

Aus der Klinik für Kardiologie und Angiologie Campus Mitte
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss von Epigallocatechingallat auf die Endothelfunktion
im Menschen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Franziska Rauhut

aus Frankfurt/Oder

Datum der Promotion: 18.09.2020

Vorwort

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in der Publikation „Tea-induced improvement of endothelial function in humans: No role for epigallocatechin gallate (EGCG)“ in Scientific Reports am 23.05.2017 veröffentlicht.

Inhaltsverzeichnis

1	Abstrakt	9
1.1	Abstract (English).....	9
1.2	Abstrakt (Deutsch).....	10
2	Einleitung	11
2.1	Risikofaktoren der Atherosklerose	11
2.2	Endothel.....	11
2.2.1	Funktion und Dysfunktion	11
2.2.2	Möglichkeiten der Endothelfunktionsmessung	14
2.3	Grüner Tee	16
2.3.1	Inhaltsstoffe	17
2.3.2	Wirkungen von Grünem Tee auf das kardiovaskuläre System	25
2.4	Fragestellung	29
3	Methoden.....	30
3.1	Studienpopulation.....	30
3.1.1	Rekrutierung.....	30
3.1.2	Ein- und Ausschlusskriterien	31
3.1.3	Vorbereitung der Studienteilnehmer	32
3.2	Studiendesign.....	33
3.3	Material und Untersuchungsmethoden	35
3.3.1	Grüner Tee und Kapseln	35
3.3.2	Blutentnahmen	37
3.3.3	Flow-mediated Dilatation und Nitro-vermittelte Dilatation.....	39
3.4	Zeitlicher Ablauf.....	44
3.5	Datenerfassung und Statistik	46

4	Ergebnisse	48
4.1	Studienpopulation.....	48
4.2	Inhaltsstoffe des Grünen Tees und der Kapsel mit isoliertem EGCG.....	49
4.3	Blutdruck	50
4.4	Flussvermittelte Dilatation – FMD.....	52
4.4.1	Ruhedurchmesser der A. brachialis der FMD-Messungen	52
4.4.2	Vergleich der FMD zwischen den Interventionsarmen.....	53
4.4.3	Vergleich der FMD innerhalb eines Interventionsarms	54
4.4.4	Veränderung der FMD (Δ FMD)	58
4.5	Nitro-vermittelte Dilatation – NMD.....	60
4.5.1	Ruhedurchmesser der A. brachialis der NMD-Messungen.....	60
4.5.2	Vergleich der NMD zwischen den Interventionsarmen.....	61
4.5.3	Vergleich der NMD innerhalb eines Interventionsarms	62
4.5.4	Veränderung der NMD (Δ NMD)	64
4.6	Katechinplasmakonzentrationen in den Interventionsarmen.....	65
4.7	Vergleich der EGCG-Plasmakonzentrationen mit der FMD nach Substanzeinnahme ..	66
5	Diskussion	70
5.1	Wirkung von Grünem Tee auf die Endothelfunktion.....	70
5.2	Einfluss von EGCG auf die Endothelfunktion	71
5.3	Wirkung von EGCG im Kontext der aktuellen Studienlage	72
5.3.1	Klinische Studien	72
5.3.2	Tierexperimentelle und in vitro Studien.....	72
5.3.3	Vergleich von in vitro Studien mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie	73
5.4	Aufnahme von EGCG und anderen Katechinen in das Blut	74
5.5	Effekte weiterer Inhaltsstoffe des Grünen Tees auf die Endothelfunktion	78
5.6	Ausgangswert der FMD.....	81
5.7	Nitro-vermittelte Dilatation	82

Inhaltsverzeichnis

5.8	Blutdruck	82
5.9	Rahmenbedingungen	84
5.9.1	Endogene und exogene Einflussgrößen auf die FMD.....	84
5.9.2	Interindividuelle Variabilität und Reproduzierbarkeit	85
5.10	Limitationen.....	85
6	Zusammenfassung.....	88
7	Literaturverzeichnis.....	89
8	Anhang	102
8.1	Abbildungsverzeichnis	102
8.2	Tabellenverzeichnis	103
8.3	Eidesstattliche Versicherung	104
8.4	Lebenslauf	106
8.5	Danksagung	107

Abkürzungsverzeichnis

A. brachialis	Arteria brachialis
ACh	Acetylcholin
Akt = PKB	Serin-Threonin-Proteinkinase B
BH ₄	Tetrahydrobiopterin
BMI	Body-Mass-Index
Caco-2-Zellen	Humane epitheliale Zellen des kolorektalen Adenokarzinoms
CD34	Cluster of differentiation molecule 34 (Adhäsionsmolekül)
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
CrP	C-reaktives Protein
CVS 2.0	<i>Cardiovascular Suite TM Ultrasound Edition Version 2.0</i>
dia	Diastolischer Blutdruck
DMF	Dimethylformamid
DMS Plethysmographie	Dehnungsmessstreifen-Plethysmographie
EC	Epicatechin
ECG	Epicatechingallat
EDHF	Endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGC	Epigallocatechin
EGCG	Epigallocatechingallat
EKG	Elektrokardiogramm
EndoPAT	Fingerpuls-Plethysmographie
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
FMD	Flow-mediated Dilatation
GA	Gallussäure
GC	Gallocatechin
GCG	Gallocatechingallat
HbA1c	Glycohämoglobin A1c
HDL	High-density-Lipoprotein
HUVEC	Human umbilical vein endothelial cells
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1 (Adhäsionsmolekül)

Abkürzungsverzeichnis

KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-density-Lipoprotein
L-NAME	L-N ^G -Nitro-Argininmethylester
L-NIO	N5-(1-Iminoethyl)-L-ornithine
L-NMMA	N ^G -monomethyl-L-Arginin
M	Molar
MDR	Multi-drug-resistance
mHz	Megahertz
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
MW	Mittelwert
μmol = μM	Mikromolar
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
NF-κB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (Transkriptionsfaktor)
NMD	Nitro-vermittelte Dilatation
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
O ₂	Sauerstoff
p	P-Wert (Signifikanzniveau)
PAT	Periphere arterielle Tonometrie
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PKA	Serin-Threonin-Proteinkinase A
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PSGL-1	P-selectin glycoprotein ligand-1 (Adhäsionsmolekül)
PWA	Pulswellenamplitude
r	Korrelationskoeffizient
RASMC	Zellkulturen glatter Muskelzellen der Aorta von der Ratte
ROI	Region of interest
RR	Blutdruck
SD	Standardabweichung
Ser ¹¹⁷⁹	Serin an der Position 1179
SEM	Standard error of the mean

Abkürzungsverzeichnis

SHR	Spontaneously hypertensive rat
sys	Systolischer Blutdruck
TB	Theobromin
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TPH-1	Tryptophan-Hydroxylase 1
UHPLC	Ultra high performance liquid chromatography
VCAM-1	Vascular cell adhesion protein 1 (Adhäsionsmolekül)

1 Abstrakt

1.1 Abstract (English)

„Contribution of epigallocatechingallate (EGCG) to endothelial function in humans“

Introduction: Epidemiological studies indicate an inverse correlation between the incidence of cardiovascular diseases and green tea. EGCG is the main catechin in green tea and is assumed to account for most of its protective cardiovascular effects. It was demonstrated that a possible underlying mechanism for the effects of EGCG could be the concentration-dependent increase of nitric oxide production in endothelial cells as well as a nitric oxide-dependent vascular dilatation in isolated aortic rings. To examine if these assumptions also account in vivo, the present work investigated the acute effect of 200 mg EGCG on endothelial function in humans.

Methods: This work is part of a four-armed, randomized cross-over pilot study. The effect of 200 mg EGCG in different applications (isolated EGCG, green tea and water as control) on endothelial function was studied. Flow-mediated dilatation (FMD) was measured before and two hours after interventions. A measurement of the glyceryl trinitrate mediated dilatation (GTN) followed each measurement of FMD. To measure the amount of catechins in the plasma, a blood sample was taken before each measurement of FMD. Data from 50 male participants were collected and analysed.

Results: Green tea induced a significant increase of FMD in comparison to water, thereby confirming other studies. However, EGCG did not improve FMD. The plasma concentration of EGCG was higher after intervention with EGCG than after green tea. In addition, no correlation was found between EGCG plasma levels and the magnitude of FMD. GTN did not show significant differences between the three interventions.

Conclusion: EGCG at a dosage of 200 mg is apparently not involved in the acute green tea-induced improvement of FMD.

1.2 Abstrakt (Deutsch)

„Einfluss von Epigallocatechingallat (EGCG) auf die Endothelfunktion im Menschen“

Einleitung: Epidemiologische Studien geben Hinweise darauf, dass ein inverser Zusammenhang zwischen Grünem Tee und dem Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen besteht. EGCG bildet den größten Anteil der Katechine im Grünen Tee und wird maßgeblich für die protektiven kardiovaskulären Effekte des Grünen Tees verantwortlich gemacht. In vitro konnte gezeigt werden, dass ein möglicher zugrundeliegender Mechanismus eine konzentrationsabhängige Steigerung der NO-Produktion in Endothelzellen sowie eine NO-abhängige Gefäßdilatation in isolierten Rattenaortenringen durch EGCG sein könnte. Mit der Frage, ob diese Annahmen auch in vivo gültig sind, wurde in der vorliegenden Arbeit der akute Effekt von 200 mg EGCG auf die Endothelfunktion im Menschen untersucht.

Methodik: Als Teilprojekt einer vierarmigen, randomisierten Cross-over Pilotstudie wurde der Effekt von 200 mg EGCG in verschiedenen Darreichungsformen (isoliertes EGCG, Grüner Tee, Kontrollarm Wasser) auf die Endothelfunktion untersucht. Es wurde die Flow-mediated Dilatation (FMD) vor sowie zwei Stunden nach Substanzeinnahme gemessen. Zudem schloss sich an jede FMD-Messung eine Messung der Nitro-vermittelten Dilatation (NMD) an. Vor jeder FMD-Messung erfolgte eine Blutentnahme zur Bestimmung der Katechinmenge im Plasma. Es wurden Daten von 50 männlichen Teilnehmern erhoben und ausgewertet.

Ergebnisse: Der Grüne Tee führte zu einer signifikanten Steigerung der FMD im Vergleich zum Kontrollarm Wasser, womit andere Studien bestätigt werden konnten. Nach Einnahme von EGCG konnte kein verbessernder Effekt auf die FMD gezeigt werden. Dabei waren die Plasmakonzentrationen von EGCG bei Intervention mit EGCG höher als nach Grünem Tee. In den Korrelationsanalysen konnte kein Zusammenhang zwischen der Menge des EGCG im Plasma und der FMD festgestellt werden. Die NMD zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Interventionen.

Schlussfolgerung: EGCG in einer Dosierung von 200 mg ist mit aller Wahrscheinlichkeit nach nicht an der akuten grünteinduzierten Verbesserung der FMD beteiligt.

2 Einleitung

2.1 Risikofaktoren der Atherosklerose

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen weltweit die häufigste Todesursache dar.¹ Ca. 15 Millionen Todesfälle wurden 2015 als Folge der ischämischen Herzkrankheit und des Schlaganfalls verzeichnet, ungefähr 27 % der globalen Gesamtsterbefälle.¹ 2015 waren in Deutschland 39 % der Todesfälle auf kardiovaskuläre Erkrankungen zurückzuführen.² Im Zeitraum 1998-2015 belegten die chronisch ischämische Herzkrankheit und der akute Myokardinfarkt die Plätze eins und zwei der deutschen Todesursachenstatistik.³

Eine der Hauptursachen für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen stellt die Atherosklerose dar. Dabei handelt es sich um eine systemische Erkrankung der großen und mittleren elastischen sowie muskulären Arterien, bei der sich pathologische Veränderungen in der Gefäßwand aufgrund chronisch entzündlicher Prozesse und Fetteinlagerungen ausbilden.⁴ Als Folge können Erkrankungen wie die koronare Herzkrankheit (KHK), Schlaganfall oder die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) auftreten. Daher kommt der frühzeitigen Diagnose und Therapie der Atherosklerose eine große Bedeutung zu. Das Vorhandensein von Risikofaktoren begünstigt die Entstehung der Atherosklerose. Hierzu zählen z. B. Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, Hypertonus, Nikotinabusus, Adipositas, ungesunde Ernährung oder sportliche Inaktivität.⁵

2.2 Endothel

2.2.1 *Funktion und Dysfunktion*

Das Endothel ist aus einschichtigem Plattenepithel aufgebaut, dem in der Regel eine Basalmembran und eine subendotheliale Schicht aufgelagert sind. Gemeinsam werden diese Strukturen als Tunica intima, die innere Gefäßschicht, bezeichnet.

Das Endothel bildet eine Barriere zwischen dem Intravasalraum und den anderen Gefäßschichten und ist an der Regulation des Stoff- und Gasaustausches beteiligt. Darüber hinaus erfüllt es eine Vielzahl weiterer Aufgaben. Über die Produktion verschiedener Substanzen üben die Endothelzellen Einfluss auf die lokale Bluthomöostase, die Proliferation der glatten Gefäßmuskulatur, das lokale Entzündungsgeschehen und die Zelladhäsion der Leuko- und

Thrombozyten an die Gefäßwand aus.⁶ Darüber hinaus ist das Endothel für die Regulation des Gefäßtonus von großer Bedeutung.

