoprotein A II in mg/dL	53,9 ± 9,9	53,3 ± 7,5	51,7 ± 7,7
Apolipoprotein B in mg/dL	100,2 ± 24,9	106,7 ± 29,1	99,7 ± 26,3
Apolipoprotein C II in mg/dL	4,40 ± 2,41	4,14 ± 1,96	4,08 ± 1,84
Apolipoprotein C III in mg/dL	12,47 ± 5,56	12,12 ± 4,02	11,23 ± 3,33
Apolipoprotein E in mg/dL	9,41 ± 4,45	9,88 ± 4,22	9,12 ± 2,71

^w signifikant mit p < 0,005 vs. "Weintrinker"

^m signifikant mit p < 0,005 vs. "Mischtrinker"

^w signifikant mit p < 0,01 vs. "Weintrinker"

^M signifikant mit p < 0,01 vs. "Mischtrinker"

Tab. 3.10A: Konzentration von Lipiden, Lipoprotein (a) und Apolipoproteinen im Serum der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

Cholesterin in ...	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	32,5 ± 35,0	28,1 ± 30,0	24,4 ± 19,1
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	11,41 ± 4,54	13,96 ± 7,15	12,12 ± 5,68
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	104,8 ± 27,2	116,5 ± 31,7	108,9 ± 27,5
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	19,6 ± 6,6	24,6 ± 8,7	20,6 ± 6,6
log (LDL ₁)	1,268 ± 0,147	1,363 ± 0,161 ^{Bx,M}	1,293 ± 0,138
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	15,8 ± 6,6	19,1 ± 7,1 ^{B,My}	16,2 ± 5,9
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	18,4 ± 7,7	21,1 ± 7,6	18,9 ± 6,8
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	19,5 ± 7,8	20,7 ± 8,3	20,2 ± 7,6
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	16,3 ± 6,8	16,5 ± 8,7	17,2 ± 8,2
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	14,6 ± 7,0	15,2 ± 6,7	15,9 ± 7,7
High-density-L. (HDL) in mg/dL	50,4 ± 10,5	53,5 ± 12,3 ^m	49,8 ± 10,9
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	13,8 ± 4,5	16,4 ± 6,3 ^{b,M}	14,0 ± 5,8
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	18,3 ± 5,0	20,2 ± 4,2 ^{Mx}	18,0 ± 4,6
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	15,6 ± 3,7	15,7 ± 2,8	15,7 ± 2,9

^m Tendenz mit p = 0,07 vs. "Mischtrinker"

^{Bx} signifikant mit p < 0,005 vs. "Biertrinker"

^M signifikant mit p < 0,01 vs. "Mischtrinker"

^B signifikant mit p < 0,05 vs. "Biertrinker"

^b Tendenz mit p = 0,05 vs. "Biertrinker"

^M signifikant mit p < 0,05 vs. "Mischtrinker"

^{Mx} signifikant mit p < 0,005 vs. "Mischtrinker"

^{My} signifikant mit p < 0,01 vs. "Mischtrinker"

Tab. 3.11A: Konzentration von Cholesterin in den Serum-Lipoproteinen im Plasma der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

In Analogie zu den Unterschieden der Konzentrationen des Gesamtcholesterins im Blut der Probanden der drei Gruppen verhielten sich auch die Veränderungen der Cholesterinester: Die Konzentration von Cholesterinester im Plasma der Probanden der Gruppe 3 war höher als bei den Probanden der Gruppe 1 (+ 5,6 %, $p < 0,01$) und der Gruppe 2 (+ 6,7 %, $p < 0,05$). Die Probanden der Gruppe der „Weintrinker Gr. 2+3“ hatten eine signifikant höhere Konzentration von Gesamtcholesterin sowie Cholesterinestern im Serum als die Probanden der Gruppe der „Mischtrinker Gr. 2+3“ (+ 9,3 % bzw. + 10,0 %, $p < 0,01$ bzw. $p < 0,005$).

Weder die Konzentration an freiem Cholesterin noch die der Triglyceride im Plasma war zwischen den einzelnen Gruppen different.

In Bezug auf die Konzentration von Phospholipiden im Serum hatten die Probanden aus der Gruppe mit höherem Alkoholkonsum (Gruppe 3) mit $250,0 \pm 37,3$ mg/dL einen höheren Wert im Vergleich zur Gruppe 1 ($212,2 \pm 31,7$ mg/dL, $p < 0,0001$) und zur Gruppe 2 ($222,9 \pm 37,3$ mg/dL, $p < 0,0001$) (vgl. Tab. 3.10 und Abb. 3.22). Die Personen der Gruppe der „Weintrinker Gr. 2+3“ (vgl. 2.1.2.2) hatten mit $237,4 \pm 36,5$ mg/dL eine höhere Konzentration von Phospholipiden im Serum im Vergleich zur den Personen der Gruppe der „Mischtrinker Gr. 2+3“ ($219,8 \pm 37,4$ mg/dL, $p < 0,01$) (vgl. Abb. 3.23).

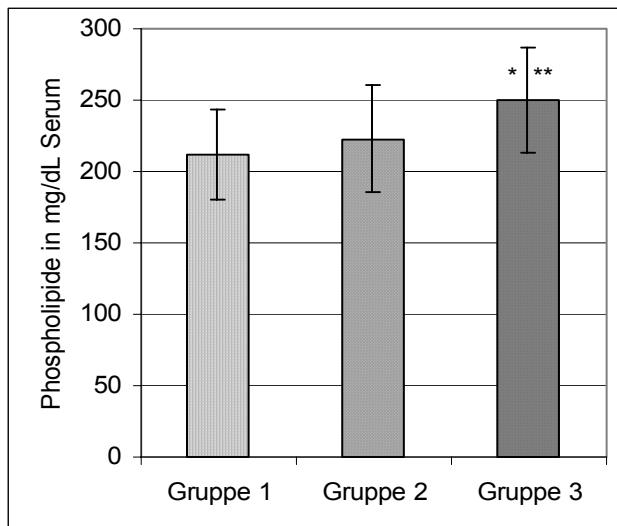


Abb. 3.22: Konzentration der Phospholipide (PL) im Serum der Probanden der Gruppen 1 bis 3, angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,0001$ vs. Gruppe 1, ** signifikant mit $p < 0,0001$ vs. Gruppe 2.

Die Konzentration von Lipoprotein (a) im Serum war zwischen den Probanden der einzelnen Gruppen nicht unterschiedlich.

Die Konzentration von Apolipoprotein A-1 im Serum war bei den Personen der Gruppe 3 höher als bei den Personen der Gruppen 1 und 2, sowie bei den Personen der Gruppe 2 höher als bei den Personen der Gruppe 1 (jeweils $p < 0,0001$). Die Mittelwerte der Konzentrationen von Apolipoprotein A-1 im Serum waren in der Gruppe 2 um 11 % und in der Gruppe 3 um 22 % höher als in der Gruppe 1; bei der Gruppe 3 waren die Mittelwerte 10 % höher als bei der Gruppe 2.

Entsprechendes galt für die Konzentration von Apolipoprotein A-2 im Serum: zwischen allen drei Gruppen waren signifikante Unterschiede zu errechnen ($p < 0,0001$). Der Mittelwert der Konzentration von Apolipoprotein A-2 im Serum von Gruppe 3 war mit $58,4 \pm 9,1$ mg/dL um 12 bzw. 25 % höher als in Gruppe 2 bzw. in Gruppe 1. Die Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks hatte in Bezug auf die Konzentration von Apolipoprotein A-1 und A-2 im Serum keinen Einfluss.

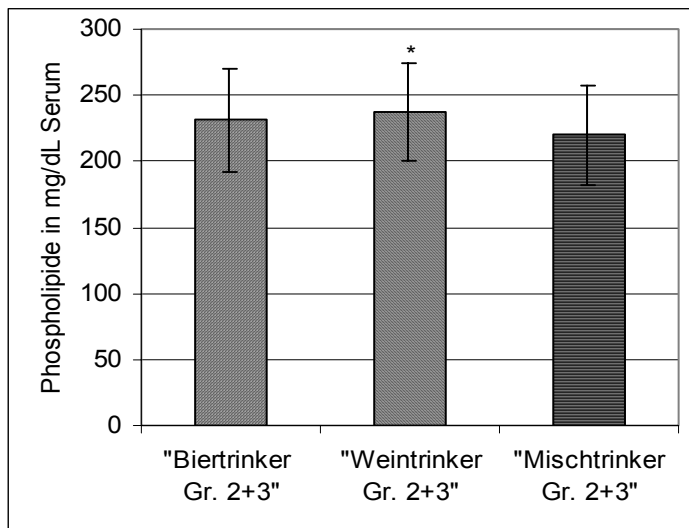


Abb. 3.23: Konzentration der Phospholipide (PL) im Serum der Probanden der Gruppen „Bier-“, „Wein-“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“, angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD));
 * signifikant mit $p < 0,01$ vs. Gruppe „Mischtrinker Gr. 2+3“.

Die Konzentration von Apolipoprotein B und C-2 im Serum war bei den Probanden aller Gruppen vergleichbar. Die Probanden der Gruppe 3 hatten in Bezug auf das Apolipoprotein C-3 mit $13,39 \pm 4,07$ mg/dL eine im Mittel um 22 % bzw. 18 % höhere Konzentration im Serum als die Gruppe 1 ($11,02 \pm 4,30$ mg/dL, $p < 0,05$) bzw. die Gruppe 2 ($11,30 \pm 3,73$ mg/dL, $p < 0,05$).

Bezüglich der Konzentration von Apolipoprotein E im Serum unterschieden sich die Probanden der Gruppe 3 ($10,89 \pm 4,64$ mg/dL) signifikant von den Probanden der Gruppe 2 ($8,99 \pm 3,16$ mg/dL, $p < 0,05$) und tendenziell von den Probanden der Gruppe 1 ($9,03 \pm 2,64$ mg/dL, $p = 0,06$). Die Art des alkoholhaltigen Getränks hatte in Bezug auf die Konzentration von Apolipoprotein E im Serum keinen Einfluss.

3.6.2 Untersuchung von Serumlipiden in den einzelnen Lipidfraktionen und Subfraktionen

3.6.2.1 Konzentration von Cholesterin in den Lipoproteinfraktionen im Serum (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL)

Mit $35,1 \pm 35,7$ mg/dL war die Konzentration von Cholesterin in den Very-low-density-Lipoproteinen (VLDL) bei der Gruppe 3 höher als die der Gruppe 2 mit durchschnittlich $23,8 \pm 21,7$ mg/dL ($p < 0,05$) (vgl. Tab. 3.11, S. 103).

In den Intermediate-density-Lipoproteinen (IDL) war – wie auch bei den VLDL – bei den Personen der Gruppe 3 mit $13,6 \pm 5,4$ mg/dL Blut die Konzentration von Cholesterin höher als bei den Probanden der Gruppe 2 ($12,2 \pm 6,3$ mg/dL) ($p < 0,05$).

In Bezug auf die Konzentration von Gesamt-Cholesterin in den Low-density-Lipoproteinen (LDL) inklusive aller sechs Subfraktionen waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu errechnen.

Demgegenüber waren die Konzentrationen von Cholesterin in den High-density-Lipoproteinen (HDL) bei den Probanden in Gruppe 3 höher als bei den Probanden der Gruppe 2 (+ 10 %, $p < 0,05$) und der Gruppe 1 (+ 29 %, $p < 0,0001$). Für die Probanden der Gruppe 2

errechnete sich im Vergleich zur den Probanden der Gruppe 1 ebenfalls eine höhere Konzentration von Cholesterin in HDL (+ 17 %, $p < 0,0001$). Signifikante Unterschiede wurden auch bei den Subfraktionen HDL_{2b} (Dichtebereich 1,063-1,100 kg/L), HDL_{2a} (Dichtebereich 1,100-1,150 kg/L) sowie HDL₃ (Dichtebereich 1,150-1,210 kg/L) berechnet – die Signifikanzniveaus sind der Tab. 3.11 zu entnehmen. Alkoholkonsum war bei den Probanden demnach mit einem Anstieg der Konzentration des HDL-Cholesterins verbunden. Die Konzentration von Cholesterin wurde bei der Subfraktion HDL₃ nicht so stark durch den Konsum von Alkohol angehoben wie dies bei der Subfraktion HDL₂ der Fall war (vgl. Abb. 3.24).

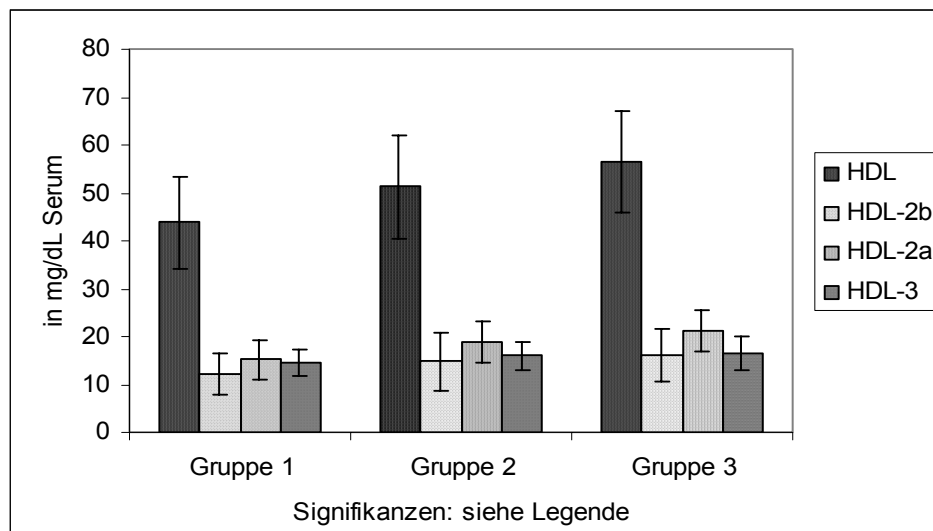


Abb. 3.24: Konzentration von Cholesterin in High-density-Lipoproteinen (HDL) einschließlich der Subfraktionen HDL_{2b}, HDL_{2a} sowie HDL₃ im Serum der Probanden der Gruppen 1 bis 3, angegeben in mg/dL (Mittelwert $\pm$ SD). Signifikanzen: HDL: Gr. 3 vs. Gr. 1 mit $p < 0,0001$, Gr. 3 vs. Gr. 2 mit $p < 0,05$, Gr. 2 vs. Gr. 1 mit $p < 0,0001$; HDL_{2b}: Gr. 3 vs. Gr. 1 mit $p < 0,005$, Gr. 2 vs. Gr. 1 mit $p < 0,01$; HDL_{2a}: Gr. 3 vs. Gr. 1 mit $p < 0,0001$, Gr. 3 vs. Gr. 2 mit $p < 0,01$, Gr. 2 vs. Gr. 1 mit $p < 0,0001$; HDL₃: Gr. 3 vs. Gr. 1 mit $p < 0,01$, Gr. 2 vs. Gr. 1 mit $p < 0,05$.

Bei den Personen, die über 80 % des konsumierten Alkohols in Form von Wein zu sich nahmen („Weintrinker Gr. 2+3“), war die Cholesterinkonzentration in der Subfraktion der LDL mit der niedrigsten Dichte, der LDL₁, signifikant höher im Vergleich zu den „Biertrinkern Gr. 2+3“ (+ 26 %, $p < 0,005$) und den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ (+ 19 %, $p < 0,01$). Entsprechendes galt auch für die Konzentration von Cholesterin in der Subfraktion LDL₂ (vgl. Tab. 3.11A). Die „Weintrinker Gr. 2+3“ hatten im Vergleich zu den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ eine tendenziell höhere Konzentration von HDL-Cholesterin (+ 7,4 %, $p = 0,07$), sowie eine höhere Konzentration von Cholesterin in der Subfraktion HDL_{2b} sowie in der Subfraktion HDL_{2a} (+ 17 %, $p < 0,05$ bzw. + 12 %, $p < 0,005$). Gegenüber den „Biertrinkern Gr. 2+3“ hatten die „Weintrinker Gr. 2+3“ eine tendenziell höhere Konzentration von Cholesterin in der Fraktion HDL_{2b} (+ 19 %, $p = 0,05$).

3.6.2.2 Konzentration von freiem Cholesterin (FC) in den Lipoproteinfraktionen im Serum (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL)

Die Konzentration von freiem Cholesterin (FC) in den Lipoproteinfraktionen VLDL, IDL und LDL war nicht different.

Die Probanden in Gruppe 1 hatten eine niedrigere Konzentration von freiem Cholesterin in der HDL-Gesamtfraktion (- 15 % bzw. - 23 %, $p < 0,05$) und den Subfraktionen HDL_{2b} (- 19

freies Cholesterin in ...	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	9,8 ± 7,9	8,3 ± 6,7	8,3 ± 6,2	10,2 ± 10,0	7,7 ± 5,3	11,6 ± 10,8	13,7 ± 14,2	6,91 ± 4,43	13,6 ± 10,1
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	3,26 ± 1,18	3,30 ± 1,59	2,77 ± 1,27	3,88 ± 2,01	3,24 ± 1,44	3,63 ± 1,31	3,33 ± 1,03	3,58 ± 1,12	3,98 ± 1,68
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	26,0 ± 6,6	25,7 ± 7,3	23,7 ± 7,3	27,0 ± 8,4	25,8 ± 6,8	24,4 ± 7,1	24,3 ± 7,1	25,4 ± 5,9	23,4 ± 8,2
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	5,52 ± 2,15	5,35 ± 1,96	4,50 ± 2,09	5,99 ± 2,23	5,33 ± 1,76	5,52 ± 2,21	4,88 ± 1,73	6,11 ± 2,38	5,65 ± 2,45
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	4,32 ± 2,03	4,15 ± 1,65	3,78 ± 1,49	4,58 ± 1,91	4,10 ± 1,57	3,97 ± 1,79	3,78 ± 1,76	4,35 ± 1,74	3,83 ± 1,93
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	4,69 ± 1,89	4,62 ± 1,76	4,25 ± 1,75	4,91 ± 2,02	4,60 ± 1,67	4,39 ± 1,83	4,45 ± 2,11	4,62 ± 1,41	4,14 ± 1,93
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	4,61 ± 1,61	4,71 ± 1,90	4,48 ± 2,13	4,73 ± 2,03	4,76 ± 1,81	4,29 ± 1,60	4,55 ± 1,74	4,35 ± 1,10	3,97 ± 1,86
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	3,55 ± 1,51	3,63 ± 1,67	3,41 ± 1,46	3,61 ± 1,91	3,69 ± 1,64	3,27 ± 1,22	3,55 ± 1,28	3,17 ± 0,98	3,08 ± 1,36
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	3,26 ± 1,48	3,16 ± 1,34	3,04 ± 1,16	3,03 ± 1,44	3,23 ± 1,35	2,88 ± 0,86	3,03 ± 0,75	2,75 ± 0,96	2,85 ± 0,92
High-density-L. (HDL) in mg/dL	6,00 ± 1,72	7,08 ± 2,00 ¹	6,96 ± 1,83	7,19 ± 2,15	7,06 ± 2,00	7,77 ± 2,48 ¹	7,75 ± 1,12	7,48 ± 3,00	8,05 ± 3,05
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	2,01 ± 0,79	2,48 ± 1,10	2,32 ± 0,85	2,79 ± 1,23	2,41 ± 1,09	2,60 ± 0,91	2,43 ± 0,50	2,55 ± 0,92	2,81 ± 1,22
log (HDL _{2b})	0,264 ± 0,184	0,355 ± 0,184 ¹				0,389 ± 0,149 ¹			
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	1,99 ± 0,68	2,45 ± 0,71 ¹	2,32 ± 0,69	2,57 ± 0,70	2,44 ± 0,71	2,74 ± 0,67 ¹	2,77 ± 0,63	2,86 ± 0,62	2,60 ± 0,78
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	1,64 ± 0,35	1,83 ± 0,35	1,86 ± 0,40	1,76 ± 0,43	1,85 ± 0,31	1,79 ± 0,51	1,80 ± 0,64	1,82 ± 0,42	1,75 ± 0,47

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

Tab. 3.12: Konzentration von freiem Cholesterin in den Serum-Lipoproteinen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

Cholesterinester in ...	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	30,4 ± 26,2	26,1 ± 25,5	25,3 ± 19,9	35,3 ± 44,0	23,1 ± 16,0	39,6 ± 42,5	43,5 ± 60,0	28,4 ± 16,5	45,3 ± 37,8
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	14,8 ± 5,9	14,9 ± 7,9	12,5 ± 6,5	18,0 ± 10,5	14,5 ± 7,0	16,8 ± 6,9	15,2 ± 5,5	16,4 ± 6,1	18,7 ± 8,6
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	143,3 ± 28,5	141,9 ± 39,7	133,2 ± 36,0	151,4 ± 47,3	140,8 ± 37,3	143,1 ± 33,8	139,9 ± 32,8	150,6 ± 30,3	139,9 ± 38,6
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	27,2 ± 9,5	26,6 ± 8,7	24,4 ± 8,8	29,7 ± 10,1	26,1 ± 8,0	28,4 ± 10,7	24,7 ± 7,5	31,9 ± 11,7	28,9 ± 11,9
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	22,1 ± 9,0	21,3 ± 7,7	19,6 ± 6,6	23,9 ± 9,2	20,8 ± 7,2	21,7 ± 9,3	20,0 ± 8,7	24,2 ± 8,7	21,3 ± 10,3
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	25,2 ± 8,5	24,8 ± 9,3	22,8 ± 8,6	27,1 ± 10,7	24,5 ± 8,8	25,1 ± 9,5	24,6 ± 10,2	27,2 ± 8,0	23,7 ± 10,3
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	25,9 ± 8,3	26,5 ± 10,9	25,2 ± 10,7	27,5 ± 12,4	26,4 ± 10,4	26,1 ± 8,5	26,8 ± 8,2	27,4 ± 8,2	24,2 ± 9,4
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	22,0 ± 10,4	22,5 ± 11,6	21,2 ± 9,5	23,0 ± 13,7	22,6 ± 11,3	21,8 ± 8,4	23,1 ± 9,3	21,2 ± 7,6	21,0 ± 8,6
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	21,3 ± 12,4	20,5 ± 10,2	20,3 ± 10,0	20,5 ± 11,4	20,5 ± 10,0	20,1 ± 7,2	20,5 ± 5,8	18,8 ± 6,0	20,9 ± 9,5
High-density-L. (HDL) in mg/dL	63,7 ± 13,6	74,3 ± 15,1 ¹	72,2 ± 14,0	76,2 ± 18,2	74,2 ± 14,2	81,8 ± 14,5 ^{1,2}	80,1 ± 9,8	86,6 ± 16,0	79,3 ± 16,7
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	16,9 ± 6,1	20,8 ± 8,3 [§]	19,5 ± 6,9	23,6 ± 9,7	20,1 ± 7,9	22,7 ± 7,9 [§]	20,7 ± 5,6	23,3 ± 7,6	24,4 ± 10,0
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	22,1 ± 6,1	27,5 ± 6,2 ¹	26,0 ± 6,4	28,8 ± 5,9	27,4 ± 6,3	31,1 ± 6,4 ^{1,§§}	30,6 ± 5,6	33,5 ± 6,4	29,5 ± 7,1
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	21,6 ± 4,3	23,6 ± 4,5 ¹	22,5 ± 5,4	23,1 ± 4,1	24,0 ± 4,4	24,6 ± 5,2 [§]	25,6 ± 5,3	25,7 ± 4,9	22,5 ± 5,0

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

¹¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.13: Konzentration von Cholesterinester in den Serum-Lipoproteinen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

freies Cholesterin in ...	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	11,38 ± 10,53	9,07 ± 8,50	8,64 ± 6,39
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	3,12 ± 1,14	3,74 ± 1,77	3,28 ± 1,45
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	23,7 ± 7,4	26,9 ± 7,6	25,4 ± 6,7
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	4,65 ± 1,98	6,19 ± 2,29	5,24 ± 1,76
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	3,74 ± 1,76	4,61 ± 1,85	4,00 ± 1,57
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	4,22 ± 1,98	4,90 ± 1,85	4,50 ± 1,69
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	4,39 ± 1,98	4,62 ± 1,79	4,67 ± 1,79
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	3,45 ± 1,42	3,44 ± 1,66	3,68 ± 1,65
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	3,11 ± 1,10	2,93 ± 1,27	3,26 ± 1,40
High-density-L. (HDL) in mg/dL	6,89 ± 1,91	7,21 ± 2,26	6,91 ± 2,11
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	2,22 ± 0,78	2,68 ± 1,11	2,34 ± 1,06
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	2,38 ± 0,76	2,62 ± 0,66	2,34 ± 0,73
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	1,78 ± 0,51	1,76 ± 0,41	1,80 ± 0,34

Tab. 3.12A: Konzentration von freiem Cholesterin in den Serum-Lipoproteinen der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

Cholesterinester in ...	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	32,6 ± 40,2	32,0 ± 36,6	26,6 ± 21,6
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	14,4 ± 5,9	17,2 ± 9,1	14,8 ± 7,2
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	138,1 ± 34,1	151,0 ± 41,6	140,8 ± 35,8
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	24,6 ± 8,2	31,0 ± 10,8 ^{BM}	25,9 ± 8,1
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	19,1 ± 8,0	24,3 ± 8,9 ^{bm}	20,6 ± 7,4
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	23,5 ± 9,6	27,3 ± 9,8	24,3 ± 8,7
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	25,8 ± 9,9	27,1 ± 11,2	26,2 ± 9,9
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	22,7 ± 10,1	22,0 ± 11,9	22,9 ± 11,2
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	21,7 ± 11,1	19,6 ± 9,8	21,2 ± 10,7
High-density-L. (HDL) in mg/dL	72,2 ± 14,8	78,0 ± 17,4	72,2 ± 15,1
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	19,0 ± 6,4	23,1 ± 8,9	19,7 ± 8,0
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	26,6 ± 7,0	29,6 ± 6,2	26,3 ± 6,7
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	22,9 ± 5,7	23,6 ± 4,2	23,4 ± 4,5

^B signifikant mit p < 0,005 vs. "Biertrinker"

^M signifikant mit p < 0,001 vs. "Mischtrinker"

^b signifikant mit p < 0,05 vs.

"Biertrinker"

^m signifikant mit p < 0,01 vs. "Mischtrinker"

Tab. 3.13A: Konzentration von Cholesterinester in den Serum-Lipoproteinen der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

Phospholipide in ...	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	30,1 ± 26,6	25,1 ± 20,4	25,6 ± 22,0	30,1 ± 27,4	23,2 ± 16,8	36,6 ± 32,9	41,3 ± 40,5	24,2 ± 12,3	42,6 ± 35,6
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	8,83 ± 3,09	9,01 ± 4,25	7,53 ± 3,27	10,65 ± 5,62	8,81 ± 3,76	10,46 ± 3,78	9,69 ± 3,05	10,29 ± 3,16	11,39 ± 4,84
log (IDL)	0,919 ± 0,144	0,914 ± 0,191				1,001 ± 0,156 ²			
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	73,3 ± 14,6	72,8 ± 20,0	67,3 ± 17,5	77,8 ± 24,0	72,5 ± 18,9	74,5 ± 17,4	73,7 ± 16,6	77,1 ± 14,9	73,0 ± 20,7
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	14,6 ± 5,1	14,3 ± 4,8	12,6 ± 4,4	16,1 ± 5,7	14,0 ± 4,4	15,6 ± 5,6	13,7 ± 4,0	17,3 ± 5,9	16,1 ± 6,5
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	11,4 ± 4,8	11,0 ± 4,1	10,0 ± 3,5	12,4 ± 4,9	10,8 ± 3,9	11,3 ± 4,8	10,5 ± 4,5	12,4 ± 4,5	11,2 ± 5,5
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	12,8 ± 4,4	12,6 ± 4,8	11,5 ± 4,4	13,8 ± 5,6	12,5 ± 4,5	12,8 ± 4,9	12,6 ± 5,2	13,8 ± 4,0	12,3 ± 5,5
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	12,9 ± 4,1	13,2 ± 5,4	12,5 ± 5,3	13,7 ± 6,3	13,2 ± 5,2	13,1 ± 4,4	13,6 ± 4,3	13,5 ± 3,9	12,2 ± 5,1
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	10,5 ± 4,9	10,8 ± 5,4	10,2 ± 4,6	11,0 ± 6,5	10,9 ± 5,2	10,5 ± 4,1	11,3 ± 4,3	10,2 ± 3,7	10,1 ± 4,3
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	10,6 ± 5,5	10,3 ± 4,7	10,2 ± 4,6	10,2 ± 5,2	10,3 ± 4,6	10,3 ± 3,3	10,8 ± 2,7	9,5 ± 3,0	10,5 ± 4,3
High-density-L. (HDL) in mg/dL	62,3 ± 14,5	74,9 ± 19,8 ¹	72,3 ± 18,6	76,7 ± 19,8	74,9 ± 16,5	88,5 ± 16,6 ^{1,II}	90,4 ± 16,3	88,1 ± 16,2	87,0 ± 18,3
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	15,2 ± 5,9	19,8 ± 8,6	18,1 ± 6,8	22,5 ± 9,9	19,2 ± 8,4	23,0 ± 8,2	22,0 ± 8,7	22,3 ± 6,8	24,7 ± 9,1
log (HDL _{2b})	1,144 ± 0,185	1,256 ± 0,188				1,335 ± 0,153 ^{§,§§}			
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	22,4 ± 7,1	28,6 ± 7,9 ¹	27,0 ± 9,9	29,7 ± 7,2	28,6 ± 7,6	34,4 ± 8,3 ^{1,II}	35,1 ± 8,2	35,4 ± 7,5	32,7 ± 9,5
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	21,3 ± 5,0	23,9 ± 4,6 [§]	23,5 ± 4,5	23,4 ± 5,1	24,2 ± 4,4	26,1 ± 5,2 ^{1,2}	28,3 ± 5,6	25,7 ± 4,3	24,1 ± 5,1

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

^{II} signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.14: Konzentration von Phospholipiden in den Serum-Lipoproteinen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

Triglyceride in ...	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	88,8 ± 91,7	69,1 ± 65,9	73,1 ± 71,6	75,0 ± 65,4	66,2 ± 65,2	102,3 ± 106,8	114,9 ± 103,6	60,0 ± 35,8	126,3 ± 141,2
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	8,23 ± 2,90	8,19 ± 3,26	7,43 ± 3,07	8,89 ± 3,78	8,13 ± 3,10	9,73 ± 3,20	9,63 ± 2,69	9,21 ± 2,70	10,30 ± 4,08
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	21,8 ± 10,7	19,6 ± 9,0	18,3 ± 7,9	22,0 ± 11,5	19,1 ± 8,2	22,4 ± 9,3	19,2 ± 6,5	22,9 ± 9,2	25,2 ± 11,2
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	4,58 ± 2,00	4,39 ± 2,03	3,74 ± 1,17	5,16 ± 2,67	4,29 ± 1,87	5,33 ± 2,11	4,37 ± 1,41	5,79 ± 2,21	5,88 ± 2,38
log (LDL ₁)	0,625 ± 0,163	0,609 ± 0,171				0,694 ± 0,174 ²			
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	3,01 ± 1,75	2,68 ± 1,49	2,30 ± 0,83	3,14 ± 1,80	2,62 ± 1,48	3,02 ± 1,41	2,19 ± 0,70	3,48 ± 1,55	3,43 ± 1,52
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	3,34 ± 2,07	3,05 ± 2,26	2,62 ± 1,36	3,40 ± 2,09	3,03 ± 2,48	3,31 ± 1,63	2,59 ± 0,75	3,68 ± 1,98	3,72 ± 1,78
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	3,43 ± 2,12	3,10 ± 1,87	2,97 ± 1,85	3,45 ± 2,33	3,02 ± 1,69	3,40 ± 1,81	2,87 ± 1,23	3,57 ± 1,91	3,79 ± 2,16
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	3,03 ± 2,38	2,68 ± 1,87	2,61 ± 1,90	2,89 ± 2,31	2,63 ± 1,70	2,87 ± 1,85	2,64 ± 1,81	2,65 ± 1,38	3,29 ± 2,25
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	3,93 ± 3,09	3,30 ± 1,98	3,39 ± 2,41	3,33 ± 2,28	3,28 ± 1,77	3,47 ± 2,40	3,01 ± 1,14	3,06 ± 1,36	4,29 ± 3,64
High-density-L. (HDL) in mg/dL	11,4 ± 3,9	12,5 ± 4,7	11,8 ± 4,2	13,3 ± 3,9	12,4 ± 5,0	15,6 ± 5,8 ^{1,II}	15,0 ± 7,2	15,2 ± 4,4	16,6 ± 5,5
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	3,35 ± 1,75	3,80 ± 2,12	3,46 ± 1,61	4,39 ± 2,13	3,68 ± 2,20	4,92 ± 2,92 ^{§,2}	4,58 ± 3,81	4,52 ± 1,78	5,64 ± 2,72
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	3,81 ± 1,23	4,51 ± 1,82	4,18 ± 1,86	4,66 ± 1,25	4,54 ± 1,97	5,75 ± 2,10 ^{1,II}	5,47 ± 2,27	5,86 ± 1,82	5,96 ± 2,25
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	3,41 ± 1,21	3,49 ± 1,20	3,36 ± 1,08	3,30 ± 1,01	3,49 ± 1,29	3,93 ± 1,24	3,99 ± 1,32	3,83 ± 0,88	3,94 ± 1,51

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

^{II} signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.15: Konzentration von Triglyceriden in den Serum-Lipoproteinen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (MW ± SD)

Phospholipide in ...	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	35,6 ± 33,7	27,5 ± 23,2	26,3 ± 21,2
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	8,87 ± 3,26	10,34 ± 4,89	8,98 ± 3,87
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	70,7 ± 17,0	77,6 ± 21,0	72,2 ± 18,1
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	13,2 ± 4,2	16,8 ± 5,8	13,9 ± 4,5
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	10,2 ± 4,2	12,6 ± 4,7	10,6 ± 4,0
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	11,9 ± 4,9	13,8 ± 5,1	12,3 ± 4,5
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	12,8 ± 5,0	13,5 ± 5,6	13,1 ± 5,0
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	10,9 ± 4,7	10,5 ± 5,7	11,0 ± 5,2
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	11,0 ± 4,8	9,9 ± 4,5	10,6 ± 4,9
High-density-L. (HDL) in mg/dL	76,4 ± 20,1	78,5 ± 19,1	73,1 ± 17,6
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	18,6 ± 7,5	22,0 ± 8,9	18,7 ± 8,4
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	29,0 ± 10,0	30,7 ± 7,6	27,4 ± 8,2
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	24,7 ± 5,8	23,6 ± 5,0	23,6 ± 4,7

^w signifikant mit p < 0,005 vs. "Weintrinker"

^m signifikant mit p < 0,005 vs. "Mischtrinker"

^w signifikant mit p < 0,01 vs. "Weintrinker"

^m signifikant mit p < 0,01 vs. "Mischtrinker"

Tab. 3.14A: Konzentration von Phospholipiden in den Serum-Lipoproteinen der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

Triglyceride in ...	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Very-low-density-L. (VLDL) in mg/dL	103,9 ± 104,2	68,8 ± 56,3	76,5 ± 79,1
Intermediate-density-L. (IDL) in mg/dL	8,73 ± 3,21	8,76 ± 3,39	8,36 ± 3,20
Low-density-L. (LDL) in mg/dL	20,41 ± 9,83	21,73 ± 10,38	20,20 ± 9,27
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	4,24 ± 1,65	5,30 ± 2,54	4,43 ± 1,97
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	2,49 ± 1,35	3,19 ± 1,70	2,73 ± 1,53
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	2,89 ± 1,82	3,39 ± 1,97	3,11 ± 2,28
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	3,19 ± 2,03	3,34 ± 2,12	3,17 ± 1,79
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	2,94 ± 2,19	2,68 ± 2,01	2,83 ± 1,97
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	3,76 ± 2,98	3,15 ± 1,97	3,58 ± 2,39
High-density-L. (HDL) in mg/dL	12,86 ± 5,36	13,45 ± 4,10	12,56 ± 5,01
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	3,80 ± 2,51	4,30 ± 2,03	3,76 ± 2,25
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	4,62 ± 2,00	4,87 ± 1,48	4,47 ± 1,95
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	3,60 ± 1,20	3,36 ± 0,96	3,58 ± 1,27

^w Tendenz mit p ca. 0,07 im Vergleich zur Gruppe der Weintrinker

^B signifikant mit p < 0,05 im Vergleich zur Gruppe der Biertrinker

^w signifikant mit p < 0,005 im Vergleich zur Gruppe der Weintrinker

Tab. 3.15A: Konzentration von Triglyceriden in den Serum-Lipoproteinen der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

% bzw. - 23 %, $p < 0,05$) und HDL_{2a} (- 19 % bzw. - 27 %, $p < 0,05$) im Vergleich zu den Probanden der Gruppe 2 und 3 (Subfraktion HDL₃ n.s.).