Der Tonus wird aus dem ständigen Zusammenspiel zwischen Gefäßkontraktion und -dilatation bestimmt. Der basale Gefäßtonus wird durch die intrazelluläre Kalziumkonzentration, den Bayliss-Effekt, die Produktion von Gewebemetaboliten und gefäßwirksamen Substanzen beeinflusst.⁷ Das Endothel ist in der Lage, auto- und parakrine sowie hormonelle Stimuli umzusetzen und dadurch den Tonus regional dem Bedarf anzupassen. Eine bedeutende Anzahl dilatierender und konstriktorischer Substanzen wie beispielsweise Stickstoffmonoxid (NO), Prostaglandin I₂ oder Endothelin werden von den Endothelzellen synthetisiert und abgegeben. Der „endothelium-derived hyperpolarizing factor“ (EDHF) ruft eine Gefäßdilatation hervor.⁸ Außerhalb der Endothelzellen gebildete gefäßwirksame Substanzen wie z. B. Angiotensin II oder Noradrenalin gelangen durch die Blutzirkulation zu den Endothelzellen.

Das in den Endothelzellen gebildete NO stellt einen bedeutenden Faktor für die lokale Tonusregulation dar. Erstmals wurde dessen dilatierende Wirkung von Furchgott und Zawadzki 1980 beschrieben.⁹ Das gasförmige Molekül wird aus der Aminosäure L-Arginin und O₂ unter Bildung von L-Citrullin synthetisiert. Die endotheliale NO-Synthase (eNOS) katalysiert bei Vorhandensein des Kofaktors Tetrahydrobiopterin (BH₄) diese Reaktion.¹⁰ Bei der eNOS handelt es sich um ein konstitutiv vorkommendes Enzym, das insbesondere in Endothelzellen der blutzuführenden Gefäße exprimiert wird.¹¹ Über einen intrazellulären Kalziumanstieg erfolgt die enzymatische Aktivierung, mittels Phosphorylierung wird es reguliert.⁷ Insgesamt stellt der Regulationsprozess jedoch einen komplexen Mechanismus dar, der sich aus verschiedenen Komponenten zusammensetzt.¹¹ Das gebildete NO diffundiert in die Tunica media, der mit glatten Muskelzellen ausgestatteten Muskelschicht des Gefäßes. Dort stimuliert es die lösliche Guanylatcyclase, die den Anstieg zyklischen Guanosinmonophosphates (cGMP) bewirkt. Durch die Aktivierung cGMP-abhängiger Proteinkinasen kommt es zur intrazellulären Kalziumabnahme. Die glatten Gefäßmuskelzellen erschlaffen, das Gefäß dilatiert.

Das Endothel reagiert auf mechanische Stimuli, indem es diese signaltransduktorisch umsetzt.¹² Bereits unter Ruhebedingungen wird kontinuierlich NO produziert. Die durch den Herzschlag verursachten pulsatorischen Bewegungen der Gefäßwände und der Blutfluss tragen zur basalen NO-Freisetzung bei.⁷ Zudem sind die Endothelzellen in der Lage in Abhängigkeit von der Scherspannung NO zu bilden. Dabei wird bei Erhöhung der mechanischen Scherspannung (Shear

Stress) auf das Endothel die NO-Produktion gesteigert. Die Scherspannung ist von der Blutflussgeschwindigkeit (V), der Blutviskosität (η) und dem Gefäßdurchmesser (D) abhängig.¹³ Damit kann bei Bedarf eine ausreichende Blutzufuhr der distal gelegenen Gefäßabschnitte gewährleistet und die Blutversorgung den metabolischen Bedürfnissen der einzelnen Organe angepasst werden. Auch Agonisten wie Acetylcholin oder Bradykinin stimulieren die NO-Produktion, indem sie die eNOS aktivieren.¹¹ Neben der gefäßerweiternden Wirkung hemmt NO die Thrombozytenaggregation und wirkt somit der Thrombusbildung entgegen. Außerdem können NO antiproliferative und antiinflammatorische Effekte zugeschrieben werden.⁶

Endotheliale Funktionsstörungen führen zu einem Ungleichgewicht zwischen Gefäßkonstriktion und Gefäßdilataion, mit Verlagerung des Gleichgewichts in Richtung der konstriktorischen Effekte. Die Verminderung der endothelvermittelten Vasodilatation kann dabei als funktionelles Charakteristikum der endothelialen Dysfunktion gewertet werden.¹⁴

Das Vorhandensein kardiovaskulärer Risikofaktoren wie Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, Bluthochdruck oder Rauchen fördern die Entstehung der endothelialen Dysfunktion.⁴ Zudem werden erhöhte CrP-Spiegel und Adipositas als begünstigende Faktoren genannt.^{15,16} Darüber hinaus werden im Blut zirkulierende Mikropartikel, bestehend aus Membranfragmenten mit einer Größe von 0,1-1,0 μm , als weitere Faktoren für die Entstehung der endothelialen Dysfunktion angesehen. Im Endothelium sind sie über eine Zunahme von oxidativem Stress und Verminderung der NO-Konzentration in der Lage die Gefäßfunktion negativ zu beeinflussen.¹⁷

Die endotheliale Dysfunktion spielt sowohl im Frühstadium als auch in fortgeschrittenen Stadien der Atherosklerose eine Rolle.¹⁸ Im initialen Stadium der Atherosklerose finden sich noch keine morphologischen Auffälligkeiten, jedoch bereits Funktionsstörungen des Endothels. Erste funktionelle Störungen sind mit der Endothelfunktionsprüfung messbar. Die endotheliale Dysfunktion kann daher als frühzeitige Messgröße in der Atherogenese angesehen werden.¹⁹ Ein inverser Zusammenhang zwischen der Funktionalität des Endothels und dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse wurde beschrieben.^{20,21} Die endotheliale Funktionsprüfung hätte somit das Potenzial als ergänzendes diagnostisches Tool zur individuellen Risikostratifizierung oder als Messgröße für Interventionsstudien eingesetzt zu werden.¹⁸

2.2.2 *Möglichkeiten der Endothelfunktionsmessung*

Zur Endothelfunktionsprüfung stehen mehrere Messmethoden, darunter invasive und nicht-invasive Verfahren, zur Verfügung.^{6,22,23} Dabei wird vor allem die endothelvermittelte Vasodilatation in den blutzuführenden Arterien, den Koronararterien und den Widerstandsgefäßen gemessen. Pharmakologische oder physiologische Reize werden genutzt, um das Endothel zur NO-Synthese anzuregen. Die Amplitude der Vasodilatation ist dabei maßgeblich von der NO-Syntheseleistung abhängig und kann zur Prüfung der Endothelfunktion herangezogen werden. Nachstehend werden vier Möglichkeiten der Endothelfunktionsmessung beschrieben.

Koronarangiographie mit intrakoronarer Injektion von Acetylcholin

Bereits 1986 wurde diese invasive Methode von Ludmer et al. beschrieben.²⁴ Mittels Koronarangiographie erfolgt die intrakoronare Applikation des endothelvermittelten Vasodilatators Acetylcholin (ACh). ACh ruft im intakten Koronarendothel eine endothelvermittelte Gefäßdilataion hervor. Ist das Endothel geschädigt, so wirkt ACh gefäßverengend. Der Gefäßdurchmesser wird vor und nach ACh-Gabe gemessen und daraus die Endothelfunktion der epikardialen arteriellen Gefäße abgeleitet.

Venöse Verschlussplethysmographie am Unterarm

Die venöse Verschlussplethysmographie am Unterarm ist eine minimal-invasive Methode, die vor allem zur Beurteilung der endothelialen Funktion der Widerstandsgefäße verwendet wird.⁶ Hierbei werden Änderungen im Blutfluss nach intrabrachialer Injektion einer vasodilatierenden Substanz wie z. B. ACh mittels Dehnungsmessstreifen-Plethysmographie (DMS Plethysmographie) am Unterarm gemessen.²³ Anhand des gesteigerten Blutflusses werden Dosis-Wirkungskurven in Abhängigkeit der injizierten Menge erstellt und die Endothelfunktion daraus abgeleitet. Außerdem können Antagonisten wie N^G-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA), ein Inhibitor der NOS, injiziert werden, um den Anteil der NO-vermittelten Dilatation an der Gesamterweiterung des Gefäßes abzuschätzen.²²

Fingerpuls-Plethysmographie (EndoPAT)

Hierbei handelt es sich um eine nicht-invasive Methode zur Messung der Endothelfunktion. Veränderungen der Pulswellenamplitude (PWA) in der Fingerkuppe während der reaktiven Hyperämie werden dabei mittels peripherer arterieller Tonometrie (PAT) nach 5-minütiger

suprasystolischer Okklusion aufgenommen und durch eine computergestützte automatisierte Software analysiert (EndoPAT; ItamarMedical, Caesarea, Israel).²²

Flow-mediated Dilatation (FMD) – flussvermittelte Dilatation

Die FMD ist eine der am häufigsten angewendeten Methoden zur Messung der Endothelfunktion.¹⁹ Sie prüft die endotheliale Funktion der Arteria brachialis (A. brachialis). Die FMD korreliert mit der koronaren Endothelfunktion und kann daher als nicht-invasive Alternative ihrer Funktionsprüfung herangezogen werden.²⁵ Sie wurde erstmals von Celermajer et al. 1992 beschrieben.²⁶ Infolge einer 5-minütigen Unterbrechung des Blutflusses im Bereich des Unterarmes wird eine reaktive Hyperämie in der A. brachialis erzeugt. Der damit verbundene Anstieg der Scherspannung führt zu einer gesteigerten NO-Freisetzung im gesunden Endothel. Der Gefäßdurchmesser und Blutfluss der A. brachialis werden dabei kontinuierlich mittels eines hochauflösenden Ultraschallgerätes (B-Mode und Pulsed-Wave-Doppler) dargestellt. Während der reaktiven hyperämischen Phase zeigt sich ein gesteigerter Blutfluss im Doppler. Die prozentuale maximale Vergrößerung des Gefäßdurchmessers während der Hyperämie im Vergleich zum Ruhedurchmesser wird als FMD angegeben. Statt am Unterarm kann die Unterbrechung des Blutflusses auch am Oberarm proximal des Schallkopfes erzeugt werden. Hierbei werden größere FMD-Antworten erreicht, jedoch werden zusätzlich zum NO andere gefäßdilatorische Mechanismen vermutet.²⁷ In den 2011 erschienenen Guidelines von Thijssen et al. wird empfohlen, die Ischämie distal des Schallkopfes am Unterarm auszulösen.²⁸ Die gefäßerweiternde Wirkung soll somit hauptsächlich NO-vermittelt ablaufen und kann als Marker für die NO-Bioverfügbarkeit verwendet werden.²⁷

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass mithilfe der FMD das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse bei Hochrisikopatienten unabhängig vom Vorliegen anderer Risikofaktoren vorhergesagt werden kann.²⁹ Daher kommt der Methode in der Prognose für kardiovaskuläre Ereignisse eine Bedeutung zu. Da die Durchführung der FMD-Messung jedoch aufwendig ist, findet sie im klinischen Alltag nur wenig Anwendung und wird vor allem im Rahmen klinischer Studien verwendet.

Im Anschluss an die FMD-Messung wird häufig die Nitro-vermittelte Dilatation (NMD) durch die exogene Zufuhr von Nitraten zur Erfassung der endothelunabhängigen Vasodilatation durchgeführt. Sie gibt Aufschluss über die maximale Dilatation des Gefäßes. Die prozentuale Vergrößerung des Gefäßdurchmessers nach Nitro-Applikation wird im Vergleich zum Ruhedurchmesser als NMD angegeben.

In früheren FMD-Studien erfolgte die Auswertung der FMD- und NMD-Messungen offline durch manuelle Auswertung der B-Mode-Ultraschall-Bildsequenzen. Seit einigen Jahren stehen computergestützte Programme mit automatisierter Edge-Detection-Software zur Verfügung, die eine kontinuierliche Aufzeichnung des Gefäßdurchmessers und des Blutflusses in Echtzeit ermöglichen und die Auswertung automatisch vornehmen.³⁰

2.3 Grüner Tee

Nach Wasser ist Tee das häufigste konsumierte Getränk weltweit. Bereits seit mehreren tausend Jahren wird Tee in Asien kultiviert und getrunken. Ihren Ursprung hat die Teepflanze in Südostasien. Heute wird sie in über 30 Ländern angebaut.³¹ Tee wird aus der Spezies *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze gewonnen. Viele der heutigen Teesorten stammen von den beiden Unterarten *Camellia sinensis* var. *sinensis* und *Camellia sinensis* var. *assamica* ab, die sich hauptsächlich in ihrer Blattgröße unterscheiden. Grüner Tee wird meistens aus *Camellia sinensis* var. *sinensis* hergestellt.³²

Abhängig vom Herstellungsprozess werden im Wesentlichen drei Teesorten unterschieden: Grüner Tee, Oolong Tee und Schwarzer Tee. In Grünem Tee bleibt durch den Verarbeitungsprozess ein Großteil der im Tee befindlichen Katechine erhalten.³¹ Dieses wird durch ein zügig herbeigeführtes Erhitzen der Teeblätter nach der Ernte ermöglicht. Die Produktion von Grünem Tee umfasst die Schritte Pflücken, Ausbreiten, Fixierung, Rollen, Formen und Trocknen.³² Unmittelbar nach dem Pflücken werden die Teeblätter für 1-3 Stunden ausgebreitet und anschließend für ca. 10-15 Minuten erhitzt. Hierdurch werden die in den Teeblättern befindlichen Enzyme inaktiviert, wodurch die Oxidation der Teepolyphenole verhindert wird. Dieser Prozessionsschritt wird als Fixierung bezeichnet. Nach der Fixierung werden die Teeblätter zwischen 10 Minuten und einer Stunde gerollt, was zur Zerstörung der Zellwände führt. Die Feuchtigkeit entweicht, zudem nehmen die Blätter ihre endgültige Form an. Zuletzt werden die Blätter getrocknet. Schwarzer Tee unterscheidet sich von Grünem Tee dadurch, dass im Herstellungsprozess die in den Teeblättern enthaltenden Katechine mittels der ebenfalls in den Teeblättern befindlichen Polyphenoloxidasen oxidiert werden und höhermolekulare Verbindungen entstehen.³¹ Oolong Tee steht in seiner Oxidationsstufe zwischen dem Grünen und dem Schwarzen Tee. Er wird nur einem kurzen Oxidationsprozess unterzogen. Von der jährlichen Produktion von getrocknetem Tee entfallen ca. 20 % auf Grünen Tee und 2 % auf Oolong Tee.

Aus dem übrigen Tee wird Schwarzer Tee hergestellt.³¹ Dabei wird in den asiatischen Ländern vor allem Grüner Tee und in den westlichen Nationen Schwarzer Tee getrunken. Im Jahr 2015 entfielen in Deutschland 30 % des Teekonsums auf Grünen Tee, dieses entsprach einem Pro-Kopf-Verbrauch von 8,4 Litern.³³ In der Regel wird das Teegetränk aus getrockneten jungen Teeblättern durch den Aufguss mit heißem Wasser zubereitet. Aber auch die Zubereitung mit frischen Teeblättern findet Anwendung.

2.3.1 *Inhaltsstoffe*

Bestandteile des Tees sind u. a. Polyphenole wie Katechine, Quercetin und Kaempferol, Alkaloide wie Koffein und Theobromin, Aminosäuren, Kohlenhydrate, Proteine, Chlorophyll, Mineralien und volatile Stoffe.³⁴ Tabelle 2-1 zeigt die chemische Zusammensetzung eines frischen Teeblatts in % des Trockengewichts. Abhängig von der Teesorte gibt es Unterschiede in der Zusammensetzung der einzelnen Teepolyphenole, wobei die Gesamtmenge an Polyphenolen zwischen den Teesorten ähnlich ist.³⁵ Polyphenole sind chemische Verbindungen, die als Sekundärmetaboliten in vielen Pflanzen vorkommen.³⁶ Es handelt sich um aromatische Verbindungen, die am aromatischen Ring mindestens zwei gebundene Hydroxygruppen enthalten und in Abhängigkeit ihrer chemischen Grundstruktur in verschiedene Untergruppen eingeteilt werden. Der Reifegrad zum Erntezeitpunkt, Umwelteinflüsse, der Verarbeitungsprozess sowie die Lagerung haben Einfluss auf den Polyphenolgehalt der Pflanzen.³⁶

Tabelle 2-1: Chemische Bestandteile eines grünen Teeblatts

(modifiziert nach Senthil Kumar RS, Murugesan S, Kottur G, Gyamfi D. In Preedy VR. Tea in Health and Disease Prevention. 1. Auflage. © 2013,p.51.)³⁷, wiederveröffentlicht mit freundlicher Genehmigung von Elsevier Science and Technology Journals vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

Bestandteil	Frischer Spross (% des Trockengewichts)
Protein	10-20 (%)
Zellulose, Lignin, Stärke, etc.	20-30 (%)
Chlorophyll und Karotenoide	2-3 (%)
Lipide	3-9 (%)
Koffein	2-4 (%)
Einfache Polyphenole	25-35 (%)
Aminosäuren	3-4 (%)
Mineralien	4-8 (%)
Lösliche Zucker	4-7 (%)
Volatile Stoffe	In Spuren enthalten

Die Angaben erfolgten in % des Trockengewichts.

Flavonoide bilden eine weit verbreitete und wichtige Untergruppe der Polyphenole.³⁸ Sie sind Bestandteil vieler Pflanzenarten und kommen in Früchten, Gemüse, Tee, Kakao oder Rotwein vor. Alle Flavonoide sind aus demselben Grundgerüst aufgebaut (C₆-C₃-C₆). Zwei aromatische Ringe (A- und B-Ring) sind über drei Kohlenstoffatome miteinander verbunden, die wiederum einen oxigenierten heterozyklischen Ring (C-Ring) bilden (Abbildung 2-1).³⁸ In Abhängigkeit von der Struktur des heterozyklischen Rings werden sechs Unterklassen der Flavonoide unterschieden: Flavonole, Flavone, Isoflavone, Flavanone, Anthocyanidine und Flavanole.³⁶

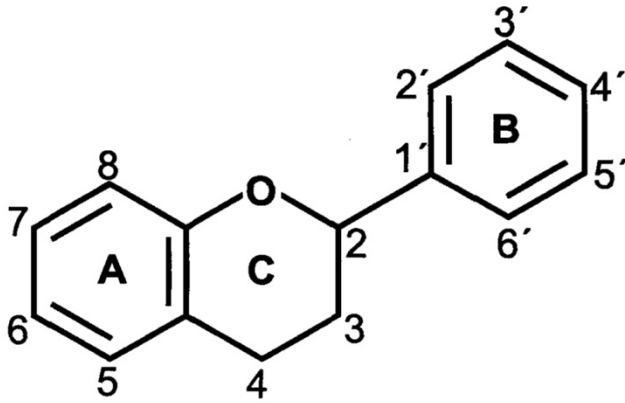


Abbildung 2-1: Grundstruktur der Flavonoide

(aus Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutr Rev 1998;56(11):317-33.)³⁸, wiederveröffentlicht mit freundlicher Genehmigung von Oxford University Press

Grüner Tee ist besonders reich an Flavanolen. Zu den Flavanolen zählt die Katechingruppe, zu der Catechin, Epicatechin (EC), Gallocatechin (GC), Epigallocatechin (EGC), Epicatechingallat (ECG) und Epigallocatechingallat (EGCG) gehören.³¹ Catechin und EC zeichnen sich durch zwei Hydroxygruppen und EGC und GC durch drei Hydroxygruppen am B-Ring des Flavanolgerüsts aus. Durch Austausch der Hydroxygruppe durch Gallussäure am Pyran-Ring bilden sich Katechingallate, ECG und EGCG.³¹ Im Schwarzen Tee entstehen durch den Fermentierungsprozess die höhermolekularen Theaflavine und Thearubigine.³¹ Es finden sich ca. 85 % weniger Katechine im Schwarzen als im Grünen Tee.³⁴ Zur Übersicht wird im Folgenden eine Auswahl an Inhaltsstoffen eines Grün- und Schwarzteegetränks genannt (nach Graham, 1992)³¹:

- Katechine: im Grünen Tee 30-42 %; im Schwarzen Tee 3-10 % des Trockengewichts
- Flavonole: im Grünen Tee 5-10 %; im Schwarzen Tee 6-8 % des Trockengewichts
- Methylxanthine: im Grünen Tee 7-9 %; im Schwarzen Tee 8-11 % des Trockengewichts
- Theaflavine: im Schwarzen Tee 3-6 % des Trockengewichts
- Thearubigine: im Schwarzen Tee 12-18 % des Trockengewichts

Aufgrund des nur kurzen Oxidationsprozesses setzt sich Oolong Tee aus Inhaltsstoffen sowohl des Schwarzen als auch des Grünen Tees zusammen.³¹ Es findet sich eine Mischung der einzelnen Katechine und höhermolekularen Verbindungen, die sich jedoch in ihren Anteilen von Grünem und Schwarzem Tee unterscheiden. Es wurden aber auch zusätzliche Inhaltsstoffe beschrieben, die nicht im Grün- oder Schwarztee nachzuweisen waren (Ester des EGC (*p*-Hydroxybenzoyl und Cinnamyl), andere Bisflavonole (Theasinensine), Oolongtheanin, Oolonghomobisflavone, Ester des EGCG (Ascorbinsäure am Pyranring), Proanthocyanidindimere); nach Graham 1992.³¹

Katechine machen ca. 8-20 % des Trockengewichts von Oolong Tee-Extrakten aus.³¹ Die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe der drei Teesorten kann jedoch in Abhängigkeit der Anbauregion und des Verarbeitungs- und Zubereitungsprozesses deutlich variieren.³¹

Die Bioverfügbarkeit der Grüntee catechine über die Aufnahme im Dünndarm ist gering. Im Menschen werden nur ca. 8-17 % der Katechine über den Dünndarm resorbiert.³⁹ Zhang et al. zeigten in einer in vitro Studie mit humanen intestinalen Caco-2-Zellen, dass die Absorption von apikal hauptsächlich parazellulär erfolgt.⁴⁰ Ein signifikanter transepithelialer Transport der Katechine wurde nicht beobachtet. Deren Schlussfolgerung resultierte aus den niedrigen Werten der Permeabilitätskoeffizienten der einzelnen Katechine (von apikal nach basal: EGCG $0,83 \times 10^{-7}$ cm/s, ECG $0,96 \times 10^{-7}$ cm/s, EGC $1,49 \times 10^{-7}$ cm/s, EC $1,39 \times 10^{-7}$ cm/s).⁴⁰ Zudem konnte in dieser Studie demonstriert werden, dass die Katechine aktiv über MDR-Transporter (multi-drug-resistance protein) transportiert und in das Darmlumen sezerniert werden können. Die nicht-gallierten Katechine EC und EGC zeigten dabei eine bessere Affinität gegenüber den MDR-Transportern als EGCG und ECG.⁴⁰ Die über den Dünndarm aufgenommenen Katechine gelangen über die Pfortader in die Leber, wo sie Konjugationsreaktionen unterzogen werden. Insbesondere sind dabei die Glucuronidierung, Sulfatierung und Methylierung von Bedeutung.³⁶ Anschließend gelangen sie in den systemischen Blutkreislauf oder werden über die Gallenflüssigkeit zurück in den Magen-Darm-Trakt befördert.⁴¹ Neben der Verstoffwechslung in der Leber wird ein Teil der Katechine bereits in den Enterozyten des Dünndarms über Phase-II-Reaktionen metabolisiert.^{40,41} Auch die entstandenen Metabolite sind Substrate von MDR-Transportern und können somit zum Teil aktiv zurück in das Darmlumen sezerniert werden.⁴⁰ Der andere Teil gelangt über die Pfortader zur Leber.⁴¹ Die nicht über den Dünndarm resorbierten Katechine sowie deren Metabolite erreichen den Dickdarm. In einer Studie von Stalmach et al. konnte bei ileostomierten Patienten 69 % der aufgenommenen Katechinmenge im Ileostoma nachgewiesen werden, davon lagen 33 % in der Ursprungsform und 37 % als Phase-II-Metaboliten vor.⁴² 23 unterschiedliche Metabolite wurden im Ileostoma nachgewiesen.⁴² Im Dickdarm werden die Katechine und deren Metabolite durch Mikroorganismen der Darmflora metabolisiert.³⁹ Hierbei finden verschiedenste Reaktionen wie zum Beispiel Hydrolyisierungen, Reduktionen, Decarboxylierungen, Demethylierungen, Isomerisierungen oder Dehydroxylierungen Anwendung. Zudem kommt es zu Ringspaltungen, wodurch Valerolactone und Phenolsäuren entstehen, die leicht über den Dickdarm in den Organismus aufgenommen werden können. In einer Humanstudie von Ottaviani et al. wurde

gezeigt, dass 82 % des radioaktiv markierten Epicatechins aufgenommen und über die Niere ausgeschieden wurde, wovon ca. 70 % auf durch Mikroorganismen entstandene Metabolite entfielen.⁴³ Werden also sowohl die durch den Dünndarm resorbierten Katechine und deren Metabolite als auch die im Dickdarm entstandenen Metabolite berücksichtigt, ist die Bioverfügbarkeit der Katechine höher.⁴¹