3.6.2.3 Konzentration von Cholesterinestern (CE) in den Serum-Lipoproteinen (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL)

Die Konzentration von verestertem Cholesterin (CE) war bei den Probanden der Gruppen 1 bis 3 in den Lipoproteinfraktionen VLDL, IDL und LDL nicht different.

In den Subfraktionen der Low-density-Lipoproteinen (LDL) war die Konzentration der Cholesterinester in den beiden leichtesten Gruppen, den Fraktionen LDL₁ und LDL₂, bei den Probanden der Gruppe „Weintrinker Gr. 2+3“ höher als bei den Probanden der Gruppe „Biertrinker Gr. 2+3“ (+ 26 % bzw. + 27 %, $p < 0,005$ bzw. $p < 0,05$) und „Mischtrinker Gr. 2+3“ (+ 20 % bzw. + 18 %, $p < 0,001$ bzw. $p < 0,01$).

In den High-density-Lipoproteinen (HDL) mit den Subfraktionen HDL_{2b}, HDL_{2a} und HDL₃ war die Konzentration von Cholesterinester sowohl bei Gruppe 3 als auch bei Gruppe 2 höher als bei Gruppe 1: HDL + 28 % ($p < 0,0001$) bzw. + 10 % ($p < 0,0001$), HDL_{2b} + 34 % ($p < 0,005$) bzw. + 9 % ($p < 0,005$), HDL_{2a} + 41 % ($p < 0,0001$) bzw. + 13 % ($p < 0,0001$) und HDL₃ + 14 % ($p < 0,01$) bzw. + 4 % ($p < 0,05$). Damit wurde analog zum Gesamt- und freien Cholesterin in der Subfraktion HDL₃ die Konzentration von Cholesterinester im Mittel nicht in dem Maße durch die Zufuhr von Alkohol erhöht wie in der Subfraktion HDL₂.

3.6.2.4 Konzentration von Phospholipiden (PL) in den Lipoproteinfraktionen im Serum (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL)

Die Konzentration von Phospholipiden (PL) in den Intermediate-density-Lipoproteinen (IDL) im Serum war bei der Gruppe 3 höher als bei der Gruppe 2 (+ 16 %, $p < 0,05$). Dagegen war die Konzentration von Phospholipiden in den Lipoproteinfraktionen VLDL und LDL bei den einzelnen Gruppen nicht different.

Die Konzentration von Phospholipiden in der Gesamtfraktion der High-density-Lipoproteine sowie der HDL-Subfraktionen HDL_{2b}, HDL_{2a} und HDL₃ war bei der Gruppe 1 niedriger als in der Gruppe 2 und 3. Die Mittelwerte für die Konzentration von Phospholipiden waren bei den Probanden der Gruppe 3 im Vergleich zu den Probanden der Gruppe 1 bei HDL um 42 %, bei HDL_{2b} um 51 %, bei HDL_{2a} um 54 % sowie bei HDL₃ um 23 % höher (vgl. Tab. 3.14).

3.6.2.5 Konzentration von Triglyceriden (TG) in den Lipoproteinfraktionen im Serum (einschließlich der Subfraktionen von HDL und LDL)

Die Konzentration von Triglyceriden im Serum war in den Lipoproteinfraktionen VLDL, IDL und LDL in den einzelnen Gruppen nicht different.

In der Gesamtfraktion der Low-density-Lipoproteine (LDL) errechnete sich bei differenzierter Untersuchung in der Subfraktion LDL₁ zwischen der Gruppe 3 ($5,33 \pm 2,11$ mg/dL) und der Gruppe 2 ($4,39 \pm 2,03$ mg/dL) ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$). Die Konzentration von Triglyceriden in der HDL-Gesamtfraktion sowie in den Subfraktionen HDL_{2b} und HDL_{2a} war in der Gruppe 3 im Vergleich zur Gruppe 1 höher – nur für die Subfraktion HDL₃ war kein signifikanter Unterschied zu errechnen. Der Mittelwert der Konzentration von Triglyceriden in der Lipoproteinfraktion HDL war um 37 %, bei der Subfraktion HDL_{2b} um 47 %, bei HDL_{2a} um 51 % und bei HDL₃ um 15 % größer (Gruppe 3 vs. Gruppe 1) (vgl. Tab. 3.15).

3.6.2.6 Konzentration von Lipoprotein (a) in den LDL-Subfraktionen LDL₅ und LDL₆ sowie in den HDL (einschließlich Subfraktionen)

Die Konzentration von Lipoprotein (a) in den LDL-Subfraktionen LDL₅ und LDL₆ sowie in HDL (einschließlich Subfraktionen) war zwischen den Gruppen 1 bis 3 nicht different (vgl. Tab. 3.17, S. 114).

3.6.2.7 Konzentration von Apolipoprotein A-1 und A-2 in HDL mit Subfraktionen, Apolipoprotein B in VLDL, IDL und LDL mit Subfraktionen, Apolipoprotein E in VLDL

Die Konzentration von Apolipoprotein A-1 in der Gesamtfraktion der High-density-Lipoproteine (HDL) sowie den Subfraktionen HDL_{2b} und HDL_{2a} war im Blut der Probanden der Gruppe 1 um 13 %, 22 % bzw. 21 % niedriger als bei der Gruppe 2 ($p < 0,0001$, $p < 0,05$ bzw. $p < 0,0001$) und 22 %, 31 % bzw. 30 % niedriger als bei der Gruppe 3 ($p < 0,0001$, $p < 0,01$ bzw. $p < 0,0001$). Der Unterschied fiel bei der Subfraktion HDL₃ weniger stark aus als bei HDL_{2b} oder HDL_{2a}, und nur zwischen der Gruppe 1 und der Gruppe 2 wurde ein Signifikanzniveau erreicht (- 8 %, $p < 0,05$). Die Konzentration von Apolipoprotein A-2 war in der HDL-Gesamtfraktion und in den Subfraktionen HDL_{2b} und HDL_{2a} bei den Probanden aus Gruppe 1 um 12 %, 19 % bzw. 18 % niedriger als bei der Gruppe 2 ($p < 0,0001$, $p < 0,01$ bzw. n.s.) und 22 %, 34 % bzw. 29 % niedriger als bei der Gruppe 3 ($p < 0,0001$, $p < 0,005$ bzw. $p < 0,0001$), während bei der Subfraktion HDL₃ kein signifikanter Unterschied zwischen den Probanden aus Gruppe 1 bis 3 errechnet werden konnte (vgl. Tab. 3.16, S. 114).

Die Konzentration von Apolipoprotein B in VLDL, IDL und der Gesamtfraktion der LDL einschließlich der Subfraktionen, sowie von Apolipoprotein E in VLDL war in den Gruppen 1 bis 3 vergleichbar. In Bezug auf die Konzentration von Apolipoprotein B in der Fraktion LDL₁ wurde zwischen den „Weintrinkern Gr. 2+3“ ($14,8 \pm 5,2$ mg/dL) und den „Biertrinkern Gr. 2+3“ ($11,8 \pm 3,7$ mg/dL; $p < 0,005$) bzw. den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ ($12,4 \pm 3,9$ mg/dL; $p < 0,005$) ein Unterschied errechnet. Die Konzentration von Apolipoprotein B in der Fraktion LDL₂ war entsprechend zur Fraktion LDL₁ bei den „Weintrinkern Gr. 2+3“ höher als bei den „Biertrinkern Gr. 2+3“ und den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ (+ 19 % bzw. + 17 %, $p < 0,05$).

3.6.2.8 Zusammensetzung der Lipoproteinenfraktionen im Serum – qualitative Veränderungen der HDL-Fraktion

In jeder Lipoproteingesamtfraktion und -unterfraktion wurde die Konzentration von den Lipoproteinkomponenten Gesamtcholesterin (Chol), freiem Cholesterin (FC), Cholesterinestern (CE), Phospholipiden (PL), Triglyceriden (TG), Apolipoproteinen A-1 und A-2 (Apo A-1, A-2) gemessen. Die Lipoproteingesamtfaktionen VLDL, IDL und LDL einschließlich der Subfraktionen waren hinsichtlich der Zusammensetzung vergleichbar. In den HDL stiegen die meisten Lipoproteinkomponenten (Chol, FC, CE, Apo A-I und A-II) bei der Gruppe 2 im Vergleich zur Gruppe 1 um 15 bis 17 % an, bei der Gruppe 3 um 28 bis 30 %. Im Gegensatz hierzu fiel der Anstieg der Phospholipide mit 21 bzw. 42 % signifikant ($p < 0,0005$) höher aus. Wie in Abb. 3.25 dargestellt änderte sich der Quotient Gesamtcholesterin (Chol) : Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) und der Quotient Triglyceride (TG) : Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum nicht, während der Quotient Phospholipide (PL) : Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) ansteigt. Der Quotient Gesamtcholesterin (Chol) : Phospholipide (PL) war in Gruppe 3 niedriger als in Gruppe 1 bzw. Gruppe 2 ($p < 0,0005$) (vgl. Abb. 3.26).

Apolipoproteine:	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Apolipoprotein A-1 in ...									
HDL in mg/dL	100,5 ± 17,6	115,6 ± 20,7 ¹	111,8 ± 20,1	117,2 ± 25,5 ¹	115,9 ± 19,1	128,6 ± 18,5 ^{1,II}	129,8 ± 18,1	131,5 ± 18,9	124,9 ± 19,3
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	15,6 ± 6,7	20,0 ± 9,5	18,3 ± 7,9	23,2 ± 11,2	19,4 ± 9,0	22,6 ± 9,2	20,6 ± 9,2	22,5 ± 8,3	24,9 ± 10,1
log (HDL _{2b})	1,145 ± 0,215	1,252 ± 0,213 ¹				1,321 ± 0,173 [§]			
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	29,3 ± 7,7	37,0 ± 11,1	34,7 ± 10,5	39,6 ± 14,2	36,7 ± 9,9	41,8 ± 8,6	41,7 ± 9,0	43,9 ± 8,3	40,0 ± 8,6
log (HDL _{2a})	1,451 ± 0,119	1,552 ± 0,118 ¹				1,612 ± 0,090 ¹			
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	47,0 ± 8,2	50,9 ± 7,4 ¹	49,9 ± 6,2	50,0 ± 7,3	51,4 ± 7,6	52,7 ± 8,4	55,8 ± 8,7	52,2 ± 7,0	49,9 ± 8,8
Apolipoprotein A-2 in ...									
HDL in mg/dL	39,7 ± 7,5	44,9 ± 7,0 ¹	44,1 ± 7,8	44,2 ± 8,1	45,3 ± 6,4	50,9 ± 7,2 ^{1,II}	51,7 ± 6,7	50,4 ± 6,2	50,5 ± 8,7
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	3,59 ± 1,52	4,43 ± 1,94	4,07 ± 1,56	4,95 ± 2,17	4,33 ± 1,93	5,43 ± 2,44	5,25 ± 3,05	4,96 ± 1,44	6,06 ± 2,49
log (HDL _{2b})	0,512 ± 0,205	0,607 ± 0,201 [§]				0,699 ± 0,174 [§]			
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	13,0 ± 3,0	15,9 ± 4,1	15,0 ± 4,3	16,2 ± 3,4	16,0 ± 4,3	18,2 ± 3,4 ^{1,§§}	18,4 ± 3,9	18,3 ± 2,8	18,1 ± 3,6
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	22,8 ± 5,2	24,8 ± 5,4	24,8 ± 5,1	23,8 ± 5,2	25,2 ± 5,5	25,9 ± 6,6	27,3 ± 4,9	26,4 ± 4,1	23,9 ± 9,3
Apolipoprotein B in ...									
VLDL in mg/dL	9,16 ± 6,73	8,29 ± 5,45	8,32 ± 6,22	9,99 ± 7,47	7,71 ± 4,26	11,05 ± 8,18	12,26 ± 10,68	7,87 ± 3,72	12,60 ± 7,82
IDL in mg/dL	5,97 ± 2,16	6,20 ± 3,15	5,08 ± 2,17	7,10 ± 3,64	6,16 ± 3,10	6,72 ± 2,75	6,24 ± 2,12	6,34 ± 2,87	7,53 ± 3,17
LDL in mg/dL	79,6 ± 15,8	77,4 ± 22,1	72,9 ± 20,4	82,5 ± 27,9	76,8 ± 20,1	77,8 ± 17,5	76,0 ± 16,0	79,0 ± 17,1	78,6 ± 20,3
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	13,1 ± 4,3	12,7 ± 4,1	11,4 ± 3,7	14,3 ± 5,0	12,4 ± 3,7	13,6 ± 4,8	11,7 ± 3,2	14,9 ± 5,2	14,5 ± 5,5
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	11,3 ± 4,3	10,8 ± 3,9	9,8 ± 3,1	12,2 ± 4,7	10,5 ± 3,6	10,8 ± 4,3	9,8 ± 3,9	11,6 ± 4,1	11,1 ± 5,0
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	13,7 ± 4,3	13,3 ± 4,9	12,2 ± 4,5	14,5 ± 5,7	13,1 ± 4,7	13,3 ± 4,7	12,8 ± 4,6	14,0 ± 4,3	13,2 ± 5,3
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	14,9 ± 4,7	14,9 ± 6,2	14,3 ± 6,2	15,6 ± 7,2	14,8 ± 5,8	14,6 ± 4,7	14,9 ± 4,2	14,7 ± 4,9	14,2 ± 5,3
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	13,4 ± 6,8	13,3 ± 6,9	12,8 ± 6,2	13,5 ± 8,2	13,3 ± 6,5	12,8 ± 5,2	13,5 ± 5,5	11,8 ± 4,7	12,9 ± 5,5
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	14,2 ± 8,9	13,1 ± 6,9	13,0 ± 7,9	13,0 ± 7,6	13,2 ± 6,4	12,9 ± 5,6	13,2 ± 4,2	11,2 ± 4,5	14,1 ± 7,5
Apolipoprotein E in VLDL in mg/dL	3,87 ± 2,63	3,36 ± 2,25	3,45 ± 2,10	3,96 ± 3,28	3,13 ± 1,79	4,89 ± 4,40	5,51 ± 5,76	3,33 ± 1,52	5,63 ± 4,43

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

^{II} signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.16: Konzentration von Apolipoproteinen in den Serum-Lipoproteinen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Lipoprotein (a) in LDL ₅ in mg/dL	0,157 ± 0,246	0,135 ± 0,285	0,127 ± 0,195	0,122 ± 0,244	0,141 ± 0,316	0,179 ± 0,353	0,153 ± 0,300	0,208 ± 0,399	0,180 ± 0,382
Lipoprotein (a) in LDL ₆ in mg/dL	2,62 ± 5,51	2,11 ± 3,87	1,65 ± 2,51	2,15 ± 2,99	2,20 ± 4,37	2,63 ± 5,87	1,44 ± 1,96	4,22 ± 9,95	2,45 ± 3,27
Lipoprotein (a) in HDL in mg/dL	11,4 ± 14,4	11,5 ± 15,4	12,5 ± 19,6	13,3 ± 14,9	10,7 ± 14,5	12,8 ± 18,1	12,7 ± 18,1	11,6 ± 19,5	14,0 ± 18,1
in HDL _{2b}	8,6 ± 11,0	8,8 ± 12,0	9,2 ± 14,7	10,5 ± 12,0	8,1 ± 11,4	9,8 ± 14,3	9,4 ± 14,0	9,0 ± 14,6	11,0 ± 15,3
in HDL _{2a}	1,60 ± 2,53	1,27 ± 1,66	1,37 ± 1,81	1,63 ± 2,19	1,12 ± 1,40	1,38 ± 2,09	1,93 ± 2,95	1,07 ± 1,14	1,08 ± 1,65
in HDL ₃	0,095 ± 0,191	0,198 ± 0,994	0,150 ± 0,333	0,103 ± 0,201	0,242 ± 1,233	0,071 ± 0,163	0,107 ± 0,191	0,077 ± 0,192	0,029 ± 0,083

Tab. 3.17: Konzentration von Lipoprotein (a) in den Serum-Lipoproteinen der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

Apolipoproteine:	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Apolipoprotein A-1 in ...			
HDL in mg/dL	116,1 ± 22,2	119,4 ± 23,8	112,7 ± 20,2
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	18,58 ± 8,23	22,58 ± 10,14	18,73 ± 8,97
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	36,32 ± 10,67	39,99 ± 12,48	35,03 ± 9,98
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	51,72 ± 8,54	50,02 ± 7,26	50,32 ± 7,98
Apolipoprotein A-2 in ...			
HDL in mg/dL	46,43 ± 8,13	45,09 ± 7,88	44,41 ± 7,77
HDL _{2b} (Dichte 1,063 – 1,100 kg/L)	4,42 ± 2,18	4,86 ± 1,95	4,33 ± 2,01
HDL _{2a} (Dichte 1,100 – 1,150 kg/L)	15,97 ± 4,30	16,40 ± 3,30	15,54 ± 4,34
HDL ₃ (Dichte 1,150 – 1,210 kg/L)	25,57 ± 5,26	24,03 ± 4,94	24,67 ± 5,87
Apolipoprotein B in ...			
VLDL in mg/dL	10,77 ± 8,90	9,11 ± 6,38	8,43 ± 5,29
IDL in mg/dL	5,75 ± 2,13	6,79 ± 3,33	6,25 ± 3,00
LDL in mg/dL	75,1 ± 18,8	81,2 ± 24,3	77,5 ± 19,7
LDL ₁ (Dichte 1,028 – 1,031 kg/L)	11,83 ± 3,65	14,78 ± 5,16 ^{B,M}	12,41 ± 3,85
LDL ₂ (Dichte 1,031 – 1,034 kg/L)	10,19 ± 3,83	12,16 ± 4,46 ^{b,m}	10,42 ± 3,68
LDL ₃ (Dichte 1,034 – 1,037 kg/L)	12,64 ± 4,78	14,40 ± 5,22	13,03 ± 4,55
LDL ₄ (Dichte 1,037 – 1,040 kg/L)	14,48 ± 5,57	15,16 ± 6,48	14,86 ± 5,56
LDL ₅ (Dichte 1,040 – 1,044 kg/L)	13,06 ± 5,99	12,70 ± 7,18	13,64 ± 6,81
LDL ₆ (Dichte 1,044 – 1,047 kg/L)	13,80 ± 7,15	12,14 ± 6,68	13,86 ± 7,49
Apolipoprotein E in VLDL in mg/dL	4,48 ± 3,97	3,69 ± 2,78	3,52 ± 2,83

^B signifikant mit $p < 0,005$ vs. "Biertrinker"

^M signifikant mit $p < 0,005$ vs. "Mischtrinker"

^b signifikant mit $p < 0,05$ vs. "Biertrinker"

^m signifikant mit $p < 0,05$ vs. "Mischtrinker"

Tab. 3.16A: Konzentration von Apolipoproteinen in den Serum-Lipoproteinen der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

	"Biertrinker Gr. 2+3" n = 41	"Weintrinker Gr. 2+3" n = 50	"Mischtrinker Gr. 2+3" n = 131
Lipoprotein (a) in LDL ₅ in mg/dL	0,128 ± 0,226	0,139 ± 0,281	0,161 ± 0,336
Lipoprotein (a) in LDL ₆ in mg/dL	1,35 ± 2,11	2,46 ± 5,31	2,44 ± 4,67
Lipoprotein (a) in HDL in mg/dL	10,9 ± 17,5	12,5 ± 16,6	11,5 ± 15,0
in HDL _{2b}	8,0 ± 13,2	9,7 ± 12,7	8,8 ± 12,0
in HDL _{2a}	1,45 ± 2,14	1,58 ± 2,51	1,24 ± 1,60
in HDL ₃	0,130 ± 0,279	0,089 ± 0,186	0,201 ± 1,032

Tab. 3.17A: Konzentration von Lipoprotein (a) in den Serum-Lipoproteinen der Probanden der Gruppen "Bier-", "Wein-" und "Mischtrinker Gr. 2+3" (vgl. Kap. 2.1.2.2) (MW ± SD)

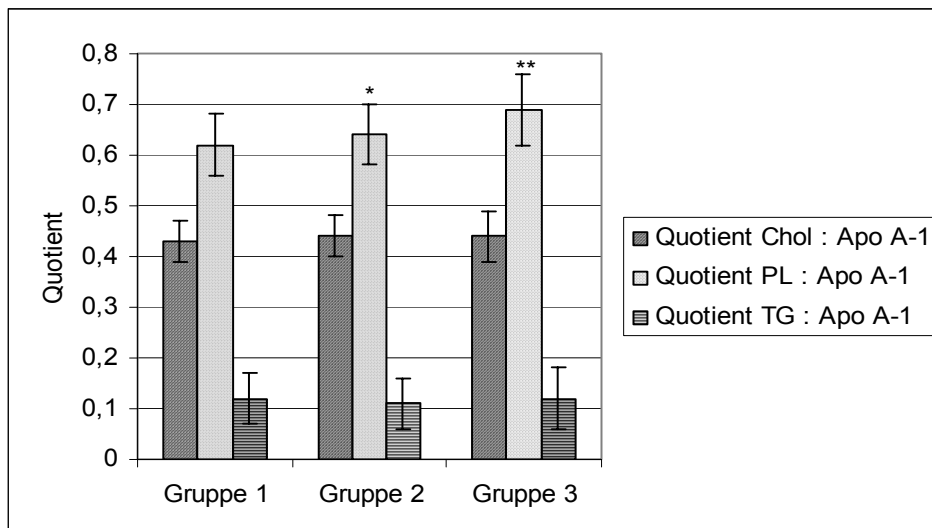


Abb. 3.25: Relativer Zuwachs des Phospholipidanteils der High-density-Lipoproteine (HDL) bei moderaten und stärkeren Alkoholkonsumenten: Quotienten Gesamtcholesterin (Chol) : Apolipoprotein A-1 (Apo A-1), Triglyceride (TG) : Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) und Phospholipide (PL) : Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,05$ vs. Gruppe 1, ** signifikant mit $p < 0,0005$ vs. Gruppe 1.

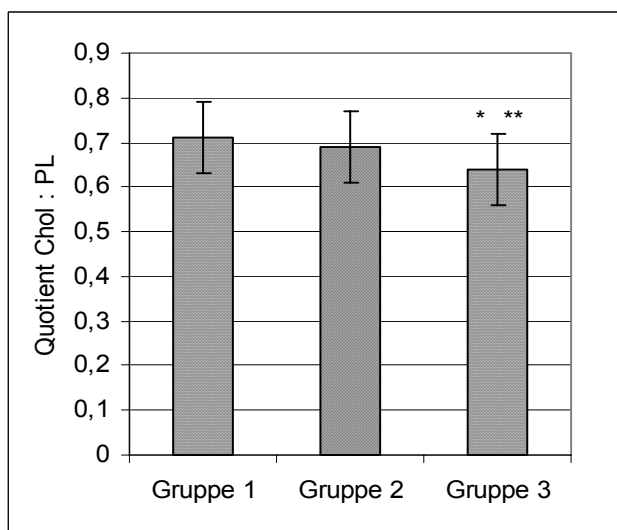


Abb. 3.26: Relativer Zuwachs des Phospholipidanteils der High-density-Lipoproteine (HDL) bei moderaten und stärkeren Alkoholkonsumenten: Quotient Gesamtcholesterin (Chol) : Phospholipide (PL) (Mittelwert $\pm$ SD); * signifikant mit $p < 0,0005$ vs. Gruppe 1, ** signifikant mit $p < 0,0005$ vs. Gruppe 2.

3.7 ADH3-Polymorphismus

Der ADH3-Polymorphismus wurde in der eigenen Studie bei einer Subgruppe von 233 Personen der Gruppen 1 bis 3 untersucht. 98 Personen (42 %) hatten das ADH3*1-Gen in homozygoter Ausprägung (ADH3*1/*1), 39 Personen (17 %) hatten das ADH3*2-Gen in homozygoter Ausprägung (ADH3*2/*2) und bei 96 Personen (41 %) wurde der heterozygote Typus (ADH3*1/*2) nachgewiesen. Die Probanden dieser drei Genotypen waren bezüglich Alter, Alkoholzufuhr und Raucheranteil vergleichbar, während der Body-Mass-Index (BMI) der Probanden des Genotyps ADH3*1/*2 höher als der BMI der Probanden des Genotyps ADH3*1/*1 war ($25,6 \pm 3,3 \text{ kg/m}^2$ vs. $24,3 \pm 3,0 \text{ kg/m}^2$, $p < 0,05$).

HDL-Gesamtfraction:	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
Cholesterin in mg/dL	43,8 ± 9,7	51,2 ± 10,7 ¹	49,8 ± 10,1	52,5 ± 12,8	51,1 ± 10,1 ¹	56,3 ± 10,6 ^{1,2}	55,3 ± 6,7 ¹	58,9 ± 11,8 ¹	55,1 ± 12,8 ¹
freies Cholesterin in mg/dL	6,00 ± 1,72	7,08 ± 2,00 [§]	6,96 ± 1,83	7,19 ± 2,15	7,06 ± 2,00	7,77 ± 2,48 ¹	7,75 ± 1,12	7,48 ± 3,00	8,05 ± 3,05 ¹
Cholesterinester in mg/dL	63,7 ± 13,6	74,3 ± 15,1 ¹	72,2 ± 14,0	76,2 ± 18,2	74,2 ± 14,2 [§]	81,8 ± 14,5 ^{1,2}	80,1 ± 9,8 ¹	86,6 ± 16,0 ¹	79,3 ± 16,7 ¹
Triglyceride in mg/dL	11,4 ± 3,9	12,5 ± 4,7	11,8 ± 4,2	13,3 ± 3,9	12,4 ± 5,0	15,6 ± 5,8 ^{1,11}	15,0 ± 7,2	15,2 ± 4,4	16,6 ± 5,5 ¹
Phospholipide in mg/dL	62,3 ± 14,5	74,9 ± 19,8 ¹	72,3 ± 18,6	76,7 ± 19,8 ¹	74,9 ± 16,5 ¹	88,5 ± 16,6 ^{1,11}	90,4 ± 16,3 ^{1,2}	88,1 ± 16,2 ¹	87,0 ± 18,3 ¹
Apolipoprotein A-1 in mg/dL	100,5 ± 17,6	115,6 ± 20,7 ¹	111,8 ± 20,1	117,2 ± 25,51	115,9 ± 19,1 [§]	128,6 ± 18,5 ^{1,11}	129,8 ± 18,1 ¹	131,5 ± 18,9 ¹	124,9 ± 19,3 [§]
Apolipoprotein A-2 in mg/dL	39,7 ± 7,5	44,9 ± 7,0 ¹	44,1 ± 7,8	44,2 ± 8,1	45,3 ± 6,4	50,9 ± 7,2 ^{1,11}	51,7 ± 6,7 ^{1,2}	50,4 ± 6,2 [§]	50,5 ± 8,7 [§]

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

^{§§} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.18: Zusammensetzung der High-density-Lipoproteine (HDL) der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

HDL-Subfraktionen:	Gruppe 1 n = 63	Gruppe 2 n = 174	2 B n = 27	2 W n = 37	2 M n = 111	Gruppe 3 n = 47	3 B n = 16	3 W n = 13	3 M n = 18
HDL _{2b} : Cholesterin in mg/dL	12,0 ± 4,3	14,8 ± 6,0 [§]	13,9 ± 4,9	16,8 ± 6,9	14,4 ± 5,8	16,1 ± 5,5 [§]	14,8 ± 3,8	16,4 ± 5,3	17,3 ± 7,1
freies Cholesterin in mg/dL	2,01 ± 0,79	2,48 ± 1,10	2,32 ± 0,85	2,79 ± 1,23	2,41 ± 1,09	2,60 ± 0,91 ¹	2,43 ± 0,50	2,55 ± 0,92	2,81 ± 1,22
Cholesterinester in mg/dL	16,9 ± 6,1	20,8 ± 8,3 [§]	19,5 ± 6,9	23,6 ± 9,7	20,1 ± 7,9	22,7 ± 7,9 [§]	20,7 ± 5,6	23,3 ± 7,6	24,4 ± 10,0
Triglyceride in mg/dL	3,35 ± 1,75	3,80 ± 2,12	3,46 ± 1,61	4,39 ± 2,13	3,68 ± 2,20	4,92 ± 2,92 ^{§,2}	4,58 ± 3,81	4,52 ± 1,78	5,64 ± 2,72
Phospholipide in mg/dL	15,2 ± 5,9	19,8 ± 8,6	18,1 ± 6,8	22,5 ± 9,9 ¹	19,2 ± 8,4	23,0 ± 8,2 ^{1,11}	22,0 ± 8,7	22,3 ± 6,8	24,7 ± 9,1 ¹
Apolipoprotein A I in mg/dL	15,6 ± 6,7	20,0 ± 9,5	18,3 ± 7,9	23,2 ± 11,2	19,4 ± 9,0	22,6 ± 9,2 ¹	20,6 ± 9,2	22,5 ± 8,3	24,9 ± 10,1 ¹
Apolipoprotein A II in mg/dL	3,59 ± 1,52	4,43 ± 1,94	4,07 ± 1,56	4,95 ± 2,17	4,33 ± 1,93	5,43 ± 2,44 ^{1,§§}	5,25 ± 3,05	4,96 ± 1,44	6,06 ± 2,49 [§]
HDL _{2a} : Cholesterin in mg/dL	15,1 ± 4,2	18,8 ± 4,3 ¹	17,7 ± 4,5	19,7 ± 4,2	18,7 ± 4,3	21,2 ± 4,4 ^{1,§}	20,9 ± 3,9 ¹	22,8 ± 4,3 ^{1,2}	20,1 ± 4,9 [§]
freies Cholesterin in mg/dL	1,99 ± 0,68	2,45 ± 0,71 ¹	2,32 ± 0,69	2,57 ± 0,70 [§]	2,44 ± 0,71 [§]	2,74 ± 0,67 ¹	2,77 ± 0,63 [§]	2,86 ± 0,62 [§]	2,60 ± 0,78
Cholesterinester in mg/dL	22,1 ± 6,1	27,5 ± 6,2 ¹	26,0 ± 6,4	28,8 ± 5,9 ¹	27,4 ± 6,3 ¹	31,1 ± 6,4 ^{1,§§}	30,6 ± 5,6 ¹	33,5 ± 6,4 ¹	29,5 ± 7,1 [§]
Triglyceride in mg/dL	3,81 ± 1,23	4,51 ± 1,82	4,18 ± 1,86	4,66 ± 1,25	4,54 ± 1,97	5,75 ± 2,10 ^{1,11}	5,47 ± 2,27 ¹	5,86 ± 1,82 ¹	5,96 ± 2,25 [§]
Phospholipide in mg/dL	22,4 ± 7,1	28,6 ± 7,9 ¹	27,0 ± 9,9	29,7 ± 7,2	28,6 ± 7,6	34,4 ± 8,3 ^{1,11}	35,1 ± 8,2 ^{1,2}	35,4 ± 7,5 ¹	32,7 ± 9,5 ¹
Apolipoprotein A I in mg/dL	29,3 ± 7,7	37,0 ± 11,1 ¹	34,7 ± 10,5	39,6 ± 14,2 ¹	36,7 ± 9,9 [§]	41,8 ± 8,6 ^{1,2}	41,7 ± 9,0 ¹	43,9 ± 8,3 ¹	40,0 ± 8,6 ¹
Apolipoprotein A II in mg/dL	13,0 ± 3,0	15,9 ± 4,1	15,0 ± 4,3	16,2 ± 3,4 [§]	16,0 ± 4,3 ¹	18,2 ± 3,4 ^{1,§§}	18,4 ± 3,9 ¹	18,3 ± 2,8 [§]	18,1 ± 3,6 [§]
HDL ₃ : Cholesterin in mg/dL	14,5 ± 2,9	15,9 ± 2,9 ¹	15,2 ± 3,4	15,5 ± 2,7	16,1 ± 2,8	16,4 ± 3,5 [§]	17,0 ± 3,5	17,1 ± 3,3	15,1 ± 3,4
freies Cholesterin in mg/dL	1,64 ± 0,35	1,83 ± 0,35 [§]	1,86 ± 0,40	1,76 ± 0,43	1,85 ± 0,31	1,79 ± 0,51	1,80 ± 0,64	1,82 ± 0,42	1,75 ± 0,47
Cholesterinester in mg/dL	21,6 ± 4,3	23,6 ± 4,5 ¹	22,5 ± 5,4	23,1 ± 4,1	24,0 ± 4,4	24,6 ± 5,2 [§]	25,6 ± 5,3	25,7 ± 4,9	22,5 ± 5,0
Triglyceride in mg/dL	3,41 ± 1,21	3,49 ± 1,20	3,36 ± 1,08	3,30 ± 1,01	3,49 ± 1,29	3,93 ± 1,24	3,99 ± 1,32	3,83 ± 0,88	3,94 ± 1,51
Phospholipide in mg/dL	21,3 ± 5,0	23,9 ± 4,6 [§]	23,5 ± 4,5	23,4 ± 5,1	24,2 ± 4,4 [§]	26,1 ± 5,2 ^{1,2}	28,3 ± 5,6 ¹	25,7 ± 4,3	24,1 ± 5,1
Apolipoprotein A I in mg/dL	47,0 ± 8,2	50,9 ± 7,4 [§]	49,9 ± 6,2	50,0 ± 7,3	51,4 ± 7,6	52,7 ± 8,4 [§]	55,8 ± 8,7 [§]	52,2 ± 7,0	49,9 ± 8,8
Apolipoprotein A II in mg/dL	22,8 ± 5,2	24,8 ± 5,4	24,8 ± 5,1	23,8 ± 5,2	25,2 ± 5,5	25,9 ± 6,6 ¹	27,3 ± 4,9	26,4 ± 4,1	23,9 ± 9,3

¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 1

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 1

² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe 2

^{§§} signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 2

^{§§} signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 2

¹¹ signifikant mit p < 0,0001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.19: Zusammensetzung der Subfraktionen der HDL der Probanden aus Gruppe 1 bis 3, Gruppe 2 und 3 jeweils unterteilt in die Untergruppen B, W und M (vgl. 2.1.2.1) (MW ± SD)

	Anzahl n	Alter in Jahren	BMI in kg/m ²	Alkohol in g/Tag	Raucheranteil in %	Cholesterin in mg/dL	LDL-C. in mg/dL	HDL-C. in mg/dL
ADH3-Polymorphismus:								
<u>ADH3*1/*1:</u>	98	43,8 ± 10,4	24,3 ± 3,0 ¹²	14,2 ± 12,2	10,2 ± 30,4	209,4 ± 41,1	113,1 ± 28,2	51,4 ± 11,1
Gruppe 1 (DTA = 0-5 g)	26	43,3 ± 8,8	24,6 ± 2,6	1,8 ± 1,4	19,2 ± 40,2	199,9 ± 32,6	110,2 ± 21,5	45,2 ± 9,2
Gruppe 2 (DTA = 5-30 g)	63	44,0 ± 11,0	24,0 ± 2,9	15,3 ± 6,5	7,9 ± 27,2	209,5 ± 43,2	114,3 ± 29,9	52,8 ± 11,0 [§]
Gruppe 3 (DTA = 30-70 g)	9	43,9 ± 11,0	25,5 ± 4,5	42,1 ± 10,0	0,0	235,7 ± 41,2	113,2 ± 35,1	60,3 ± 8,5 ^l
<u>ADH3*1/*2:</u>	96	41,9 ± 9,6	25,6 ± 3,3 ¹¹	15,7 ± 11,6	15,6 ± 36,5	201,5 ± 40,7	105,7 ± 29,2	48,8 ± 10,0
Gruppe 1 (DTA = 0-5 g)	20	41,1 ± 9,4	26,4 ± 4,2	2,7 ± 1,7	15,0 ± 36,6	200,8 ± 29,6	113,9 ± 23,2	42,2 ± 10,3
Gruppe 2 (DTA = 5-30 g)	67	41,4 ± 9,3	25,3 ± 3,1	16,2 ± 7,2	11,9 ± 32,7	200,0 ± 43,9	103,9 ± 30,8	49,8 ± 8,6 [§]
Gruppe 3 (DTA = 30-70 g)	9	47,1 ± 11,6	25,4 ± 2,9	40,5 ± 6,7	44,4 ± 52,7	214,4 ± 38,6	100,6 ± 27,6	56,7 ± 11,0 ^l
<u>ADH3*2/*2:</u>	39	44,2 ± 9,9	25,2 ± 3,1	15,6 ± 14,2	5,1 ± 22,3	216,5 ± 42,3	115,6 ± 30,3	49,0 ± 13,4
Gruppe 1 (DTA = 0-5 g)	10	41,4 ± 8,0	25,3 ± 3,9	2,7 ± 1,4	0,0	209,7 ± 34,7	106,7 ± 25,3	43,6 ± 10,2
Gruppe 2 (DTA = 5-30 g)	22	44,5 ± 10,8	24,5 ± 2,6	13,3 ± 5,9	0,0	222,1 ± 46,9	124,2 ± 33,8	51,8 ± 15,3
Gruppe 3 (DTA = 30-70 g)	7	47,0 ± 9,7	27,0 ± 2,9	41,6 ± 8,1	28,6 ± 48,8	208,4 ± 39,4	101,3 ± 15,0	47,9 ± 9,2

¹¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe ADH3*1/*1

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^l signifikant mit p < 0,001 vs. Gruppe 1

¹² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe ADH3*1/*2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^l signifikant mit p < 0,001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.20: ADH3-Polymorphismus bei den Probanden aus Gruppe 1 bis 3: allgemeine und anthropometrische Daten, Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterin (MW ± SD)

	Anzahl n	Alter in Jahren	BMI in kg/m ²	Alkohol in g/Tag	Raucheranteil in %	Cholesterin in mg/dL	LDL-C. in mg/dL	HDL-C. in mg/dL
ADH3-Polymorphismus:								
<u>ADH3*1/*1:</u>	88	44,0 ± 10,8	24,3 ± 3,0 ¹²	14,8 ± 12,5	0,0	209,8 ± 41,8	113,9 ± 29,2	52,1 ± 11,3
Gruppe 1 (DTA = 0-5 g)	21	42,9 ± 9,5	24,7 ± 2,5	2,0 ± 1,3	0,0	195,5 ± 44,1	108,7 ± 23,7	45,3 ± 9,6
Gruppe 2 (DTA = 5-30 g)	58	44,5 ± 11,3	23,9 ± 2,8	15,2 ± 6,6	0,0	211,0 ± 44,1	115,9 ± 30,3	53,3 ± 11,1 [§]
Gruppe 3 (DTA = 30-70 g)	9	43,9 ± 11,0	25,5 ± 4,5	42,1 ± 10,0	0,0	235,7 ± 41,2	113,2 ± 35,1	60,3 ± 8,5 ^l
<u>ADH3*1/*2:</u>	81	41,8 ± 9,4	25,6 ± 3,5 ¹¹	14,5 ± 10,0	0,0	202,4 ± 41,2	106,8 ± 29,4	49,0 ± 10,0
Gruppe 1 (DTA = 0-5 g)	17	40,7 ± 9,1	26,3 ± 4,5	2,8 ± 1,7	0,0	203,8 ± 30,9	116,8 ± 23,2	43,4 ± 10,5
Gruppe 2 (DTA = 5-30 g)	59	41,7 ± 9,2	25,5 ± 3,2	15,9 ± 7,0	0,0	210,7 ± 43,7	104,1 ± 30,5	49,8 ± 8,7 [§]
Gruppe 3 (DTA = 30-70 g)	5	46,8 ± 8,2	24,2 ± 3,3	38,0 ± 3,0	0,0	206,0 ± 48,8	104,9 ± 34,6	61,6 ± 10,6 ^l
<u>ADH3*2/*2:</u>	37	44,2 ± 10,1	24,9 ± 2,9	14,5 ± 13,6	0,0	214,2 ± 41,8	115,5 ± 31,0	49,2 ± 13,7
Gruppe 1 (DTA = 0-5 g)	10	41,4 ± 8,0	25,3 ± 3,9	2,7 ± 1,4	0,0	209,7 ± 34,7	106,7 ± 25,3	43,6 ± 10,2
Gruppe 2 (DTA = 5-30 g)	22	44,5 ± 10,8	24,5 ± 2,6	13,3 ± 5,9	0,0	222,1 ± 46,9	124,2 ± 33,8	51,8 ± 15,3
Gruppe 3 (DTA = 30-70 g)	5	48,0 ± 11,3	26,0 ± 1,9	44,0 ± 7,8	0,0	188,4 ± 16,6	94,6 ± 7,6	49,2 ± 13,7

¹¹ signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe ADH3*1/*1

[§] signifikant mit p < 0,01 vs. Gruppe 1

^l signifikant mit p < 0,001 vs. Gruppe 1

¹² signifikant mit p < 0,05 vs. Gruppe ADH3*1/*2

[§] signifikant mit p < 0,005 vs. Gruppe 1

^l signifikant mit p < 0,001 vs. Gruppe 2

Tab. 3.21: ADH3-Polymorphismus bei den Probanden aus Gruppe 1 bis 3: allgemeine und anthropometrische Daten, Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterin unter Ausschluss der Raucher (MW ± SD)

In Bezug auf die Konzentration von Lipiden und Apolipoproteinen im Serum und der Konzentration von Serumlipiden in den einzelnen Lipidfraktionen und Subfraktionen der Low-density-Lipoproteine (LDL) und High-density-Lipoproteine (HDL) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probanden der Genotypen ADH3*1/*1, ADH3*1/*2 und ADH3*2/*2 errechnet werden (vgl. auch Tab. 3.20, S. 118). Vergleichbare Ergebnisse gab es nach Ausschluss der als Raucher eingestuften Probanden (vgl. auch Tab. 3.21, S. 118).