Van Amelsvoort et al. untersuchten die Plasma- und Urinkonzentrationen der Teekatechine EGC, ECG und EGCG nach einmaliger oraler Aufnahme der einzelnen Katechine mit einer Stoffmenge von jeweils 1,5 mmol an zehn gesunden Teilnehmern.⁴⁴ Gemessen wurden die dekonjugierten Katechine nach Desulfatierung und Deglucuronidierung. Dabei wurden für EGC maximale Plasmakonzentrationen von 5,0 µmol/l nach 1,4 Stunden, für ECG von 3,1 µmol/l nach 4 Stunden und für EGCG von 1,3 µmol/l nach 2,9 Stunden erreicht (EGC > ECG > EGCG). Lee et al. bestätigen diese Ergebnisse.⁴⁵ Sie untersuchten die pharmakokinetischen Eigenschaften der Katechine (EGC, EC, EGCG) nach Aufnahme von Grünem Tee (20 mg/kg Körpergewicht) und isoliertem EGCG (2 mg/kg Körpergewicht) in acht gesunden Teilnehmern. Auch hier zeigten sich nach Grüntee für EGCG die geringsten maximalen Plasmakonzentrationen (77,9 ng/ml nach 1,6 Stunden) im Vergleich zu EGC (223,4 ng/ml nach 1,3 Stunden) und EC (124,03 ng/ml nach 1,3 Stunden). Es wurden aber auch interindividuelle Unterschiede festgestellt.⁴⁵ In einer Studie von Fung et al. war eine Stunde nach Gabe von Grünem Tee die Verteilung der Teekatechine im Plasma prozentual gemessen an der Aufnahmemenge (EGCG: 214 µmol, EGC: 114 µmol, ECG: 46 µmol, EC: 44 µmol, Catechin: 8 µmol) folgende: ECG (0,3 %) > EGC (0,17 %) > EGCG (0,14 %).⁴⁶ Es wurde hierbei die Summe der konjugierten und dekonjugierten Katechine verwendet. EGCG lag mit 310 nmol/l zwar in der höchsten Konzentration im Plasma vor, jedoch wies ECG im Vergleich zur aufgenommenen Menge eine bessere Bioverfügbarkeit im Plasma als EGCG auf (0,3 % vs. 0,14 %). Eine bessere Bioverfügbarkeit von ECG wurde auch bereits von van Amelsvoort postuliert.⁴⁴ In einer Humanstudie von Müller et al. wurden nach oraler Aufnahme von 600 ml Grünem Tee mit 1 mg Catechin, 15,3 mg Epicatechin, 6,7 mg ECG und 55,4 mg EGCG für Catechin maximale Plasmakonzentrationen von 16 – 22 nmol/l, für Epicatechin im Bereich zwischen 25 – 30 nmol/l, für ECG im Bereich zwischen 70 – 80 nmol/l und für EGCG im Bereich um ca. 30 nmol/l gemessen.⁴⁷ Dabei wurden die Katechinplasmakonzentrationen (Summe aus unkonjugierten, glucuronidierten und sulfatierten Katechinen) vor und 1, 2, 3, 5 und 8 Stunden nach Intervention bestimmt. In einer Humanstudie von Stalmach et al. wurde die Bioverfügbarkeit der einzelnen Grüntee catechine und deren Metaboliten an 10 Teilnehmern untersucht.⁴⁸ Es wurden 500 ml Grüntee mit 648 µmol Gesamtkatechingehalt (EGC, EGCG, EC, ECG, GC, Catechin,

GCG) verabreicht und nach oraler Aufnahme die Katechine und deren Metaboliten im Plasma und Urin im Zeitraum von 24 Stunden gemessen. Es fanden sich das unmetabolisierte EGCG und ECG sowie Metabolite des EGC und EC im Plasma. Dabei wurden Glucuronide, Sulfate, Methylsulfate und Methylglucuronide detektiert, wovon das (Epi)gallocatechin-*O*-glucuronid am meisten im Plasma vorlag (C_{\max} 126 nMol).⁴⁸ Auch in der Studie von Lee et al. und Fung et al. lag EGCG vor allem in freier Form im Plasma vor, wohingegen EGC und EC hauptsächlich konjugiert waren.^{45,46} Die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Plasmakonzentrationen der verschiedenen Teekatechine und derer Metabolite variierte zwischen 1,6 bis 2,3 Stunden in der Studie von Stalmach et al. 2009 und zwischen 1,3 bis 1,6 Stunden für EGCG, EGC und EC in der Studie von Lee et al. 2002.^{45,48} In der Studie von Müller et al. wurden die maximalen Plasmakonzentrationen für EC, ECG und EGCG nach 2 Stunden erreicht. Catechin wies nach 1, 2 und 8 Stunden ähnlich hohe Plasmakonzentrationen im Vergleich zur Baselinemessung auf, wurde jedoch nur bei einem kleinen Anteil der Teilnehmer im Plasma nachgewiesen.⁴⁷ Katechine werden schnell aus dem Organismus eliminiert und weisen eine kurze Halbwertszeit auf (Durchschnittswert: EGCG 3,5 h \pm 0,3; EC 2,5 h \pm 0,4; EGC 2,3 h \pm 0,2).⁴⁹ Sie werden entweder renal oder biliär ausgeschieden. Nach 24 Stunden waren die Katechine und deren Metabolite im Plasma nicht mehr nachweisbar.⁴⁸ Dabei wurden im Urin 15 Metabolite des EC und EGC nachgewiesen, mit 4'-*O*-Methyl-(epi)gallocatechin-*O*-sulfat als das Metabolit mit den höchsten Werten (19,8 μ mol/24 h). Der Großteil der Katechinmetabolite wurde in den ersten 12 Stunden ausgeschieden (6,8 % der oral aufgenommenen Katechinmenge). Nach 24 Stunden waren im Urin insgesamt 8,1 % der aufgenommenen Polyphenolmenge als Katechinmetabolite nachweisbar.⁴⁸ Auch Lee et al. zeigten, dass mehr als 90 % der Gesamturinkatechinmenge innerhalb der ersten 8 Stunden ausgeschieden wurde.⁴⁵ Das reine EGCG wurde im Urin nicht nachgewiesen.^{44-46,48} EGCG und ECG werden vermutlich über die Gallenflüssigkeit ausgeschieden.⁴⁴ In einer Studie von Del Rio et al. wurde ergänzend die Ausscheidung der Dickdarmmetabolite untersucht.⁵⁰ Nach Aufnahme von 400 ml Grünem Tee (Flavan-3-ol-Gehalt ca. 400 μ mol) wurden 36 % der oral verabreichten Katechine in Form von Valerolactonen über die Niere ausgeschieden.

In einem Review von Campesi et al. wurden Unterschiede bei der Biotransformation von Phenolen zwischen dem männlichen und weiblichen Geschlecht verschiedener Spezies beschrieben.⁵¹ Eine abschließende Aussage konnte im Review aber nicht getroffen werden, da das Wissen darüber zurzeit noch lückenhaft ist. Zwei Interventionsstudien zeigten jedoch keine Differenz in der Kinetik der Katechine zwischen den beiden Geschlechtern.^{52,53} In der Humanstudie von Warden

et al. mit 15 Teilnehmern wurden über einen Tag verteilt Schwarzer Tee mit einer Gesamtdosis von 400 mg Katechinen verabreicht und anschließend über 24 Stunden mehrmals die Katechinplasma- und Urinkonzentrationen sowie die Katechinkonzentrationen im Stuhl über 72 Stunden gemessen.⁵² In der zweiten Studie wurde 84 Teilnehmern eine Kapsel mit Grüntee-Extrakt (Inhalt: 150 mg EGCG, 18 mg EGC, 35 mg ECG, 10 mg EC, 1,3 mg Koffein) zwei Mal täglich über 4 Tage verabreicht, am 5. Tag wurde morgens eine Kapsel eingenommen und es erfolgten mehrere Blutentnahmen zur Bestimmung der pharmakokinetischen Parameter (vor Kapseleinnahme zur Baseline-Messung sowie 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 Stunden nach Kapseleinnahme).⁵³ In der Kovariatenanalyse hatte das Geschlecht keinen Einfluss auf die Pharmakokinetik von EGCG, EGC und ECG. Die Einnahme von oralen Kontrazeptiva hatte jedoch die Verteilung von EGC im Organismus beeinflusst, die von EGCG und ECG aber nicht.⁵³

Die Beschaffenheit der Darmflora des Menschen unterscheidet sich in Abhängigkeit vom Alter.⁵⁴ Es wird angenommen, dass eine mit dem Alter zunehmend modifizierte Darmflora die Biotransformation von pflanzlichen Inhaltsstoffen beeinflusst.⁵⁵ In einer Interventionsstudie konnten nur geringe Unterschiede in der Absorption, Metabolisierung und Ausscheidung von Kakaoflavanolen zwischen zwei Altersgruppen (18 – 35 Jahre und 65 – 80 Jahre, beide männlich) gefunden werden.⁵⁶ Scholl et al. berichteten, dass sich in der Kovariatenanalyse kein Effekt des Alters auf die Kinetik des EGCG, ECG und EGC zeigte. Dabei wurden Männer und Frauen mit einer Altersspanne von 21 – 32 bzw. 19 – 49 Jahren untersucht.⁵³

Die Katechine des Grünen Tees haben antioxidative, antiinflammatorische, antiproliferative sowie antithrombotische Wirkungen, weshalb sie den atherosklerotischen Erkrankungsprozess hemmen.^{57,58} Ex vivo wurde gezeigt, dass Tee-induzierte vasorelaxierende Wirkungen über die Stimulation der eNOS und eine nichtselektive Hemmung der Aktivität der Phosphodiesterase vermittelt werden.^{59,60} Abbildung 2-2 gibt eine Übersicht über die Wirkungen der Teepolyphenole auf das kardiovaskuläre System und den daran beteiligten molekularen Mechanismen.

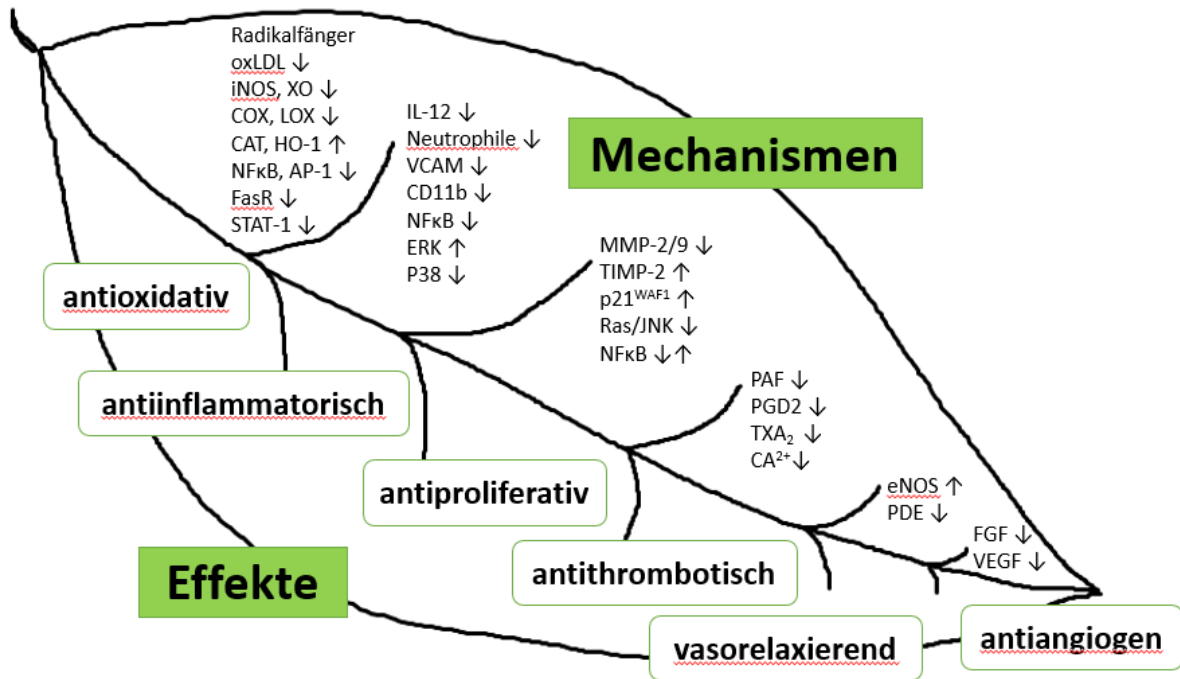
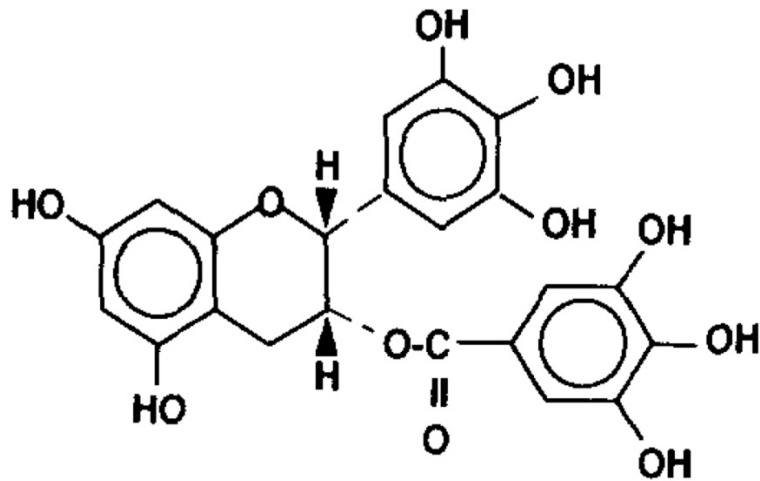


Abbildung 2-2: Effekte und molekulare Wirkmechanismen der Teekatechine

(modifiziert nach Stangl V, Dreger H, Stangl K, Lorenz M. Molecular targets of tea polyphenols in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 2007;73(2):348-58,doi:10.1016/j.cardiores.2006.08.022.)⁵⁷, wiederveröffentlicht und übersetzt mit freundlicher Genehmigung von Oxford University Press im Namen der European Society of Cardiology vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc. OUP und die ESC sind für die Genauigkeit der Übersetzung nicht verantwortlich. Die Verantwortung für die Übersetzung der Abbildung trägt ausschließlich der Autor der vorliegenden Dissertation.