Bei den Probanden des Genotyps ADH3*2/*2 konnte bezüglich der Konzentration von HDL-Cholesterin zwischen Gruppe 1 (Alkoholabstinenz oder sehr niedriger Alkoholkonsum) und Gruppe 3 bzw. Gruppe 2 im Gegensatz zu den anderen beiden Genotypen keine signifikanten Unterschiede errechnet werden (vgl. Tab. 3.20, S. 118).

4 DISKUSSION

4.1 Allgemeine und anthropometrische Daten

4.1.1 Allgemeine Daten

In dieser Studie wurde eine Teilnehmerzahl von 300 angestrebt und bei der Rekrutierung der Probanden darauf geachtet, dass sich jeder Proband aus freien Stücken an dieser Studie beteiligte. Die meisten der Teilnehmer wurden in industriellen Großbetrieben im Raum Stuttgart gewonnen. In einem ersten Schritt geschah dies durch zahlreiche Aushänge oder durch eine Beilage beim Gehaltsauszug, so dass ein Großteil der Mitarbeiter der jeweiligen Betriebe angesprochen werden konnte. Die dort angekündigten Informationsveranstaltungen sprachen die potentiellen Probanden über den Sinn und Zweck dieser Studie, die Ein- und Ausschlusskriterien sowie das Prozedere der schriftlichen Einwilligung, der Blutabnahmen und Ernährungsanamnesen an. Einige Probanden konnten bei Brauereien, Weingärtnergenossenschaften sowie im Robert-Bosch-Krankenhaus oder im eigenen Freundeskreis gefunden werden. Eine Auswahl von Probanden fand in keinem Fall statt, da jeder Interessent an dieser Studie teilnehmen durfte – die Erfüllung der Einschlusskriterien vorausgesetzt. Damit wurden in die Untersuchung insgesamt 284 Personen aufgenommen. In sozialer Sicht war das Probandenkollektiv breit gestreut: vom Hilfsarbeiter bis hin zum Werksleiter waren alle Gruppen berufstätiger Männer vertreten. Den Teilnehmern kam keine finanzielle Entschädigung zu, sondern lediglich die Ergebnisse der Laboruntersuchungen. Es war daher davon auszugehen, dass zumindest bei einem Teil der Probanden ein überdurchschnittliches Interesse an einer Überprüfung ihres Gesundheitszustandes vorlag. Dies könnte auch ein Grund dafür sein, dass der durchschnittliche tägliche Alkoholkonsum der Studienteilnehmer von 19,0 g etwas niedriger als der Pro-Kopf-Verbrauch 2001 in Höhe von 23,1 g Alkohol war, bei dem jeder männliche Bundesbürger vom Säugling zum Greis erfasst wird (Quelle: Deutsche Hauptstelle gegen die Suchtgefahren e.V., Meyer et al. 2003). Der durch das Robert Koch-Institut im Rahmen des Bundes-Gesundheitssurvey 1999 durch Auswertung von Fragebögen bei 7.124 aus den Einwohnermelderegistern zufällig ausgewählten Teilnehmern ermittelte durchschnittliche tägliche Alkoholkonsum von Männern im Alter von 18 bis 69 Jahren in Höhe von 32,8 g (Burger et al. 2003) wurde bei weitem nicht erreicht. Der Anteil der Probanden mit moderatem Alkoholkonsum (Gruppe 2: durchschnittlicher täglicher Alkoholkonsum von 5,1 bis 30,0 g) stellte daher auch mit 61 % die größte Gruppe der eigenen Studie dar. Die abstinent lebenden oder weitgehend auf Alkohol verzichtenden Probanden (Gruppe 1) machten 22 % aus, die in stärkerem Maße Alkohol konsumierenden (Gruppe 3) 17 %.

Bei der Einteilung in Untergruppen wurde ein überwiegender Wein- oder Bierkonsum festgelegt als eine Alkoholaufnahme in Form von mindestens 80 % des jeweiligen Getränks. Diese Gruppierungskriterien bringen es u.a. mit sich, dass bei der Einteilung in drei Untergruppen diese bei Gruppe 2 (moderater Alkoholkonsum) und Gruppe 3 (starker Alkoholkonsum) in unterschiedlichem Verhältnis zueinander stehen: Während in Gruppe 2 beinahe zwei von drei Probanden der Gruppe ohne erkennbare Bevorzugung eines alkoholhaltigen Getränks zugeordnet wurden, waren es in der Gruppe 3 nur knapp 40 %.

Der von den Probanden aufgenommene Alkohol wurde in der vorliegenden Untersuchung durchschnittlich mit 9,5 g (50 %) in Form von Bier, 8,5 g (44 %) in Form von Wein und 1,2 g (6 %) in Form von Spirituosen konsumiert. Der deutsche Mann mit einem Alter zwischen 18 und 69 Jahren konsumierte 1999 22,9 g (70 %) Alkohol als Bier – und damit erheblich mehr

als in der eigenen Studie – daneben 8,2 g (25 %) Alkohol als Wein und 1,7 g (5 %) Alkohol als Spirituosen (Burger et al. 2003).

4.1.2 Alter

Die Höhe des durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsums ist in Deutschland stark vom Alter der Konsumenten abhängig. In einer groß angelegten Studie wurde nachgewiesen, dass sich die Konsumgewohnheiten im Laufe des Lebens ändern (Klipstein-Grobusch et al. 1999). Junge Erwachsene neigen eher zum sog. Binge-drinking, der gelegentlichen, exzessiven Alkoholaufnahme (z.B. das Wochenendtrinken) (Jonas et al. 2000). Die Ergebnisse des Bundes-Gesundheitssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) belegten, dass der durchschnittliche tägliche Alkoholkonsum von 27,0 g bei der Gruppe der Männer zwischen 18 und 29 Jahren über 33,2 g (30-39 Jahre), 36,0 g (40-49 Jahre) bis 38,2 g bei den 50 bis 59 Jahre alten Männern ansteigt. Auch in der eigenen Studie tranken die Probanden mit einem höheren Alter im Durchschnitt mehr Alkohol als die jüngeren Probanden. Binge-drinking wurde in der jetzigen Studie nur in vernachlässigbarer Zahl angegeben.

4.1.3 Body-Mass-Index (BMI)

Der Normbereich des Body-Mass-Index BMI (Quotient aus Körpergewicht und Körperhöhe im Quadrat, Einheit: kg/m^2) wurde von der DGE als Bereich zwischen 18,5 und 24,9 kg/m^2 festgelegt (Deutsche Gesellschaft für Ernährung 2000), die Weltgesundheitsorganisation stuft Erwachsene mit einem BMI über 25 als übergewichtig ein (WHO 2004). Im Mittel war der BMI bei den Probanden der eigenen Studie (Gruppen 1 bis 3) mit $25,1 \pm 3,3 \text{ kg/m}^2$ bereits im Bereich des leichten Übergewichts. Im Vergleich dazu bringt es der bundesdeutsche Mann ab 18 Jahren bei einer Durchschnittsgröße von 1,77 m und einem Durchschnittsgewicht von 81,8 kg im Mittel auf einen BMI von $26,0 \text{ kg/m}^2$ (Mikrozensus-Befragung des Robert Koch-Instituts im Mai 2003, Robert Koch-Institut 2003). Die BMI-Werte der Probanden der eigenen Studie waren damit für die deutsche männliche Bevölkerung repräsentativ. Zu beachten ist, dass beide Untersuchungen auf Befragungen basierten. Eine frühere Untersuchung ergab, dass dabei das Körpergewicht sowohl bei Frauen als auch bei Männern systematisch um 2 bis 3 kg unterschätzt wird, während die Körpergröße im Mittel um 2 cm überschätzt wird (Bergmann 1990). Die Ergebnisse zum BMI sind somit eher als Untergrenze des „wahren“ Wertes zu sehen.

Mit 1 g Alkohol ist eine Energiezufuhr von 7 kcal (29 kJ) verbunden. Damit liegt der Energiegehalt von Ethanol fast so hoch wie der von Ölen und Fetten ($9,3 \text{ kcal} = 38,9 \text{ kJ}$). Es ist jedoch bisher nicht vollständig geklärt, ob Alkohol als Energielieferant die Energiebilanz des Menschen beeinflusst, oder ob es sich bei den Alkoholkalorien um sog. leere Kalorien handelt. Für die Energiebilanz spielen neben der konsumierten Alkoholmenge der Weg des Alkoholstoffwechsels, sowie das Geschlecht und der Ernährungszustand eine Rolle (Müller 1999). Die Auswertung des Bundes-Gesundheitssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) ergab für Männer mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum über 20 g einen etwas höheren Anteil übergewichtiger (BMI 25 bis 30 kg/m^2) und adipöser (BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$) Männer im Vergleich zu Männern mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum von unter 20 g. In der eigenen Studie war der Body-Mass-Index in der Gruppe 3 höher als in Gruppe 2 (+ 5 %, $p < 0,05$). In der Gruppe 1 hatten 29 Probanden einen BMI von über $25,0 \text{ kg/m}^2$ (47 %), in der Gruppe 2 (mit moderatem Alkoholkonsum) 74 (42 %) und in der Gruppe 3 (mit starkem Alkoholkonsum) 26 (55 %). Einen BMI von mindestens 30,0

kg/m² und damit eine Adipositas hatten 4 Probanden in Gruppe 1 (6 %), 10 in Gruppe 2 (6 %) und 5 in Gruppe 3 (11 %). Diese Werte stimmen mit den Resultaten des Bundes-Gesundheits-survey (Mensink et al. 2002) überein. Der höhere BMI der Probanden aus der Gruppe 3 kann zum Teil auf die höhere Alkohol- und damit Energieaufnahme zurückgeführt werden. Zusätzlich kann das im Vergleich zu Gruppe 1 signifikant höhere Alter der Probanden aus Gruppe 3 für den höheren BMI-Wert mitverantwortlich sein. Durch metabolische Veränderungen und nachlassende körperliche Aktivität nimmt der Energiebedarf mit dem Alter ab. Demzufolge steigt der durchschnittliche BMI im Alter an. Dies bestätigt sich durch die an einer großen Zahl von Menschen durchgeführte Mikrozensus-Befragung im Mai 2003 (Robert Koch-Institut 2003): Der Body-Mass-Index stieg bei Männern von der Altersgruppe 18 bis 20 Jahre bis zur Altersgruppe 60 bis 65 Jahre kontinuierlich von 22,6 bis 27,3 kg/m² an. Erst ab der Altersgruppe 70 bis 75 Jahre war ein Rückgang des BMI zu verzeichnen.

4.1.4 Rauchen

Von Rauchern wurde in der eigenen Studie bei einem Zigarettenkonsum von mindestens einer Zigarette pro Tag oder dem Konsum der einer Zigarette entsprechenden Menge Tabak gesprochen. In zahlreichen Studien (z.B. Abelin et al. 1976, Rogot et al. 1960) wurde diese Klassifizierung vorgenommen. Sie trägt dem erhöhten Risiko einer koronaren Herzkrankheit auch bei geringem Tabakkonsum Rechnung. In einer Metaanalyse von 19 Studien zum Thema Einfluss des Rauchens auf das KHK-Risiko wurde für den Konsum von 1 Zigarette pro Tag ein deutlich erhöhtes relatives Risiko von 1,39 (CI: 1,18-1,64) errechnet. Raucher mit einem täglichen Konsum von 20 Zigaretten haben ein relatives Risiko von 1,78 (CI: 1,31-2,44) (Law et al. 1997). Im Rahmen der Mikrozensus-Befragung im Mai 2003 (Statistische Bundesamt 2004) – einer für die deutsche Bevölkerung repräsentativen Erhebung – bekannten sich 90 % der männlichen Raucher ab 15 Jahren zu regelmäßigem Tabakkonsum, während Gelegenheitsraucher deutlich seltener waren. Diese Beobachtungen decken sich weitgehend mit den Ergebnissen der eigenen Studie, in der lediglich 5 von 38 als Raucher eingestufte Probanden (13 %) mit maximal 3 Zigaretten pro Tag als Gelegenheitsraucher zu bezeichnen waren. Starke Raucher nach der Definition der WHO (WHO 2004) mit einem Konsum von mehr als 20 Zigaretten pro Tag waren 18 % der Raucher in der eigenen Studie – vergleichbar mit einem Anteil von 20 % der männlichen Raucher ab 15 Jahren in Deutschland, erhoben im Rahmen des Mikrozensus (Statistisches Bundesamt 2004).

Der Anteil von Probanden, die im Mittel mehr als 1 Zigarette pro Tag rauchten, war mit 13,4 % deutlich unterhalb des Raucheranteils in Deutschland, der im Rahmen der Mikrozensus-Befragung im Mai 2003 (Statistisches Bundesamt 2004) bei männlichen Personen ab 15 Jahren mit 33,2 % (29,8 % regelmäßig und 3,4 % gelegentlich) ermittelt wurde. Nach den Daten des Bundes-Gesundheitssurvey (Burger et al. 2003) zählten sich 34 % der Alkohol trinkenden Männer zu den täglichen oder gelegentlichen Rauchern. Der mit 86 % hohe Anteil von Nichtrauchern spricht ebenso wie der vergleichsweise niedrige Alkoholkonsum (siehe 4.1.1) für ein gesundheitsbewusstes Verhalten der Teilnehmer an dieser Studie. Aufgrund des geringen Anteils starker Raucher (2,5 %) wurde auf eine Differenzierung in Raucher und Nichtraucher weitgehend verzichtet.

4.1.5 Rolle des Getränketyps

Im Hinblick auf Alter und BMI waren die „Bier-“ und „Weintrinker Gr. 2+3“ nicht unterschiedlich und damit vergleichbar.

Dagegen hatten die „Weintrinker Gr. 2+3“ einen niedrigeren Raucheranteil sowie Zigarettenkonsum (berechnet in Zigaretten pro Tag) im Vergleich zu den „Biertrinkern Gr. 2+3“ und den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ (vgl. 3.1.1.4). Dies lässt darauf schließen, dass die Probanden der Gruppe der „Weintrinker Gr. 2+3“ eine gesundheitsbewusstere Lebensweise hatten als dies bei den Probanden der Gruppe der „Biertrinker Gr. 2+3“ der Fall war. Die Ergebnisse der eigenen Studie entsprechen denjenigen einer groß angelegten dänischen Studie (Copenhagen City Heart Study), in der ein Schwerpunkt auf den sozioökonomischen Status der Probanden gelegt wurde: Bei 14.223 Teilnehmern wurde in einem Zeitraum von 23 bis 25 Jahren der Einfluss von Bier, Wein und Spirituosen auf die Gesamtmortalität untersucht. Personen mit einem Alkoholkonsum überwiegend in Form von Wein hatten eine bessere Ausbildung und einen besseren gesundheitlichen Allgemeinzustand als die Biertrinker bzw. die Konsumenten von Spirituosen. Dies spiegelte sich im unterschiedlichen Einfluss der Art der jeweiligen alkoholhaltigen Getränke auf die Gesamtmortalitätsrate wider (Nielsen et al. 2004).

4.2 Klinisch-chemische Parameter

γ -GT und MCV als Marker für starken Alkoholkonsum:

Hohe Serumwerte des Enzyms γ -GT (γ -Glutamyltransferase) und erhöhtes MCV (mean corpuscular volume = mittleres Volumen des einzelnen Erythrozyten) sind Marker für starken Alkoholkonsum. In der eigenen Studie errechnete sich eine positive, signifikante ($p < 0,05$) Korrelation zwischen dem Alkoholkonsum, der im Rahmen der Ernährungsinterviews erfasst wurde und diesen beiden Markern ($r = 0,37$ für γ -GT und $r = 0,40$ für MCV). Dies stützt die Annahme einer relativ zuverlässigen Erfassung des durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsums im Rahmen der Ernährungsinterviews.

Klinisch-chemische Laborparameter als Marker für alkoholbedingte Erkrankungen:

Mit Ausnahme der Messgrößen, die als Marker für starken Alkoholkonsum zu werten sind, konnte durch die gemessenen klinisch-chemischen Parameter kein Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und Laborparametern nachgewiesen werden, die in Bezug zu alkoholbedingten Organerkrankungen stehen. Es gab keinen Hinweis auf Lebererkrankungen und Entzündungen, welche die Ergebnisse der Lipid- und Vitaminmessungen hätten beeinflussen können.

Alkoholbedingte Leberveränderungen zeigen sich in der Regel bei einem chronischen Alkoholkonsum von über 30 bis 40 g/Tag in Form einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Leberverfettung. Diese voll reversible Störung kann sich weiterentwickeln über Zellnekrosen und entzündliche Veränderungen, zunehmender Fibrose bis hin zur Leberzirrhose. Die für das Fortschreiten der alkoholbedingten Lebererkrankung bis zur Zirrhose entscheidende Veränderung ist die Alkoholhepatitis (Tsukamoto et al. 2001). Die Alkoholhepatitis kann bei leichter Ausprägung auch ohne Symptome und klinische Befunde wie Ikterus, Anorexie oder Völlegefühl ablaufen und nur durch pathologische Laborwerte und eine Lebervergrößerung auffallen.

Wie bereits ausgeführt, zeigten die klinisch-chemischen Parameter γ -GT und MCV (und MCHC) bei den Probanden der eigenen Studie in Übereinstimmung mit der Literatur eine Abhängigkeit vom Alkoholkonsum. Alle anderen untersuchten klinisch-chemischen

Parameter (u.a. Enzyme, Blutbild, Gerinnungswerte, Entzündungsparameter) der Probanden in Gruppe 1 bis 3 waren im Normbereich. Es ergaben sich keine Hinweise auf Organerkrankungen, die z.B. durch starken Alkoholkonsum hervorgerufen werden.

Vergleichbarkeit der Gruppen:

Außer den beiden klinisch-chemischen Parametern γ -GT und MCV, die auch bei mäßigem Alkoholkonsum ansprechen, konnte zwischen den Gruppen 1 bis 3 kein signifikanter Unterschied errechnet werden. Im Hinblick auf die klinisch-chemischen Parameter sind die Probanden der drei Gruppen damit als vergleichbar anzusehen.

4.3 Ernährungsanamnese

Das zentrale Thema dieser Studie dreht sich um Einflussfaktoren, die neben moderatem Alkoholkonsum für die mit diesem Alkoholkonsum assoziierte Risikoreduzierung einer koronaren Herzerkrankung verantwortlich oder mitverantwortlich gemacht werden können. Insbesondere muss der Frage nachgegangen werden, inwieweit die Art der Ernährung das Ausmaß des protektiven Effekts von moderatem Alkoholkonsum beeinflussen kann.

Zur Ermittlung der Zufuhr von Energie und Nährstoffen stehen diverse Methoden zur Verfügung (Landig et al. 1998, Mensink et al. 2001, Barrett-Connor 1991, Pedersen et al. 2001). Eines der in der Ernährungsberatung am häufigsten verwendete Instrument ist das 24-Stunden-Ernährungsprotokoll. Der Vorteil der schnellen Durchführbarkeit wird jedoch erkauft durch mögliche Fehleinschätzungen der Nahrungsaufnahme, wenn der protokollierte Tag nicht repräsentativ für die Ernährungsgewohnheiten des Probanden ist. Die Wiegemethode setzt ein relativ umständliches Handling voraus, da jedes Nahrungsmittel einzeln gewogen werden muss. Bei einem 7-Tage-Recall schreiben die Probanden selbst alles auf, was sie innerhalb der letzten Woche zu sich genommen haben (Landig et al. 1998, Serra-Majem et al. 2002). Unsicher bleibt jedoch, ob etwa eine differenzierte Protokollierung alkoholhaltiger Getränke nach Art und Menge zu brauchbaren Resultaten führt (Serra-Majem et al. 2002). Außerdem kann es zu einer Beeinflussung des Ernährungsverhaltens durch die Pflicht des Niederschreibens kommen.

In der jetzigen Studie wurde die Methode einer computergestützten Ernährungsanamnese („Diet History“) angewendet. Dabei wurde bei den Probanden die Nahrungszufuhr der letzten zwei bis drei Monate unter besonderer Berücksichtigung des Konsums alkoholhaltiger Getränke erfragt. Um falsche Angaben zu Portionsgrößen (z.B. Beilagen) zu vermeiden wurde den Probanden eine Fotomappe mit den am häufigsten verzehrten Speisen in unterschiedlichen Portionsgrößen vorgelegt. Das Computerprogramm EBIS wurde im Rahmen einer Diplomarbeit validiert (Landig 1992, Landig et al. 1998). Durch Wiegen ermittelte Zufuhrmengen wurden dabei mit den Ergebnissen aus der computergestützten Ernährungsanamnese verglichen. Für die Energiezufuhr, sowie für die Hauptnährstoffe Fett, Protein und Kohlenhydrate errechneten sich prozentuale Abweichungen von unter 20 % im Vergleich zur Wiegemethode. In der eigenen Studie wurde in einem standardisierten Verfahren neben Art, Häufigkeit und Menge der aufgenommenen Lebens- und Genussmittel auch Alter, Größe, Gewicht, Familienstand, Rauchverhalten, allgemeiner Gesundheitszustand, Familienhistorie, körperliche Aktivität, Zufuhr von Medikamenten oder Nahrungsergänzungsmitteln, berufliche Belastung sowie Blutdruckwerte erfragt. Sämtliche Ernährungsinterviews wurden von einer Person (J. E.) durchgeführt, um Fehler durch unterschiedliche Interviewer

zu vermeiden. Auf eine genaue und wahrheitsgetreue Angabe des Alkohol- und Zigarettenkonsums wurde ein besonderes Augenmerk gelegt und dazu durch Kontrollfragen die Glaubwürdigkeit der Probanden überprüft.

4.3.1 Energiezufuhr, Nährwertrelationen mit / ohne Alkohol, Zufuhr ausgewählter Nährstoffe (Fettsäuren, Cholesterin und Ballaststoffe)

Die Energiezufuhr sowie die Zufuhr von Kohlenhydraten und Proteinen war bei den Probanden der Gruppe 3 unter Berücksichtigung der Alkoholkalorien höher im Vergleich zu den Probanden der anderen beiden Gruppen. Wurde dagegen die Aufnahme von Energie durch Alkohol bei der Berechnung nicht berücksichtigt, so stiegen die Zahlenwerte der Nährwertrelationen an. Dies macht sich vor allem bei der Gruppe 3 bemerkbar und führte dazu, dass signifikante Unterschiede bei den Nährwertrelationen nach dem Herausnehmen der Alkoholkalorien wegfielen. Die mit Alkohol zugeführte Energiemenge fügte sich bei den Probanden der eigenen Studie demnach additiv zu der „normalen“ Ernährung (d.h. ohne Alkoholkalorien) hinzu. Diese Beobachtung deckt sich mit den Angaben von Hurt et al. (1981) über den Ernährungsstatus bei Alkoholikern.

Vor der Bewertung der Ergebnisse, die in der eigenen Studie erhalten wurden, sollen kurz einige wichtige Aspekte der Beeinflussung wichtiger Zielgrößen, insbesondere Lipide und Lipoproteinfraktionen im Blut und Plasma, zusammenfassend wiedergegeben werden.

4.3.1.1 Energiezufuhr

Übergewicht, das durch übermäßige Energiezufuhr hervorgerufen wird, führt zu einer Erhöhung der Triglyceride und der Very-low-density-Lipoproteine (VLDL), sowie zu einer Verminderung der Konzentration von High-density-Lipoproteinen (HDL) (Kissebah et al 1982). Wenn die Energiezufuhr durch Alkohol bei der Berechnung nicht berücksichtigt wurde, war die Energiezufuhr bei den Probanden der eigenen Studie (Gruppe 1 bis 3) vergleichbar und mit 2600 ± 440 kcal/Tag (ohne Berücksichtigung der Alkoholkalorien) deutlich höher als die DGE-Empfehlung von 2400 kcal/Tag (für Männer zwischen 26 und 50 Jahren) bzw. von 1900 kcal/Tag (für Männer zwischen 51 und 65 Jahren) (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Darin spiegeln sich die typischen Merkmale der Ernährungssituation einer Industrienation wider, die letztlich in Verbindung mit Bewegungsmangel zu übergewichtigen Menschen führt.

4.3.1.2 Energiebedarf

Der nach Kleiber berechnete Energiebedarf der Probanden der eigenen Studie war vergleichbar mit der mittels Ernährungsinterview erfassten Energieaufnahme (mit/ohne Berücksichtigung der Alkoholkalorien). Die Übereinstimmung von Bedarf und Zufuhr von Energie war als Hinweis für die Zuverlässigkeit der Angaben der Probanden zu werten. Von einer deutlicher falsch eingeschätzten körperlichen Aktivität oder von einem mangelnden Erinnerungsvermögen bei der Wiedergabe der zugeführten Lebensmittel war daher nicht auszugehen.

4.3.1.3 Proteinzufuhr

Proteine haben normalerweise nur einen geringen Einfluss auf die Serumlipide. Pflanzliche Proteine, vor allem Sojaprotein, sollen aufgrund der Aminosäurezusammensetzung sowie

durch Beeinflussung von Hormonspiegeln positive Effekte auf den Lipoproteinstoffwechsel haben. In einer Studie wurde in einer Gruppe von 130 Männern und Frauen über einen Zeitraum von 16 Wochen der Einfluss einer täglichen Zufuhr von 30 g bzw. 50 g isoliertem Sojaprotein im Vergleich zu 30 g bzw. 50 g Casein auf die Konzentration u.a. von Gesamt-, HDL-, LDL-Cholesterin, Triglyceride, Lp(a) und Homocystein im Serum gemessen. Dabei waren im Plasma der Probanden mit einer täglichen Zufuhr von 30 g und 50 g Sojaprotein im Vergleich zu den Kontrollgruppen mit einer täglichen Zufuhr von 30 g bzw. 50 g Casein signifikant niedrigere Konzentrationen an Gesamt-, LDL-Cholesterin und Homocystein zu messen (Tonstad et al. 2002). Diskutiert wird bei der Senkung der Konzentration von Cholesterin in den Low-density-Lipoproteinen (LDL) durch Soja aber auch eine mögliche Rolle der Isoflavone (Zhuo et al. 2004).

Die Zufuhr an Proteinen war bei den Probanden der eigenen Studie im Mittel um 50 % höher als von der DGE empfohlen (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Sie unterschied sich dabei nicht von der Zufuhr der Probanden des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) und war damit für die deutsche Bevölkerung repräsentativ. Die Überversorgung mit Proteinen erklärt sich durch die gute Versorgung mit proteinhaltigen Lebensmitteln wie Fleisch, Milchprodukten und Eiern. Trotz unentbehrlicher Funktionen von Proteinen – wie z.B. Proteinstrukturen als Lebensbaustein – werden negative physiologische Effekte durch eine Überversorgung nicht ausgeschlossen, die vor allem zu einer Belastung der Nieren führen können. Darüber hinaus ist eine hohe Aufnahme von tierischem Protein meist mit einer hohen Zufuhr an Fett und Cholesterin gekoppelt.

4.3.1.4 Zufuhr von Kohlenhydraten

Kohlenhydrat-reiche Diäten führen zu einer Erhöhung der Serumtriglyceride und der Konzentration der Very-low-density-Lipoproteine (VLDL) im Serum. Damit ist eine Verminderung der HDL-Konzentration verbunden, da Cholesterinester und Apolipoprotein A-1 für die Synthese von triglyceridreichen Lipoproteinen bereitgestellt werden müssen (Pieke et al. 2000, Pelkman 2001).

Die Probanden der eigenen Studie nahmen einen geringeren Anteil der Energie in Form von Kohlenhydraten zu sich als dies die DGE empfiehlt (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Es gab bezüglich der Kohlenhydratzufuhr keine Unterschiede im Vergleich zur männlichen, deutschen Bevölkerung, bei der im Rahmen des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) eine repräsentative Stichprobe erhoben wurde. Das Ernährungsverhalten in Deutschland ist demnach nicht im Sinne der Ernährungswissenschaft, die eine vollwertige Ernährung reich an Obst, Gemüse und Getreideprodukten postuliert. Eine derartige Ernährung enthält zwangsläufig einen hohen Anteil an Kohlenhydraten und Ballaststoffen sowie einen geringen Anteil an Fett.

4.3.1.5 Fettzufuhr

Mit zunehmendem Gesamtfettgehalt der Nahrung steigt die HDL-Konzentration im Blut an. Ein erhöhter Energiegehalt der Nahrung führt jedoch langfristig zu Adipositas (Fettleibigkeit), die mit einem ungünstigen Einfluss auf VLDL (↑) und HDL (↓) einhergeht. Die von der DGE empfohlene Fettzufuhr von 25 bis 30 % der Gesamtenergie (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) sollte allerdings nicht wesentlich unterschritten werden, da einerseits damit eine Senkung des kardioprotektiven HDL-Cholesterins und andererseits durch die höhere Aufnahme an Kohlenhydraten eine Erhöhung der Serumtriglyceride verbunden wäre (Grundy et al. 1990). Ein Übermaß an Fett in der Ernährung wird allerdings als Risikofaktor für die

Entstehung einer Vielzahl von Erkrankungen wie z.B. Übergewicht, Diabetes und Herz-Kreislaufkrankungen gesehen, auch wenn auf Fette in der Ernährung nicht verzichtet werden kann (Fette als Energielieferant, Aromaträger, Träger fettlöslicher Vitamine).

Wie bereits ausgeführt war die Fettzufuhr bei den Probanden der eigenen Studie höher als die Empfehlung der DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000), unterschied sich jedoch nicht von den Zufuhrdaten, die in dem für Deutschland bezüglich des Ernährungsverhaltens repräsentativen Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999) erhoben wurden. Bezüglich der Zufuhr an Fett und Fettsäuren waren die Gruppen 1 bis 3 der eigenen Studie vergleichbar.

4.3.1.6 Zufuhr von Fettsäuren

a) gesättigte Fettsäuren (SFA):

Eine dauerhafte Aufnahme gesättigter Fettsäuren (SFA) hat meist eine Erhöhung des LDL-Cholesterins zur Folge (Grundy 1990). In einer Interventionsstudie konnte gezeigt werden, dass das LDL/HDL-Verhältnis sich durch einen Austausch von SFA (v.a. Laurin- und Myristinsäure) durch MUFA und PUFA erniedrigen lässt (Muller et al. 2003). Die zu hohe Fettzufuhr und insbesondere die zu hohe Aufnahme an gesättigten Fettsäuren ist ein wesentliches Gesundheitsproblem im Zusammenhang mit der Entstehung von Herz-Kreislauf-erkrankungen, Übergewicht und bestimmten Krebsarten (Mensink 1992). Daher wird von der DGE eine reduzierte Zufuhr gesättigter Fettsäuren empfohlen: das Verhältnis von gesättigten zu ungesättigten Fettsäuren sollte etwa 1:2 betragen, die gesättigten Fettsäuren demnach einen Anteil von 33 % nicht überschreiten (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Dieses Verhältnis war im Jahr 1998 bei der deutschen Bevölkerung etwa 1:1,2 (46 % gesättigte Fettsäuren) (Mensink et al. 1999). Gesättigte Fettsäuren werden von Männern in Deutschland vor allem über Milchprodukte zugeführt (Ernährungssurvey: Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999). Die hohe Zufuhr von Milchprodukten einschließlich Butter bei den Probanden der eigenen Studie ($297,2 \pm 205,7$ g/Tag) deckt mit $48,8 \pm 33,8$ g Fett bzw. $35,6 \pm 24,7$ g SFA (gesättigte Fettsäuren) einen größeren Teil der aufgenommenen Fette (115 ± 25 g) bzw. SFA ($50,1 \pm 13,5$ g) ab. Die Aufnahme gesättigter Fettsäuren (SFA) war bei den Probanden der eigenen Studie vergleichbar mit der Zufuhr von SFA bei den Probanden des Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999).

b) einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA):

Die Aufnahme einfach ungesättigter Fettsäuren (MUFA) führt zwar zu einer Senkung des LDL-Cholesterins, nicht aber zu einer Beeinflussung des HDL-Cholesterins (Mensink et al. 1992). Aufgrund der reichlichen Verwendung von Olivenöl, welches in größeren Anteilen die einfach ungesättigte Ölsäure enthält, werden der mediterranen Küche gesundheitliche Vorteile zugesprochen.

c) mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA):

Eine länger gehende Zufuhr mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PUFA) wie Linolsäure führt zu einer Senkung sowohl des LDL-, als auch des HDL-Cholesterins, so dass das LDL/HDL-Verhältnis insgesamt in etwa gleich bleibt (Mattson 1985). In einer Interventionsstudie bei 21 Frauen hatte eine Diät mit einer Fettzufuhr von 36 Energieprozent (a) reich an gesättigten Fettsäuren (SFA) und (b) reich an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) keine Veränderung des LDL/HDL-Verhältnisses zur Folge, während bei einer Diät reich an einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) die Konzentration von HDL-Cholesterin signifikant anstieg (Mata et al. 1992). In einer Metastudie, in der die Ergebnisse von 14 Einzelstudien benutzt wurden, konnte sowohl bei erhöhter Zufuhr von MUFA als auch bei erhöhter Zufuhr von

PUFA mit der Nahrung eine Senkung des Gesamt- sowie LDL-Cholesterins um 25 mg/dL nachgewiesen werden (Gardner et al. 1995).

d) trans-Fettsäuren (TFA):

Eine Ernährung mit einem hohen Gehalt an trans-Fettsäuren, die vor allem bei der industriellen Hydrierung von Ölen und Fetten entstehen, hat eine der Gesundheit abträgliche Erhöhung des LDL-/HDL-Verhältnisses zur Folge. In einer Metaanalyse von 60 Studien konnte eine Erhöhung des Verhältnisses Gesamt-/HDL-Cholesterin im Serum sowie eine Erhöhung der Konzentration der Konzentration von Cholesterin in den Low-density-Lipoproteinen im Serum durch trans-Fettsäuren (TFA) nachgewiesen werden, die größer war als der Einfluss durch gesättigte Fettsäuren (SFA) (Mensink et al. 2003). Die Bildung der trans-Fettsäuren ist stark von den Zubereitungsbedingungen der Speisen abhängig, wobei vor allem hohe Temperaturen auf längere Zeit die Umsetzung von cis- in trans-Fettsäuren begünstigen. Da die Erfassung von Faktoren, welche die Umsetzung von cis- in trans-Fettsäuren begünstigen, methodisch schwierig ist, machte die Erfassung der Zufuhr von trans-Fettsäuren keinen Sinn und war daher mit dem für die Ernährungsanamnese verwendeten Computerprogramm EBIS (Ernährungsanamnese, Beratungs- und Informationssystem) nicht vorgesehen.

4.3.1.7 Zufuhr von Cholesterin

Über die Nahrung aufgenommenes Cholesterin beeinflusst das Serumcholesterin bei weitem weniger stark als die Änderung der Fettsäurezusammensetzung (Hopkins 1992). In einer Interventionsstudie konnte bei 58 Personen mit einer ballaststoffreichen, fettarmen Ernährung durch eine Reduktion des Nahrungscholesterins um 400 mg pro Tag kein Effekt auf die Konzentration von Gesamt-, LDL- oder HDL-Cholesterin im Serum der Probanden nachgewiesen werden (Edington 1989). Die Autoren einer Metastudie schätzten den Einfluss der Ernährungsempfehlungen im Bezug auf Fett (30 % der Gesamtenergie), Fettsäuren (< 10 % SFA) und Nahrungscholesterin (< 300 mg/Tag) auf etwa 5 % Senkung des Gesamt- und LDL-Cholesterins ein (Howell et al. 1997). Eine Beeinflussung der Serumkonzentration von Gesamt-, LDL- oder HDL-Cholesterin durch Cholesterin, das mit der Nahrung aufgenommen wurde, ist bei den Probanden der eigenen Studie nicht zu erwarten.

4.3.1.8 Ballaststoffzufuhr

Die wichtigsten Quellen für die Aufnahme von Ballaststoffen sind Vollkornbrot, Gemüse, Obst, Kartoffeln und Salate. Eine hohe Zufuhr an ballaststoffreichen Lebensmitteln kann zur Folge haben, dass fett- und cholesterinhaltige Lebensmittel verringert aufgenommen werden. Weiterhin wird die cholesterinsenkende Wirkung z.B. von Haferkleie auf ein β -Glucan zurückgeführt, an das Gallensäuren und Cholesterin im Darm gebunden werden sollen, so dass ein geringerer Anteil an Gallensäuren rückresorbiert werden. Damit muss die Leber vermehrt Cholesterin zur Gallensäuresynthese bereitstellen. Dazu wird die Cholesterinbiosynthese gesteigert, aber auch die LDL-Rezeptoren an der Leberzelloberfläche werden verstärkt exprimiert und mehr LDL aus dem Blut aufgenommen (Anderson et al. 2002, Ballesteros et al. 2001).

Das Computerprogramm EBIS erlaubte keine Differenzierung der Ballaststoffe nach der Herkunft. Daher ließen sich die Arten von Ballaststoffen (z.B. Haferkleie, Pektine) nicht ermitteln, die für eine Senkung des Cholesterins verantwortlich gemacht werden. Außerdem bleibt die Frage offen, ob ein cholesterinsenkender Effekt nicht erst bei einer sehr hohen

Zufuhr erreicht wird, wie sie in zahlreichen Interventionsstudien eingesetzt wurde (Ballesteros et al. 2001).

4.3.1.9 Zufuhr von Harnsäure

Harnsäure wurde in Form von Purinbasen in der eigenen Studie von den „Biertrinkern Gr. 2+3“ in höherer Menge zugeführt als von den Personen der Gruppe „Weintrinker Gr. 2+3“ (+ 10 %, $p < 0,05$). Die „Biertrinker Gr. 2+3“ nahmen im Mittel 169 g Fleisch und Wurst zu sich, die „Weintrinker Gr. 2+3“ 152 g (n.s.). Da die Konzentration von Purinbasen in Fleischprodukten höher ist, könnte dieser Unterschied eine Erklärung für die höhere Aufnahme von Harnsäure bei den Probanden der Gruppe der „Biertrinker Gr. 2+3“ sein. Jedoch konnte bei der Zufuhr an Fleischprodukten keine statistische Signifikanz errechnet werden.

Die Aufnahme von Energie, Protein, Kohlenhydraten, Fett, Fettsäuren, Cholesterin und Ballaststoffen bei den Probanden der eigenen Studie entsprachen den Werten einer für die Ernährung der Deutschen repräsentativen Erhebung bei 1.763 Männern in Deutschland im Jahr 1998, dem Ernährungssurvey (Mensink et al. 1998, Mensink et al. 1999). Daher konnte von einer Vergleichbarkeit beider Kollektive hinsichtlich dieser Faktoren ausgegangen werden. Bei den Probanden der eigenen Studie waren bezüglich der Zufuhr von Protein, Fett, Fettsäuren und Kohlenhydraten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen 1 bis 3 nachzuweisen. Damit war eine Vergleichbarkeit der Gruppen im Hinblick auf diese Parameter gewährleistet. Dasselbe galt für die Untergruppen abhängig von der Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks. Wie bereits erörtert, ist eine Beeinflussung der Lipide und Lipoproteinfraktionen im Blut und Plasma durch die oben genannten Parameter möglich. In Anbetracht der Vergleichbarkeit aller diskutierter Gruppen bezüglich dieser Messgrößen war eine Beeinflussung der Zielgrößen jedoch nicht zu erwarten.

4.4 Zufuhr und Plasmakonzentrationen bzw. Statusbestimmungen ausgewählter wasser- und fettlöslicher Vitamine, Carotinoide und Spurenelemente

4.4.0 Antioxidanzien und oxidativer Stress:

Natürliche, nicht-enzymatische Antioxidanzien sind v.a. Vitamin E (Tocopherole und Tocotrienole), Vitamin C, Carotine (β -Carotin, Lycopin), Xanthophylle (Lutein) und Flavonoide. Als Flavonoide bezeichnet man eine Gruppe stickstofffreier, phenolischer Pflanzenstoffe mit Phenylchroman-Grundgerüst. Aufgrund ihrer chemischen Struktur sind sie in der Lage, freie Radikale abzufangen und unschädlich zu machen. Zu den enzymatischen Antioxidanzien zählen Dismutasen, Katalasen und die selenhaltige Glutathionperoxidase.

Antioxidanzien sind leicht oxidierbare Stoffe, die durch ihr niedriges Redoxpotential andere Stoffe vor unerwünschter Oxidation schützen. Ihnen wird infolge der antioxidativen Wirkung eine Verhinderung der Bildung „freier Radikale“ und damit eine gewisse präventive Funktion hinsichtlich bestimmter Erkrankungen zugeschrieben (Heinecke 1998). Von einem „oxidativen Stress“ spricht man bei einer Verlagerung des Gleichgewichts zwischen pro-oxidativen und antioxidativen Prozessen zu Gunsten der pro-oxidativen Vorgänge.

Reaktive Sauerstoffmetabolite wie Wasserstoffperoxid, Hydroxylradikale und Singulett-Sauerstoff können eine Vielzahl zellulärer Verbindungen schädigen und zu einer Oxidation von

Membranlipiden und Lipiden in den Low-density-Lipoproteinen (LDL) zu Lipidperoxiden führen. Dadurch kommt es zu Veränderungen der Oberflächenstruktur, zu funktionellen Störungen und zu morphologischen Veränderungen von Zellen – insbesondere von Endothelzellen in Arterien und Arteriolen (Witztum 1994). Es wird vermutet, dass oxidiertes Low-density-Lipoprotein bei der Atherogenese eine wichtige Rolle spielt. Durch Oxidation verändertes LDL (Ox-LDL) kann nämlich nicht mehr an den LDL-Rezeptor binden und zeigt eine ausgeprägte zytotoxische Wirkung. Es kann zu Verletzungen des Endothels kommen und in der Folge zu einer vermehrten Anlagerung von Monozyten sowie zur Umwandlung von Monozyten in Makrophagen. Letztere besitzen einen sog. Scavenger-Rezeptor („Straßenfeger“-Rezeptor), der oxidiertes LDL bindet. Da dieser im Gegensatz zum LDL-Rezeptor nicht durch ein hohes intrazelluläres Cholesterin gehemmt wird, häuft sich Cholesterin massiv in den Makrophagen an, die sich so in Schaumzellen umwandeln (Witztum 1994, Parthasarathy et al. 1992, Mertens et al. 2001).

Antioxidanzien können infolge ihrer antioxidativen Wirkung unter Umständen die Entstehung von freien Radikalen verhindern und dadurch das Endothel vor Schädigung schützen. Die Ernährungswissenschaft rät übereinstimmend zu einem reichlichen Verzehr von Gemüse und Obst mit hohem Gehalt an Antioxidanzien als Prophylaxe für Krebs- und Herzerkrankungen. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt mindestens 5 Portionen Obst und Gemüse pro Tag. Epidemiologische Daten sprechen für ein deutlich geringeres Risiko für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen in Ländern mit einer vitaminreichen, obst- und gemüsebetonten Kost (z.B. die mediterrane Küche) gegenüber solchen, die weniger vitaminreiche Nahrungsmittel bevorzugen (z.B. die nordeuropäischen und skandinavischen Länder) (Gey et al. 1989). Ob dagegen ein positiver Effekt durch eine Supplementation mit antioxidativen Vitaminen erreicht wird, bleibt unklar (Gaziano et al. 1996). In einer prospektiven Studie in England zum möglichen Nutzen antioxidativer Vitaminsupplemente (Primary Prevention Project) wurde die Wirksamkeit von 400 mg Vitamin E der Gabe von 100 mg Acetylsalicylsäure (ASS) gegenübergestellt. Während in der ASS-Gruppe die Rate kardiovaskulärer Erkrankungen deutlich gesunken war, zeigte sich in der Vitamin E-Gruppe keinerlei Effekt. Die Unterschiede waren so signifikant, dass die Studie nach 3,7 Jahren vorzeitig abgebrochen wurde (Sacco et al. 2003). Hinsichtlich des Studiendesigns derartiger Untersuchungen stellt sich allerdings die Frage, inwieweit die Gabe einzelner antioxidativer Vitamine bzw. sehr limitierter Wirkstoffkombinationen sinnvoll ist. Die antioxidativen Vitamine entfalten ihre Wirkung meist nur im Zusammenspiel mit anderen antioxidativen Substanzen. So konnte ein synergistischer Effekt zwischen dem Flavonoid Rutin (Quercetin-3-rutinosid) und einem hydrophilen (Ascorbat) sowie einem lipophilen Antioxidanz (gamma-Terpinen) nachgewiesen werden (Milde et al. 2004). In vitro war eine Kombination von Melatonin, Vitamin E, Vitamin C, Glutathion und Desferrioxamin (Desferoxamin) im Vergleich zu den Einzelsubstanzen besser geeignet, einen Schutz vor Lipidperoxidation zu bieten (Gitto et al. 2001).

In einer weiteren Studie wurden 531 Probanden der Physicians' Health Study, die während des Beobachtungszeitraums von 13 Jahren einen Myokardinfarkt erlitten hatten, einer Messung der Plasmakonzentrationen an den Carotinoiden β -Carotin, α -Carotin, Lycopin, Lutein, β -Cryptoxanthin sowie an Retinol, α -Tocopherol und γ -Tocopherol unterzogen. Trotz nachgewiesener Korrelationen zwischen der Zufuhr und der Konzentration im Plasma konnte bei den untersuchten Carotinoiden und Tocopherolen kein kardioprotektiver Effekt höherer Plasmaspiegel an Carotinoiden und Tocopherolen nachgewiesen werden (Hak et al. 2003).

Das von dem Robert Koch-Institut zwischen 1997 und 1999 mit 4030 Männern und Frauen durchgeführte Ernährungssurvey als Teil des Bundes-Gesundheitssurvey (Mensink et al.

1998, Mensink et al. 1999) ergab für die Versorgung mit Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen, dass in den meisten Fällen die Empfehlungen der DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) erfüllt wurden. Lediglich für Vitamin D, Vitamin E, Folsäure und Jod sowie bei Frauen auch für Vitamin B₁, Vitamin B₂, Calcium und Eisen wurden die Empfehlungen von Teilen der Bevölkerung nicht erreicht. Diese Ergebnisse decken sich im Wesentlichen mit den Befunden in der eigenen Studie. Die von der DGE empfohlene Zufuhr an Vitamin C, Vitamin B₁, Vitamin B₂, Vitamin B₆, Vitamin B₁₂ und Vitamin A wurde von den Probanden in den einzelnen Gruppen erfüllt. Dagegen wurde die Zufuhrempfehlung der DGE für Folsäure von 150 µg pro Tag für Erwachsene (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) von den Probanden der eigenen Studie um 13 % verfehlt. Unsere Probanden nahmen 31 % weniger β-Carotin pro Tag zu sich als die von der DGE empfohlenen 2 mg (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Bezüglich der Zufuhr von Vitamin E wurde die Zufuhrempfehlung der DGE von den Personen der Gruppe 1 und der Gruppe 2, sowie den „Wein-“ und „Mischtrinkern Gr. 2+3“, nicht aber von der Gruppe 3 und der Gruppe der „Biertrinker Gr. 2+3“ erfüllt.

4.4.1 Zufuhr und Konzentration von wasserlöslichen Vitaminen im Plasma, Aktivitätskoeffizienten bei Enzymaktivitätsmessungen

4.4.1.1 Vitamin C (Ascorbinsäure)

Ascorbinsäure, die vor allem in Gemüse wie Paprika und Kartoffeln, sowie in Obst (z.B. Zitrusfrüchte, Kiwis, schwarze Johannisbeeren) vorkommt, ist ein wasserlösliches, leicht oxidierbares Vitamin, das u.a. als Radikalfänger fungiert. Die dabei entstehende Dehydroascorbinsäure kann enzymatisch wieder zu Ascorbinsäure reduziert werden (Niki 1991). Epidemiologische Studien sehen keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Zufuhr an Ascorbinsäure und dem KHK-Risiko, z.B. NHANES III (Third National Health and Nutrition Examination Survey) (Simon et al. 1999).

Zufuhr in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum

Die Ergebnisse der eigenen Studie, in der die Probanden aus Gruppe 1 eine signifikant höhere Zufuhr im Vergleich zu den Probanden aus Gruppe 3 hatten, stimmen hinsichtlich der Zufuhr von Vitamin C nicht mit den Daten einer Studie überein, die bei 1748 Personen aus der Mittelmeerregion durchgeführt wurde. Dort fand sich bei Werten für die Zufuhr der untersuchten Mikronährstoffe (Vitamin C, α-Tocopherol, β-Carotin) keine Abhängigkeit von der Alkoholzufuhr (Schröder et al. 2002).

Konzentration im Plasma in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum

Diskutiert wird in der Literatur eine Beeinflussung des Ascorbinsäurestoffwechsels durch Alkohol in der Form, dass eine verminderte Absorption oder eine erhöhte Ausscheidung erfolgt. Die Datenlage hierzu ist jedoch unsicher und z.T. widersprüchlich. Bei Versuchen mit Ratten wurde bei Gabe von Alkohol eine erhöhte Ausscheidung von Vitamin C gemessen (Mochizuki et al. 1989). In einer Interventionsstudie nahmen 12 gesunde Nichtraucher und 11 Kontrollen Rotwein, Bier, Spirituosen (jeweils 40 g Alkohol pro Tag) bzw. Wasser zu sich. Weder Enzymaktivitäten (Glutathion-peroxidase im Serum, Glutathion-reductase und Superoxid-dismutase in Erythrozyten) noch α- und γ-Tocopherol, Lutein, Zeaxantin, β-Cryptoxanthin, Lycopin oder α-Carotin zeigten während der über 3 Monate dauernden Exposition eine Abhängigkeit vom Alkoholkonsum. Dagegen war beim Plasmaspiegel von Ascorbinsäure eine Abnahme nach Bier- (-15 %, p < 0,005) und nach Spirituosenkonsum (-12

%, $p < 0,05$) festzustellen. Auch die Konzentration von β -Carotin im Plasma war niedriger nach dem Konsum von Bier (-11 %, $p < 0,01$), Wein (-15 %, $p < 0,0005$) und Spirituosen (-13 %, $p < 0,005$) (van der Gaag et al. 2000). Im Gegensatz dazu war in der eigenen Studie weder eine Abhängigkeit des Ascorbinsäurespiegels vom Alkoholkonsum noch vom Typ des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks zu sehen (vgl. Abb. 3.10 und 3.11).

4.4.1.2 Vitamin B₁

Vitamin B₁ (Thiamin) ist in Form von Thiamindiphosphat (TDP) als Coenzym wesentlicher Bestandteil vieler Enzyme, u.a. bei der Transketolase im Pentosephosphat-Cyclus, beim Citrat-Cyclus und der Acetyl-CoA-Bildung. Als Mangelsymptome werden Appetitlosigkeit, Übelkeit und Müdigkeit beschrieben. Vitamin B₁-Mangel tritt normalerweise selten, jedoch gehäuft bei Alkoholikern auf (Thomson et al. 1992, Cook et al. 1998). Als Ursachen werden Resorptionsstörungen bei Alkoholikern (Leevy 1982) und Fehlernährung aufgeführt, die z.B. infolge Verzehrs großer Mengen raffinierter Einfachzucker herrühren kann (Lonsdale 1987).

Zufuhr und Vitamin B₁-Status (Enzymaktivität) in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum

Trotz Unterschieden bei der Aufnahme von Vitamin B₁ in Abhängigkeit von der Höhe des Alkoholkonsums konnte bei einer spanischen Studie kein Einfluss auf den Vitaminstatus (Aktivität der Transketolase) nachgewiesen werden (Mataix et al. 2003). Dies deckt sich mit den Ergebnissen der eigenen Studie, in der trotz unterschiedlicher Zufuhr an Vitamin B₁ die Aktivität der Transketolase in Gruppe 1 bis 3 vergleichbar war.

4.4.1.3 Vitamin B₂

Riboflavin (Vitamin B₂) kommt im tierischen Organismus frei (0,5-2 %) oder als Bestandteil der Enzyme Flavin-adenin-dinucleotid (FAD) (70-90 %) und Flavin-mononucleotid (FMN) (5-30 %) vor (Powers et al. 2003). Es erfüllt in Form der Flavinenzyme wichtige Aufgaben bei Oxidations- und Reduktionsreaktionen (z.B. Elektronentransfer, Fettsäuresynthese und -oxidation, Aminosäureoxidation, Glutathionreduktion). Bei der seltenen Unterversorgung mit Riboflavin können entzündliche Veränderungen an den Mundwinkeln oder Hautveränderungen im Kopfbereich beobachtet werden.

Zufuhr in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum

Die höhere Aufnahme von Riboflavin bei den „Biertrinkern Gr. 2+3“ (+ 16 % vs. „Weintrinker Gr. 2+3“, $p < 0,005$) lässt sich durch den Gehalt an Hefe im Bier erklären, die reichlich Vitamin B₂ enthält. Ein Liter Bier deckt etwa $\frac{1}{4}$ des Tagesbedarfs an Riboflavin.

Vitamin B₂-Status (Enzymaktivität) in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum

Die Probanden mit reichlicherem Alkoholkonsum (Gruppe 3) hatten im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen einen schlechteren Vitamin B₂-Status, der weitgehend unabhängig von der Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks oder der Einnahme von Vitaminpräparaten war. In einer Studie in Spanien mit 1746 Männern und 1644 Frauen wurde das Ernährungsverhalten mittels 24h-Recall erfragt und bei einer Subgruppe von 181 Männern und 191 Frauen der Vitamin B₂-Status durch Messung des EGRAC (erythrocyte glutathione reductase activation coefficient) bestimmt. Dabei konnte im Gegensatz zu den Ergebnissen der eigenen Studie keine Abhängigkeit des Vitamin B₂-Status vom Alkoholkonsum, sowie vom Geschlecht, Alter, Rauchverhalten und vom sozialem Status festgestellt werden (Mataix et al. 2003).

Konzentration im Plasma in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum

Die biologisch aktiven Formen des Riboflavins FAD und FMN liegen intrazellulär vor (Powers et al. 2003). Im Plasma ist Riboflavin hauptsächlich an Albumin und bestimmte Immunglobuline gebunden (Innis et al. 1986). Da nur ein kleiner Anteil des Riboflavins frei vorliegt, konnten mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion im Plasma der Probanden lediglich sehr geringe Konzentrationen gemessen werden. Wegen der unterschiedlichen Anteile an freiem Riboflavin im Plasma kam es zu einer großen Streubreite der Werte. Eine signifikante inverse Korrelation der Plasmakonzentration von Riboflavin mit dem Alkoholkonsum war nicht zu erkennen, obwohl der Mittelwert in Gruppe 2 um 31 % und in Gruppe 3 um 36 % niedriger als in der Gruppe 1 war.

4.4.1.4 Vitamin B₆

Unter der Sammelbezeichnung Vitamin B₆ fallen alle vitaminwirksamen 3-Hydroxy-2-Methylpyridine, die sog. Vitamere Pyridoxal-5'-phosphat (PLP), Pyridoxin, Pyridoxal, Pyridoxamin, Pyridoxamin-5'-phosphat und 4'-Pyridoxinsäure. Als Coenzym ist Vitamin B₆ an zahlreichen Stoffwechselreaktionen beteiligt, vor allem bei der Aminosäuresynthese. Ein Vitamin B₆-Mangel kann sich durch Wachstumsstörungen, Hautirritationen und erhöhter Infektanfälligkeit äußern.

Zufuhr:

Die signifikant höhere Zufuhr an Vitamin B₆ bei den „Biertrinkern Gr. 2+3“ im Vergleich zu den „Weintrinkern Gr. 2+3“ lässt sich in erster Linie dadurch erklären, dass neben Innereien, Eigelb, Reis, Mais und grünem Gemüse auch Bier beträchtliche Mengen an Pyridoxin enthält.

Gehalt von Bier an Vitaminen (Narziß 1986)

Vitamin	Gehalt in 1 L Bier in mg	1 L deckt ...% des Tagesbedarfs (Deutsche Gesell- schaft für Ernährung, 2000)
B ₁ (Thiamin)	ca. 0,04	ca. 3
B ₂ (Riboflavin)	0,3-0,4	18-24
B ₆ (Pyridoxin)	0,45-0,85	25-47
H (Biotin)	ca. 0,005	ca. 2
Niacin	6-8	33-44
Folsäure	ca. 0,8	ca. 200
Pantothensäure	ca. 1	ca. 13

Vitamin B₆-Status (Enzymaktivität):

Das über das Bier aufgenommene Vitamin B₆ führte bei den „Biertrinkern Gr. 2+3“ und den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ zu einer Verbesserung des Vitamin B₆-Status im Vergleich zu den „Weintrinkern Gr. 2+3“. Vermutlich war in erster Linie der hohe Bierkonsum in der Gruppe 3 (638 ± 432 g Bier pro Tag) für den besseren Vitamin B₆-Status im Vergleich zur Gruppe 1 verantwortlich (1,737 ± 0,210 vs. 1,904 ± 0,265, p < 0,05).

Konzentration im Plasma:

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte HPLC-Methode erlaubte nur die Analyse von Pyridoxal-5'-phosphat (PLP), dagegen nicht den Nachweis der Vitamere Pyridoxin, Pyridoxal, Pyridoxamin, Pyridoxamin-5'-phosphat und 4'-Pyridoxinsäure, denen eine teilweise oder vollständige Vitamin B₆-Wirksamkeit zugemessen wird. Diese Methode ist demnach nur bedingt mit der Bestimmung des Aktivitätskoeffizienten der Enzymaktivität der

Aspartataminotransferase (ASAT) zu vergleichen, die als Summenparameter die Vitaminwirkung aller Vitamin B₆-Metabolite erfasst (vgl. Kap. 4.9.1.1). Vermaak et al. (1985) haben Unterschiede zwischen der Stimulation der Aminotransferaseaktivität in Erythrozytenhämolysat durch Pyridoxal-5'-phosphat und durch die Vitamere Pyridoxol, Pyridoxal und Pyridoxamin gemessen. Damit erschien den Autoren eine Vergleichbarkeit nur eingeschränkt möglich. Unterschiedliche Konzentrationen der Vitamin B₆-Vitamere bei den Probanden der Gruppen „Weintrinker Gr. 2+3“, „Biertrinker Gr. 2+3“ und „Mischtrinker Gr. 2+3“ könnte in der jetzigen Studie dafür verantwortlich sein, dass sich die Ergebnisse der Aktivitätsmessung der ASAT und der Plasmakonzentration von PLP nicht decken: Bei den „Weintrinkern Gr. 2+3“ wurde ein höherer Plasmaspiegel an Pyridoxal-5'-phosphat im Vergleich zu den „Mischtrinkern Gr. 2+3“ errechnet (+ 63 %, $p < 0,001$). Entsprechend zum Ergebnis der Enzymaktivitätsmessung war die Konzentration von Pyridoxal-5'-phosphat im Plasma der Probanden mit höherem Alkoholkonsum (und damit im Durchschnitt höherem Bierkonsum) höher als bei den Probanden mit Alkoholabstinenz oder sehr niedrigem Alkoholkonsum (+ 60 %: Gruppe 3 vs. Gruppe 1, $p < 0,05$).

4.4.1.5 Vitamin B₁₂

Zu Vitamin B₁₂ zählt eine Gruppe von Verbindungen, die aus einem Corrin-Gerüst mit 3-wertigem Cobalt als Zentralatom bestehen und die biologische Aktivität von Cyanocobalamin aufweisen (Araki et al. 1993). Vitamin B₁₂ kommt ausschließlich in tierischen Lebensmitteln vor (Milchprodukte, Fleisch und Wurstwaren), kann aber in pflanzlichen Lebensmitteln durch bakterielle Aktivität (z.B. Sauerkraut, Bier) entstehen. Für die Absorption ist die Sekretion des Glykoproteins Intrinsic Factor (IF) aus den Parietalzellen der Magenschleimhaut erforderlich (Aminoff et al. 1999). Wegen der hohen Speicherkapazität der Leber an Vitamin B₁₂ manifestiert sich ein Mangel oft erst nach 5-7 Jahren (Antony 2003). Cobalamine wirken als Methyl-Cobalamine bei Transmethylierungen (C1-Transfer) und als Coenzym B₁₂. Bedeutsam beim Methioninstoffwechsel ist die Regeneration der Methyltetrahydrofolsäure zu Tetrahydrofolsäure durch Vitamin B₁₂ (Araki et al. 1993). Mangel an Vitamin B₁₂ kann durch unzureichende Zufuhr mit der Nahrung bei Veganern oder durch Fehlen des IF entstehen (Antony 2003, Scott et al. 1981).

Weder die Zufuhr von Vitamin B₁₂ noch die gemessene Konzentration dieses Vitamins im Plasma war zwischen den Gruppen 1 bis 3 unterschiedlich.

4.4.1.6 Folsäure

Die biologisch aktive Form der Folsäure ist die 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure (THF), die als Überträger von Hydroxymethyl- und Formylgruppen fungiert. Darüber hinaus besteht eine wechselseitige Abhängigkeit zwischen Folsäure und Vitamin B₁₂ bei der Homocystein-Methyl-Transferase-Reaktion: Bei Vitamin B₁₂-Mangel ist die Regeneration von Methyl-Tetrahydrofolsäure aus Tetrahydrofolsäure blockiert, was zu einer Verarmung des Organismus an reaktionsfähigen Methylverbindungen führt (Niculescu et al. 2002). Bei einem Mangel an Folsäure kommt es zu einer Anreicherung von Homocystein im Blut, welches zu einer Schädigung des Endothels und zu einer Oxidation von LDL-Cholesterin führen kann (Stanger et al. 2003).

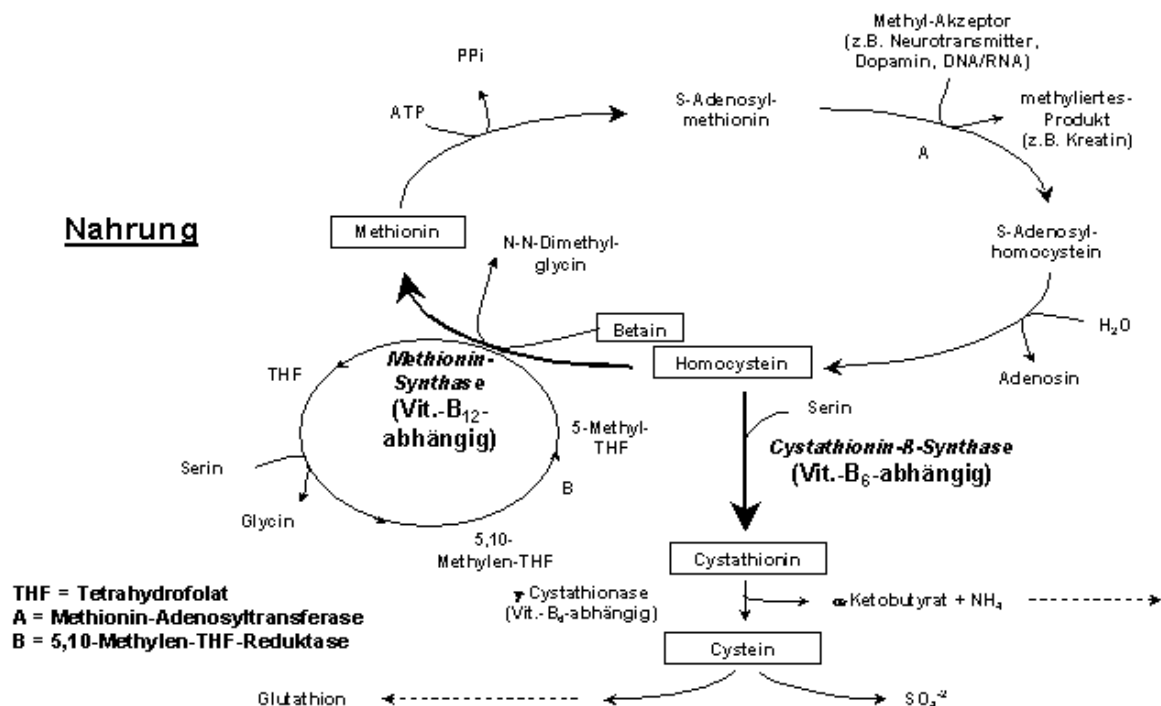


Abb. 4.1: Methioninstoffwechsel (aus: Stanger et al. 2003)

Folsäure kommt in einigen Gemüsearten wie Broccoli, Endivie und Spinat vor, daneben in Milchprodukten, Brot und Bier. Die Bioverfügbarkeit von Folsäure in gemischter Kost liegt im Mittel bei 50 %. Die DGE empfiehlt eine tägliche Zufuhr von 400 µg Gesamt-Folat pro Tag, entsprechend 200 µg Folatäquivalente (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Vor allem Frauen während der Schwangerschaft sind auf eine ausreichende Folatzufuhr angewiesen, da Folatmangel bei der Pathogenese der Neuralrohrdefekte eine wichtige Rolle spielt (Shurtleff 2004).

Zufuhr:

Die Problematik der Bedarfsdeckung über die übliche Ernährung wurde beim Ernährungssurvey (Mensink et al. 2002) deutlich: es erfolgte im Mittel nur eine Aufnahme von 280 µg Gesamt-Folat bzw. 140 µg Folatäquivalente pro Tag und damit weniger als die DGE für die Zufuhr an Folat empfiehlt (400 µg Gesamt-Folat pro Tag = 200 µg Folatäquivalente, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000). Die Zufuhr an Folsäure war bei den Probanden der eigenen Studie mit 130 ± 33 µg Folatäquivalente pro Tag im Mittel vergleichbar mit den Zufuhrwerten, die durch den Ernährungssurvey (Mensink et al. 2002) erhoben wurden. Die im direkten Vergleich bei den „Biertrinkern Gr. 2+3“ (und den „Mischtrinkern Gr. 2+3“) signifikant höhere Aufnahme von Folsäure lässt sich durch den hohen Gehalt von Folsäure in Bier erklären: bereits etwa ½ Liter Bier deckt den von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung angegebenen Tagesbedarf zu 100 % (Ubbink et al. 1998, Mayer et al. 2001).

Konzentration im Plasma:

Die höhere Zufuhr an Folsäure bei den „Bier-“ und „Mischtrinkern Gr. 2+3“ führte jedoch nicht zu einer Änderung der Folsäurekonzentration im Plasma. Moderater und höherer Alkoholkonsum in Form von Bier führte bei den Probanden der eigenen Studie trotz des Gehaltes an Folsäure in Bier nicht zu einer signifikanten Erhöhung der Konzentration von Folat im Blut. Wahrscheinlich ist in Gegenwart von Alkohol die Absorption von Folsäure und

Vitamin B₁₂ im Dünndarm gehemmt (Bode et al. 2000). Im Tiermodell (Dünndarm von Ratten) wurde gezeigt, dass Alkohol dosisabhängig den intestinalen Transport von Folat inhibiert (Said et al. 1996).

4.4.2 Zufuhr und Konzentration von fettlöslichen Vitaminen, Carotinoiden und Xanthophyllen im Plasma

4.4.2.1 Vitamin E (α -Tocopherol)

Vitamin E (Tocopherole und Tocotrienole) wirkt als lipophiles Antioxidanz, das die Lipide biologischer Membranen vor der Schädigung durch Sauerstoffradikale schützt. Mehrfach ungesättigte Fettsäuren der Membranlipide können durch den Angriff von Radikalen zu Peroxylradikalen und in einer Radikalkettenreaktion weiter zu Hydroperoxiden reagieren. Vitamin E hat eine sehr hohe Affinität zu Lipid-Peroxylradikalen und fängt diese ab, bevor sie neue Fettsäuren angreifen können – es kommt zu einem Abbruch der Kettenreaktion (Brigelius-Flohe et al. 1999). Dabei entsteht ein Vitamin E-Radikal (Tocopheroxyl-Radikal), das durch Resonanzstabilisierung sehr reaktionsträge ist und daher die Kettenreaktion nicht fortsetzen kann. Vermutlich wird dieses durch die in der wässrigen Phase vorhandenen Antioxidanzien (Ascorbat oder Glutathion) reduziert und damit Vitamin E regeneriert (Sies et al. 1992). In zahlreichen epidemiologischen Studien wurde auf die koronarprotektive Wirkung von Vitamin E hingewiesen, z.B. wurde in einer Studie eine inverse Beziehung zwischen der Konzentration von Vitamin E im Plasma und der Mortalität durch die koronare Herzkrankheit festgestellt (Gey et al. 1991). In der Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) reduzierte die Einnahme von α -Tocopherol bei Patienten mit angiographisch nachgewiesener Koronar-Arteriosklerose das Auftreten von Myokardinfarkten (Stephens et al. 1996). Das KHK-Risiko war bei der Nurses Health Study reduziert in Verbindung mit einer Supplementation mit Vitamin E (Stampfer et al. 1993).

Zufuhr und Konzentration im Plasma in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum:

Trotz signifikant niedriger Aufnahme von α -Tocopherol mit der Nahrung waren die Plasmaspiegel bei den Probanden aus der Gruppe 3 nicht niedriger als in der Gruppe 1. Signifikante Unterschiede konnten auch nicht nach Ausschluss der Raucher bzw. der Probanden mit der regelmäßigen Einnahme von Vitaminpräparaten errechnet werden (vgl. Tab. 3.6. und Tab. 3.8, 3.8B, 3.8C). In der bereits zitierten Interventionsstudie (van der Gaag et al. 2000) konnte analog zu den Ergebnissen der eigenen Studie keine Abhängigkeit der Konzentration von α -Tocopherol im Plasma von der Höhe des Alkoholkonsums und vom Typ des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks nachgewiesen werden.