EGCG ist das bedeutendste Teekatechin und wird vor allem für die biologischen Effekte des Grünen Tees verantwortlich gemacht.⁵⁷ Es bildet mit 7-13 % des Trockengewichtes den größten Anteil der Katechine im Grünen Tee.³¹ Eine Tasse Grüner Tee enthält zwischen 20 und 100 mg EGCG.³⁵ Die chemische Struktur von EGCG ist in Abbildung 2-3 dargestellt.



(-) Epigallocatechin gallate

Abbildung 2-3: Chemische Struktur des EGCG

(aus Graham HN. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med* 1992;21(3):334-50.)³¹, wiederveröffentlicht mit freundlicher Genehmigung von Elsevier Science and Technology Journals vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

2.3.2 Wirkungen von Grünem Tee auf das kardiovaskuläre System

In einer 2016 veröffentlichten Metaanalyse wurde beschrieben, dass der Konsum von Grünem Tee mit einem verminderten Risiko für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen einhergeht.⁶¹ Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Menge des aufgenommenen Grünen Tees und dem Risiko der Gesamtsterberate sowie der Sterberate durch kardiovaskuläre Erkrankungen konnte dagegen nicht festgestellt werden.⁶¹ In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2015 konnte hingegen ein vermindertes Risiko für die Gesamtsterberate sowie für das Auftreten tödlicher kardialer Komplikationen durch vermehrten Konsum von Grünem Tee gezeigt werden.⁶² In der Ohsaki-Studie, einer prospektiv angelegten Kohortenstudie mit über 40.000 Teilnehmern in Japan, wurde ein inverser Zusammenhang zwischen dem Konsum von Grünem Tee und der Mortalität durch kardiovaskuläre Erkrankungen beschrieben.⁶³ Die protektiven Effekte auf die Mortalität waren dabei bei Frauen stärker ausgeprägt als bei Männern. In einer prospektiven chinesischen Kohortenstudie, die ausschließlich mit Männern durchgeführt wurde, konnten die Ergebnisse der Ohsaki-Studie bestätigt werden.⁶⁴ Es zeigte sich ein inverser Zusammenhang zwischen Grünteeconsum und der Sterberate durch kardiovaskuläre Erkrankungen.⁶⁴ Es gibt aber auch Studien, die keinen protektiven Effekt feststellen konnten. In einer Kohortenstudie mit ca. 2.800 Teilnehmern konnte kein Zusammenhang zwischen dem Genuss von Grünem Tee und der Gesamtmortalität bei japanischen Männern und Frauen gefunden werden.⁶⁵

In einer 2013 veröffentlichten Übersicht mit Daten aus 11 randomisiert-kontrollierten Interventionsstudien mit einer Follow-up Periode von ≥ 3 Monaten wurden die Wirkungen von Grünem und Schwarzen Tee in Bezug auf das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse sowie auf kardiovaskuläre Risikofaktoren (v. a. Lipidprofil, systolischer und diastolischer Blutdruck) untersucht.⁶⁶ Dabei wurden in geringem Maß in vier Studien mit Schwarzem Tee und in drei Studien mit Grünem Tee vorteilhafte Auswirkungen auf die kardiovaskulären Risikofaktoren gezeigt. Insgesamt sieben der 11 randomisiert-kontrollierten Interventionsstudien testeten die Effekte von Grünem Tee oder Grüntee-Extrakt in Hinblick auf kardiovaskuläre Risikofaktoren mit gesunden oder vorerkrankten Studienteilnehmern. Bogdanksi et al. konnten eine signifikante Verbesserung von Blutdruck, Insulinresistenz, Fettwerteprofil und antioxidativem Status bei adipösen, hypertensiven Patienten nach drei Monaten Studiendauer zeigen.⁶⁷ Nantz et al. fanden eine Senkung des Blutdrucks und inflammatorischer Marker (Serum Amyloid- α) nach bereits 3-wöchiger Einnahme eines entkoffeinierten Grüntee-Extrakts im Vergleich zur Placebogruppe bei gesunden Teilnehmern.⁶⁸ 2017 wurde eine randomisiert, Placebo-kontrollierte Interventionsstudie zum Effekt von Grünem Tee auf den Blutdruck bei gesunden Männern veröffentlicht.⁶⁹ Hierbei wurde eine Abnahme des Blutdrucks (sys/dia) nach 6-wöchiger Einnahme von Grüntee-Pulver in Tablettenform beschrieben. Der Unterschied war jedoch im Vergleich zur Placebogruppe nicht signifikant.⁶⁹

Auch Untersuchungen am Tiermodell untermauern die Annahme, dass Grüner Tee antiatherogen wirkt. Die Entstehung von atherosklerotischen Plaques in der Aorta von Apoprotein-E-knock-out Mäusen wurde durch Katechine gehemmt.⁷⁰ Zudem wurde gezeigt, dass bei homozygoten Apoprotein-E-knock-out Mäusen nach Einnahme geringer Mengen Catechin für 6 Wochen die atherosklerotischen Plaques im Aortensinus um 32 % im Vergleich zur Kontrollgruppe vermindert waren.⁷¹ Dabei wurden Gene des Fett- und Energiestoffwechsel sowie zwei Gene, die für die Expression von Adhäsionsmolekülen kodieren (CD34, PSGL-1), herunterreguliert.

Verschiedene Studien haben die antioxidative Wirkung der Teepolyphenole untersucht. In vitro wurde gezeigt, dass Katechine eine Verminderung der NF- κ B Aktivierung bewirken und als Radikalfänger für Superoxid dienen.^{72,73} Im Tiermodell mit Ratten mit diabetischer Nephropathie konnte EGCG die Peroxidation von Fetten vermindern.⁷⁴

Katechine beeinflussen auf unterschiedlichen Wegen das Entzündungsgeschehen. Im Tiermodell mit atherogen gefütterten Ratten konnte EGCG eine Verminderung von CrP im Vergleich zur Kontrollgruppe bewirken.⁷⁵ Suzuki et al. zeigten, dass sich das myokardiale Entzündungsgeschehen nach Katechingabe durch die verminderte Expression von Zytokinen, NF- κ B, ICAM-1 und TNF- α bei Ratten mit autoimmuner Myokarditis im Vergleich zur Kontrollgruppe besserte.⁷⁶

Teepolyphenole besitzen eine antiproliferative Wirkung. Lu et al. zeigten eine konzentrationsabhängige Inhibition der Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen vom Kaninchen durch Katechine.⁷⁷ Zudem wurde durch EGC konzentrationsabhängig die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen in drei verschiedenen Zelllinien gehemmt.⁷⁷ Chen et al. konnten mit einem Grüntee-Extrakt, isoliertem EC und isoliertem EGCG diese Resultate in serumstimulierten RASMC-Zellkulturen (glatte Muskelzellen der Aorta von der Ratte) bestätigen.⁷⁸

Kang et al. testeten die antithrombotischen Eigenschaften der Katechine des Grünen Tees.⁷⁹ Dabei schützte in Mäusen die Verabreichung von Katechinen und EGCG dosisabhängig signifikant vor Lungenembolie. Des Weiteren wurde die humane Thrombozytenaggregation in vitro, sowie bei Ratten ex vivo gehemmt. Signifikante Änderungen der Koagulationsparameter (Prothrombinzeit, aktivierte partielle Thromboplastinzeit, Thrombinzeit) sind nicht aufgetreten.⁷⁹

Grüner Tee und Endothelfunktion

Interventionsstudien geben Hinweise darauf, dass sich der Konsum von Grünem Tee vorteilhaft auf die Endothelfunktion im Menschen auswirkt. Dabei wurden vor allem Studien zu akuten und mittelfristigen Effekten von Grünem Tee (2 Stunden bis 2 Wochen) durchgeführt. Alexopoulos et al. untersuchten die akute Wirkung von Grünem Tee auf die FMD der A. brachialis bei 14 gesunden Teilnehmern.⁸⁰ Dabei wurde ein signifikanter Anstieg der FMD zwei Stunden nach Intervention mit Grünem Tee gezeigt. Diese Ergebnisse wurden in einer Studie mit postmenopausalen Frauen bestätigt.⁸¹

Auch im Tiermodell liegen Ergebnisse über positive Wirkungen der Flavonoide des Grünen Tees auf die Endothelfunktion vor. Minatti et al. wiesen eine Verbesserung der endothelialen Dysfunktion sowie eine Inhibition der Progression atherosklerotischer Plaques durch Gabe eines Grüntee-Extrakts in LDL-Rezeptor-knock-out Mäusen nach.⁸² Die Funktionsbesserung des

Endothels wurde dabei durch verstärkte Relaxation der vorkontrahierten Aortenringe der Mäuse durch das Grüntee-Extrakt gezeigt. Vorteilhafte Effekte von EGCG auf die Endothelfunktion in Mesenterialarterien von hypertensiven Ratten wurden von Potenza et al. beschrieben.⁸³ Die durch EGCG induzierte Gefäßerweiterung ist dabei abhängig von NO, was in einer Arbeit an isolierten Aortenringen von eNOS-knock-out Mäusen (eNOS^{-/-}) gezeigt wurde.⁸⁴ Durch EGCG wird über den PI3K/Akt Signalweg die eNOS aktiviert und dadurch vermehrt NO gebildet.⁸⁵

2.4 Fragestellung

Primäres Ziel dieser Promotionsarbeit ist die akute Wirkung von isoliertem EGCG auf die Endothelfunktion im gesunden Menschen im Vergleich zur gleichen Menge von EGCG im Grünen Tee und zur Kontrollsubstanz Wasser zu untersuchen. Sie wurde im Rahmen einer vierarmigen, randomisierten, prospektiven, explorativen Cross-over Pilotstudie durchgeführt, in der die Wirkung von 200 mg EGCG in verschiedenen Darreichungsformen (isoliertes EGCG, Grüntee-Extrakt und Grüner Tee) auf die flussvermittelte Dilatation (FMD) im Menschen getestet wurde.

Epidemiologische, klinische und experimentelle Daten geben Hinweise auf eine protektive Wirkung von Grünem Tee auf das kardiovaskuläre System. Zahlreiche *in vitro* und *in vivo* Studien am Tiermodell belegen, dass Grüner Tee bzw. EGCG den Atheroskleroseprozess hemmen und sich vorteilhaft auf die Endothelfunktion auswirken. Grüner Tee und EGCG können über eine Stimulation der eNOS die endotheliale NO-Produktion erhöhen und darüber eine Gefäßrelaxation hervorrufen. Eine bestehende endotheliale Dysfunktion könnte somit verbessert werden. Substanzen, die eine Erhöhung der NO-Konzentration im Endothel herbeiführen, sind daher von großem Interesse in der präventivmedizinischen Forschung. Interventionsstudien zur Testung der Wirkung von Grünem Tee auf die Endothelfunktion im Menschen wurden bis heute nur wenige durchgeführt. Hierzu veröffentlichte Studien konnten eine Verbesserung der Endothelfunktion nach Aufnahme von Grünem Tee zeigen.

EGCG wird insbesondere für die gesundheitsfördernden Effekte des Grünen Tees im kardiovaskulären Bereich verantwortlich gemacht. Die aktuelle Studienlage sowie eigene Ergebnisse der Arbeitsgruppe geben Hinweise darauf, dass EGCG die Endothelfunktion *in vitro* verbessert. Die Datenlage über die Wirkung von EGCG auf die Endothelfunktion im Menschen ist zurzeit unzureichend. Daher sollte in dieser Dissertation anhand der FMD untersucht werden, ob isoliertes EGCG auch beim Menschen die Effekte des Grünen Tees vermittelt. Hierfür wurden die zwei Applikationsformen – 200 mg isoliertes EGCG als Kapsel und 200 mg EGCG als Bestandteil des Grünen Tees – verglichen. Wasser diente als Kontrolle. Zwei Stunden nach Intervention wurde jeweils die FMD gemessen und die EGCG-Plasmakonzentration bestimmt. Es sollte geprüft werden, ob isoliertes EGCG ebenso in der Lage ist, eine vergleichbare Verbesserung der Endothelfunktion hervorzurufen, wie die gleiche Menge EGCG im Grünen Tee und ob eine Korrelation der EGCG-Plasmakonzentration mit der FMD besteht.

3 Methoden

3.1 Studienpopulation

3.1.1 *Rekrutierung*

Die Studienteilnehmer wurden über Aufrufe im Intranet der Charité-Universitätsmedizin Berlin und öffentlichen Aushängen rekrutiert. Zuerst erfolgte ein Abfragen der Ein- und Ausschlusskriterien per E-Mail Kontakt, dem sich nach passenden Angaben ein Telefoninterview anschloss. Dieses Interview diente der detaillierten Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien sowie der Information über den Ablauf der Studie. Bei Übereinstimmung der Voraussetzungen mit den Kriterien wurde der erste Messtermin vereinbart. Dabei wurde auf eine gleichmäßige Verteilung der Altersgruppen während der gesamten Studiendauer geachtet.

Insgesamt meldeten sich 207 Interessenten. 151 Interessenten konnten aufgrund eines Nichterfüllens der Ein- und Ausschlusskriterien oder zeitlicher Faktoren nicht berücksichtigt werden. 56 erfüllten die Ein- und Ausschlusskriterien und konnten in die Studie aufgenommen werden. Vier der 56 Teilnehmer wurden aufgrund erhöhter Blutfette zum Zeitpunkt der Interventionen nachträglich ausgeschlossen (Drop-outs). Zwei der 56 Teilnehmer brachen die Studie vorzeitig ab. Gründe hierfür waren die lange Dauer der Nüchternperiode, die Blutentnahme und das unangenehme Empfinden beim Aufpumpen der Blutdruckmanschette. Am Ende wurden Daten von $n = 50$ Teilnehmern erhoben. Eine Zusammenfassung ist in Abbildung 3-1 gezeigt.

Alle Teilnehmer erklärten nach nochmaliger Aufklärung zu Beginn des ersten Messtermins ihr schriftliches Einverständnis für die Studienteilnahme.

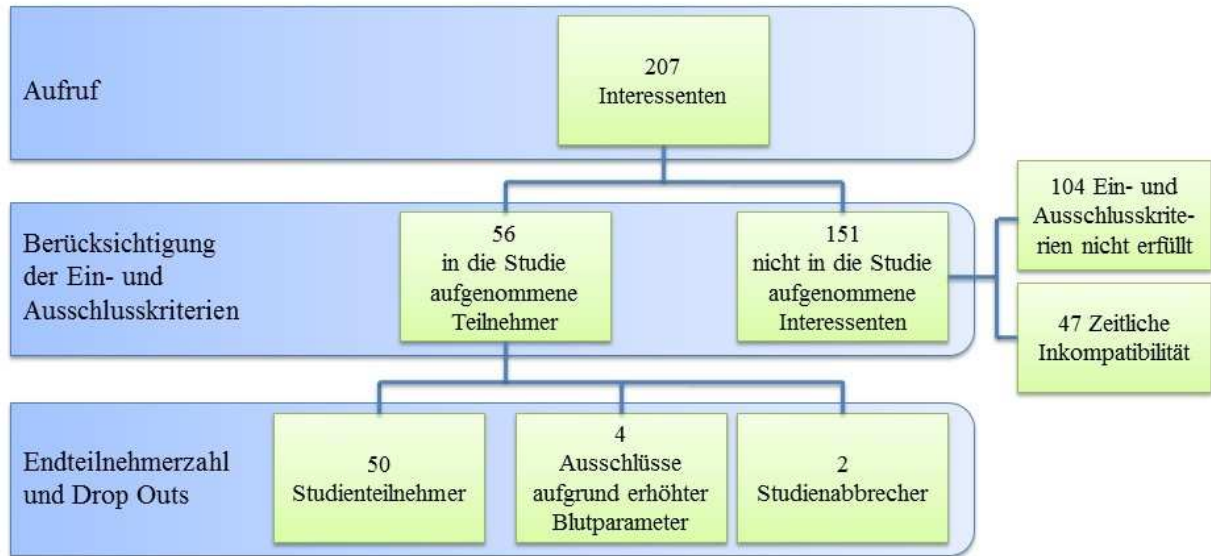


Abbildung 3-1: Fließdiagramm zur Rekrutierung

3.1.2 *Ein- und Ausschlusskriterien*

Einschlusskriterien

- Männlich
- Alter zwischen 20 und 50 Jahren
- $BMI \leq 27 \text{ kg/m}^2$
- Cholesterinwert $\leq 240 \text{ mg/dl}$
- LDL-Cholesterin-Wert $\leq 160 \text{ mg/dl}$
- Triglyceride $\leq 180 \text{ mg/dl}$
- $CrP \leq 5 \text{ mg/l}$
- Homocystein $6-12 \text{ } \mu\text{mol/l}$
- Schriftliche Einwilligungserklärung nach Aufklärung

Die Laborparameter wurden am ersten Messtermin abgenommen. Bei Werten außerhalb des Referenzbereichs erfolgte der nachträgliche Ausschluss aus der Studie. Physiologische Parameter wie Körpergröße und Gewicht wurden anamnestisch ermittelt und anschließend der BMI errechnet.

Ausschlusskriterien

- Arterieller Hypertonus ($RR_{\text{sys}} > 140$ mmHg, $RR_{\text{dia}} > 90$ mmHg)
- Blutwerte außerhalb der festgelegten Grenzbereiche (Cholesterin > 240 mg/dl, LDL-Cholesterin > 160 mg/dl, Triglyceride > 180 mg/dl, CrP > 5 mg/l, Homocystein < 6 und > 12 $\mu\text{mol/l}$)
- BMI > 27 kg/m²
- Diabetes mellitus
- Schwerwiegende Vorerkrankungen (onkologische, autoimmune oder rheumatische Erkrankungen)
- Regelmäßige Medikamenteneinnahme
- Aktueller Tabakkonsum
- Alkoholabusus
- Regelmäßiger Teekonsum (Grüner Tee, Schwarzer Tee)
- Teilnahme an einer weiteren Studie

Zu Beginn des ersten Messtermins wurden die Ausschlusskriterien nochmals abgefragt. Der Blutdruck wurde mittels regelmäßiger Blutdruckmessungen vor und nach jeder Untersuchung kontrolliert. Ein manifester Diabetes mellitus konnte durch Bestimmung des HbA1c ausgeschlossen werden.

3.1.3 Vorbereitung der Studienteilnehmer

Als Vorbereitung auf die Messungen wurden die Teilnehmer um Beachtung der folgenden Hinweise gebeten. Hierdurch sollten exogene und endogene Einflussgrößen auf die Messmethode so gering wie möglich gehalten werden.

- Mindestens acht Stunden vor Messbeginn keine Nahrungs- und Getränkeaufnahme, ausgenommen stilles Wasser
- Am Abend vor der Messung keine Aufnahme von Alkohol, Kaffee oder Tee (Grüner Tee, Schwarzer Tee)
- Am Vortag der Messung keine sportliche Betätigung
- Am Tag der Messung keine Medikamenteneinnahme
- Am Vortag und am Tag der Messung keine Einnahme von Vitamin- und Mineralstofftabletten

- Am Tag der Messung und bei der Anreise körperliche Anstrengungen vermeiden, kein Fahrradfahren und kein Treppensteigen oder schnelles Laufen
- Mindestens drei Tage vor der Messung keine Nachtschichtarbeit

3.2 Studiendesign

Es handelte sich um eine in vier Arme gegliederte, prospektive, explorative, randomisierte Cross-over Pilotstudie. Primäres Ziel war es, die Rolle von EGCG an kardiovaskulär protektiven Effekten des Grünen Tees bei 50 gesunden Männern zu untersuchen. Dabei wurden zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten einmalig EGCG (200 mg) in verschiedenen Darreichungsformen sowie Wasser als Placebo oral verabreicht und die Endothelfunktion mittels Flow-mediated Dilatation (FMD) gemessen. Als Primärparameter der Studie wurde der Vergleich der Veränderung der FMD (in %) vor und zwei Stunden nach Substanzeinnahme festgelegt. Sekundärparameter war die Bestimmung der Teepolyphenolplasmakonzentrationen. Die vier Messarme setzten sich wie folgt zusammen:

- A: 442 ml heißes Wasser als Kontrolle (äquivalente Menge Wasser im Vergleich zum Grünen Tee)
- B: 442 ml frisch aufgebrihter Grüner Tee, der in dieser Menge 200 mg EGCG enthält
- C: Eine Kapsel bestehend aus 406 mg Grüntee-Extrakt (entspricht 200 mg EGCG), aufgenommen zusammen mit 442 ml heißem Wasser
- D: Eine Kapsel mit EGCG, Kapselgewicht 214 mg (entspricht 200 mg EGCG), aufgenommen zusammen mit 442 ml heißem Wasser

Die genaue Zusammensetzung der Kapseln und des Grünen Tees sind in Tabelle 4-2 aufgelistet. Es wurde eine physiologische Dosis von 200 mg EGCG verabreicht, die mit ca. ½ Liter Grünem Tee aufgenommen werden kann.

Unter Berücksichtigung der pharmakokinetischen Eigenschaften der Katechine wurde als Wash-Out-Phase ein Mindestabstand von drei messfreien Tagen zwischen den einzelnen Interventionen desselben Teilnehmers eingehalten, um eine Akkumulation im Organismus zu vermeiden.

Jeder Studienteilnehmer erhielt die Prüfsubstanzen und heißes Wasser als Kontrolle. Dabei erfolgte im Rahmen des Cross-over-Designs die Reihenfolge der Interventionen randomisiert, um die Strukturgleichheit der Vergleichsgruppen zu gewährleisten und Einflussfaktoren zu

minimieren. Auch sollten interindividuelle Unterschiede in der Aufnahme und des Metabolismus der Teeinhaltsstoffe vermindert werden. Eine Randomisierungsliste wurde erstellt. Während der Rekrutierung wurden die Randomisierungsnummern fortlaufend und lückenlos vergeben.

Im Rahmen der Eingangsuntersuchung erfolgte die Bestimmung von Lipoprotein(a), Homocystein und HbA1c aus ca. 12 ml venösem Blut (nüchtern).

Die Messung der endothelialen Funktion erfolgte mittels scherkraftabhängiger Vasodilatation der A. brachialis nach reaktiver Hyperämie (FMD). An jedem Messtag wurde die Endothelfunktion zum Zeitpunkt T0 sowie 120 Minuten nach Substanzeinnahme zum Zeitpunkt T2 bestimmt. Jeder Endothelfunktionsmessung schloss sich nach einer 10-minütigen Pause eine endothelunabhängige Vasodilatationsmessung an (Nitro-vermittelte Dilatation). Eine detaillierte Beschreibung der beiden Methoden erfolgt in Kapitel 3.3.3.

An den Messtagen fand vor jeder der beiden FMD-Messungen eine Blutentnahme von ca. 15 ml venösem Blut statt. Die Blutentnahmen dienten der Bestimmung der Blutfette (Gesamt-Cholesterin, LDL, HDL, Triglyceride), des CrPs und der Bestimmung der Plasmaspiegel der Teeinhaltsstoffe, insbesondere der Teekatechine (EGCG, EGC, ECG, EC) und des Koffeins. Der Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme und FMD-Messung wurde 120 Minuten nach Substanzeinnahme gewählt, da nach ca. 2 Stunden die maximalen Plasmakonzentrationen der Teepolyphenole erreicht werden.⁴⁸ Um eine Korrelation der Plasmaspiegel an Teepolyphenolen mit der gemessenen FMD (nach 2 Stunden) zu ermöglichen, wurde eine einmalige Blutentnahme zur Bestimmung der Katechin-Plasmaspiegel zum gleichen Zeitpunkt (nach 2 Stunden) durchgeführt.

Es wurden männliche Teilnehmer gewählt, um hormonelle Einflüsse auf die FMD während des Menstruationszykluses der Frau in der Studie auszuschließen.⁸⁶ Es gibt Hinweise für eine zirkadiane Abhängigkeit der FMD.⁸⁷ Um gleiche Untersuchungsbedingungen zu schaffen, erfolgten alle Messungen vormittags mit Beginn zwischen 7.00 und 8.15 Uhr, durchgeführt nach strengem Zeitplan.

Die Studie, inklusive Rekrutierung, wurde zu gleichen Anteilen von zwei Doktorandinnen durchgeführt. Die zwei Doktorandinnen haben im Rahmen dieser Studie unterschiedliche Fragestellungen bearbeitet. Die Studie begann nach einer ausführlichen Einarbeitungsphase. Hierbei wurden die in den Guidelines empfohlenen 100 Probemessungen von den Doktorandinnen durchgeführt und in der Arbeitsgruppe validiert.⁸⁸ Abläufe wurden überprüft und optimiert. Eine vollständige Verblindung der Substanzeinnahme war nicht möglich, da es einen visuellen und geschmacklichen Unterschied zwischen dem Grünen Tee und Wasser gab.

Das Vorhaben wurde unter der Nummer EA1/277/09 von der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin bewilligt. Die Studie wurde unter clinicaltrials.gov mit der Nummer NCT01662232 am 07. August 2012 registriert, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01662232>. Sie lief im Zeitraum von August 2012 bis September 2013. Die Studie wurde durch die Friede Springer Herzstiftung gefördert.

3.3 Material und Untersuchungsmethoden

3.3.1 *Grüner Tee und Kapseln*

3.3.1.1 Material

- Tee (Grüner Darjeeling Tee, Indien, bezogen von Kings Teagarden Berlin; fraktioniert < 1,0 < 1,4 mm)
- Kapseln (Grüntee-Extrakt und EGCG)

Die Substanzen dafür wurden freundlicherweise zur Verfügung gestellt von der Firma „Nutri-Fit GmbH & Co. KG“. Die Kapseln wurden von der Apotheke der Charité Campus Virchow-Klinikum hergestellt.