Grundsätzlich problematisch beim Vergleich der Zufuhr an α -Tocopherol mit dem Plasmaspiegel ist die stark schwankende Bioverfügbarkeit, die von 80 % auf weniger als 20 % bei hohen Dosen absinken kann (Brigelius-Flohe et al. 1999, Chopra 1999). Ebenso blieb bei der Berechnung der Zufuhr an α -Tocopherol über das Computerprogramm EBIS der saisonal stark schwankende α -Tocopherolgehalt z.B. von Gemüse und Milch unberücksichtigt. So enthalten junge, rasch wachsende Pflanzen wenig α -Tocopherol, langsam wachsende bzw. ausgewachsene dunkelgrüne Pflanzenteile dagegen viel mehr (Goffman et al. 2001).

4.4.2.2 Vitamin A (Retinol)

Retinol und seine Ester, die eine vollständige Vitamin A-Wirkung haben, spielen eine wichtige Rolle beim Sehvorgang, bei der Proliferation und Differenzierung von Zellen, sowie für das Immunsystem. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung gibt den täglichen Bedarf bei Männern an Vitamin A mit 1,0 mg Vitamin A-Äquivalenten (Retinol und Provitamin) an. Mangel tritt in den Industrienationen sehr selten auf, ist in Entwicklungsländern dagegen sehr verbreitet. Retinol kommt in tierischen Produkten vor allem in der Leber vor. Zahlreiche Carotinoide (Carotine und Xanthophylle) können im Dünndarm in Abhängigkeit von einer ausreichenden Menge an Fett absorbiert und zu Retinol verstoffwechselt werden. Vitamin A wird vor allem in der Leber gespeichert – größtenteils in Form von Retinylestern (Leo et al 1999).

Zufuhr

Dem Ernährungssurvey (Mensink et al. 2002) zufolge betrug die Gesamtaufnahme von Vitamin A (Retinol mit Estern und Provitamin) bei Männern im Mittel 1,8 mg pro Tag (berechnet als Retinol-Äquivalent). Damit wurde die von der DGE empfohlene Zufuhr von 1,0 mg Retinol-Äquivalenten (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) im Durchschnitt deutlich übertroffen. Die wichtigsten Quellen für die Zufuhr von Vitamin A waren bei Männern im Jahr 1998 in absteigender Reihenfolge Wurstwaren, Milchprodukte, Innereien, tierische Fette und Eier. Trotz der im Vergleich zur Gruppe 1 höheren Zufuhr an Fleisch- und Wurstwaren konnte bei den Probanden der Gruppe 3 keine höhere Zufuhr an Vitamin A ermittelt werden.

Konzentration im Plasma

Der Normbereich für Retinol liegt bei 35 bis 70 µg/dL (1,2-2,4 µmol/L). Bei Werten von 10-20 µg/dL liegt ein beginnender Mangel vor, bei Werten unterhalb von 10 µg/dL ein manifester Mangel (Russell 2000). Wegen der Homöostase des Retinols ist die Aussagekraft dieses Parameters hinsichtlich Vitaminstatus umstritten (Nierenberg et al. 1997). In der jetzigen Studie wurden zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede der Retinolkonzentration im Plasma gefunden.

4.4.2.3 β-Carotin und andere Carotinoide

Carotinoide: Die sauerstofffreien Carotine und die sauerstoffhaltigen Xanthophylle können rasch oxidiert werden und sind daher in der Lage aktivierte Sauerstoffverbindungen zu inaktivieren (sog. Quenchen). Singulett-Sauerstoff wird in den Triplett-Zustand überführt und damit die durch Singulett-Sauerstoff ausgelöste Lipidperoxidation gehemmt (Handelman 2001, Sies et al. 1995). Von den mehr als 500 bekannten Carotinoiden weisen ca. 50 eine Vitamin A-Aktivität auf. Sie kommen vor allem in zahlreichen Gemüsearten und in vielen Obstsorten vor. Zu den Carotinen zählen β-Carotin (in Möhren, rohem Palmöl sowie in grünen Pflanzen), α-Carotin (Begleiter des β-Carotin), Lycopin (in Tomaten, Hagebutten), zu den wichtigsten Xanthophyllen gehören Lutein (in grünen Blättern, Eidotter), Zeaxanthin (in Mais, Eidotter), Capsanthin (in Paprika), β-Cryptoxanthin (in grünen Pflanzen, Eidotter, Mais), Violaxanthin (u.a. in Orangen und Mandarinen) (Chug-Ahuja et al. 1993).

Zufuhr:

Obwohl die Zufuhr an Obst bei der Gruppe 3 im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen signifikant niedriger war, unterschieden sich die Werte für die Zufuhr von Carotinoiden und

im Speziellen β -Carotin über die Nahrung bei den drei Gruppen nicht signifikant – die Gruppen waren damit hinsichtlich ihrer Aufnahme an Carotinoiden vergleichbar.

Konzentration im Plasma:

Die Probanden der Gruppe 3 hatten trotz vergleichbarer Zufuhr an Carotinoiden und β -Carotin eine im Mittel um 45 % niedrigere Konzentration von β -Carotin im Plasma gegenüber der Gruppe 1 (signifikant mit $p < 0,01$). Dieser Befund deckt sich mit Ergebnissen früher publizierter Studien. Eine signifikante, negative Korrelation zwischen Alkoholkonsum und Plasmaspiegeln an β -Carotin, β -Cryptoxanthin und Lycopin konnte von Kitamura in einem Probandenkollektiv von 194 gesunden männlichen Rauchern nachgewiesen werden. Diese Korrelation war unabhängig von der Höhe des Zigarettenkonsums (Kitamura et al. 1997). In einer weiteren Studie waren die Konzentrationen der Carotinoide β -Carotin, β -Cryptoxanthin, Lycopin und Zeaxanthin + Lutein bei einer Gruppe von 95 Alkoholikern ohne klinische Symptomatik unter Berücksichtigung der Zufuhr der Carotinoide über die Nahrung signifikant niedriger als in der Gruppe von 118 gesunden Männern mit niedrigem bis moderatem Alkoholkonsum. Kein Zusammenhang konnte zwischen dem Alkoholkonsum und der Konzentration von Retinol im Plasma hergestellt werden. Ein 21-tägiger Alkoholentzug führte zu einem Anstieg der Plasmaspiegel an Carotinoiden (Lecomte et al. 1994). In der bereits erwähnten Interventionsstudie waren die Plasmaspiegel von β -Carotin nach dreimonatigem Alkoholkonsum unabhängig vom Getränketyp signifikant um etwa 10 bis 15 % erniedrigt, während andere Carotinoide (Lutein, Zeaxanthin, β -Cryptoxanthin, Lycopin, α -Carotin) keine Veränderung der Plasmakonzentration durch Alkoholkonsum zeigten (van der Gaag et al. 2000). Während der Plasmaspiegel an Retinol weitgehend konstante Werte unabhängig von der zugeführten Alkoholmenge aufweist, bleibt der Mechanismus unklar, der zu einer offensichtlichen Abhängigkeit des Plasmaspiegels an β -Carotin und einiger anderer Carotinoide von der Zufuhr von Alkohol führt. Diskutiert wird ein Einfluss von moderatem Alkoholkonsum auf den Metabolismus von Carotinoiden (Leo et al. 1999).

4.5 Zufuhr ausgewählter Lebensmittelgruppen

Beim Vergleich der Gruppen 1 bis 3 (vgl. Tab. 3.5) fällt auf, dass die landläufig als gesundheitsförderlich angesehenen Lebensmittel von den Probanden der Gruppe 1 in stärkerem Maße aufgenommen wurden als dies bei den Probanden der Gruppe 3 der Fall war. So war der Verzehr an Cerealien wie z.B. Müsli bei den Probanden der Gruppe 3 durchschnittlich nur etwa halb so hoch wie bei den Probanden der Gruppe 1. Die Probanden der Gruppe 1 nahmen mehr Obst (+ 69 %, $p < 0,005$) und Gemüse (+ 19 %, $p < 0,05$) sowie Milch und Milchprodukte zu sich (+ 73 %, $p < 0,05$) im Vergleich zu den Probanden der Gruppe 3. Letztere hatten im Gegenzug eine höhere Zufuhr an Fleisch- und Wurstwaren im Vergleich zu Gruppe 2 (+ 36 %, $p < 0,05$).

Nach Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks unterschieden hatten die „Biertrinker Gr. 2+3“ eine niedrigere Aufnahme von Gemüse als die „Wein-“ und die „Mischtrinker Gr. 2+3“ (- 19 % bzw. - 18 %, $p < 0,005$ bzw. $p < 0,0005$). Die „Wein-“ und die „Mischtrinker Gr. 2+3“ ernährten sich demnach gesundheitsbewusster als die „Biertrinker Gr. 2+3“. Dies wurde nebenbei auch durch ihren niedrigeren Raucheranteil (vgl. 4.1.1.4) deutlich. In der bereits erwähnten Copenhagen City Heart Study konnten Unterschiede bei Weintrinkern verglichen mit Biertrinkern bzw. Konsumenten von Spirituosen hinsichtlich sozioökonomischen Status gefunden werden. Die Weintrinker in dieser Studie hatten eine „gesündere“ Lebensart (Nielsen et al. 2004) – dies deckte sich mit den Ergebnissen der eigenen Studie.

4.6 Konzentration von Thiolen im Plasma

4.6.1 Homocystein

Homocystein (α -Amino- γ -thiobuttersäure) entsteht als schwefelhaltiges Intermediärprodukt durch Demethylierung aus der essentiellen Aminosäure Methionin. Durch Aufnahme einer Methylgruppe wird Homocystein entweder zu Methionin remethyliert oder durch Transsulfurierung zu Cystein und Glutathion abgebaut. Erstmals wurde von McCully (McCully et al. 1970) eine Hyperhomocysteinämie mit einem erhöhten Arterioskleroserisiko in Verbindung gebracht. Wilcken konnte einen Zusammenhang mit dem Methioninstoffwechsel herstellen (Wilcken et al. 1976). Die Ergebnisse zahlreicher epidemiologischer Studien bestätigten, dass schon bei nur mäßig erhöhten Homocysteinspiegeln im Plasma ein deutlich erhöhtes Risiko für Arteriosklerose und KHK zu erwarten ist: In einer Studie konnte eine Verdopplung des Arteriosklerose-Risikos bei Plasmaspiegeln von über 10,7 $\mu\text{mol/L}$ Homocystein nachgewiesen werden. Die Wertigkeit des Homocystein als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen entspricht demzufolge in etwa der des Rauchens oder der Hyperlipidämie (Graham et al. 1997). In der Hordaland-Homocystein-Studie wurde für ein Mehr an 5 $\mu\text{mol/L}$ Homocystein eine Steigerung der Gesamtmortalität um 49 %, der kardiovaskulären Mortalität von 50 % und der Mortalität durch Krebs um 26 % errechnet (Vollset et al. 2001). Die 271 Männer aus der Physicians Health Study mit Myokardinfarkt hatten signifikant höhere Plasmaspiegel an Homocystein im Vergleich zur Kontrollgruppe. Das relative Risiko für einen Myokardinfarkt war bei Personen in der Gruppe der 5 % höchsten Homocysteinspiegel selbst bei Berücksichtigung weiterer Risikofaktoren dreifach erhöht (Stampfer et al. 1992). In einer Metastudie wurde bei einer Erhöhung der Konzentration von Homocystein im Plasma eine Steigerung des KHK-Risikos um 33 % prognostiziert (Boushey et al. 1995). Ausgehend von den Ergebnissen einer weiteren Metastudie ließe sich durch eine Senkung des Homocysteins um 3 bis 5 $\mu\text{mol/L}$ die KHK-Mortalität um bis zu 25 % senken (Wald et al. 2002). Während in einer Studie 3,8 % der KHK-Patienten mit einem Homocysteinspiegel von kleiner als 9 $\mu\text{mol/L}$ innerhalb von 4 Jahren starben, waren es bei den Patienten mit einem Homocystein von über 15 $\mu\text{mol/L}$ 24,7 %. Daraus errechnete sich ein relatives Risiko (Gesamtmortalität) von 2 bei 9-15 $\mu\text{mol/L}$, von 5,5 bei 15-20 $\mu\text{mol/L}$ und von 7 bei einem Plasma-Homocystein von über 20 $\mu\text{mol/L}$ im Vergleich zu einem Homocystein kleiner als 9 $\mu\text{mol/L}$ (Nygard et al. 1997).

Bekannte Faktoren, welche die Konzentration von Homocystein im Plasma beeinflussen:

a) Alkoholkonsum:

Durch die Wirkung der Bierhefen enthält Bier größere Mengen an B-Vitaminen, vor allem an Folsäure und Vitamin B₆. Unter Berücksichtigung der vorangehend wiedergegebenen Daten aus der Literatur wäre daher bei den „Biertrinkern Gr. 2+3“ durch die zusätzliche Aufnahme der am Methioninstoffwechsel beteiligten Vitamine Folsäure, Vitamin B₆ und Vitamin B₁₂ (statistisch signifikant bei Folsäure und Vitamin B₆) ein etwas niedrigerer Homocysteinspiegel zu erwarten. Bezüglich der Konzentration von Homocystein im Plasma konnte jedoch zwischen den Gruppen 1 bis 3 kein signifikanter Unterschied errechnet werden. Auch der Typ des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks hatte keine Auswirkung auf den Homocysteinspiegel im Plasma der Probanden (vgl. Abb.3.20). Wie in den Abschnitten 4.4.1.5 und 4.4.1.6 besprochen war auch keine Assoziation zwischen mittlerem täglichen Alkoholkonsum und den Konzentrationen von Folsäure und Vitamin B₁₂ im Plasma zu erkennen. Als mögliche (Teil-) Ursache für die trotz erhöhter Zufuhr nicht beeinflussten Plasmaspiegel könnte eine Hemmung der Absorption von Folsäure und Vitamin B₁₂ im Dünndarm sein (Bode et al. 1992).

In der Literatur ist die Datenlage bezüglich der Abhängigkeit der Konzentration von Homocystein im Plasma von der Höhe des Alkoholkonsums uneinheitlich. In einigen Studien wurde eine positive Korrelation zwischen dem Alkoholkonsum und der Höhe des Homocysteinspiegels festgestellt (Christensen et al. 1999). In der Framingham Offspring Kohortenstudie wurde ein Zusammenhang zwischen Alkoholaufnahme und Plasma-Homocystein jedoch erst ab einer Alkoholzufuhr von über 15 g pro Tag gesehen. Dieser Anstieg war jedoch nur bei Rotwein und Spirituosen, nicht bei Bier oder Weißwein als bevorzugtem alkoholhaltigen Getränk zu erkennen (Jacques et al. 2001). Ergebnisse einer weiteren Studie deuteten darauf hin, dass ein Anstieg des Serum-Homocysteins nur beim Konsum von Wein und Spirituosen erfolgt, Biertrinken jedoch keinen Einfluss auf die Konzentration von Homocystein im Serum hat (van der Gaag et al. 2000). In anderen Studien führte moderates Trinken (≤ 40 g Alkohol pro Tag) nicht zu einer Erhöhung der Konzentration von Homocystein im Plasma, sondern allenfalls sogar zu einer leichten Senkung. Höhere Werte an Homocystein waren erst bei gesteigertem Alkoholkonsum zu ermitteln und ergaben damit einen J-förmigen Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und dem Homocysteinspiegel (Vollset et al. 1997, Ubbink et al. 1998). Im Gegensatz dazu konnte in einer Interventionsstudie an 60 männlichen Teilnehmern (davon 15 Kontrollpersonen) der Homocysteinspiegel bereits durch die Gabe von 30 g Alkohol über einen Zeitraum von 6 Wochen signifikant gesteigert werden. Die Art des alkoholhaltigen Getränks (Bier, Rotwein, Spirituosen) spielte dabei keine Rolle (Bleich et al. 2001).

b) Ernährung:

Einige wasserlösliche Vitamine sind am Methioninstoffwechsel beteiligt. Über die Methionin-Synthase erfolgt die Remethylierung von Homocystein zu Methionin. Durch die Methylgruppen-Übertragung in einem ersten Teilschritt wird Tetrahydrofolsäure freigesetzt, so dass erneut ein Akzeptor für C1-Reste zur Bildung anderer Folsäure-Derivate zur Verfügung steht. Folsäure fungiert als Cofaktor der Methylenetetrahydrofolat-Reduktase, Vitamin B₆ als Cofaktor der Cystathionin- β -Synthase und Vitamin B₁₂ als Cofaktor der Methionin-Synthase (siehe Abschnitte 4.4.1.4 – 4.4.1.6).

Durch Behandlung mit Vitamin B₁₂, Folsäure und Vitamin B₆ lassen sich erhöhte Homocysteinspiegel senken. Eine Tagesdosis von 5 mg Folsäure brachte im Rahmen einer Studie, in der Patienten mit koronarer Herzkrankheit nach Ballondilatation stenosierter Koronararterien untersucht wurden, in einem Untersuchungszeitraum von 6 Monaten eine Senkung des Homocysteinspiegels um 40 %, eine Tagesdosis von 0,5 mg Vitamin B₁₂ führte zu einer Senkung von 12 % und von 16 mg Vitamin B₆ zu einer Reduzierung um 7 %. Durch Kombination aller drei Vitamine konnte eine Senkung der Konzentration von Homocystein im Plasma von durchschnittlich 11 auf 7 $\mu\text{mol/L}$ erreicht werden, die mit einer deutlichen Erniedrigung der Restenoserate der Patienten verbunden war (Schnyder et al. 2001). In der Framingham Heart Study zeigte Homocystein eine stark inverse Korrelation mit der Aufnahme bzw. der Plasmakonzentration von Folat (Selhub et al. 1996). Durch eine Reihe weiterer, placebokontrollierter Studien konnte nachgewiesen werden, dass eine Supplementierung von Kombinationspräparaten mit Folat, Vitamin B₁₂ und Vitamin B₆ die Homocysteinspiegel signifikant senken kann (Metastudien: Wald et al. 2002, Clarke 1998). Diskutiert wird ein möglicher Einfluss des Kaffeetrinkens auf die Konzentration von Homocystein im Plasma. Coffein wird die Rolle eines Vitamin B₆-Antagonisten zugesprochen (De Bree et al. 2002).

c) Weitere Einflussfaktoren:

Ein genetisch bedingter Mangel der Enzyme Cystathionin- β -Synthase, 5,10-Methylen-tetrahydrofolat-Reduktase oder Methionin-Synthase kann Ursache einer Hyperhomocysteinämie sein (Robinson 2000).

4.6.2 Glutathion

Glutathion ist ein Tripeptid, das als Redoxsystem (reduzierte Form GSH, oxidierte Form GSSG) vor allem in Erythrozyten SH-Gruppen enthaltende Enzyme vor Oxidation schützt. GSH (Glutathionsulfhydryl) wird dabei zu GSSG (Glutathiondisulfid) oxidiert und durch die NADPH₂-abhängige Glutathionreduktase wieder regeneriert. Starker oxidativer Stress führt zu einer Verringerung des GSH-Spiegels (Lu 1999). In der eigenen Studie waren die Gruppen 1 bis 3 vergleichbar.

4.7 Lipide, Apolipoproteine und Lipoproteine

4.7.1 Lipoproteinklassen

4.7.1.1 VLDL (Very-low-density-Lipoproteine)

Die VLDL (Very-low-density-Lipoproteine) sind triglyceridreich und haben den Stellenwert eines unabhängigen Risikofaktors für die koronare Herzkrankheit (KHK). VLDL wurde zusammen mit IDL (Intermediate-density-Lipoproteine) aus atherosklerotischen Plaques isoliert. Sie sind in der Lage, in die Arterienwand einzudringen und werden zusammen mit den Low-density-Lipoproteinen (LDL) für eine Anhäufung von Lipiden in der Gefäßwand verantwortlich gemacht (Nordestgaard et al. 1992, Nordestgaard et al. 1994).

4.7.1.2 IDL (Intermediate-density-Lipoproteine)

Ein Zwischenprodukt beim Abbau von VLDL zu LDL sind die IDL (Intermediate-density-Lipoproteine). Diese sind triglyceridreich und enthalten Apolipoprotein B. In zahlreichen epidemiologischen Studien wurde IDL atherogen und als Bestandteil des atherogenen Lipoprotein-Phänotyps eingestuft (Übersicht in Segrest 2002).

Bei angiographischen und sonographischen Untersuchungen der Karotis und anderer Arterien wurde eine erhöhte Konzentration von IDL im Plasma als besserer Marker für das Fortschreiten einer Atherosklerose gesehen als erhöhte Werte an LDL (Krauss RM 1998, Hodis HN et al. 1998: MARS = Monitored Atherosclerosis Regression Study, Tatami et al. 1981).

Bekannte Faktoren, welche die Konzentration von IDL im Plasma beeinflussen:

a) Rauchen:

Raucher haben eine höhere Konzentration von IDL, daneben höhere Konzentrationen an Triglyceriden, VLDL, LDL und niedrigere Konzentrationen an HDL als Nichtraucher (Steiner et al. 1987). Ein Zusammenhang zwischen Rauchen und der Plasmakonzentration von IDL bzw. VLDL fand sich auch bei den Probanden der eigenen Studie: Die IDL- und VLDL-Cholesterinkonzentration im Plasma waren bei den Probanden der Gruppe 3 (mit höherem Alkoholkonsum) im Vergleich zu den Probanden der Gruppe 2 (mit moderatem

Alkoholkonsum) signifikant höher. Nach Ausschluss der Raucher aus beiden Gruppen war diese Differenz nicht mehr nachweisbar.

b) Weitere Einflussfaktoren:

Stoffwechsel und Plasmakonzentration von IDL sind sehr stark genetischen Faktoren unterworfen (Segrest 2002), während Ernährung, Alkoholkonsum und körperliche Aktivität die Konzentration von IDL im Plasma kaum beeinflussen (Zambon et al. 1998). Nicotinsäure und Statine senken IDL besonders effektiv, aber auch Fibrate können IDL senken (Zambon et al. 1998, Sposito et al. 2002).

4.7.1.3 LDL (Low-density-Lipoproteine)

LDL (Low-density-Lipoproteine) sind cholesterinreich, enthalten Apolipoprotein B und sind atherogen (sog. „ungünstiges“ Cholesterin). Die positive Korrelation zwischen der Konzentration von Gesamtcholesterin im Serum und dem Risiko für eine KHK ist fast ausschließlich auf den Effekt des LDL-Cholesterins zurückzuführen (Mertens et al. 2001). Die LDL-Fraktion ist nicht homogen, sondern lässt sich entsprechend ihrer physikalischen Eigenschaften in große, leichte und kleine, dichte LDL-Subfraktionen mit unterschiedlicher biologischer Wertigkeit auftrennen. Für eine solche Auftrennung kommt die Ultrazentrifugation (Trennung nach Dichte) oder die nicht-denaturierende Gradienten-Gelelektrophorese (Trennung nach Größe) als Methode in Frage. In der Literatur fanden sich verschiedene Muster, die Low-density-Lipoproteine (LDL) in Unterfraktionen einzuteilen: Meist wurden sechs, gelegentlich auch sieben LDL-Subfraktionen im Plasma unterschieden (Williams et al. 2003, Nicols et al. 1986, Krauss et al. 1982). Teilweise wurden sechs Untergruppen paarweise zusammengefasst und die kleinen, dichten LDL als „Pattern B“ („atherogener Lipoprotein-Phänotyp“), die großen, leichten LDL als „Pattern A“ und die in Größe und Dichte dazwischen liegenden LDL als „Pattern AB“ bezeichnet. In der eigenen Studie wurden die Lipoproteine zunächst durch sequentielle präparative Ultrazentrifugation voneinander getrennt (Havel et al. 1955) und dann die gesamte LDL in sechs LDL-Subfraktionen aufgetrennt (Baumstark et al. 1990).

Zahlreiche klinische Studien haben ergeben, dass die kleinen, dichten LDL im Vergleich zu den anderen LDL-Subfraktionen eine besonders stark ausgeprägte Atherogenität aufweisen. Eine erhöhte Konzentration von kleinen, dichten LDL („Pattern B“ / atherogener Lipoprotein-Phänotyp) ist mit einem etwa 3 bis 4,5fach erhöhten Risiko für KHK und einem etwa 7fachen Risiko verbunden einen Myokardinfarkt zu erleiden. Eine erhöhte Gesamtkonzentration von LDL-Cholesterin im Plasma ergibt dagegen nur eine Erhöhung des Risikos für KHK etwa um den Faktor 2 (Griffin et al. 1994, Superko 2000, Coresh et al. 1993, Stampfer et al. 1996, Larnache et al. 1997). 40 bis 50 % der KHK-Patienten haben erhöhte Werte an kleinen, dichten LDL (Krauss 1995). Die Stenoserate war in einer Studie an 117 Männern mit koronarer Herzkrankheit in einem vierjährigen Untersuchungszeitraum signifikant positiv korreliert mit der Plasmakonzentration von Gesamtcholesterin, Triglyceriden, VLDL, Gesamt/HDL-Cholesterin und LDL_{IVb}, eine inverse Korrelation errechnete sich zu HDL₂ und HDL_{2b}. In einer multiplen Regressionsanalyse zeigte sich die kleinste und dichteste der sieben LDL-Subfraktionen (LDL_{IVb}) als am besten geeignet, Gefäßverengungen zu prognostizieren (Williams et al. 2003). In der prospektiven Physicians' Health Study war ein hoher Anteil an kleinen, dichten LDL mit dem Risiko positiv assoziiert, im weiteren Beobachtungszeitraum einen Myokardinfarkts zu erleiden (Stampfer et al. 1996). In zahlreichen weiteren Studien wurde eine positive Korrelation zwischen erhöhten Konzentrationen an Triglyceriden, vermindertem HDL-Cholesterin und kleinen, dichten LDL nachgewiesen (Austin et al. 1990, Krauss 1991, McNamara 1992, Campos et al. 1992). Außerdem konnte eine positive Korrelation zwischen dem Schweregrad angiographischer Veränderungen an Koronar-

patienten mit Ein-, Zwei- oder Dreifäßerkrankung und der Höhe des Anteils der kleinen, dichten LDL (LDL₅ und LDL₆) ermittelt werden (Baumstark 1994). Kleine, dichte LDL können auch unabhängig von Triglyceriden und HDL-Cholesterin eine endotheliale Dysfunktion verursachen (Vakkilainen et al. 2000, Superko 1998).

Eine mögliche Erklärung für die vergleichsweise starke atherogene Potenz der kleinen, dichten LDL ist die im Vergleich zu großen LDL-Partikeln verminderte Aufnahme durch den LDL-Rezeptor (Nigon et al. 1991). Diskutiert wird eine höhere Anfälligkeit für oxidative Modifikation (Dejager et al. 1993) oder eine erhöhte Affinität für Proteoglykane der Gefäßwand (Anber et al. 1996) sowie die Fähigkeit zur verstärkten Penetration der Gefäßintima (Nordestgaard et al. 1994) bei kleinen LDL-Partikeln.

Bekannte Faktoren, welche die Konzentration von LDL- und LDL-Subfraktionen im Plasma beeinflussen:

a) Ernährung:

Eine fettarme Diät reich an Kohlenhydraten führt bei gesunden Individuen mit erhöhten Werten an kleinen, dichten LDL („Pattern B“) zu einer größeren Senkung der Konzentration von LDL-Cholesterin im Plasma als bei Personen mit erhöhten Werten an großen, leichten LDL („Pattern A“) (Krauss 2001). Bei einer Gruppe übergewichtiger Männer senkte die Aufnahme von Ballaststoffen in Form von Hafer die Konzentration von kleinen, dichten LDL (Davy et al. 2002). Gekochter Kaffee (skandinavische oder türkische Art) kann im Gegensatz zu Filterkaffee die Konzentration von LDL-Cholesterin um bis zu 10 % erhöhen (Thelle et al. 1987).

b) Alkoholkonsum:

In einer großen Metastudie konnte eine Abhängigkeit der Konzentration von LDL-Cholesterin im Plasma von Alkoholkonsum in moderaten Mengen nicht nachgewiesen werden (Rimm et al. 1999). In der eigenen Studie konnte ebenfalls keine Korrelation der Plasmakonzentration von LDL-Cholesterin mit der Höhe des täglich konsumierten Alkohols errechnet werden. Allerdings waren die leichten LDL-Subfraktionen LDL₁ und LDL₂ bei den Probanden der Gruppe „Weintrinker Gr. 2+3“ signifikant höher. Auch unter Ausschluss der Raucher blieb diese Signifikanz erhalten (vgl. Tab. 3.11A und 3.11B). Die leichten LDL-Fraktionen LDL₁ und LDL₂ besitzen eine geringere Atherogenität im Vergleich zu den schweren LDL-Fraktionen LDL₅ und LDL₆.

4.7.1.4 HDL (High-density-Lipoproteine)

HDL (High-density-Lipoproteine) sind cholesterinreich und enthalten Apolipoprotein A. Die HDL wurden mittels Gradienten-Ultrazentrifugation in die Unterfraktionen HDL_{2b} (1,063-1,100 kg/L), HDL_{2a} (1,100-1,150 kg/L) und HDL₃ (1,150-1,210 kg/L) differenziert. HDL₃ haben eine niedrigere Konzentration von Triglyceriden, Cholesterin(ester) und Phospholipiden sowie einen höheren Proteinanteil im Vergleich zu HDL₂ (Tall et al. 1982). Zwischen der Konzentration von HDL-Cholesterin im Plasma und der koronaren Herzkrankheit (KHK) besteht eine hochsignifikante inverse Beziehung (z.B. Framingham-Herz-Studie, PROCAM-Studie, Wilson et al. 1987, Assmann et al. 1991). Die Therapie mit dem Fibrat Gemfibrozil, welches die Konzentration von HDL-Cholesterin im Plasma erhöht, reduzierte in einer amerikanischen Studie das Risiko für Herzinfarkt, Koronartod und Schlaganfall (Rubins et al. 1999). In dieser Interventionsstudie erhielten 2531 Männer mit KHK und HDL-Werten unter 40 mg/dL entweder 1200 mg Gemfibrozil täglich oder ein Placebo. Beide Gruppen zeigten keine Unterschiede hinsichtlich Alter, Rauchverhalten, Alkoholkonsum, BMI, Blutdruck, Konzentration von Gesamt-, HDL-, LDL-Cholesterin und

Triglyceriden im Plasma. Nach einem Jahr waren die Konzentrationen an HDL-Cholesterin im Plasma bei den Probanden der Gemfibrozil-Gruppe im Mittel um 6 Prozent gestiegen, Gesamtcholesterol und Triglyceride um 4 bzw. 31 Prozent gesunken. Während der fünfjährigen Beobachtungszeit war die Rate an nichttödlichem Herzinfarkt, KHK-Tod oder Schlaganfall bei der Medikamentengruppe um 24 % niedriger als in der Kontrollgruppe (95% CI: 11-36 %, $p < 0,001$), die Rate an Todesfällen durch KHK um 22 % niedriger (95% CI: -2-41 %, $p < 0,07$). Der ungünstige Effekt des LDL-Cholesterins kann dabei durch hohe Konzentrationen an HDL-Cholesterin aufgehoben werden. Ob der protektive Effekt der HDL einer bestimmten HDL-Unterfraktion zuzuschreiben ist, bleibt unklar. Diskutiert wird, dass die HDL-Unterfraktionen HDL₂ und HDL₃ des HDL-Cholesterins zu einer Senkung des KHK-Risikos führen (Stampfer et al. 1991). Andere Quellen sehen den Schutzeffekt von HDL-Cholesterin gegen vorzeitige Arteriosklerose überwiegend auf HDL₂ basierend: In einer prospektiven Studie an 1169 Männern war die Reduzierung des KHK-Risikos beim Vergleich des höchsten mit dem niedrigsten Quartil bei HDL₂ größer als bei HDL₃ (Larnache et al. 1997). Salonen untersuchte im Rahmen der Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study bei 1799 Männern das Risiko für Myokardinfarkt. Dabei konnte unter Berücksichtigung von Risikofaktoren wie Fettleibigkeit, KHK, Blutdruck, LDL-Spiegel, Alkohol- und Zigarettenkonsum bei HDL und der Subfraktion HDL₂ eine inverse Korrelation zum Infarktrisiko errechnet werden, nicht aber bei der Subfraktion HDL₃ (Salonen et al. 1991). Andere Studien sehen den protektiven Effekt von HDL hauptsächlich in der Fraktion HDL₃: Das Fibrat Gemfibrozil, das zu einer Steigerung von HDL₃, nicht jedoch HDL₂ führt, brachte bei einer randomisierten, placebo-kontrollierten Studie (Syvanne et al. 1998) einen Schutz gegen das Fortschreiten der koronaren Herzkrankheit.

Bekannte Faktoren, welche die Konzentration von Gesamt-HDL bzw. den HDL-Subfraktionen im Plasma beeinflussen:

a) Körperliche Aktivität:

Durch körperliche Aktivität wird HDL₂, nicht aber HDL₃ gesteigert: Bei einer Gruppe von 27 Männern mit erhöhtem Cholesterinspiegel stieg die Konzentration von Gesamt-HDL₂ durch körperliche Aktivität an, während die Konzentration von HDL₃ abnahm und die Konzentration von Gesamt-HDL unverändert blieb (Crouse et al. 1997). In einer Studie an 25 gesunden Frauen stieg die Konzentration von HDL₂ im Plasma in Abhängigkeit von der körperlichen Aktivität signifikant an, während HDL₃ unverändert blieb (Spate-Douglas et al. 1999).

b) Rauchen:

Zigarettenrauchen führt nach übereinstimmenden Forschungsergebnissen zu einer Senkung des HDL-Cholesterins. Dies wurde unter anderem in einer japanischen Metastudie (Hata et al. 2000) anhand von 16 Veröffentlichungen, in denen die bei 7256 Männern und Frauen erhaltenen Ergebnisse ausgewertet wurden, eindrucksvoll nachgewiesen. Je 20 täglich gerauchter Zigaretten ging die Konzentration von HDL-Cholesterin um 3,5 mg/dL (0,09 mmol/L) zurück. Eine Recherche aller prospektiven Studien zwischen 1966 und 2000 in Medline mit dem Thema Einfluss von Zigarettenkonsum auf das Lipidprofil ergab für Exraucher einen Anstieg des HDL-Cholesterins (Maeda et al. 2003). Sowohl aktives als auch passives Zigarettenrauchen führt zu einer Abnahme von HDL₂ (Richard et al. 1997, Imamura et al. 2002).

In der eigenen Studie konnten zwischen den Rauchern und den Nichtrauchern bezüglich der Konzentration von HDL-Cholesterin keine signifikanten Unterschiede errechnet werden. Vermutlich ist dieses Ergebnis auf die geringe Fallzahl (38 Raucher = 13 % der Probanden der Gruppen 1 bis 3) zurückzuführen. Beim Vergleich der Mittelwerte ($44,2 \pm 9,9$ / $51,5 \pm$

10,9 / 57,7 ± 10,7 mg/dL vs. 40,9 ± 8,4 / 48,5 ± 9,0 / 50,5 ± 8,5 mg/dL: Gruppe 1 / 2 / 3) kann spekuliert werden, dass bei einer größeren Anzahl an Rauchern in der eigenen Studie der in der Literatur gefundene Zusammenhang zwischen dem Rauchverhalten und der Höhe des HDL-Cholesterins ebenfalls gefunden würde und Rauchen demnach einen Teil der durch Alkohol induzierten Erhöhung des HDL-Cholesterins wieder zunichte machte.

c) Alkoholkonsum:

In zahlreichen epidemiologischen Studien fand sich eine positive Korrelation zwischen dem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum und der Serumkonzentration von HDL-Cholesterin. In einer Metastudie von Rimm (Rimm et al. 1999) wurde bei 42 Studien der Einfluss eines durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsums von 30 g auf die Blutfettspiegel und auf die Gerinnungsfaktoren untersucht. Das HDL-Cholesterin nahm dabei im Mittel um 4,0 mg/dL (95% CI: 3,25-4,73 mg/dL) zu.

Diese Ergebnisse konnten bei den Probanden der eigenen Studie weitgehend bestätigt werden. Im Vergleich zu den Ergebnissen der Metastudie von Rimm war der beobachtete Effekt der Erhöhung von HDL-Cholesterin sogar noch deutlich größer (und damit vermutlich auch die Reduktion des Risikos einer koronaren Herzerkrankung): Die Probanden der Gruppe 1 mit überwiegend abstinenter Lebensweise (durchschnittlicher täglicher Alkoholkonsum: 2,3 ± 1,5 g) hatten mit 43,8 ± 9,7 mg/dL ein signifikant niedrigeres HDL-Cholesterin als die Probanden der Gruppe 2 (51,2 ± 10,7 mg/dL, Alkoholkonsum 16,0 ± 7,1 g pro Tag) und die Probanden der Gruppe 3 (56,3 ± 10,6 mg/dL, durchschnittlicher täglicher Alkoholkonsum 43,4 ± 10,0 g).

In der Literatur wird meist ein gleichzeitiger Anstieg der Subfraktionen HDL₂ und HDL₃ unter Alkoholkonsum angegeben (Gaziano et al. 1993). Gaziano sah den kardioprotektiven Effekt von moderatem Alkoholkonsum überwiegend durch Erhöhung der Konzentration an Gesamt-HDL im Plasma – dabei wurde HDL₂ eine wichtigere Rolle zugesprochen als HDL₃ (Gaziano et al. 1993). Bei den Probanden der eigenen Studie konnte ebenfalls eine signifikante Zunahme beider Fraktionen in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum errechnet werden, die Erhöhung war bei der Subfraktion HDL₂ jedoch stärker ausgeprägt als bei der Subfraktion HDL₃ (vgl. Kapitel 3.6.2.1 und Tab. 3.11). Die eigenen Befunde stützen die Annahme, dass durch Alkohol die HDL-Fraktion stärker erhöht wird, die wahrscheinlich eine stärkere kardioprotektive Wirkung hat (s.o.).

Die Frage der Bedeutung der Art des alkoholhaltigen Getränks im Hinblick auf das KHK-Risiko wird in der Literatur nicht einheitlich beantwortet: Die Ergebnisse einiger Studien sprechen für eine stärkere Risikoreduktion durch Wein (Grønbaek et al. 1995, Renaud et al. 1999, Corder et al. 2001) andere durch Bier (Keil et al. 1997, van der Gaag et al. 2000). In der eigenen Studie hatten die „Weintrinker Gr. 2+3“ mit durchschnittlich 53,5 ± 12,3 mg/dL eine tendenziell höhere Konzentration der High-density-Lipoproteine (HDL) als die „Mischtrinker Gr. 2+3“ (49,8 ± 10,9 mg/dL, p = 0,07) (vgl. Tab. 3.11A). Diese Tendenz war nach Ausschluss der Raucher (mindestens eine Zigarette pro Tag) jedoch nicht mehr nachzuweisen. Das etwas höhere HDL bei den „Weintrinkern Gr. 2+3“ ließ sich damit durch den niedrigeren Raucheranteil bei der Gruppe der Weintrinker erklären. Die Erhöhung des HDL-Cholesterins war bei den Probanden der eigenen Studie demnach von der Art des alkoholhaltigen Getränks unabhängig.

4.7.2 Zusammensetzung der High-density-Lipoproteine (HDL) einschließlich der Subfraktionen

Die Daten der eigenen Studie ergaben, dass Alkoholkonsum nicht nur zu einer Erhöhung der Konzentration von HDL-Cholesterin (einschließlich der Subfraktionen) führt, sondern auch zu einer Veränderung der Zusammensetzung der High-density-Lipoproteine. Bei der Messung der HDL-Komponenten Gesamtcholesterin (Chol), freies Cholesterin (FC), Cholesterinester (CE), Phospholipide (PL), Triglyceride (TG), Apolipoproteine A-1 und A-2 (Apo A-1, A-2) fand sich ein signifikanter höherer Anstieg der Phospholipid-Komponente in Gruppe 2 und 3 vs. Gruppe 1 im Vergleich zu den anderen HDL-Komponenten. Die Relation zwischen Cholesterin, Triglyceriden und den Apolipoproteinen A-1 und A-2 blieb konstant (vgl. Kapitel 3.6.2.8). Ein Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und der Zusammensetzung von High-density-Lipoproteinen (HDL) wurde bisher nur in einer Studie beschrieben, in der bei den Probanden mit regelmäßigem Rotweinkonsum (durchschnittlicher täglicher Alkoholkonsum von 47 g) höhere Konzentrationen ungesättigter Phospholipide gemessen wurden, sowie eine erhöhte Aktivität der Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) (Perret et al. 2002).

Rolle der Phospholipide beim HDL-Stoffwechsel:

Am Metabolismus von High-density-Lipoprotein (HDL) ist eine Reihe von Enzymen beteiligt: Lipoproteinlipase (LPL), hepatische Lipase (HL), Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT), Cholesterinester-Transferprotein (CETP) und Phospholipid-Transferprotein (PLTP). Das Transferprotein PLTP steuert die Übertragung von Phospholipiden, insbesondere von Lecithin von Chylomikronen und VLDL zu HDL. Es generiert kleine Prä- β -HDL-Partikel, die als initiale Akzeptoren für Cholesterin dienen. Bei Typ 1 und Typ 2 Diabetes ist die Aktivität von PLTP und Prä- β -HDL erhöht, wodurch der Efflux von zellulärem Cholesterin verstärkt wird. Die Übertragung von Phospholipiden auf sich entwickelnde HDL ist demnach ein wichtiger Bestandteil des reversen Cholesterintransports (Borggreve et al. 2003). Zwischen der Konzentration von PLTP und dem KHK-Risiko wurde in einer Studie an 2567 männlichen Japanern eine signifikante, inverse Korrelation errechnet – auch unter Berücksichtigung von Alter, Rauch- und Trinkverhalten, körperlicher Aktivität, Blutdruck, BMI und LDL-C. (Yatsya et al. 2004). In einer weiteren Studie wurden bei 87 Frauen nach der Menopause die Konzentrationen an Phospholipiden (Phosphatidylcholin (PC) und Sphingomyelin (SPM)) in der HDL-Fraktion als indirekte Marker der Kapazität des reversen Cholesterintransports gemessen. Die Ausprägung der KHK wurde angiographisch durch die Messung der Stenoserate erfasst. Dabei wurde eine signifikante, inverse Korrelation zwischen HDL-SPM und der Stenoserate nachgewiesen. HDL-SPM und die Kapazität des Cholesterinrücktransports stehen demnach in direktem Zusammenhang zueinander (Horter et al. 2002).

Wie bereits erwähnt konnten bestimmte Phospholipide wie Sphingomyelin als bedeutend für den reversen Cholesterintransport herausgestellt werden. Weiterhin konnte experimentell gezeigt werden, dass bestimmte Spezies von Phosphatidylcholin (PC) die Entzündung in Gefäßwandzellen, der ein erheblicher Anteil am Arterioskleroseprozess zugeschrieben wird, hemmen können (Baker et al. 2000). Die Zunahme der Phospholipid-Komponente der High-density-Lipoproteine (HDL) durch Alkoholkonsum könnte damit auch den kardioprotektiven Effekt von HDL erklären.

4.7.3 Lipoproteinkomponenten

4.7.3.1 Gesamtcholesterin

Die Cholesterinkonzentration in Plasma oder Serum korrelierte in einer Reihe von groß angelegten retro- und prospektiven Studien mit dem Risiko einer koronaren Herzerkrankung (Martin et al. 1986, Assmann et al. 1991, Wilson et al. 1987). Eine Metastudie anhand von 10 prospektiven Kohortenstudien kam zu dem Ergebnis, dass eine Senkung des Gesamtcholesterins im Serum um 10 % durch eine moderate Umstellung der Ernährung das KHK-Risiko im Alter von 40 Jahren um ca. 50 % und im Alter von 70 Jahren um ca. 20 % senkt. In 28 randomisierten Interventionsstudien mit Ernährungsumstellung war der maximale Effekt der Risikosenkung nach 5 Jahren erreicht. Es gibt keinen Hinweis dafür, dass ein niedriger Cholesterinspiegel zu einer Erhöhung der Gesamtsterblichkeit führt (Law et al. 1994). In zahlreichen Interventionsstudien mit medikamentöser Cholesterinsenkung wurde eine Senkung sowohl des KHK-, als auch des Gesamtsterblichkeitsrisikos nachgewiesen:

- 4S-Studie (Scandinavian Simvastatin Survival Study): HMG-CoA-Reduktase-Hemmer Simvastatin; n = 4 444, Dauer: 5,4 Jahre, KHK -42 %, Gesamtmortalität -30 % (Pedersen et al. 1998)
- FATS (Familial Atherosclerosis Treatment Study): Ionenaustauscher und Nicotinsäure bzw. Lovastatin; n = 146, Dauer: 2,5 Jahre, KHK -80 %, Gesamtmortalität -70 % (Brown et al. 1990)
- WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study): HMG-CoA-Reduktase-Hemmer Pravastatin; n = 6 595; Dauer: 4,9 Jahre, Männer mit erhöhtem LDL-Cholesterin, KHK -31 %, Gesamtmortalität -22 % (Caro et al. 1999)
- CARE-Studie (Cholesterol and Recurrent Events): HMG-CoA-Reduktase-Hemmer Pravastatin; n = 4 159, Dauer: 5 Jahre, KHK -27 % (auch bei niedrigen Ausgangscholesterinwerten < 240 mg/dL) (Sacks et al. 1996).

Die positive Korrelation zwischen Gesamtcholesterin und KHK ist fast ausschließlich auf den Effekt des LDL-Cholesterins zurückzuführen (Martin et al. 1986).

Bekannte Faktoren, welche die Gesamtcholesterinkonzentration im Plasma beeinflussen:

a) Alter:

Bedingt durch eine verringerte Aktivität der LDL-Rezeptoren steigt im Alter die Konzentration von Gesamt- und LDL-Cholesterin im Serum an.

b) Alkohol:

Eine leichte Zunahme des Gesamtcholesterin bei mittlerem bis hohem Alkoholkonsum ergibt sich durch eine Erhöhung des HDL-Cholesterins. Eine Abnahme des LDL-Cholesterins wird erst bei chronischem Alkoholmissbrauch beobachtet (Sane et al. 1983, Taskinen et al. 1987). Entsprechende Veränderungen wurde bei den Probanden der eigenen Studie gesehen: die Probanden der Gruppe 3 (mit höherem Alkoholkonsum) hatte im Vergleich zur Gruppe 1 einen etwas höheren Gesamtcholesterinspiegel im Serum. Nach Ausschluss der Raucher konnte anstelle eines signifikanten Zusammenhangs lediglich eine Tendenz errechnet werden.

c) Weitere Faktoren:

Genetisch bedingt kann die Konzentration von LDL- und Gesamtcholesterin im Blut sehr hoch sein. Die Fettstoffwechselstörung familiäre Hypercholesterinämie (Typ IIa entsprechend der Klassifizierung nach Fredrickson) in homozygoter Form (Häufigkeit 1:1.000.000) hat eine LDL-Konzentration im Blut von 600-1500 mg/dL (15,5-39 mmol/L) zur Folge, in heterozygoter Form (Häufigkeit 1:500) von 350-650 mg/dL (9-17 mmol/L). Das Risiko ist für

die Betroffenen stark erhöht, eine koronare Herzerkrankung zu erleiden (Heibert 1975, Jensen et al. 1967).

4.7.3.2 Triglyceride

In der Literatur wird die Rolle der Triglyceride bei der Bewertung als kardiovaskulärer Risikofaktor widersprüchlich diskutiert. Dabei wird oft die hohe individuelle Schwankung der Serumtriglyceride und die Abhängigkeit der Serumkonzentration der Triglyceride von HDL-C ins Feld geführt (Durrington 1998, Miller 1998).

In einer groß angelegten prospektiven Studie (Prospective Cardiovascular Münster Study) wurde Hypertriglyceridämie als unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse identifiziert – auch unter Berücksichtigung der Werte von LDL- und HDL-Cholesterin nach Durchführung einer multivariaten Analyse (Assmann et al. 1996).

In einer Metaanalyse von 17 prospektiven Studien zum Thema Hypertriglyceridämie (z.B. Helsinki Heart Study, Stockholm Ischemic Heart study, Veterans Affairs Cooperative Studies Program HDL-C Intervention Trial, Bezafibrate Infarction Prevention Trial) war ein Anstieg des Plasma-Triglyceridspiegels um 1,0 mmol/L (88 mg/dL) mit einer Steigerung des KHK-Risikos um 30 % bei Männern und 75 % bei Frauen verbunden; nach Berücksichtigung von HDL-C errechnete sich ein signifikanter Anstieg um 14 % bzw. 37 % (Cullen 2000).

Bekannte Faktoren, welche die Triglyceridkonzentration im Plasma beeinflussen:

a) Ernährung:

Eine höhere Zufuhr von Kohlenhydraten führt zu einer Erhöhung der Konzentration von Triglyceriden im Plasma. In einer Studie konnte nachgewiesen werden, dass eine fettreiche, kohlenhydratreduzierte Diät bei gleicher Kalorien- und Proteinzufuhr zu einer Senkung der Triglyceridkonzentration im Plasma führt (Schurch et al. 1979). Weitere Studien belegen, dass Fischöle mit ihrem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (z.B. Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure) zu einer Reduktion der Plasmakonzentration von Triglyceriden um 25-30 % führen (Harris 1997).

b) Rauchen:

Die Daten von 7.256 Personen (Durchschnittsalter 47 Jahre) in 16 Veröffentlichungen belegen, dass Zigarettenrauchen die Konzentration von Triglyceriden im Plasma im Durchschnitt um 13 mg/dL (0.15 mmol/L) erhöht (Hata et al. 2000).

c) Alkohol:

Bei regelmäßigem, hohem Alkoholkonsum kommt es z.T. zu einer Erhöhung der Serumtriglyceride. In der bereits erwähnten Metastudie von Rimm (Rimm et al. 1999) wurde bei der täglichen Aufnahme von 30 g Alkohol eine Zunahme der Triglyceride im Mittel um 5,7 mg/dL (95% CI: 2,49-8,89 mg/dL) gemessen. Eine tägliche Alkoholaufnahme von 23 g war bei insgesamt 27.035 Männern (Durchschnittsalter 47 Jahre) in 24 Studien verbunden mit einer durchschnittlichen Erhöhung der Konzentration von Triglyceriden im Plasma von 10 mg/dL (0.11 mmol/L) (Hata et al. 2000). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen fand sich bei den Gruppen 2 und 3 der eigenen Studie im Vergleich zu den Werten der Gruppe 1 keine signifikante Änderung des Triglyceridspiegels: die Probanden mit höherem Alkoholkonsum (Gruppe 3, $43,4 \pm 10,0$ g Alkohol/Tag) hatten zwar im Mittel eine höhere Konzentration von Triglyceriden im Serum als die beiden anderen Gruppen, wegen der hohen Streuung waren die Unterschiede jedoch nicht signifikant.

c) Weitere Faktoren:

Bei der genetisch bedingten Fettstoffwechselstörung familiäre Hypertriglyceridämie (Typ IV entsprechend der Klassifizierung nach Fredrickson) findet sich meist eine mäßige Erhöhung der Konzentration der Triglyceride sowie eine verminderte Konzentration von HDL-Cholesterin im Serum (Chait et al. 1980). Durch körperliche Aktivität wurde bei 46.074 Personen in 8 Populationen die Konzentration von Triglyceriden im Plasma um 10 mg/dL (0,11 mmol/L) gesenkt (Hata et al. 2000).

4.7.3.3 Apolipoproteine

Apolipoprotein A-1 und A-2 sind Komponenten der High-density-Lipoproteine (HDL). Eine inverse Korrelation zwischen Apo A-1 und HDL-C einerseits und dem KHK-Risiko andererseits wurde in zahlreichen Studien belegt (Rader et al. 1994, Fruchart et al. 1992). Beim Apolipoprotein A-2 scheint der Zusammenhang dagegen nicht so eindeutig zu sein (Tailleux et al. 2002, Buring et al. 1992). Den reversen Cholesterintransport begünstigende Faktoren sind die Aktivierung der hepatischen Lipase (HL) und die Inhibierung des Cholesterinester-Transferproteins (CETP). Ungünstige Faktoren dagegen sind die Inhibierung der Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) sowie die Inhibierung der Cholesterinaufnahme durch den SR-BI-abhängigen Stoffwechselweg (Tailleux et al. 2002). Apolipoprotein B ist das Hauptapolipoprotein der VLDL, der IDL und der LDL, ihm wird eine bedeutende Rolle bei der Atherogenese zugesprochen (Boekholdt et al. 2003). Während Apolipoprotein C-2 die Funktion eines Aktivators der Lipoproteinlipase (LPL) hat, inhibiert Apolipoprotein C-3 diese (Ordovas et al. 2000). Eine Erhöhung der Aktivität der Lipoproteinlipase (LPL) im Plasma wird für die Erhöhung der Konzentration von HDL-Cholesterin verantwortlich gemacht (Kaser et al. 2003). Wie sich diese beiden gegenläufigen Vorgänge in der Summe auswirken und damit der Einfluss auf die Höhe des HDL-Cholesterins im Plasma, ist bisher nicht geklärt. Apolipoprotein E ist ein Ligand für den LDL-Rezeptor sowie für den Chylomikronen-remnant-Rezeptor und wird durch drei verschiedene Allele vermittelt: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ und $\epsilon 4$ (Dallongeville et al. 1992).

Bekannte Faktoren, welche die Konzentration der Apolipoproteine im Plasma beeinflussen:

a) Alkohol:

Während für die Konzentration von Apolipoprotein A-1 im Plasma ein positiver Zusammenhang mit moderatem Alkoholkonsum beschrieben wurde (Rimm et al. 1999), ist die Datenlage für Apolipoprotein A-2 nicht eindeutig (Taskinen et al. 1987). Die erhöhte Produktion von Apolipoprotein A in der Leber, das als Strukturprotein der HDL fungiert, könnte mit dem durch Alkoholkonsum induzierten Anstieg der Konzentration von HDL-Cholesterin im Plasma in Zusammenhang stehen. Der Mechanismus ist bisher jedoch nicht geklärt. Diskutiert wird eine erhöhte Transportrate der HDL Apolipoproteine A-1 und A-2 (De Oliveira e Silva et al. 2000).

Bei den Probanden der eigenen Studie wurde sowohl für Apolipoprotein A-1 und als auch für Apolipoprotein A-2 eine positive Korrelation zum Konsum von Alkohol nachgewiesen. Zwischen den Gruppen 1 bis 3 wurden signifikante ($p < 0,0001$) Unterschiede errechnet, ein Einfluss der Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

Während in der eigenen Studie die Konzentration von Apolipoprotein B im Plasma der Probanden aus Gruppe 1 bis 3 im Mittel gleich groß war, hatte die Gruppe 3 einen signifikant höheren Plasmaspiegel an Apolipoprotein C und E. Bei differenzierter Betrachtung der

Unterfraktionen von Apolipoprotein C errechnete sich nur für Apolipoprotein C-3 ein höherer Wert (+ 22 % vs. Gruppe 1 bzw. + 18 % vs. Gruppe 2, jeweils $p < 0,05$).

b) Weitere Faktoren:

Ein Mangel an Apolipoprotein A-1 liegt vor bei der sog. Tangier-Krankheit, einer seltenen Fettstoffwechselstörung, die zu einem Mangel an HDL führt. Da der Cholesterinrücktransport nicht mehr funktionsfähig ist, werden Cholesterinester in Organen abgelagert (Assmann et al. 1989). Genetische Polymorphismen wurden bei einigen Apolipoproteinen nachgewiesen, die teilweise mit einer unterschiedlichen Ausprägung des Risikos für die Entwicklung einer arteriosklerotischen Erkrankung verknüpft sind. Im Rahmen von Untersuchungen der Polymorphismen des Apolipoprotein B-Gens wurde eine mögliche Abhängigkeit der Polymorphismen XbaI, EcoRI, SpsI/Ins/Del von dem Risiko einer KHK diskutiert (Metastudien Boekholdt et al. 2003, Chiodini et al. 2003). In einer groß angelegten Metastudie konnte je nach Isoform des Apolipoprotein E ein unterschiedliches Risiko für das Auftreten einer koronaren Herzkrankheit errechnet werden (Song et al. 2004).

4.7.3.4 Lipoprotein (a)

In einer Reihe von epidemiologischen Studien konnte Lipoprotein (a) (Lp (a)) als eigenständiger Risikofaktor für die koronare Herzerkrankung identifiziert werden. Eine Metastudie aus 27 Studien mit insgesamt 5436 Todesfällen aufgrund von koronarer Herzkrankheit mit oder ohne akutem Myokardinfarkt ergab für das oberste Quartil der Konzentration von Lp (a) im Plasma ein im Vergleich zu den anderen 3 Gruppen signifikant höheres relatives Risiko von 1,6 (95 % CI: 1,4-1,8) (Danesh et al. 2000). Experimentell wurde die Modifikation und die Aufnahme in Schaumzellen sowie morphologisch und biochemisch das Vorhandensein in menschlichen Atheromen nachgewiesen (Hahmann et al. 1991).

Für den KHK-Risikofaktor Lipoprotein (a) wird in der Literatur meist kein Zusammenhang mit dem Alkoholkonsum gesehen (Rimm et al. 1999, Kamboh et al. 2000). In der eigenen Studie fand sich ebenfalls keine Korrelation zwischen dem Alkoholkonsum und der Konzentration von Lipoprotein (a) im Plasma.

4.8 ADH3-Polymorphismus

Bei dem Enzym Alkoholdehydrogenase (ADH), das den Abbau von Ethanol zu Acetaldehyd katalysiert, sind bisher 7 Isoenzyme bekannt, von denen unter anderem die ADH3 einen genetischen Polymorphismus aufweist. Das Allel ADH3*2 hat eine um etwa den Faktor 2,5 geringere spezifische Aktivität für den Abbau von Ethanol zu Acetaldehyd im Vergleich zum Wildtyp ADH3*1 (Seitz et al. 1998). Das Auftreten des Gens, das für ADH3*2 kodiert, liegt je nach Population zwischen 12 % und 39 % (Whitfield et al. 1998). Die Äußerungen in der Literatur sind widersprüchlich zu der Frage, ob ein langsamerer Abbau von Ethanol zu Acetaldehyd, einem in besonders toxischen Metaboliten von Ethanol, als positiv zu bewerten ist. In der bereits erwähnten Studie an 374 Probanden der amerikanischen Physicans' Health Study mit Myokardinfarkt hatten moderate Alkoholkonsumenten mit dem ADH3*2-Gen in homozygoter Ausprägung eine signifikant niedrigere Herzinfarktrate sowie signifikant höhere Spiegel an HDL-Cholesterin verglichen mit den Probanden aus den anderen beiden Gruppen mit homozygotem ADH3*1-Typ bzw. heterozygotem Typ (Hines et al. 2001). Den Trägern des ADH3*1-Gens wird allerdings durch den rascheren Umsatz von Ethanol auch eine protektive Wirkung zugeschrieben (Shen et al. 1997). Eine gegensätzliche Argumentation

geht von einem höheren Risiko durch das in stärkerem Maße gebildete toxische Acetaldehyd aus (Edenberg et al. 1997).

Bei den Probanden der eigenen Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem ADH3-Genotyp und der Konzentration von Lipiden und Apolipoproteinen im Serum und von Serumlipiden in den einzelnen Lipidfraktionen und Subfraktionen der Low-density-Lipoproteine (LDL) und High-density-Lipoproteine (HDL) nachgewiesen werden. Der bei den Probanden des Genotyps ADH3*2/*2 zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 bzw. Gruppe 3 im Gegensatz zu den anderen beiden Genotypen nicht nachweisbare Unterschied bezüglich der Konzentration von HDL-Cholesterin war vermutlich auf die geringe Gruppenstärke der Probanden des Genotyps ADH3*2/*2 zurückzuführen. Die Ergebnisse der oben beschriebenen Untersuchung zum Zusammenhang zwischen Konzentration von HDL-Cholesterin im Plasma und dem Genotyp ADH3*2/*2 konnten somit in der eigenen Studie nicht bestätigt werden.

4.9 Methodenentwicklung

4.9.1 HPLC-Methoden

4.9.1.1 Bestimmung von Ascorbinsäure, freiem Riboflavin, Pyridoxalphosphat und Harnsäure im Plasma

Die Methode zur Bestimmung wasserlöslicher Vitamine mittels HPLC wurde auf der Grundlage der Forschungsergebnisse von Albala-Hustado (Albala-Hurtado et al. 1997) und Rokitzki (Rokitzki et al. 1989) entwickelt. Bei der Aufarbeitung der Plasmaproben zur Bestimmung der wasserlöslichen Vitamine musste eine Möglichkeit gefunden werden, die im Blutplasma enthaltenen Proteinverbindungen zu entfernen. Ansonsten käme es in der Vor- und Hauptsäule zu Proteinabscheidungen, die infolge Verstopfens der Vorsäule mit einem Druckanstieg verbunden sind und die Vorsäule nach wenigen Probendurchläufen unbrauchbar machen würde. Als Proteinfällungsreagenzien wurden in der Literatur Trichloressigsäure oder meta-Phosphorsäure eingesetzt, die zusätzlich den Vorteil eines leichten Oxidationsschutzes bietet.

Die sehr hohe Polarität der unter den vorliegenden chromatographischen Bedingungen in deprotonierter Form vorliegenden Ascorbinsäure bringt es mit sich, dass ihre Retention bei der Reversed phase-Chromatographie (Umkehrphasenchromatographie, d.h. unpolare Säule und polarer Eluent) gering ist. Bei einem pH-Wert des Eluenten von mindestens 2 pH-Stufen unterhalb des pK_S -Wertes liegt überwiegend die weniger stark polare, nicht-dissoziierte Form der Ascorbinsäure vor. Wegen des niedrigen pK_S -Wertes der Ascorbinsäure von 4,7 (10 °C) konnte jedoch aus Gründen der Stabilität des eingesetzten Säulenmaterials mit einem derart niedrigen pH-Wert nicht gearbeitet werden.

Weniger polare Bestandteile des Blutplasmas wie z.B. Reste nicht ausgefällter Proteine eluieren bei einem rein wässrigen Eluenten sehr langsam, bei einem methanol- oder acetonitrilhaltigen Eluenten aufgrund der höheren Elutionsstärke jedoch bedeutend schneller. Andererseits war selbst bei geringen Anteilen Methanol oder Acetonitril in einem isokratischen System keine Basislinientrennung des Ascorbinsäure- vom Lösungsmittelpeak gewährleistet. Daher musste ein (zeitaufwändigeres) Gradientensystem entwickelt werden, beginnend mit geringer Elutionsstärke (0 % Methanol) und in der Folge linear ansteigendem Methanolanteil. Methanol wurde Acetonitril vorgezogen, da Methanol schmalere Peaks ergab

– bei im Vergleich zu Acetonitril etwas niedrigerer Elutionsstärke. Methanol-Wasser-Gemische etwa im Volumenverhältnis 1:1 verursachen bei der Trennsäure infolge hoher Viskosität einen höheren Gegendruck. Der Gradient wurde daher so entwickelt, dass der Methanolanteil im Verlauf des Gradienten auf maximal 35 % anstieg. Beginnend mit 100 % Acetatspuffer wurde bereits nach 1,5 Minuten der Anteil Methanol auf 35 % gesteigert und knapp 5 Minuten gehalten. Diese Zeit hatte sich als ausreichend herausgestellt, um alle Plasmabestandteile von der eingesetzten Säule zu eluieren. Die restlichen 7,5 Minuten reichten bei einem Fluss von 0,7 mL/mL aus, die Säule zu konditionieren.

Der klinisch-chemische Parameter Harnsäure wurde bei dieser Analysengruppe miterfasst. Als problematisch bei der Herstellung der Standardlösungen erwies sich die schlechte Löslichkeit der Harnsäure: erst nach minutenlangem Kochen und Rühren konnten 100 mg in 1 L Wasser gelöst werden.

Aufgrund der äußerst niedrigen Konzentration im Plasma war eine Bestimmung von Vitamin B₁₂ nicht möglich. Wegen sehr schwacher UV-Absorption konnte Folsäure ebenfalls nicht mittels HPLC analysiert werden. Riboflavin konnte wegen seiner chromophoren Strukturen direkt fluorimetrisch detektiert werden. Im Plasma liegt Riboflavin nur teilweise in freier Form vor, z.T. auch als Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD) oder als Flavin-mononucleotid (FMN). Sowohl FAD als auch FMN wurden beim vorliegenden Analysengang nicht erfasst, sondern nur „freies Riboflavin“. Bei Thiamin wäre eine Fluoreszenzmessung nach Oxidation zu Thiochrom möglich (Kimura et al. 1982). Die in der Praxis eingesetzte Methode der Nachsäulenderivatisierung konnte in der eigenen Studie mangels gerätetechnischer Ausstattung jedoch nicht realisiert werden.

Die Bestimmung von Vitamin B₆ mittels HPLC wird durch die Tatsache erschwert, dass es eine Reihe von 3-Hydroxy-2-Methylpyridinen gibt, denen eine Vitamin B₆-Wirksamkeit zugemessen wird, die sog. Vitamere Pyridoxal-5'-phosphat (PLP), Pyridoxin, Pyridoxal, Pyridoxamin, Pyridoxamin-5'-phosphat und 4'-Pyridoxinsäure. Im Blutplasma kommt Vitamin B₆ hauptsächlich als „freies“ PLP vor, teilweise in „gebundener“ Form (z.B. an Glykoside). In der Literatur werden eine Reihe von HPLC-Methoden zur Bestimmung eines oder mehrerer Vitamere von Vitamin B₆ beschrieben. So konnten mittels Ionenaustausch-chromatographie alle Vitamere in einem Analysengang bestimmt werden (Vanderslice et al. 1979). Das Reagenz Natriumhydrogensulfit wurde zu Nachsäulenderivatisierung eingesetzt um die Detektierbarkeit zu verbessern (Coburn et al. 1983). Durch den Zusatz von sog. Ionenpaarreagenzien (z.B. Heptan- oder Octansulfonsäure) zum Eluenten konnte infolge Anlagerung dieser Substanzen an den protonierten Stickstoff des Pyridinrings der Vitamin B₆-Vitamere und Unterdrückung der positiven Ladung eine Verlängerung der Retentionszeit bei der Reversed-phase-Chromatographie erreicht werden (Williams 1979). Bei mehrstufigen Ansätzen wurde durch Differenzbestimmung nach Säurehydrolyse bzw. Glykolyse die Konzentration der phosphorylierten bzw. glykolysierten Formen errechnet (Bognar 1985, Bognar et al. 1997, Ollilainen 1999). Wegen der bei den einzelnen Methoden teilweise sehr langen Analysenzeiten sowie wegen teilweise unzureichender gerätetechnischer Ausstattung konnten diese Methoden jedoch nicht in der eigenen Studie eingesetzt werden. Statt dessen wurde zusätzlich die Bestimmung des Vitamin B₆-Status in Erythrozyten durch die Messung der Transketolase-Aktivität durchgeführt. Pyridoxalphosphat zeigt eine geringe Fluoreszenz, die für die fluorimetrische Messung herangezogen wurde. Für die Messung bedeutsam ist die hohe Licht- und Hitzelabilität der Vitamin B₆-Vitamere, die Arbeiten unter Lichtausschluss sowie entsprechende Kühlung (z.B. der Zentrifuge) erforderlich machte.

Als Qualitätskontrolle wurde für jede fünfte Probe ein aufgearbeitetes Poolplasma eingesetzt, das von drei gesunden Probanden stammte. Bei einer Abweichungen des Poolplasmas über dem Zweifachen der in einer 12fach-Bestimmung ermittelten Standardabweichung, wurde der betreffende Messblock nicht gewertet und wiederholt. Täglich wurden mindestens zwei Eichgeraden der untersuchten wasserlöslichen Vitamine und der Harnsäure berechnet und zur externen Eichung eingesetzt.

4.9.1.2 Bestimmung fettlöslicher Vitamine, Carotinoide, Xanthophylle im Plasma

Bei der Methodenentwicklung zur Bestimmung fettlöslicher Vitamine und Carotinoide konnte auf eine große Zahl von Publikationen zurückgegriffen werden, in denen HPLC-Trennungen in Verbindung mit UV-, Fluoreszenz- oder elektrochemischer Detektion beschrieben wurden (Epler et al. 1993, Talwar et al. 1998, Su et al. 1999, Steghens et al. 1997). Wegen der zu bewältigen großen Probenanzahl wurde zum Ziel gesetzt, eine Methode einzusetzen oder weiterzuentwickeln, die einerseits alle wichtigen im Plasma enthaltenen fettlöslichen Vitamine und Carotinoide trennt, andererseits aber möglichst schnell in der Probenvorbereitung sowie in der Analysendauer ist. Bei der bisher an unserem Institut eingesetzten Methode zur Bestimmung fettlöslicher Vitamine und Carotinoide wurden zunächst mit einem Ethanol-Wasser-Gemisch die Plasmaproteine ausgefällt. Durch intensives Schütteln mit n-Hexan wurden im Anschluss daran die fettlöslichen Vitamine zusammen mit den Carotinoiden extrahiert. Die nun folgende Abnahme der Hexan-Phase mittels Glaspipette gestaltete sich problematisch: Aufgrund der geringen Viskosität von Hexan war trotz sorgfältiger Arbeitsweise ein Verlust der Hexan-Phase oft nicht zu vermeiden. Daher wurde das abgenommene Volumen durch Wägung anhand der Dichte von n-Hexan errechnet. Das Problem von Verlusten über die Gasphase aufgrund des sehr niedrigen Dampfdrucks von n-Hexan konnte jedoch nicht gelöst werden. Beim nun folgenden Schritt des Einengens mittels Rotationsverdampfer waren die Proben trotz rotierendem Probenaufnahmegerät (Speedvac) der Gefahr von Siedeverzügen und damit von Probenverlusten ausgesetzt.

Zur Bestimmung fettlöslicher Vitamine und Carotinoide im Plasma wurde die Methode von Erhardt (Erhardt et al. 2002) zugrundegelegt. Im Unterschied zur oben beschriebenen Methode wird dabei Proteinfällung und Extraktion in einem Schritt durchgeführt. Die fettlöslichen Vitamine und Carotinoide werden nach Proteinfällung im Fällungs-/Extraktionsreagenz Ethanol-1-Butanol-Gemisch aufgenommen. Um Einschlüsse zu vermeiden, wurde zusätzlich auf eine gute Durchmischung des Extraktionsansatzes geachtet (Einsatz eines elektrischen Schüttlers über 10 Sekunden). Nach der Zentrifugation wurde der Überstand direkt zur HPLC eingesetzt. Als Oxidationsschutz wurde das Antioxidanz Butylhydroxytoluol (BHT) in der Konzentration 2 mg/mL im Fällungs-/Extraktionsreagenz eingesetzt.

Zur Kontrolle von Geräte- oder Aufarbeitungsfehlern sind in der Literatur eine Reihe von internen Standards beschrieben, u.a. das synthetische Carotinoid Echinenon und das Tocopherolderivat Tocopherolacetat (Talwar et al. 1998, Steghens et al. 1997). In der eigenen Studie kam der interne Standard Tocol, ein synthetisches Tocopherol, zum Einsatz. Im Vergleich zum α -Tocopherol fehlen beim Tocol die drei Methylgruppen am Phenolring. Dadurch ergibt sich eine höhere Polarität des Tocols und damit bei der unpolaren stationären Phase der Trennsäule (RP-18) eine kürzere Retentionszeit. Tocol wurde direkt zum Fällungs-/Extraktionsreagenz zugegeben.

Versuche wurden auch mit dem synthetischen Carotinoid β -Apo-8'-carotinal (E 160e) als möglichen internen Standard durchgeführt. Es zeigte sich jedoch, dass unter den vorliegenden chromatographischen Bedingungen eine Trennung von Lutein und Zeaxanthin nicht in

ausreichendem Maße gewährleistet war. Zudem wird ein vereinzeltes Vorkommen von E 160e in Gemüse und Zitrusfrüchten beschrieben. Darüber hinaus wurden einige Phenol-Derivate auf ihre Tauglichkeit als internen Standard geprüft. Sowohl 4-tert.-Amyl-phenol als auch 4-(tert.-Octyl)-phenol (TMBP) hatten bei diesen chromatographischen Bedingungen aufgrund ihrer hohen Polarität Retentionszeiten, die zu niedrig waren und damit zu dicht am Lösungsmittelpeak lagen.

In hoher Reinheit sind kommerziell die Vitamine α -Tocopherol, all-trans- β -Carotin und all-trans-Retinol sowie der interne Standard Tocol erhältlich. Bei den Carotinoiden Lutein, Zeaxanthin, β -Cryptoxanthin und Lycopin wird von den Herstellern eine Reinheit von nur etwa 90 % garantiert. Die Gehaltsbestimmung dieser Standards erfolgte durch den Hersteller meist mittels HPLC verbunden mit UV-Detektion – Reinheitsbestimmungen wie Wassergehalt oder Restlösemittel wurden zumeist nicht durchgeführt. Zur genauen Konzentrationsbestimmung dieser Carotinoidstandards wurde die Extinktion einer bestimmten Konzentration photometrisch gemessen und anhand der jeweiligen Extinktionskoeffizienten (Craft et al. 1988) nach dem Lambert-Beerschen Gesetz die tatsächliche Konzentration errechnet. Dabei zeigte sich, dass die Reinheit der Standards wenigstens 90 % betrug, was sich mit den Angaben der Hersteller deckte.