- Präzisionswaage der Firma Sartorius zum Abwiegen des Grünen Tees
- Gewöhnliche Küchenwaage „Siena“ der Firma Soehnle zum Abwiegen des Wassers
- Teesieb (Permanent Teefilter der Firma „teeli“ Größe L)
- Handelsüblicher Wasserkocher
- Drei 500 ml Tassen, zwei Teekannen
- 5 ml Spritze zum Abfüllen des Grünen Tees
- 15 ml Eppendorfgefäß zum Einfrieren des Grünen Tees
- Stoppuhr der Firma Oregon Scientific

3.3.1.2 Zusammensetzung der Interventionen der Teeinhaltsstoffe

Im Labor des Instituts für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn erfolgte die Bestimmung der Zusammensetzung der Interventionen der Teeinhaltsstoffe. Die Konzentrationen einzelner Teesubstanzen des Grünteegetränks, des Grüntee-Extraktes und des isolierten EGCG wurden mittels UHPLC auf einer Waters Acquity UPLC (Waters, Milford, MA, USA) gemessen. Das Equipment setzte sich

aus einer Binärpumpe (BSM), einem auf 10°C gekühlten Autosampler (SM), einem auf 40°C eingestellten Säulenofen (CM), einem Diodenarray-Detektor (PDA), der in Bereichen von 190 bis 500 nm misst, und einem Acquity TQD Triple-Quadrupol-Massenspektrometer mit einer Elektrospray-Schnittstelle zusammen. Eine Waters BEH Phenyl-Säule (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm) mit einer VanGuard-Vorsäule wurde auf eine Durchflussrate von 0,6 mL/min eingestellt. Die Eluenten Acetonitril/0,1% Ameisensäure (A) und Wasser/0,1% Ameisensäure (B) wurden mit folgendem Gradienten betrieben: 0 min 6% A; 1,5 min 13% A; 2,3-3,3 min 100% A; 4,3-5,3 min 6% A. Der Peak wurde durch Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) bestimmt. Zur Quantifizierung der Konzentrationen der Teeinhaltsstoffe wurden authentische Referenzverbindungen (Nachweiswellenlänge 278 nm) für die externe Kalibrierung verwendet. Flüssige Proben wurden ausreichend verdünnt, feste Proben in Methanol/Wasser (80/20) gelöst und durch einen 0,2 µm Chromafil RC-20/15 MS Filter (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) gefiltert.

3.3.1.3 Zubereitung des Grünen Tees

Der Grüne Tee wurde immer frisch aufgebriht. Die Zubereitung erfolgte standardisiert nach folgenden Arbeitsschritten:

1. Mittels der Präzisionswaage wurden 6,75 g Grüner Tee abgewogen und anschließend in die Teekanne gegeben.
2. Ca. 1 Liter Leitungswasser wurde mit dem Wasserkocher zum Kochen gebracht.
3. Exakt 550 g des sprudelnd kochenden Wassers wurden zu den Teeblättern gegossen, anschließend wurde die Teekanne mit einem Deckel bedeckt. Beim ersten Kontakt des Teewassers mit den Teeblättern wurde die Stoppuhr gestartet.
4. Der Tee zog 3 Minuten. Dabei wurde nach 1 Minute, 2 Minuten und 2,5 Minuten der aufgegoßene Tee geschwenkt.
5. Nach 3 Minuten wurde die flüssige Phase des Grünen Tees zügig durch das Teesieb dekantiert. Dabei wurde darauf geachtet, dass keine Teeblätter in das Sieb gelangten. Ein so gewonnener Aufguss hatte eine EGCG-Konzentration von $452,5 \pm 8,7$ mg/l.
6. Anschließend wurden 442 g (= ml) des Aufgusses abgewogen, in eine Tasse gegeben und dem Teilnehmer verabreicht. Der Teilnehmer nahm dadurch 200 mg EGCG oral auf.
7. Parallel wurden 5 ml des aufgebrihten Grünen Tees abgefüllt und bei -80°C gelagert.

3.3.2 *Blutentnahmen*

3.3.2.1 **Material**

- 21 G Butterfly (BD Vacutainer) plus Adapter
- Serumblutentnahmeröhrchen (5 ml), EDTA-Blutentnahmeröhrchen (6 ml), EDTA-Blutentnahmeröhrchen (2 ml), Heparinblutentnahmeröhrchen (3 ml) der Firma BD Vacutainer
- Hautdesinfektionsmittel
- Tupfer, Pflaster
- Stauschlauch
- Coolpacks
- Heraeus Tischzentrifuge Megafuge 1.0
- EDTA-Ascorbinsäure-Puffer
- Eppendorfgefäße (1,5 ml)
- 1000 µl Eppendorfpipette
- Gefäßständer
- -80°C Tiefkühlschrank

3.3.2.2 **Vorgehensweise**

Die Blutentnahmen erfolgten vor jeder FMD-Messung zu den Zeitpunkten T0 und T2. Entnommen wurde das Blut unter geringer Stauung in der linken Ellenbeuge oder am Handrücken.

3.3.2.3 **Routinelabor**

Die routinemäßig abgenommenen Laborwerte wurden vom Zentrallabor der Charité (Labor Berlin) nach standardisierten Methoden gemessen. Folgende Parameter wurden dabei bestimmt:

- Gesamtcholesterin, LDL, HDL, CrP zu jedem Messzeitpunkt (T0 und T2)
- Lipoprotein(a) einmalig zum Einschluss
- HbA1c einmalig zum Einschluss
- Homocystein (gekühlt) einmalig zum Einschluss

3.3.2.4 Bestimmung der Plasmakonzentration der Teeinhaltsstoffe

Im Labor des Instituts für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn erfolgte die Bestimmung der Plasmakonzentration der Grüntee catechine nach beschriebener HPLC-Methode.⁸⁹ Für die Bestimmung der Plasmakonzentrationen wurden dem Teilnehmer zum Zeitpunkt T0 und T2 zweimal 6 ml Blut (EDTA) entnommen. Hieraus wurde das Plasma gewonnen. Nachdem die Blutröhrchen für 20 Minuten dunkel gelagert wurden, erfolgte die Zentrifugation (10 Minuten, 4°C, 3500 U/min). Nach der Zentrifugation wurden insgesamt 4 ml des Überstandes (Blutplasma) abpipettiert und in Aliquots zu je gleichen Teilen auf vier Eppendorfgefäße verteilt – zwei Eppendorfgefäße mit je 20 µl EDTA-Ascorbinsäure-Puffer, zwei Eppendorfgefäße ohne EDTA-Ascorbinsäure-Puffer. Die Gefäße wurden bei -80°C aufbewahrt. Um die Konjugate zu hydrolysieren wurden 200 µl des aufgetauten Plasmas mit Glucuronidase und Sulfatase für 45 min bei 37°C und einem pH von 6,8 inkubiert und dann mit 100 µl Dimethylformamid (DMF) und 20 µl Trichloressigsäure vermischt, um Proteine auszufällen. Nach der Zentrifugation wurde der Überstand in die HPLC injiziert. Das HPLC-System bestand aus einer Aqua RP-18-Säule mit einer Länge von 150 mm, 4,6 mm i.d., Partikelgröße 3 µm (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland). Als Elution wurde ein Gradient von Acetonitril und Wasser, das einen Phosphatpuffer bei pH 3,4 enthielt, verwendet. Ein CoulArray-Detektor (ESA, Chelmsford, MA, USA) mit vier Kanälen bei 0, 100, 200 und 300 mV registrierte den Analyten. EGCG wurde durch externe Kalibrierung mit reinem EGCG als Referenz quantifiziert (> 98%, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland). Um den Gehalt an freien (unkonjugierten) Katechinen zu bestimmen, wurden alle Proben parallel ohne die enzymatische Hydrolyse analysiert.

Der Transport der gefrorenen Proben nach Bonn wurde ohne Unterbrechung der Kühlkette gewährleistet. Nach Studienende wurden die Werte der Katechine (EGCG, EC, EGC, ECG) sowie des Koffeins in tabellarischer Form übermittelt.

3.3.2.5 Herstellung des EDTA-Ascorbinsäure-Puffers

Der EDTA-Ascorbinsäure-Puffer diente zur Stabilisierung bzw. als Oxidationsschutz der Teekatechine im Plasma. Er wurde in unserem Labor nach der von Lee et al. beschriebenen Methode hergestellt.⁹⁰ Dafür wurden zu 10 ml Aqua dest 1,1 g NaH₂PO₄ (entspricht 0,9 M), 2,0 g Ascorbinsäure (entspricht 1,1 M) und 68,45 µl 0,5 M EDTA (entspricht 3,4 mM) zugegeben und gevortexet. Anschließend wurde mit einem Natriumhydroxid-Plätzchen der pH-Wert auf 3,6

eingestellt. Vom fertigen Puffer wurden je 20 µl in 1,5 ml Eppendorfgefäße aliquotiert und bei -80°C tiefgefroren.

Bei einer Zugabe von 20 µl EDTA-Ascorbinsäure-Puffer zu 1 ml Plasma lag eine Endkonzentration von 18 mM NaH₂PO₄, 22 mM Ascorbinsäure und 68 µM EDTA in der Probe vor.

3.3.3 *Flow-mediated Dilatation und Nitro-vermittelte Dilatation*

In der vorliegenden Studie wurde als Untersuchungsmethode zur Testung der endothelialen Funktion die FMD der A. brachialis verwendet. Der Versuchsaufbau und die Durchführung erfolgten anhand der Guidelines von Corretti et al. 2002, sowie nach Arbeiten von Harris et al. 2010 und Thijssen et al. 2011.^{28,88,91}

3.3.3.1 **Material**

- Hochauflösendes Ultraschallgerät „Vivid 7“ der Firma General Electric Medical Systems
- Hochfrequenz Linearschallkopf, 12 MHz
- Halterung für den Schallkopf, Schaumstoffauflage für Handgelenk
- Computer Software „*Cardiovascular Suite TM Ultrasound Edition*“ Version 2.0 (CVS 2.0) der Firma QUIPU, Pisa, Italien
- Computer „*MacBook Pro*“ der Firma Apple, 13 Zoll
- Advanced DV Converter „*ADVC-55*“ der Firma Canopus zur Bildübertragung vom Ultraschallgerät auf den PC
- LCD-Bildschirm der Firma ViewSonic zur vergrößerten Bilddarstellung
- Kinderblutdruckmanschette der Firma ERKA, Manschettenbreite: 19-29 cm
- Automatisches Blutdruckmessgerät und 5-Kanal-EKG „*Dash 3000*“ der Firma Marquette (Multiparameter-Monitor)
- Nitrolingual akut Spray (1 Hub entsprechen 0,4 mg Glycerolnitrat)

3.3.3.2 Versuchsaufbau

Die Messungen erfolgten in einem abgedunkelten, temperaturregulierten Raum bei 22-24°C. Der Aufbau der Geräte ist der Abbildung 3-2 zu entnehmen.

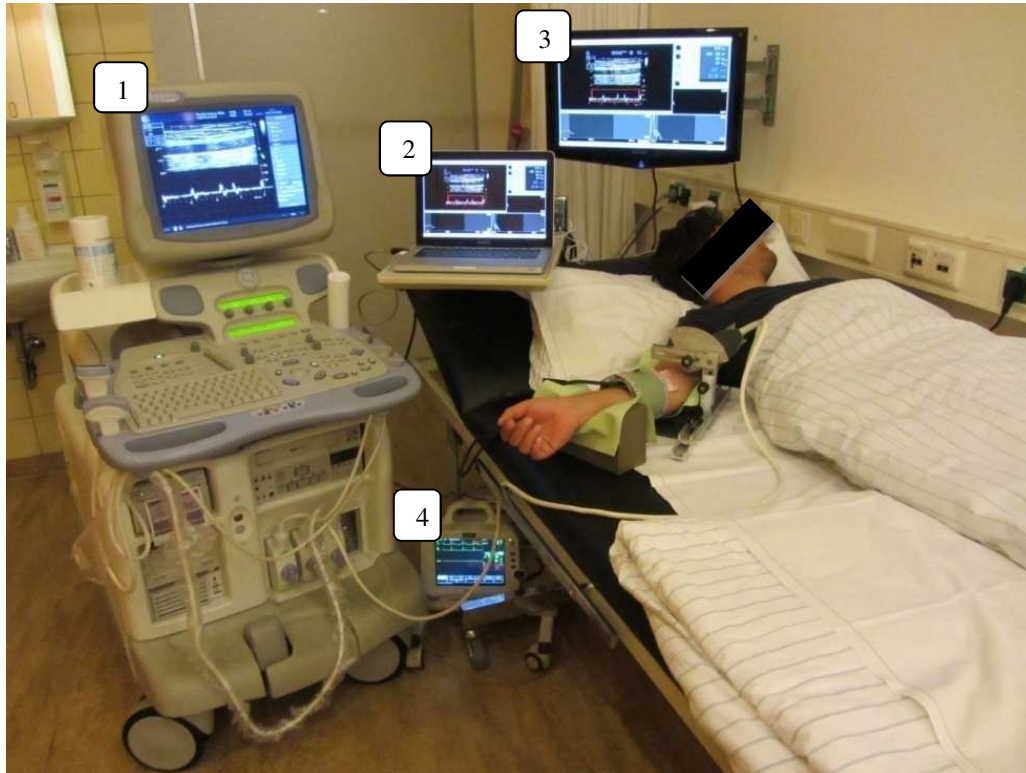


Abbildung 3-2: Versuchsaufbau der FMD- und NMD-Messung

1 – Ultraschallgerät; 2 – Computer mit CVS 2.0; 3 – Bildschirm zur Vergrößerung; 4 – automatisches Blutdruckmessgerät

Für die Messungen wurde der rechte Arm verwendet. Dabei wurde der Arm um 50° abduziert und das Handgelenk mit der Palmarseite nach oben zeigend auf einer Schaumstoffauflage positioniert. Der Schallkopf wurde proximal der Fossa cubitalis aufgesetzt und die A. brachialis im longitudinalen Schnitt in einem möglichst geraden Abschnitt mit wenigen Gefäßverzweigungen im B-Mode Fenster dargestellt. Hierbei war es wichtig auf eine gute Qualität der Bildeinstellung zu achten. Voraussetzung war es, die anteriore und posteriore Gefäßwand möglichst parallel zueinander sowie die Intima gut sichtbar einzustellen. Anatomische Besonderheiten („Landmarken“) wurden beim Einstellen als Orientierungshilfe genutzt. Weiterhin wurde der Pulsed-Wave-Doppler zur Darstellung des Blutflusses so eingestellt, dass ein möglichst starkes Dopplersignal zu erkennen war. Zur Fixierung des Schallkopfes diente eine von der Arbeitsgruppe entwickelte Halterung. Die Kinderblutdruckmanschette diente der Okklusion und wurde 10-14 cm

distal des Schallkopfes am Unterarm angebracht. Abbildung 3-3 zeigt die Halterungs- und Schallkopfanordnung.