Die Carotine (β -Carotin und Lycopin) sind reine Kohlenwasserstoff-Verbindungen, während die Xanthophylle (Lutein, Zeaxanthin und β -Cryptoxanthin) sauerstoffhaltige Derivate sind. Da die Molekülstruktur von Lutein und Zeaxanthin sehr ähnlich ist, liegen die Polaritäten der beiden Substanzen dicht beieinander und demzufolge auch die Peaks bei der HPLC-Trennung. Um die beiden Peaks getrennt auswerten zu können, hätte eine längere Säule (mindestens 20 cm) eingesetzt werden müssen, was in Anbetracht der großen Probenzahl zu einer nicht hinnehmbaren Verlängerung der Analysenzeit geführt hätte. β -Cryptoxanthin hat im Vergleich zu Lutein und Zeaxanthin ein Sauerstoffatom weniger und daher unter den vorliegenden chromatographischen Bedingungen eine Retentionszeit, die zwischen Lutein bzw. Zeaxanthin (2 Sauerstoffatome) und β -Carotin (kein Sauerstoffatom) liegt.

Der interne Standard Tocol wurde zur Berechnung eines Korrekturfaktors eingesetzt. Dieser errechnet sich als Quotient aus der theoretischen und der ermittelten Konzentration des internen Standards. Als Qualitätskontrolle wurde jede zehnte Probe ein Poolplasma eingesetzt, das mit einem zertifizierten Plasma (NIST SRM 968 c Standard Reference Material Fat-Soluble Vitamins, Carotenoids, and Cholesterol in Human Serum, National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg/USA) kalibriert wurde. Ein Analysenblock von 9 Proben wurde dann nicht gewertet und wiederholt, wenn das kalibrierte und 20fach analysierte Poolplasma eine Abweichung von mehr als der einfachen Standardabweichung hatte. Mittels Diodenarray-Detektor wurde bei jeder einzelnen Probe ein Absorptionsspektrum aufgezeichnet und regelmäßig das Absorptionsmaximum der einzelnen Komponenten des Plasmas bestimmt. Die Übereinstimmung mit den Literaturwerten wurde zur Verifizierung der vermuteten Komponente im Blutplasma eingesetzt. Pro Messtag wurde bei allen untersuchten fettlöslichen Vitaminen und Carotinoiden mindestens eine Eichgerade angefertigt.

Die Plasmaproben der Probanden der eigenen Studie wurden bei $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Messungen belegten eine ausreichende Stabilität der untersuchten Carotinoide und fettlöslichen Vitamine im Plasma bei Kühlung unter $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ und Lichtausschluss (Su et al. 1999, Craft et al. 1988).

4.9.1.3 Bestimmung von Thiolen in Blutplasma

Bei der Gewinnung des Plasmas wurde auf eine rasche Kühlung der Blutentnahmeröhrchen auf + 2 bis + 5 °C sowie auf eine Abtrennung des Plasmas vom Blutkuchen innerhalb maximal zwei Stunden nach der Blutentnahme geachtet (vgl. 2.3). Dies ist notwendig, weil sonst durch Zerfall der Erythrozyten Homocystein aus den Zellen ins Plasma gelangt und einen zu hohen Plasmaspiegel vortäuscht.

Schwefelhaltige Aminosäuren und deren Homologe lassen sich nach Derivatisierung fluorimetrisch bestimmen. In zahlreichen Studien (z.B. Araki et al. 1987, Pfeiffer et al. 1999, Garcia et al. 2002) wurde SBD-F (7-Fluorobenzofurazan-4-sulfonsäure Ammoniumsalz) eingesetzt, das daher auch in der eigenen Studie als Derivatisierungsreagenz verwendet wurde. Im ersten Reaktionsschritt wurden die thiolischen Verbindungen im Plasma reduziert. Dazu wurde das Reagenz Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP) eingesetzt, das gegenüber dem früher eingesetzten Tributyl-phosphin (TBP) den Vorteil der besseren Stabilität, des vollständigeren Umsatzes und der geringeren Toxizität hat (Pfeiffer et al. 1999). Nach der Reduktion der Thiole wurden die Proteine mit Trichloressigsäure ausgefällt und der Überstand zur Derivatisierung eingesetzt.

Die Derivatisierung im Trockenschrank (mit Umluft) lieferte nahezu dieselben Ergebnisse wie im Wasserbad, wenn die im Trockenschrank erhitzte Probe in Kühlschrank und die im Wasserbad erhitzte Probe nach 60 Minuten im Eisbad abgekühlt wurde. Der Farbstoff war bei + 4 °C über einen Zeitraum von mindestens 24 Stunden stabil, nach dem Einfrieren kam es jedoch zu deutlichen Abweichungen der Werte im Sinne eines Verlustes – vermutlich durch Abscheidung und Haften von Teilen des Farbstoffs an der Oberfläche des Microvials.

Als interner Standard wurde N-(2-Mercaptopropionyl)-glycine (MPG) und Cystamin (Cysteamin, 2-Mercaptoethylamin) getestet. Das im Vergleich zu MPG stärker polare Cystamin eluiert (als Farbstoffkomplex) wesentlich früher: Unter den vorliegenden chromatographischen Bedingungen betrug die Retentionszeit beim Cystamin ca. 4 Minuten und beim MPG ca. 25 Minuten. Auf den Einsatz von MPG als internen Standard wurde daher verzichtet, da wegen der großen Zahl zu messender Proben auf eine schnelle, isokratische Methode großen Wert gelegt wurde. Die Variante eines Gradientensystems mit einer Steigerung des Methanolanteils und damit der Elutionsstärke im Verlauf des Gradienten hätte nämlich mindestens 20 Minuten pro Lauf inklusiv Konditionierungszeit beansprucht. Bei Cystamin als internem Standard gab es Probleme mit der Trennung von dem Dipeptid Cysteinylglycin. Durch Veränderungen in der Zusammensetzung des Eluenten ließ sich das Trennproblem jedoch lösen: Es zeigte sich, dass eine geringe Erhöhung des Methanolanteils durch die Erhöhung der Elutionsstärke zu einer deutlichen Verkürzung der Retentionszeit bei allen detektierten Thiolen führte. Eine Veränderung des pH-Wertes hingegen führte nur beim internen Standard Cystamin sowie beim Glutathion zu einer deutlichen Veränderung der Retentionszeit. Infolge vollständiger Protonierung von Cystamin bei niedrigerem pH-Wert steigt die Polarität, was zu einer verringerten Retention an der RP-Phase führt. Entsprechendes gilt auch für die Aminogruppe in Position 6 beim Glutathion, die bei pH 4 weitgehend in protonierter Form vorliegt und damit zu einer Erhöhung der Polarität der Verbindung führt. Bei einem Anteil von 1 % Methanol im Acetatpuffer und einem pH-Wert von 4,0 wurden die besten Trennergebnisse erzielt bei einer Gesamtlaufzeit von 12 Minuten.

Cystamin als interner Standard wurde zur Berechnung eines Korrekturfaktors eingesetzt. Dabei wurde der interne Standard mehrfach und in verschiedenen Konzentrationen entsprechend der beschriebenen Aufarbeitung derivatisiert und mittels HPLC in Verbindung

mit Fluoreszenzdetektion quantifiziert. Dieser so bestimmte „theoretische“ Wert wurde bei jeder Messung von Probe oder Eichlösung ins Verhältnis gesetzt zum jeweils ermittelten Wert für die Konzentration von Cystamin und daraus der Korrekturfaktor errechnet. In jeder 10. Probe in der Messreihe wurde ein Poolplasma analysiert, das einer 20fach-Bestimmung unterzogen wurde. Bei einer Abweichung von mehr als der einfachen Standardabweichung wurde der betreffende Analysenblock von 9 Proben nicht gewertet und innerhalb 12 Stunden wiederholt.

4.9.2 Messung der Enzymaktivität zur Bestimmung des Vitaminstatus

4.9.2.1 Bestimmung des Thiaminstatus über die Transketolaseaktivität im Erythrozyten

Gegenüber der zugrundegelegten Methode (Bayoumi et al. 1975) wurde die Konzentration von Hämolysat so erhöht, dass eine möglichst hohe Änderung der Extinktion gemessen wurde – ohne mit den gemessenen Extinktionen den Messbereich des Photometers zu verlassen. Dazu wurden die Erythrozyten 255fach (ohne Berücksichtigung der Enzymzugabe) verdünnt.

Die Transketolase katalysiert abhängig von Thiamindiphosphat die reversible Übertragung einer C2-Einheit von einer Ketose auf die Aldehydgruppe einer Aldose. Dabei spielt Magnesium (Mg^{2+}) als Cofaktor eine Rolle. Durch einen Zusatz von Magnesium (5 mM Mg^{2+}) ließ sich die Enzymaktivität leicht steigern. Dies war wegen der generell niedrigen gemessenen Aktivität der Transketolase sehr wichtig. Um eine bessere Messgenauigkeit zu erreichen wurde der Messzeitraum des Hauptlaufs auf 20 Minuten erhöht. Außerdem wurde die Messung des Hauptlaufs nach Enzymzugabe erst nach einer Wartezeit von 10 Minuten gestartet, damit sich die Extinktionsabnahme auf einen konstanten Wert einpendelt.

Wegen Lieferschwierigkeiten einer Chemikalienfirma war leider kein Referenzstandard mit definierter Transketolaseaktivität verfügbar. Daher musste auf die Kontrolle der Absolutwerte verzichtet werden. Statt dessen wurde bei mindestens jeder zehnten Messung gepoolte Erythrozyten (von drei gesunden, männlichen Freiwilligen) als Qualitätskontrolle eingesetzt.

4.9.2.2 Bestimmung des Riboflavinstatus über die Glutathionreduktaseaktivität (E.C.1.6.4.2.) im Erythrozyten (EGRAC = erythrocyte glutathione reductase activation coefficient)

Abweichend zur Vorschrift von Bayoumi (Bayoumi et al. 1975) wurde zur Bestimmung des EGRAC der Quotient $\Delta E/t$ im Zeitraum zwischen 5 und 15 min nach Start der Reaktion mit NADPH-Lösung photometrisch gemessen.

In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass die Werte während der ersten Minuten deutlich schwankten, so dass die Messungen der ersten 5 Minuten deutlich schlechter reproduzierbar waren als die Messungen ab der 5. Minute. Untersucht wurden Extinktionsänderungen ΔE im Zeitraum 0-3 Min., 0-7 Min., 3-7 Min. und 3-10 min. Schließlich wurde die Messzeit auf 20 Min. verlängert und der Zeitraum 5-15 Min. als der Zeitabschnitt festgelegt, der die konstantesten Extinktionsänderungen ΔE lieferte.

Die Subtraktion eines ermittelten Vorlaufs vor Zusatz der NADPH-Lösung wie in der Vorschrift von Bayoumi beschrieben ergab stark schwankende und nicht reproduzierbare Werte. Auf die Bestimmung und Subtraktion eines Vorlauf-Wertes wurde daher verzichtet.

4.9.2.3 Bestimmung des Pyridoxalstatus über die Aktivität der Aspartataminotransferase (AST, ASAT, GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase) im Erythrozyten

Neben der Aktivitätsbestimmung der Aspartataminotransferase in den Erythrozyten (Bayoumi et al. 1975) werden in der Literatur noch andere Methoden zur Bestimmung des Vitamin B₆-Status genannt, u.a. der Tryptophan-Belastungstest. Dieser Test beruht auf der Erkenntnis, dass bei unzureichender Versorgung mit Vitamin B₆ der Tryptophan-Stoffwechsel gestört ist. Gemessen wird meistens die Ausscheidung von Xanthurensäure im Urin nach einer oralen Gabe von 5 g Tryptophan (Weller et al. 1961). Aus organisationstechnischen Gründen konnte in der eigenen Studie diese Methode nicht realisiert werden.

Die Vorteile der Messung der Enzymaktivität zur Bestimmung des Vitaminstatus liegen in der gemeinsamen Erfassung aller Vitamin B₆-Derivate (Pyridoxin, Pyridoxal und Pyridoxamin).

Als Referenzstandard wurde das Universal-Kontrollserum Precinorm U (Roche Diagnostics, Mannheim) eingesetzt. Zu Beginn einer Messreihe wurde mindestens einmal täglich Precinorm U in einer Doppeltbestimmung gemessen. Waren die Messwerte außerhalb des angegebenen zulässigen Bereichs, so wurde die Messung von Precinorm U wiederholt.

Herz-Kreislauferkrankungen als Folge einer arteriosklerotischen Veränderung der Blutgefäße werden durch Risikofaktoren wie Zigarettenrauchen, Übergewicht, Bluthochdruck, Diabetes mellitus und Bewegungsmangel begünstigt. Daneben werden die Konzentrationen im Blut an Serumlipiden, antioxidativ wirksamen Substanzen, Gerinnungsparametern oder „neueren“ Risikofaktoren wie z.B. C-reaktives Protein (hs-CRP), Lipoprotein (a) (Lp(a)) oder Homocystein als Risikofaktoren ins Feld geführt. Epidemiologische Studien legen nahe, dass moderater Alkoholkonsum das kardiovaskuläre Risiko senkt. Dies wird hauptsächlich einem Anstieg des HDL-Cholesterins im Blut zugeschrieben.

In der vorliegenden Studie wurde bei einem Probandenkollektiv von 284 gesunden Männern mit einem Alter zwischen 23 und 66 Jahren untersucht, ob der durchschnittliche tägliche Alkoholkonsum die Konzentration der vorangehend genannten kardiovaskulären Risikofaktoren beeinflusst. Zusätzlich wurde geprüft, ob ein Zusammenhang zwischen dem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum und der Konzentration einiger Vitamine und von Substanzen besteht, die als protektive Faktoren für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen angesehen werden. Im Vergleich zu bisher publizierten Studien mit ähnlicher Fragestellung unterschied sich die eigene Untersuchung zum einen durch die deutlich größere Zahl parallel gemessener Substanzen im Blut und zum anderen dadurch, dass die durchschnittliche tägliche Aufnahme von Makro- und Mikronährstoffen sowie der Konsum weiterer Genussmittel sorgfältig ermittelt und bei der Auswertung der Daten berücksichtigt wurden. Ausgehend von dem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum wurden die Probanden in drei Gruppen unterteilt: Gruppe 1 (= Alkoholabstinenz oder sehr niedriger Alkoholkonsum) mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum von 0-5 g (n = 62), Gruppe 2 (= moderater Alkoholkonsum) mit einem täglichen Alkoholkonsum von durchschnittlich 5,1-30 g (n = 175) und Gruppe 3 mit einem durchschnittlichen täglichen Alkoholkonsum von 30,1-70 g (n = 47). Zur Prüfung, ob die Art des konsumierten alkoholhaltigen Getränks die untersuchten Messgrößen beeinflusst, wurden die Gruppen 2 und 3 nochmals unterteilt in „Biertrinker Gr. 2+3“ (> 80 % Bier), „Weintrinker Gr. 2+3“ (> 80 % Wein) und Konsumenten ohne Bevorzugung eines bestimmten alkoholhaltigen Getränks.

Die Zufuhr von Makro- und Mikronährstoffen und anthropometrische Daten wurden mit Hilfe eines computerunterstützten, validierten Ernährungsanamneseprogramms erhoben. Zwischen den nach Höhe des Alkoholkonsums und der Art der bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränke resultierenden Gruppen ergaben sich bei den Hauptnährstoffen Kohlenhydrate, Fett und Eiweiß, der Energiezufuhr (jeweils ohne Berücksichtigung der Alkoholkalorien) sowie bezüglich des Energiebedarfs (nach Kleiber) keine signifikanten Unterschiede. Die Gruppen waren demnach im Hinblick auf diese Parameter als vergleichbar anzusehen. Der Anteil von Zigarettenrauchern war in den Gruppen 1 bis 3 ebenfalls vergleichbar, bei den Gruppen eingeteilt nach bevorzugtem alkoholhaltigen Getränktyp war der Anteil an Rauchern bei den „Biertrinkern Gr. 2+3“ höher als bei den „Wein-“ und „Mischtrinkern Gr. 2+3“ ($3,8 \pm 7,9$ vs. $0,1 \pm 0,4$ bzw. $1,5 \pm 5,1$ Zigaretten pro Tag, $p < 0,005$ bzw. $p < 0,05$). Bei den klinisch-chemischen Laborparametern fand sich bei den Markern für regelmäßigen, stärkeren Alkoholkonsum (γ -GT und MCV) eine positive, signifikante Korrelation mit der Höhe der mittels Ernährungsinterview erfragten Alkoholaufnahme. Bei der großen Anzahl anderer klinisch-chemischer „Standard“-Laborparameter (siehe Kapitel 3.2) konnte kein Zusammenhang mit der Höhe des Alkoholkonsums oder der Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks errechnet werden. Damit sind die Gruppen im Hinblick auf die klinisch-chemischen „Standard“-Laborparameter als vergleichbar anzusehen. Es gab ferner keinen

Hinweis auf das Vorliegen leichter Erkrankungen, welche die Ergebnisse der Lipid- und Vitaminmessungen in den drei Gruppen beeinflussen könnten.

Beeinflussung der Konzentration an antioxidativ wirksamen Substanzen im Blut durch den Konsum von Alkohol:

Die Zufuhr an Vitamin B₂, B₆, B₁₂, Folsäure, Retinol, β -Carotin und anderer Carotinoide war in den Gruppen 1-3 vergleichbar. Die Probanden der Gruppe 1 hatten eine höhere Zufuhr an Vitamin C über Lebensmittel vs. Gruppe 3 (+ 22 %, $p < 0,05$), an Vitamin B₁ vs. Gruppe 2 (+ 9 %, $p < 0,05$) sowie an alpha-Tocopherol vs. Gruppe 3 (+ 19 %, $p < 0,01$). Die Probanden mit einem Alkoholkonsum überwiegend in Form von Bier („Biertrinker Gr. 2+3“) hatten eine höhere Zufuhr an Vitamin B₂, B₆ und Folsäure im Vergleich zu den „Weintrinkern Gr. 2+3“. Der Vitamin B₂-Status (EGRAC) war bei der Gruppe 3 schlechter im Vergleich zur Gruppe 1 bzw. zur Gruppe 2 ($1,207 \pm 0,144$, $p < 0,01$ bzw. $1,216 \pm 0,110$, $p < 0,005$). Umgekehrt war der Vitamin B₆-Status (ASAT-Aktivitätskoeffizient) bei der Gruppe 3 besser sowie die Konzentration von im Plasma frei vorliegendem Pyridoxalphosphat (PLP) höher als bei der Gruppe 1 (ASAT: $1,737 \pm 0,210$ vs. $1,904 \pm 0,265$, $p < 0,05$; PLP: + 60 %, $p < 0,05$).

Differenziert nach Art des bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränks hatte die Gruppe der „Weintrinker Gr. 2+3“ mit $1,874 \pm 0,334$ einen signifikant schlechteren Vitamin B₆-Status als die Gruppe der „Mischtrinker Gr. 2+3“ ($1,826 \pm 0,232$, $p < 0,005$) sowie einen tendenziell schlechteren Vitamin B₆-Status als die Gruppe der „Biertrinker Gr. 2+3“ ($1,793 \pm 0,225$, $p = 0,10$). Die Gruppe 3 hatte einen niedrigeren Plasmaspiegel an β -Carotin und β -Cryptoxanthin im Vergleich zur Gruppe 1 (- 45 %, $p < 0,0005$ bzw. - 15 %, $p < 0,05$).

Der in der Literatur postulierte positive Einfluss von moderatem oder gesteigertem Alkoholkonsum lässt sich aufgrund der Ergebnisse nicht durch Verbesserungen des Vitaminstatus bzw. durch Erhöhung der Konzentration an Vitaminen im Blut erklären. Die in Bier enthaltenen Vitamine führten nur beim Vitamin B₆ zu einer Verbesserung des Vitaminstatus, während bei Vitamin B₂ und Folsäure kein Einfluss zu errechnen war. Gesteigerter Alkoholkonsum (Gruppe 3) brachte trotz vergleichbaren Zufuhrmengen bei Vitamin B₂, β -Carotin und β -Cryptoxanthin eine Verschlechterung des Vitaminstatus bzw. eine Senkung der Plasmakonzentrationen im Vergleich zur Gruppe 1 mit sich.

Beeinflussung von Gerinnungsparametern sowie „neuerer“ Risikofaktoren durch Alkoholkonsum:

Bei den Gerinnungsparametern Quick-Wert und Fibrinogen sowie dem „neueren“ Risikofaktor hochsensitives C-reaktives Protein (hs-CRP) war weder durch die Quantität noch durch die Art der bevorzugt konsumierten alkoholhaltigen Getränke ein Einfluss zu erkennen.

Entsprechendes galt auch für die Konzentration an Homocystein im Blutplasma. Der verbesserte Vitamin B₆-Status bei der Gruppe 3 mit höherem Alkoholkonsum spiegelte sich demnach nicht in einem niedrigeren Homocysteinspiegel wider.

Abhängigkeit der Konzentration an Lipoproteinen im Blut vom Alkoholkonsum:

Die Konzentration an Gesamtcholesterin (Chol), Cholesterinester (CE), Phospholipiden (PL), Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) und Apolipoprotein A-2 (Apo A-2) im Serum der Probanden aus Gruppe 3 war höher im Vergleich zu den Probanden der Gruppe 1 (Chol: + 10 %, $p < 0,05$; CE: + 6 %, $p < 0,01$; PL: + 18 %, $p < 0,0001$; Apo A-1: + 22 %, $p < 0,0001$; Apo A-2: + 25 %, $p < 0,0001$) und der Gruppe 2 (Chol: + 8 %, $p < 0,05$; CE: + 7 %, $p < 0,01$; PL: + 12 %, $p < 0,0001$; Apo A-1: + 10 %, $p < 0,0001$; Apo A-2: + 12 %, $p < 0,0001$). Moderater bzw. höherer Konsum von Alkohol führte zu einem signifikanten Anstieg der Cholesterinkonzentration in der HDL-Gesamtfraktion einschließlich der Subfraktionen des HDL. Rauchen machte einen Teil der durch Alkoholkonsum hervorgerufenen Erhöhung des HDL-Cholesterins wieder zunichte. Das tendenziell höhere ($p = 0,07$) HDL-Cholesterin bei

der Gruppe der „Weintrinker Gr. 2+3“ ist wahrscheinlich durch einen niedrigeren Raucheranteil zu erklären. Die Erhöhung der Konzentration von HDL-Cholesterin im Serum durch Alkoholkonsum ist demnach von der Art des alkoholhaltigen Getränks unabhängig. Die Konzentration von LDL-Cholesterin (einschließlich der Subfraktionen) im Blut wurde durch Alkoholkonsum nicht beeinflusst. Dasselbe galt für den Cholesteringehalt in den Very-low-density-Lipoproteinen (VLDL) und in den Intermediate-density-Lipoproteinen (IDL) nach Ausschluss der Raucher.

Zusammensetzung der High-density-Lipoproteine (HDL) in Abhängigkeit vom Alkoholkonsum:

Die durch Alkoholkonsum induzierte Zunahme des HDL-Cholesterins war bei der Subfraktion HDL₃ weniger stark ausgeprägt als bei den Subfraktionen HDL_{2b} und HDL_{2a}. Außerdem fand sich eine Veränderung der Zusammensetzung der High-density-Lipoproteine durch Alkoholkonsum: Der Anteil an Phospholipiden nahm in stärkerem Maße zu als dies bei den anderen Komponenten der HDL (Gesamtcholesterin, freies / verestertes Cholesterin, Apolipoproteine A-1 / A-2) der Fall war. Die Zunahme des Anteils der Phospholipide bei den HDL steht möglicherweise in Zusammenhang mit dem Mechanismus der protektiven Wirkung dieser Lipoproteinklasse auf Herz-Kreislaufkrankungen.

6 LITERATUR

- Abelin T, Wüthrich P: [Sample survey of smoking habits in the German, French and Romansch speaking parts of Switzerland in 1975]. *Soz Präventivmed* 1976;**21**:17-23.
- Albala-Hurtado S, Veciana-Nogues MT, Izquierdo-Pulido M, Marine Font A: Determination of water-soluble vitamins in infant milk by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 1997;**778**:247-53.
- Aminoff M, Carter JE, Chadwick RB, Johnson C, Grasbeck R, Abdelaal MA, Broch H, Jenner LB, Verroust PJ, Moestrup SK, de la Chapelle A, Krahe R: Mutations in CUBN, encoding the intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin, cause hereditary megaloblastic anaemia 1. *Nat Genet* 1999;**21**:309-13.
- Anber V, Griffin BA, McConnell M, Packard CJ, Shepherd J: Influence of plasma lipid and LDL-subfraction profile on the interaction between low density lipoprotein with human arterial wall proteoglycans. *Atherosclerosis* 1996;**124**:261-71
- Anderson JW, Major AW: Pulses and lipaemia, short- and long-term effect: potential in the prevention of cardiovascular disease. *Br J Nutr* 2002;**88**:263-71.
- Antony AC: Vegetarianism and vitamin B-12 (cobalamin) deficiency. *Am J Clin Nutr* 2003;**78**:3-6.
- Araki A, Sako Y, Ito H: Plasma homocysteine concentrations in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: effect of parenteral methylcobalamin treatment. *Atherosclerosis* 1993;**103**:149-57.
- Araki A, Sako Y: Determination of free and total homocysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr* 1987;**27**:43-52
- Assmann G, Schmitz G, Brewer HB jr.: Familial high density lipoprotein deficiency: tangier disease. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D: The metabolic basis of inherited disease. 6. Auflage *McGraw-Hill, New York* 1989, Seite 1267
- Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A: Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996;**77**:1179-84.
- Assmann G, Schulte H: Triglycerides and atherosclerosis, results from the Prospective Cardiovascular Münster Study. *Artheroscler Rev* 1991;**22**:51-60.
- Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM: Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990;**82**:495-506.
- Aviram M: Interaction of oxidized low density lipoprotein interaction with macrophages in atherosclerosis, and the antiatherogenicity of antioxidants. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;**34**:599-608
- Ballesteros MN, Cabrera RM, Saucedo MS, Yepiz-Plascencia GM, Ortega MI, Valencia ME: Dietary fiber and lifestyle influence serum lipids in free living adult men. *J Am Coll Nutr* 2001;**20**:649-55.

- Baker PW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ: Phospholipid composition of reconstituted high density lipoproteins influences their ability to inhibit endothelial cell adhesion molecule expression. *J Lipid Res* 2000;**41**:1261-7.
- Barrett-Connor E: Nutrition epidemiology: how do we know what they ate? *Am J Clin Nutr* 1991;**54**:182S-187S.
- Baumstark MW, Berg A, Halle M, Keul J: Isoelectric focusing of apolipoproteins in immobilized pH gradients: improve determination of apolipoprotein E phenotypes. *Electrophoresis* 1988;**9**:576-9
- Baumstark MW, Kreutz W, Berg A, Frey I, Keul J: Structure of human low-density lipoprotein subfractions, determined by X-ray small-angle scattering. *Biochimica et Biophysica Acta* 1990;**1037**:48-57
- Bayoumi R, Rosalki S: Evaluation of methods of coenzyme activation of erythrocyte enzymes for detection of vitamin B1, B2 and B6. *Clin Chem* 1975; **22**:327-335
- Bergmann E: Verbreitung von Übergewicht in der Bundesrepublik Deutschland, in: *Tätigkeitsbericht des Bundesgesundheitsamtes 1990*, S. 221ff.
- Bettger WJ, O'Dell BL: A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life Sci* 1981;**28**:1425-38.
- Biesalski HK, Fürst P, Kaspar H et al. (Hrsg.): Ernährungsmedizin. *Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York*, 2. Auflage 1999
- Bleich S, Bleich K, Kropp S, Bittermann HJ, Degner D, Sperling W, Ruther E, Kornhuber J: Moderate alcohol consumption in social drinkers raises plasma homocysteine levels: a contradiction to the 'French Paradox'? *Alcohol Alcohol* 2001;**36**:189-92.
- Bode JC, Bode C: Alcohol malnutrition and the gastrointestinal tract. In: Nutrition and alcohol. Herausgeber: Watson RR, Watzl B. *CRC Press Boca Raton* 1992; 403–428.
- Bode JC, Bode C: Alkohol, der Gastrointestinaltrakt und die Bauchspeicheldrüse (Pankreas) *Ther Umsch* 2000;**57**:212-9.
- Boekholdt SM, Peters RJ, Fountoulaki K, Kastelein JJ, Sijbrands EJ. Molecular variation at the apolipoprotein B gene locus in relation to lipids and cardiovascular disease: a systematic meta-analysis. *Hum Genet* 2003;**113**:417-25.
- Bognar A, Ollilainen V: Influence of extraction on the determination of vitamin B6 in food by HPLC. *Z Lebensm Unters Forsch* 1997;**204**:327-35.
- Bognar A: [Determination of vitamin B6 in food using high pressure liquid chromatography.] *Z Lebensm Unters Forsch* 1985;**181**:200-5.
- Böhm V, Bitsch R: Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr* 1999;**38**:118-25.
- Borggreve SE, De Vries R, Dullaart RP: Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of

- lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Invest* 2003;**33**:1051-69.
- Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG: A quantitative assessment of plasma as a risk factor for vascular disease. *J Am Med Assoc* 1995;**247**:1049-57
- Brigelius-Flohe R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J* 1999;**13**:1145-55.
- Brown G, Albers JJ, Fisher LD, Shaefer SM, Lin J-T, Kaplan C, Zhao X-Q, Bisson BD, Fitzpatrick VF, Dodge HT. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *N Engl J Med* 1990;**323**:1289-98.
- Brubacher D, Moser U, Jordan P: Vitamin C concentrations in plasma as a function of intake: a meta-analysis. *Int J Vitam Nutr Res* 2000;**70**:226-37.
- Burger M, Mensink GBM: Bundes-Gesundheitssurvey: Alkohol. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Robert Koch-Institut, Berlin (2003).
- Buring JE, O'Connor GT, Goldhaber SZ, Rosner B, Herbert PN, Blum CB: Decreased HDL2 and HDL3 cholesterol, Apo A-I and Apo A-II, and increased risk of myocardial infarction. *Circulation* 1992;**85**:22-9.
- Campos H, Blijlevens E, McNamara JR, Ordovas JM, Posner BM, Wilson PW, Castelli WP, Schaefer EJ: LDL particle size distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb* 1992;**12**:1410-9.
- Caro J, Klittich W, McGuire A, Ford I, Pettitt D, Norrie J, Shepherd J. International economic analysis of primary prevention of cardiovascular disease with pravastatin in WOSCOPS. West of Scotland Coronary Prevention Study. *Eur Heart J* 1999;**20**:263-8.
- Chait A, Albers JJ, Brunzell JD: Very low density lipoprotein overproduction in genetic forms of hypertriglyceridaemia. *Eur J Clin Invest* 1980;**10**:17-25.
- Chiodini BD, Barlera S, Franzosi MG, Beceiro VL, Inrona M, Tognoni G. APO B gene polymorphisms and coronary artery disease: a meta-analysis. *Atherosclerosis* 2003;**167**:355-66.
- Chopra RK, Bhagavan HN: Relative bioavailabilities of natural and synthetic vitamin E formulations containing mixed tocopherols in human subjects. *Int J Vitam Nutr Res* 1999;**69**:92-5.
- Christensen B, Landaas S, Stensvold I, Djurovic S, Retterstol L, Ringstad J, Berg K, Thelle DS: Whole blood folate, homocysteine in serum, and risk of first myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1999;**147**:317-26.
- Chug-Ahuja JK, Holden JM, Forman MR, Mangels AR, Beecher GR, Lanza E: The development and application of a carotenoid database for fruits, vegetables, and selected multicomponent foods. *J Am Diet Assoc* 1993;**93**:318-23.
- Clarke R: Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. *BMJ* 1998;**316**:894-8.

- Coburn SP, Mahuren JD: A versatile cation-exchange procedure of measuring the seven major forms of vitamin B6 in biological samples. *Anal Biochem* 1983;**129**:310-7.
- Cook C, Hallwood PM, Thomson AD: B-vitamin deficiency and neuropsychiatric syndromes in alcohol misuse. *Alcohol Alcohol* 1998;**33**:317-36.
- Corder R, Douthwaite JA, Lees DM, Khan NQ, Viseu dos Santos AC, Wood EG, Carrier MJ: Endothelin-I synthesis reduced by red wine. *Nature* 2001;**414**:863-4
- Coresh J, Kwiterovich PO Jr, Smith HH, Bachorik PS: Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res* 1993;**34**:1687-97.
- Craft NE, Brown ED, Smith JC Jr.: Effects of storage and handling conditions on concentrations of individual carotenoids, retinol, and tocopherol in plasma. *Clin Chem* 1988;**34**:44-8.
- Crouse SF, O'Brien BC, Grandjean PW, Lowe RC, Rohack JJ, Green JS: Training intensity, blood lipids, and apolipoproteins in men with high cholesterol. *J Appl Physiol* 1997;**82**:270-7.
- Cullen P: Evidence that triglycerides are an independent coronary heart disease risk factor. *Am J Cardiol* 2000;**86**:943-9.
- Dallongeville J, Lussier-Cacan S, Davignon J: Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta-analysis. *J Lipid Res* 1992;**33**:447-54.
- Danesh J, Collins R, Peto R: Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2000;**102**:1082-5
- Davy BM, Davy KP, Ho RC, Beske SD, Davrath LR, Melby CL: High-fiber oat cereal compared with wheat cereal consumption favorably alters LDL-cholesterol subclass and particle numbers in middle-aged and older men. *Am J Clin Nutr* 2002;**76**:351-8.
- De Bree A, Verschuren WMM, Kromhout D, Kluijtmans LAJ, Blom HJ: Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev* 2002;**54**:599-618.
- de Gaetano G, Collaborative Group of the Primary Prevention Project. Low dose aspirin and Vitamin E in people at cardiovascular risk: a randomised trial in general practice. *Lancet* 2001;**357**:89-95
- De Oliveira e Silva ER, Foster D, McGee Harper M, Seidman CE, Smith JD, Breslow JL, Brinton EA: Alcohol consumption raises HDL cholesterol levels by increasing the transport rate of apolipoproteins A-I and A-II. *Circulation* 2000;**102**:2347-52.
- Dejager S, Bruckert E, Chapman MJ: Dense low density lipoprotein subspecies with diminished oxidative resistance predominate in combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 1993;**34**:295-308.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. 1. Auflage (2000) *Umschau / Braus, Frankfurt a. M.*

Durrington PN: Triglycerides are more important in atherosclerosis than epidemiology has suggested. *Atherosclerosis* 1998;**141**:S57-62.

Edenberg HJ, Bosron WF (1997) Alcohol dehydrogenases. In: Guengerich FP (Herausgeber), Comprehensive toxicology, Vol. 3, Biostransformation. *Pergamon, New York*, S. 119-31

Edington JD, Geekie M, Carter R, Benfield L, Ball M, Mann J: Serum lipid response to dietary cholesterol in subjects fed a low-fat, high-fiber diet. *Am J Clin Nutr* 1989;**50**:58-62.

Epler KS, Ziegler RG, Craft NE: Liquid chromatographic method for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human serum and in food. *J Chromatogr* 1993;**619**:37-48.

Erhardt J: Entwicklung eines Computerprogramms zur Erhebung von Ernährungsanamnesen. *Diplomarbeit* 1991 (**UnPub**).

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

Ferroni P, Basili S, Martini F, Cardarello CM, Ceci F, Di Franco M, Bertazzoni G, Gazzaniga PP, Alessandri C: Serum metalloproteinase 9 levels in patients with coronary artery disease: a novel marker of inflammation. *J Investig Med* 2003;**51**:295-300.

Fruchart JC, Ailhaud G. Apolipoprotein A-containing lipoprotein particles: physiological role, quantification, and clinical significance. *Clin Chem* 1992;**38**:793-7

Garcia A, Apitz-Castro R: Plasma total homocysteine quantification: an improvement of the classical high-performance liquid chromatographic method with fluorescence detection of the thiol-SBD derivates. *J Chromatogr B* 2002;**5**:359-63

Gardner CD, Kraemer HC: Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;**15**:1917-27.

Gaziano JM, Buring JE, Breslow JL, Goldhaber SZ, Rosner B, VanDenburgh M, Willett W, Hennekens CH: Moderate alcohol intake, increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993;**329**:1829-34.

Gaziano JM, Manson JE: Diet and heart disease. The role of fat, alcohol, and antioxidants. *Cardiol Clin* 1996;**14**:69-83.

German JB, Dillard CJ: Saturated fats: what dietary intake? *Am J Clin Nutr* 2004;**80**:550-9.

Gey KF, Puska P, Jordan P, Moser UK: Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-culture epidemiology. *Am J Clin Nutr* 1991;**53**:326S-334S

Gey KF, Puska P: Plasma vitamin E and A inversely correlated to mortality from IHD in cross cultural epidemiology. *Ann NY Acad Sci* 1989;**570**:254-82

Gitto E, Tan DX, Reiter RJ, Karbownik M, Manchester LC, Cuzzocrea S, Fulia F, Barberi I: Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin

- C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. *J Pharm Pharmacol* 2001;**53**:1393-401.
- Goedde HW, Agarwal DP, Fritze G, Meier-Tackmann D, Singh S, Beckmann G, Bhatia K, Chen LZ, Fang B, Lisker R, Paik YK, Rothhammer F, Saha N, Segal B, Srivastava LM, Czeizel A: Distribution of ADH2 and ALDH2 genotypes in different populations. *Hum Genet* 1992;**88**:344-6.
- Goffman FD, Galletti S. Gamma-linolenic acid and tocopherol contents in the seed oil of 47 accessions from several Ribes species. *J Agric Food Chem* 2001;**49**:349-54.
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, Palma-Reis RJ, Boers GH: Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *J Am Med Assoc* 1997;**277**:1775-81
- Grewal J, Chan S, Frohlich J, Mancini GB: Assessment of novel risk factors in patients at low risk for cardiovascular events based on Framingham risk stratification. *Clin Invest Med* 2003;**26**:158-65.
- Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW, Thomson J, Caslake MJ, Packard CJ: Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis* 1994;**106**: 241-53.
- Grønbaek M, Becker U, Johansen D: Type of alcohol consumed and mortality from all causes, coronary heart disease, and cancer. *Ann Intern Med* 2000;**133**:411-9.
- Grønbaek M: Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. *BMJ* 1995;**310**:1165-9
- Groppi A, Begueret J, Oron A: Improved methods for genotype determination of human alcohol dehydrogenase (ADH) at ADH 2 and ADH 3 loci by using polymerase chain reaction – directed mutagenesis. *Clin Chem* 1990;**36**:1765-8
- Grundey SM, Denke MA: Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *J Lipid Res* 1990;**31**:1149
- Guerin M, Egger P, Soudant C, Le Goff W, van Tol A, Dupuis R, Chapman MJ: Cholesteryl ester flux from HDL to VLDL-1 is preferentially enhanced in type IIB hyperlipidemia in the postprandial state. *J Lipid Res* 2002;**43**:1652-60.
- Hahmann HW, Bunte T, Hellwig N, Hau U, Becker D, Dyckmans J, Keller HE, Schieffer HJ: [Quantitative coronary angiography: progression and regression of coronary stenoses--an intervention study with fenofibrate]. *Z Kardiol* 1991;**80**:589-94.
- Hak AE, Stampfer MJ, Campos H, Sesso HD, Gaziano JM, Willett W, Ma J: Plasma carotenoids and tocopherols and risk of myocardial infarction in a low-risk population of US male physicians. *Circulation* 2003;**108**:802-7.
- Handelman GJ: The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition* 2001;**17**:818-22.

- Harris WS: n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr* 1997;**65**:1645-54.
- Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH: The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955; **34**:1345-1353.
- Heibert A: The risk of atherosclerotic vascular disease in subjects with xanthomatosis. *Acta med scand* 1975;**198**:249-55.
- Heinecke JW: Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis* 1998;**141**:1-15.
- Heller FR, Descamps O, Hondekijin JC: LDL oxidation: therapeutic perspectives. *Atherosclerosis* 1998;**137**:S25-31.
- Hines LM, Stampfer MJ, Ma J, Gaziano JM, Ridker PM, Hankinson SE, Sacks F, Rimm EB, Hunter DJ: Genetic variation in alcohol dehydrogenase and the beneficial effect of moderate alcohol consumption on myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;**344**:549-55
- Hodis HN, Mack WJ, Dunn M, Liu C, Liu C, Selzer RH, Krauss RM: Intermediate-Density Lipoproteins and Progression of Carotid Arterial Wall Intima-Media Thickness. *Circulation* 1997;**95**:2022-2026.
- Hopkins PN: Effects of dietary cholesterol on serum cholesterol: a meta-analysis and review. *Am J Clin Nutr* 1992;**55**:1060-70.
- Horter MJ, Sondermann S, Reinecke H, Bogdanski J, Woltering A, Kerber S, Breithardt G, Assmann G, Von Eckardstein A: Associations of HDL phospholipids and paraoxonase activity with coronary heart disease in postmenopausal women. *Acta Physiol Scand* 2002;**176**:123-30.
- Howell WH, McNamara DJ, Tosca MA, Smith BT, Gaines JA: Plasma lipid and lipoprotein responses to dietary fat and cholesterol: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1997;**65**:1747-64.
- Hurt RD, Higgins JA, Nelson RA, Morse RM, Dickson ER: Nutritional status of a group of alcoholics before and after admission to an alcoholism treatment unit. *Am J Clin Nutr* 1981;**34**:386-92
- Imamura H, Teshima K, Miyamoto N, Shirota T: Cigarette smoking, high-density lipoprotein cholesterol subfractions, and lecithin: cholesterol acyltransferase in young women. *Metabolism* 2002;**51**:1313-6.
- Innis WS, McCormick DB, Merrill AH Jr: Variations in riboflavin binding by human plasma: identification of immunoglobulins as the major proteins responsible. *Biochem Med* 1986;**34**:151-65.
- Iskra M, Patelski J, Majewski W: Concentrations of calcium, magnesium, zinc and copper in relation to free fatty acids and cholesterol in serum of atherosclerotic men. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1993;**7**:185-8.
- Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J: Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr* 2001;**73**:613-21.

- Jensen J, Blankenhorn DH, Kornerup V: Coronary disease in familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1967;**36**:77-80
- Jonas HA, Dobson AJ, Brown WJ: Patterns of alcohol consumption in young Australian women: socio-demographic factors, health-related behaviours and physical health. *Australian and New Zealand J of Public Health* 2000;**24**:185-91
- Kamboh MI, McGarvey ST, Aston CE, Ferrell RE, Bausserman L: Plasma lipoprotein(a) distribution and its correlates among Samoans. *Hum Biol* 2000;**72**:321-36
- Kaser S, Sandhofer A, Holz B, Gander R, Ebenbichler CF, Paulweber B, Patsch JR: Phospholipid and cholesteryl ester transfer are increased in lipoprotein lipase deficiency. *J Intern Med* 2003;**253**:208-16.
- Kauhanen J, Kaplan GA, Goldberg DE, Salonen JT: Beer bingeing and mortality: results from the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study, a prospective population based study. *BMJ* 1997;**315**:846-51
- Keil U: The relation of alcohol intake to coronary heart disease and all-cause mortality in a beer-drinking population. *Epidemiol* 1997;**8**:150-6
- Kimura M, Fujita T, Itokawa Y: Liquid-chromatographic determination of the total thiamine content of blood. *Clin Chem* 1982;**28**:29-31.
- Kissebah Ah, Vydelingum N, Murray R, Evans DJ, Hartz AJ, Kalkhoff RK, Adams PW: Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol* 1982;**54**:254-9.
- Kitamura Y, Tanaka K, Kiyohara C, Hirohata T, Tomita Y, Ishibashi M, Kido K: Relationship of alcohol use, physical activity and dietary habits with serum carotenoids, retinal and alpha-tocopherol among male Japanese smokers. *International Journal of Epidemiology* 1997;**26**:307-14
- Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD, Sidney S: Alcohol Drinking and Risk of Hospitalization for Ischemic Stroke. *Am J Cardiology* 2001;**88**:703-6
- Kleiber M: Body size and metabolic rate. *Physiol Rev* 1947;**27**:511-515
- Klemm C, Mathis G, Christ M, Gebhardt G, Hamami E, Pathasart B, Wagner U, Dehne LI: Der BundesLebensmittelSchlüssel (BLS II.3). Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (2000).
- Klipstein-Grobusch K, Becker N, Kroke A, Boeing H: Patterns of past alcohol consumption in the EPIC-Germany cohorts. European Investigation into Cancer and Nutrition. *Annals of Nutrition and Metabolism* 1999;**43**:258-65
- Knott TJ, Pease RJ, Powell LM, Wallis SC, Rall SC Jr., Innerarity TL, Blackhart B, Taylor WH, Marcel Y, Milne R, Johnson D, Fuller M, Losis AJ, McCarthy BJ, Mahley RW, Levy-Wilson B, Scott J: Complete protein sequence and identification of structural domains of human apolipoprotein B. *Nature* 1986; **323**:734-8

- Kontush A, Finckh B, Karten B, Kohlschutter A, Beisiegel U: Antioxidant and prooxidant activity of alpha-tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. *J Lipid Res* 1996;**37**:1436-48.
- Krauss RM: Atherogenicity of triglyceride-rich lipoproteins. *Am J Cardiol* 1998;**81**:13B-17B.
- Krauss RM: Dense low-density lipoproteins and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995;**75**:53B-57B
- Krauss RM: Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr* 2001;**21**:283-95.
- Krauss RM: The tangled web of coronary risk factors. *Am J Med* 1991;**90**:36S-41S.
- Kuo C, Grayston JT, Campbell LA, Goo YA, Wissler RW, Benditt EP: Chlamydia pneumoniae (TWAR) in coronary arteries of young adults (15-34 years old). *PNAS* 1995;**92**:6911-4.
- Landig J, Erhardt JG, J.C. Bode, C. Bode: Validation and comparison of two computerized methods of obtaining a diet history. *Clin Nutr* 1998;**17**:113-7.
- Landig J: Validierung des Computerprogramms EBIS (Ernährungsanamnese, Beratungs- und Informationssystem). *Diplomarbeit* 1992 (**UnPub**).
- Larnache B, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres JP: Associations of HDL2 and HDL3 subfractions with ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;**17**:1098-105
- Law MR, Morris JK, Wald NJ: Environmental tobacco smoke exposure and ischaemic heart disease: an evaluation of the evidence. *BMJ* 1997;**315**:973-80.
- Lecomte E, Grolier P, Herbeth B, Pirollet P, Musse N, Paille F, Braesco V, Siest G, Artur Y: The relation of alcohol consumption to serum carotenoid and retinol levels. Effects of withdrawal. *Int J Vitam Nutr Res* 1994;**64**:170-5.
- Lee KW, Lip GY: Effects of lifestyle on hemostasis, fibrinolysis, and platelet reactivity: a systematic review. *Arch Intern Med* 2003;**163**:2368-92.
- Levy CM: Thiamin deficiency and alcoholism. *Ann NY Acad Sci* 1982;**378**:316-26.
- Leo MA, Lieber CS: Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. *Am J Clin Nutr* 1999;**69**:1071-85.
- Lonsdale D: The Nutritionist's Guide to the Clinical Use of Vitamin B1. Tacoma WA: *Life Sciences Press* 1987, Seite 44-77
- Lu SC: Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *FASEB J* 1999;**13**:1169-83.
- Maeda K, Noguchi Y, Fukui T: The effects of cessation from cigarette smoking on the lipid and lipoprotein profiles: a meta-analysis. *Prev Med* 2003;**37**:283-90.
- Mahley RW, Ji ZS: Remnant lipoprotein metabolism: key pathways involving cell-surface heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *J Lipid Res* 1999;**40**:1-15.

- Martin MJ, Hulley SB, Browner WS, Kuller LH, Wentworth D: Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: Implications from a cohort of 361.662 men. *Lancet* 1986;**II**:933ff.
- Mata P, Alvarez-Sala LA, Rubio MJ, Nuño J, De Oya M: Effects of long-term monounsaturated vs. polyunsaturated-enriched diets on lipoproteins in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1992;**55**:846-850
- Mataix J, Aranda P, Sanchez C, Montellano MA, Planells E, Llopis J: Assessment of thiamin (vitamin B1) and riboflavin (vitamin B2) status in an adult Mediterranean population. *Br J Nutr* 2003;**90**:661-6.
- Mattson FH, Grundy SM: Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J Lipid Res* 1985;**26**:589
- Mayer O Jr, Simon J, Rosolova H. A population study of the influence of beer consumption on folate and homocysteine concentrations. *Eur J Clin Nutr* 2001;**55**:605-9.
- McCully KS, Ragsdale BD: Production of arteriosclerosis by homocysteinemia. *Am J Pathol* 1970;**61**:1-12
- Mensink GB, Haftenberger M, Thamm M: Validity of DISHES 98, a computerised dietary history interview: energy and macronutrient intake. *Eur J Clin Nutr* 2001;**55**:409-17.
- Mensink GBM, Beitz R, Burger M, Bisson S: Lebensmittelkonsum in Deutschland. *Ernährungs-Umschau* 2000;**47**:328-32.
- Mensink GBM, Burger M, Beitz R, Henschel Y, Hintzpeter B: Was essen wir heute? Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Robert Koch-Institut, Berlin (2002).
- Mensink GBM, Hermann-Kunz E, Thamm M: Der Ernährungssurvey. *Gesundheitswesen* 1998;**60**:83-6.
- Mensink GBM, Thamm M, Haas K: Die Ernährung in Deutschland 1998. *Gesundheitswesen* 1999;**61S**:200-6.
- Mensink RP, Katan M: Effects of dietary fatty acids on serum lipid and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb* 1992;**12**:911
- Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB: Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2003;**77**:1146-55.
- Mertens A, Hobvoet P: Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J* 2001;**15**:2073-84.
- Meuret G, Bammert J, Gessner U: Neutrophil marrow release. A system analysis. *Blut* 1976;**33**:389-402.
- Meyer C, John U: Alkohol – Zahlen und Fakten zum Konsum. In: Deutsche Hauptstelle gegen die Suchtgefahren e.V. (Hrsg.) Jahrbuch Sucht, Neuland-Verlag, Geesthacht (2003) Seite 18-33.
- Milde J, Elstner EF, Grassmann J: Synergistic inhibition of low-density lipoprotein oxidation by rutin, gamma-terpinene, and ascorbic acid. *Phytomedicine* 2004;**11**:105-13.

- Miller M: Is hypertriglyceridaemia an independent risk factor for coronary heart disease? The epidemiological evidence. *Eur Heart J* 1998;**19**:H18-22.
- Mochizuki S, Yoshida A: Effects of dietary ethanol on ascorbic acid and lipid metabolism, and liver drug-metabolising enzymes in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1989;**35**:431-40
- Mukamal KJ, Conigrave KM, Mittleman MA, Camargo CA, Stampfer MJ, Willett WC, Rimm ER: Roles of Drinking Pattern and Type of Alcohol Consumed in Coronary Heart Disease in Men. *N Engl J Med* 2003;**348**:109-18.
- Mukamal KJ, Kronmal RA, Tracy RP, Cushman M, Siscovick DS: Traditional and novel risk factors in older adults: cardiovascular risk assessment late in life. *Am J Geriatr Cardiol* 2004;**13**:69-80.
- Muller H, Lindman AS, Brantsaeter AL, Pedersen JI: The serum LDL/HDL cholesterol ratio is influenced more favorably by exchanging saturated with unsaturated fat than by reducing saturated fat in the diet of women. *J Nutr* 2003;**133**:78-83.
- Müller JM: Alkohol: Kalorie oder leere Kalorie? In: Singer MV, Teyssen S (Herausgeber): Alkohol und Alkoholfolgekrankheiten, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg NY, 1999, S. 85-94
- Narziß: Abriß der Bierbrauerei. 5. Auflage (1986) Enke, Stuttgart.
- NemV: Verordnung über Nahrungsergänzungsmittel, Bundesgesetzblatt BGBl 2004, Seite 1011
- Niculescu MD, Zeisel SH: Diet, methyl donors and DNA methylation: interactions between dietary folate, methionine and choline. *J Nutr* 2002;**132**(S):2333-5.
- Nielsen NR, Schnohr P, Jensen G, Gronbaek M: Is the relationship between type of alcohol and mortality influenced by socio-economic status? *J Intern Med* 2004;**255**:280-8.
- Nierenberg DW, Dain BJ, Mott LA, Baron JA: Effects of 4 y of oral supplementation with β -carotene on serum concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids. *Am J Clin Nutr* 1997;**66**:315-9.
- Nigon F, Lesnik P, Rouis M, Chapman MJ: Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res* 1991;**32**:1741-53.
- Niki E: Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. *Am J Clin Nutr* 1991;**54**:1119-24
- Nordestgaard BG, Nielsen LB: Atherosclerosis and arterial influx of lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1994;**5**:252-7.
- Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Lewis B. Influx in-vivo of low density and very low density lipoproteins into aortic intimas of genetically hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb* 1992;**12**:6-18

- Nygård O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE: Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997;**337**:230-6
- Ollilainen V: HPLC analysis of vitamin B6 in foods. *Agricult Food Sci* 1999;**8**:519.
- Ordovas JM, Schaefer EJ: Genetic determinants of plasma lipid response to dietary intervention: the role of the APOA1/C3/A4 gene cluster and the APOE gene. *Br J Nutr* 2000;**83S**:127-36.
- Parthasarathy S, Steinberg D, Witztum JL: The role of oxidized low-density lipoproteins in pathogenesis of atherosclerosis. *Annu Rev Med* 1992;**43**:219-25.
- Perret B, Ruidavets JB, Vieu C, Jaspard B, Cambou JP, Terce F, Collet X: Alcohol consumption is associated with enrichment of high-density lipoprotein particles in polyunsaturated lipids and increased cholesterol esterification rate. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;**26**:1134-40.
- Pedersen AN, Fagt S, Ovesen L, Schroll M. Quality control including validation in dietary surveys of elderly subjects. The validation of a dietary history method (the SENECA-method) used in the 1914-population study in Glostrup of Danish men and women aged 80 years. *J Nutr Health Aging* 2001;**5**:208-16.
- Pedersen TR, Olsson AG, Faergeman O, Kjekshus J, Wedel H, Berg K, Wilhelmsen L, Haghefelt T, Thorgeirsson G, Pyorala K, Miettinen T, Christophersen B, Tobert JA, Musliner TA, Cook TJ: Lipoprotein changes and reduction in the incidence of major coronary heart disease events in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) *Circulation* 1998;**97**:1453-60.
- Pelkman CL: Effects of the glycemic index of foods on serum concentrations of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides. *Curr Atheroscler Rep* 2001;**3**:456-61.
- Pfeiffer CM, Huff DL, Gunter EW: Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homocysteine and cysteine in a clinical laboratory. *Clin Chem* 1999;**45**: 290-2
- Pieke B, von Eckardstein A, Gulbahce E, Chirazi A, Schulte H, Assmann G, Wahrburg U: Treatment of hypertriglyceridemia by two diets rich either in unsaturated fatty acids or in carbohydrates: effects on lipoprotein subclasses, lipolytic enzymes, lipid transfer proteins, insulin and leptin. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;**24**:1286-96.
- Powers HJ: Riboflavin (vitamin B-2) and health. *Am J Clin Nutr* 2003;**77**:1352-60.
- Rader DJ, Hoeg JM, Brewer HB Jr: Quantitation of plasma apolipoproteins in the primary and secondary prevention of coronary artery disease. *Ann Intern Med* 1994;**120**:1012-25.
- Reaven PD, Witztum JL: Oxidised low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification. *Ann Rev Nutr* 1996;**16**:51-71
- Renaud SC, Gueguen R, Siest G, Salamon R: Wine, beer, and mortality in middle-aged men from eastern France. *Arch Int Med* 1999;**159**:1865-70
- Renner EL: Biological markers of alcoholism. *Schweiz Med Wochenschrift* 1992;**122**:614-8.

- Reynolds K, Lewis LB, Nolen JDL, Kinney GL, Sathya B, He J: Alcohol consumption and risk of stroke: a meta-analysis. *J Am Medical Association* 2003;**289**:579-88
- Richard F, Marecaux N, Dallongeville J, Devienne M, Tiem N, Fruchart JC, Fantino M, Zylberberg, Amoussel P: Effect of smoking cessation on lipoprotein AI and lipoprotein AII levels. *Metabolism* 1997;**46**:711-5
- Ridker PM: High-sensitivity C-reactive protein, inflammation, and cardiovascular risk: from concept to clinical practice to clinical benefit. *Am Heart J* 2004;**148**:S19-26
- Rimm EB, Klatsky A, Grobbee D, Stampfer MJ. Review of moderate alcohol consumption and reduced risk of coronary heart disease: is the effect due to beer, wine or spirits. *BMJ* 1996;**312**:731-6
- Rimm EB, Williams P, Fosher K, Criqui M, Stampfer MJ. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. *BMJ* 1999;**319**:1523-8.
- Robert Koch-Institut: Übergewicht und Adipositas. *Gesundheitsberichterstattung des Bundes* 2003;**16**:7ff.
- Robinson K: Homocysteine, B vitamins, and risk of cardiovascular disease. *Heart* 2000;**83**:127-30.
- Rogot E, Murray JL: Smoking and causes of death among U.S. veterans: 16 years of observation. *Public Health Reports* 1960;**95**:213-22.
- Rokitzki L, Berg A, Keul J: Blood and serum status of water- and fat-soluble vitamins in athletes and non-athletes. *Int J Vitam Nutr Res Suppl* 1989;**30**:192-7.
- Rubins, HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, Faas FH, Linares E, Schaefer EJ, Schectman G, Wilt TJ, Wittes J, Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. *N Engl J Med* 1999;**341**:410-8
- Russell RM: The vitamin A spectrum: from deficiency to toxicity. *Am J Clin Nutr* 2000;**71**:878-84.
- Rye K-A, Duong MN: Influence of phospholipid depletion on the size, structure, and remodelling of reconstituted high-density lipoproteins. *J Lipid Res* 2000;**41**:1640-50.
- Sacco M, Pellegrini F, Roncaglioni MC, Avanzini F, Tognoni G, Nicolucci A; PPP Collaborative Group: Primary prevention of cardiovascular events with low-dose aspirin and vitamin E in type 2 diabetic patients: results of the Primary Prevention Project (PPP) trial. *Diabetes Care* 2003;**26**:3264-72.
- Sacks FM, Pfeffer MA, Moya LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Theroux P, Warnica JW, Arnold JM, Nash DT, Wun CC, Davis BR, Hawkins CM, Braunwald E. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *N Engl J Med* 1996;**335**:1001-9.

Said HM, Strum WB. Effect of ethanol and other aliphatic alcohols on the intestinal transport of folates. *Digestion* 1986;**35**:129-35.

Salonen JT, Salonen R, Seppanen K, Rauramaa R, Tuomilehto J: HDL, HDL2, and HDL3 subfractions, and the risk of acute myocardial infarction. A prospective population study in eastern Finnish men. *Circulation* 1991;**84**:129-39.

Sane T, Nikkila EA, Taskinen MR, Valimaki M, Ylikahri R: Accelerated turnover of very low density lipoprotein triglycerides in chronic alcohol users. A possible mechanism for the up-regulation of high density lipoprotein by ethanol. *Atherosclerosis* 1984;**53**:185-93.

Schnyder G, Roffi M, Pin R, Flammer Y, Lange H, Eberli FR, Meer B, Turi ZG, Hess OM: Decreased rate of coronary restenosis after lowering of plasma homocysteine levels. *N Engl J Med* 2001;**345**:1593-600.

Schröder H, Marrugat J, Elosua R, Covas MI: Tobacco and alcohol consumption: impact on other cardiovascular and cancer risk factors in a southern European Mediterranean population. *Br J Nutr* 2002;**88**:273-81.

Schürch PM, Reinke A, Hollmann W: [Carbohydrate-reduced diet and metabolism: about the influence of a 4-weeks isocaloric fat-rich, carbohydrate-reduced diet on body weight and metabolism (author's transl)] *Med Klin* 1979;**74**:1279-85.

Schwedhelm E, Bartling A, Lenzen H, Tsikas D, Maas R, Brummer J, Gutzki FM, Berger J, Frolich JC, Boger RH: Urinary 8-iso-prostaglandin F2alpha as a risk marker in patients with coronary heart disease: a matched case-control study. *Circulation* 2004;**109**:843-8.

Scott JM, Weir DG: The methyl folate trap. *Lancet* 1981;**II**:337ff.

Segrest JP: The role of non-LDL:non-HDL particles in atherosclerosis. *Curr Diab Rep* 2002;**2**:282-8.

Seitz HK, Oneta CM: Gastrointestinal alcohol dehydrogenase. *Nutr Rev* 1998;**56**:52-60.

Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, O'Leary DH, Wolf PA, Rush D, Schaefer EJ, Rosenberg IH. Relationship between plasma homocysteine, vitamin status and extracranial carotid-artery stenosis in the Framingham Study population. *J Nutr* 1996;**126**:1258S-65S.

Serra-Majem L, Santana-Armas JF, Ribas L, Salmona E, Ramon JM, Colom J, Salleras L: A comparison of five questionnaires to assess alcohol consumption in a Mediterranean population. *Public Health Nutr* 2002;**5**:589-94.

Shen YC, Fan JH, Edenberg HJ, Li TK, Cui YH, Wang YF, Tian CH, Zhou CF, Zhou RI, Wang J, Zhao ZI, Xia GY: Polymorphism of ADH and ALDH genes among four ethnic groups in China and effects upon the risk of alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;**21**:1272-7

Shurtleff DB: Epidemiology of neural tube defects and folic acid. *Cerebrospinal Fluid Res* 2004;**1**:5.

Sies H, Stahl W : Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995;**62**:1315-21

Sies H, Stahl W: Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995;**62S**:1315-21.

Simon JA, Hudes ES: Serum ascorbic acid and cardiovascular disease prevalence in U.S. adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Ann Epidemiol* 1999;**9**:358-65

Simons LA, McCallum J, Friedlander Y, Ortiz M, Simons J: Moderate alcohol intake is associated with survival in the elderly: the Dubbo Study. *Med J Australia* 2000;**173**:121

Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004;**141**:137-47.

Souci SW, Fachmann W, Kraut H: Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwert-Tabellen. 6. Auflage (2000) *medpharm Scientific Publishers, Stuttgart*.

Spate-Douglas T, Keyser RE: Exercise intensity: its effect on the high-density lipoprotein profile. *Arch Phys Med Rehabil* 1999;**80**:691-5.

Sposito AC, Chapman MJ: Statin therapy in acute coronary syndromes – mechanistic insight into clinical benefit. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;**22**:1524-34.

Stampfer J, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH: Prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;**325**:373

Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, Hennekens CH: A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1996;**276**:882-8

Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B., Ullmann D., Tishler P. V., Hennekens C. H. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *J Am Med Assoc* 1992;**268**:877-881

Stampfer, MJ Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC: Vitamin E Consumption and the Risk of Coronary Heart Disease in Women. *N Engl J Med* 1993;**328**: 1444-9

Stanger O, Dierkes J, Fowler B, Geisel J, Herrmann W, Pietrzik K, Weger M für die D.A.CH. – Liga Homocystein e.V.: Konsensuspapier der D.A.CH.-Liga: Homocystein über den rationellen klinischen Umgang mit Homocystein, Folsäure und B-Vitaminen bei kardiovaskulären und thrombotischen Erkrankungen – Richtlinien und Empfehlungen. *J Kardiolog* 2003;**10**:190-9

Statistisches Bundesamt: Leben und Arbeiten in Deutschland – Mikrozensus 2003, Berlin 2004

Steghens JP, van Kappel AL, Riboli E, Collombel C: Simultaneous measurement of seven carotenoids, retinol, alpha-tocopherol in serum by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 1997;**694**:71-81.

Steiner G, Schwartz L, Shumak S, Poapst M: The association of increased levels of intermediate-density lipoproteins with smoking and with coronary artery disease. *Circulation* 1987;**75**:124-30.

Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ: Randomized controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* 1996;**347**:781-6

Stockwell TR: Alcohol and cardiovascular disease: still a research priority? *Med J Australia* 2000;**173**:116

Su Q, Rowley KG, O'Dea K: Stability of individual carotenoids, retinol and tocopherols in human plasma during exposure to light and after extraction. *J Chromatogr B* 1999;**729**:191-8.

Superko HR: Small dense LDL: The new coronary artery disease risk factor and how it is changing the treatment of CAD. *Preventive Cardio* 1998;**1**:16-24.

Superko HR: Small, dense, low-density lipoprotein and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2000;**2**:226-31.

Syvanne M, Nieminen MS, Frick MH, Kauma H, Majahalme S, Virtanen V, Kesaniemi YA, Pasternack A, Ehnholm C, Taskinen MR: Associations between lipoproteins and the progression of coronary and vein-graft atherosclerosis in a controlled trial with gemfibrozil in men with low baseline levels of HDL cholesterol. *Circulation* 1998;**98**:1993-9.

Tailleux A, Duriez P, Fruchart JC, Clavey V: Apolipoprotein A-II, HDL metabolism and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002;**164**:1-13.

Tall AR, Blum CB, Forester GP, Nelson CA: Changes in the distribution and composition of plasma high density lipoproteins after ingestion of fat. *J Biol Chem* 1982;**257**:198-207.

Talwar D, Ha TK, Cooney J, Brownlee C, O'Reilly DS: A routine method for the simultaneous measurement of retinol, alpha-tocopherol and five carotenoids in human plasma by reverse phase HPLC. *Clin Chim Acta* 1998;**270**:85-100.

Taskinen MR, Nikkila EA, Valimaki M, Sane T, Kuusi T, Kesaniemi A, Ylikahri R: Alcohol-induced changes in serum lipoproteins and in their metabolism. *Am Heart J* 1987;**113**:458-64.

Tatami R, Mabuchi H, Ueda K, Ueda R, Haba T, Kametani T, Ito S, Koizumi J, Ohta M, Miyamoto S, Nakayama A, Kanaya H, Oiwake H, Genda A, Takeda R: Intermediate-density lipoprotein and cholesterol-rich very low density lipoprotein in angiographically determined coronary artery disease. *Circulation* 1981;**64**:1174-84.

Thelle DS, Heyden S, Fodor JG: Coffee and cholesterol in epidemiological and experimental studies. *Atherosclerosis* 1987;**67**:97ff.

Thomson AD, Pratt OE: Interaction of nutrients and alcohol: absorption, transport, utilization and metabolism. Watson RR, Watzl B (Hrsg.): *CRC Press*;1992:75-99.

Thun MJ, Peto R, Lopez AD, Monaco JH, Henley J, Heath CW, Doll R: Alcohol consumption and mortality among middle-aged and elderly US adults. *N Engl J Med* 1997;**337**:1705-14

Tonstad S, Smerud K, Høie L: A comparison of the effects of 2 doses of soy protein or casein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr* 2002;**76**:78-84.

Tsukamoto H, Lu SC: Current concepts in the pathogenesis of alcoholic liver injury. *FASEB J* 2001;**15**:1335-49.

Ubbink JB, Fehily AM, Pickering J, Elwood PC, Vermaak WJH: Homocysteine and Ischaemic heart disease in the Caerphilly cohort. *Atherosclerosis* 1998;**140**:349-56.

Vakkilainen J, Makimattila S, Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Lahdenpera S, Groop PH, Taskinen MR, Yki-Jarvinen H: Endothelial dysfunction in men with small LDL particles. *Circulation* 2000;**102**:716-21.

Vallee BL, Auld DS: New perspective on zinc biochemistry: cocatalytic sites in multi-zinc enzymes. *Biochemistry* 1993;**32**:6493-500.

Van der Gaag MS, Ubbink JB, Sillanaukee P, Nikkari S, Hendriks HFJ: Effect of consumption of red wine, spirits and beer on homocysteine. *Lancet* 2000;**355**:1522

van der Gaag MS, van den Berg R, van den Berg H, Schaafsma G, Hendriks HF: Moderate consumption of beer, red wine and spirits has counteracting effects on plasma antioxidants in middle-aged men. *Eur J Clin Nutr* 2000;**54**:586-91.

Vanderslice JT, Stewart KK, Yarmas MM: Liquid chromatographic separation and quantification of B6 vitamers and their metabolite, pyridoxic acid. *J Chromatogr* 1979;**176**:280-5.

Vermaak WJ, Barnard HC, van Dalen EM, Potgieter GM: Correlation between pyridoxal-5'-phosphate levels and the percentage activation of aspartate aminotransferase enzyme in haemolysate and plasma during in vitro incubation studies with different B6 vitamers. *Enzyme* 1986;**35**:215-24

Vollset SE, Hygard O, Kvale G, Ueland PM, Refsum H: The Hordaland Homocysteine Study: lifestyle and total plasma homocysteine in Western Norway. In: Graham I, Refsum H, Rosenberg IH, Ueland PM (Hrsg.): Homocysteine Metabolism: From Basic Science to Clinical Medicine., Seite 177-82.

Vollset SE, Refsum H, Tverdal A, Nygard O, Nordrehaug JE, Tell GS, Ueland PM: Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2001;**74**:130-6.

Wald DS, Law M, Morris JK: Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002;**325**:1202-8

Walti MK, Zimmermann MB, Spinass GA, Jacob S, Hurrell RF : Dietary magnesium intake in type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr* 2002;**56**:409-14.

Weller H, Fichtenbaum M: [The tryptophan tolerance test as proof of a vitamin B-6 deficiency in arteriosclerosis.] *Klin Wochenschr* 1961;**39**:1275-80.

- Whitfield JB, Nightingale BN, Bucholz KK, Madden PA, Heath AC, Martin NG: ADH genotypes and alcohol use and dependence in Europeans. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;**22**:1463-9.
- WHO: European health for all database (HFA-DB), World Health Organization, Regional Office for Europe, 2004
- Wilcken DEL, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease: a possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976;**57**:1079-82.
- Wilkins GM, Leake DS: The oxidation of low density lipoprotein by cells or iron is inhibited by zinc. *FEBS Lett* 1994;**341**:259-62.
- Williams AK: High-performance chromatography of vitamin B6. *Methods Enzymol* 1979;**62**:415-22.
- Williams PT, Superko HR, Haskell WL, Alderman EL, Blanche PJ, Holl LG, Krauss RM: Smallest LDL Particles are most strongly related to coronary heart disease progression in men. *Artheroskler Thromb Vasc Biol* 2003;**23**:314-21
- Wilson PW, William P, Castelli WP, Kannel WB: Coronary risk predictors in adults (The Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 1987;**59**:91-9.
- Wilson PW: Assessing coronary heart disease risk with traditional and novel risk factors. *Clin Cardiol* 2004;**27**:III 7-11.
- Witztum JL: The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994;**344**:793-5.
- Wolfgarten E, Rosendahl U, Nowroth T, Leers J, Metzger R, Holscher AH, Bollschweiler E: Coincidence of nutritional habits and esophageal cancer in Germany. *Onkologie* 2001;**24**:546-51.
- Wolk R, Berger P, Lennon RJ, Brilakis ES, Johnson BD, Somers VK: Plasma leptin and prognosis in patients with established coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2004;**44**:1819-24.
- Yang CY, Chen SH, Gianturco SH, Bradley WA, Sparrow JT, Tanimura M, Li WH, Sparrow DA, DeLoof H, Rosseneu M, Lee FS, Gu ZW, Gotto AM Jr., Chan L: Sequence, structure, receptor-binding domains and internal repeats of human apolipoprotein B-100. *Nature* 1986;**323**: 738-742
- Yatsuya H, Tamakoshi K, Hattori H, Otsuka R, Wada K, Zhang H, Mabuchi T, Ishikawa M, Murata C, Yoshida T, Kondo T, Toyoshima H: Serum phospholipid transfer protein mass as a possible protective factor for coronary heart diseases. *Circ J* 2004;**68**:11-6.
- Zambon A, Hokanson JE: Lipoprotein classes and coronary disease regression. *Curr Opin Lipidol* 1998;**4**:329-36.
- Zhuo XG, Melby MK, Watanabe S: Soy isoflavone intake lowers serum LDL cholesterol: a meta-analysis of 8 randomized controlled trials in humans. *J Nutr* 2004;**134**:2395-400.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name: Joachim Eckoldt

Geburtsdatum/-ort: 24.06.1973 / Brackenheim

Familienstand: verheiratet mit Cornelia Eckoldt, geb. Lichtenberger

Schule und Studium:

September 1980 bis Juli 1984 Grundschohle Löchgau

September 1984 bis Mai 1993 Gymnasium Besigheim: Erwerb der allgemeinen Hochschulreife

Oktober 1993 bis März 1996 Universität Stuttgart: Studium der Lebensmittelchemie (Grundstudium)

April 1996 bis September 1998 Universität Hohenheim: Studium der Lebensmittelchemie (Hauptstudium), Abschluss mit Staatsexamen (Hauptprüfung Teil A)

September 1997 bis Januar 1998 Südzucker AG Mannheim/Ochsenfurt: Forschungspraktikum

November 1998 bis Dezember 1999 Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt (CVUA): praktische Ausbildung, Abschluss mit Staatsexamen (Hauptprüfung Teil B)

Beruf:

seit Januar 2000 Dissertation zum Thema „Einfluss der Ernährung auf Risikofaktoren für das Auftreten von Herzinfarkt und Schlaganfall“

Januar 2000 bis August 2003 Wissenschaftlicher Angestellter der Universität Hohenheim, Institut für Biologische Chemie und Ernährungswissenschaft, Abt. Ernährungsphysiologie und der Robert Bosch Gesellschaft für medizinische Forschung mbH

April 2004 bis März 2005 WALA Heilmittel GmbH, Bad Boll: Qualitätskontrolle / Methodenentwicklung

seit Mai 2005 Ernteband Fruchtsaft GmbH, Winnenden: Laborleiter

ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass ich die Arbeit selbständig gefertigt, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und wörtlich oder inhaltlich übernommene Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Joachim Eckolitt

Löchgau, im Mai 2005