Abbildung 3-3: Fixierung des rechten Armes und des Schallkopfes in der Halterung

Die Ultraschallgeräteinstellungen blieben während der gesamten Studiendauer identisch. Dazu wurde während der Etablierungsphase eine geeignete Einstellung eigens für die Studie auf der Vivid 7 abgespeichert. Zur automatischen Ermittlung des Gefäßdurchmessers und des Blutflusses wurde die Computer-Software CVS 2.0 verwendet. Vor Studienbeginn wurde die Software nach Anleitung kalibriert und diese Einstellungen während der Studiendauer beibehalten. Die FMD- als auch die NMD-Messungen wurden damit durchgeführt. Das B-Mode Bild und die Pulsed-Wave-Dopplerkurve des Ultraschallgerätes wurden in Echtzeit mithilfe des Konverters in CVS 2.0 auf den Laptop übertragen. Für jede FMD- als auch NMD-Messung musste an einem geeigneten Gefäßabschnitt die „*region of interest*“ (ROI) im B-Mode Fenster manuell festgelegt werden, die zur Messung des Gefäßdurchmessers herangezogen wurde. Dabei legte die Software im Bereich der ROI die Messpunkte selbstständig über die Intima des Gefäßes und zeigte die Größe des Durchmessers in Echtzeit an. Eine weitere von der Software automatisch generierte ROI über der Pulsed-Wave-Dopplerkurve zeigte in Echtzeit den Blutfluss an. Bei Stabilisierung der Gefäßdurchmesser und der Pulsed-Wave-Dopplerkurve wurde mit der Messung begonnen. Die

Messung wurde vom Programm lückenlos als Videodatei aufgezeichnet. Voraussetzung war es, während der gesamten Messdauer die Bildeinstellung genauestens zu beobachten und dieselbe Bildeinstellung beizubehalten.

Blutdruck, EKG und Herzfrequenz wurden mithilfe des Multiparameter-Monitors vor und nach jeder Messung monitoriert.

3.3.3.3 Durchführung der FMD-Messung

Die FMD-Messung dauerte insgesamt 10 Minuten und gliederte sich in drei Abschnitte. In den ersten 60 Sekunden wurde der Ruhedurchmesser ermittelt. Im Anschluss folgte die 5-minütige Ischämiephase, in der die Blutdruckmanschette auf suprasystolische Werte ≥ 250 mmHg aufgepumpt wurde. Danach schloss sich die Phase der reaktiven Hyperämie an, in der zügig die Manschette abgelassen und der Durchmesser für weitere vier Minuten gemessen wurde. Die Hyperämie war anhand des gesteigerten Blutflusses im Doppler erkennbar.

Ein Mittelwert des Gefäßdurchmessers wurde automatisch von der CVS 2.0 während der ersten 60 Sekunden (Ruhedurchmesser), 120 Sekunden nach Ablassen der Manschette (Maximaldurchmesser) und der letzten 15 Sekunden (Erholungsdurchmesser) bestimmt. Weiterhin wurden von der CVS 2.0 ein Mittelwert der Baseline-Blutflussrate (Baseline shear rate) während der ersten 60 Sekunden und die maximale Blutflussrate nach der Ischämiephase angezeigt.

Nach Ende der FMD-Messung wurde von der Software ein Dokument generiert (siehe Abbildung 3-4), in dem alle erfassten Parameter aufgelistet wurden. Für diese Studie waren insbesondere der Ruhedurchmesser, der Maximaldurchmesser nach Deflation und die FMD von Bedeutung. Die Berechnung der FMD erfolgte automatisch.

$$FMD[\%] = \frac{\text{Maximaldurchmesser} - \text{Ruhedurchmesser}}{\text{Ruhedurchmesser}} \times 100$$

Falls es im Laufe der Messung zu Problemen wie zum Beispiel Bewegungen des Studienteilnehmers oder Verrutschen des Bildes beim Aufpumpen kam, so konnten diese Ausreißer direkt im Anschluss an die Messung korrigiert werden. Reanalysen waren nachträglich mit dem aufgezeichneten Videomaterial möglich und dienten der Qualitätssicherung.



Abbildung 3-4: Beispielscreenshot von einem Dokument einer FMD-Messung
 1 – Ruhedurchmesser; 2 – Maximaldurchmesser; 3 – Erholungsdurchmesser; 4 – FMD;
 5 – Anzeigetafel der Messwerte; 6 – Videoaufzeichnung des Gefäßquerschnitts

3.3.3.4 Nitro-vermittelte Dilatation

Die Messung der NMD erfolgte am selben Messpunkt des Armes wie die FMD-Messung. Dafür wurde der Arm und Schallkopf nach der FMD-Messung in der Fixierung gelassen. Die Messung dauerte insgesamt 10 Minuten. Dabei wurde der Diameter der A. brachialis kontinuierlich bestimmt (CVS 2.0). Nach Messbeginn wurde für 60 Sekunden der Ruhedurchmesser ermittelt. Danach erfolgte die sublinguale Applikation von 0,4 mg Glycerolnitrat. Zur Bestimmung der maximalen Gefäßerweiterung nach NO-Gabe wurde für weitere 9 Minuten der Gefäßdurchmesser gemessen. Die gesamte Messdauer (10 Minuten) wurde von der CVS 2.0 als Video aufgezeichnet. Nach Ende der Messung generierte die CVS 2.0 ein Dokument mit den gemessenen Parametern (siehe Abbildung 3-5). Die NMD wurde automatisch berechnet. Ausreißer konnten direkt im Anschluss der Messung entfernt werden.

$$NMD[\%] = \frac{\text{Maximaldurchmesser} - \text{Ruhedurchmesser}}{\text{Ruhedurchmesser}} \times 100$$

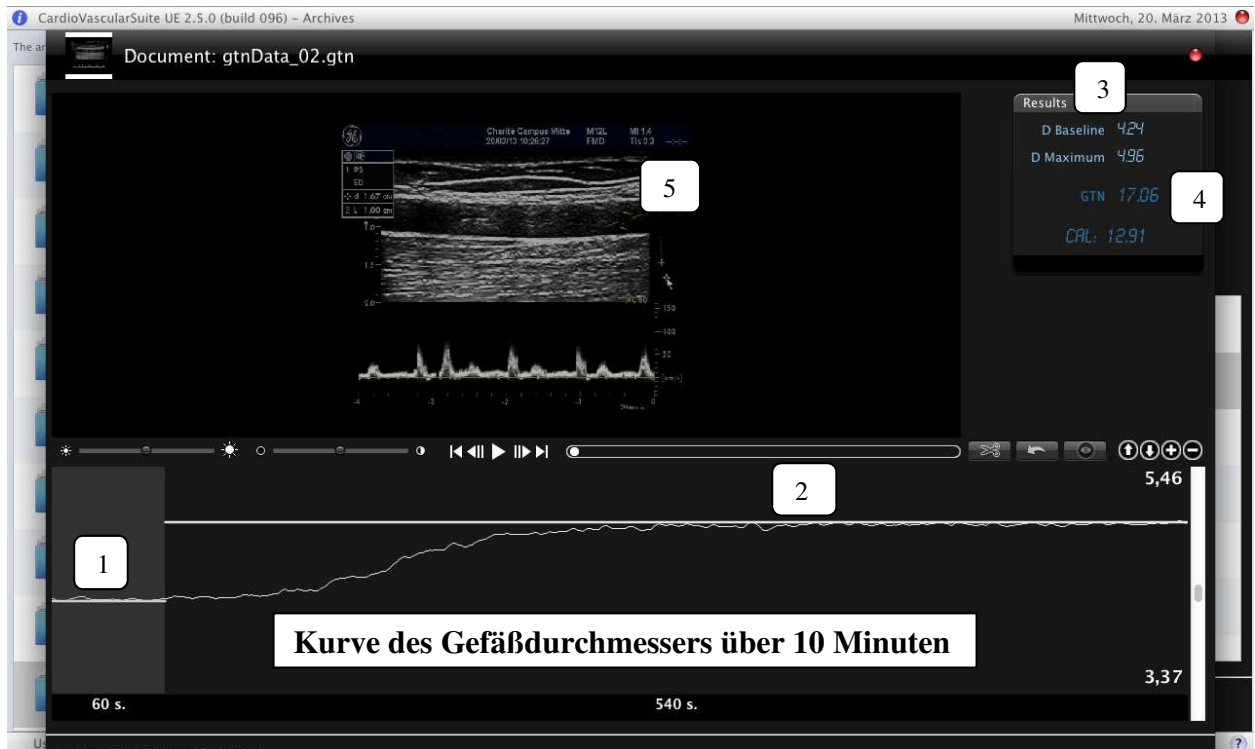


Abbildung 3-5: Beispielscreenshot von einem Dokument einer NMD-Messung

1 – Ruhedurchmesser; 2 – Maximaldurchmesser; 3 – Anzeigetafel der Messwerte; 4 – NMD; 5 – Videoaufzeichnung des Gefäßquerschnitts

3.4 Zeitlicher Ablauf

Die Untersuchungen fanden in der Funktionsdiagnostik (Endothelfunktionsraum) der Klinik für Kardiologie und Angiologie, Charité Campus Mitte statt. Da es sich um eine Interventionsstudie handelte, wurden Messungen zum Zeitpunkt T0 vor Substanzeinnahme und Messungen zwei Stunden nach Substanzeinnahme (Zeitpunkt T2) vorgenommen. Der Umfang der Messzeitpunkte T0 und T2 war gleich. Da zwei Doktoranden in der Studie involviert waren, konnten pro Tag zwei Teilnehmer mit jeweils einer Intervention gemessen werden. Jeder Teilnehmer wurde von einem Doktoranden betreut und beide Messungen wurden auch von diesem Doktoranden durchgeführt. Die Untersuchungen wurden gestaffelt. Messbeginn war entweder um 7.00 oder um 8.15 Uhr.

Um 6.45 Uhr wurden alle Geräte aufgebaut, angeschlossen und eingeschaltet. Nach Eintreffen des Teilnehmers wurde zuerst eine kurze Anamnese zur Einhaltung der Versuchsvoraussetzungen durchgeführt, der sich die Blutentnahme T0 anschloss. Die Blutproben für das Routinelabor wurden sofort per Rohrpost versandt. Daraufhin wurde der Teilnehmer gebeten sich auf die Untersuchungsfläche zu legen und eine bequeme Position einzunehmen. Das 5-Kanal-EKG sowie die automatische Blutdruckmessung wurden zu Überwachungszwecken angelegt. Des Weiteren wurde der rechte Arm des Teilnehmers für die Messung vorbereitet. Dies beinhaltete die Fixierung

des Armes in der Schallkopfhaltung, das Anlegen der Blutdruckmanschette am Unterarm und das Ablegen des Handgelenks auf der Schaumstoffablage. In dieser Position schloss sich eine 10-minütige Ruhephase für den Teilnehmer an. Dann wurde mittels Ultraschall die A. brachialis des rechten Armes dargestellt. Nach Auffinden der geeigneten Messstelle und Einstellung des optimalen Bildes wurde der Schallkopf in der Halterung fixiert und ggf. nachjustiert. Die 10-minütige FMD-Messung T0 wurde gestartet. Der FMD-Messung schloss sich nach 10-minütiger Pause die NMD-Messung T0 an, die ebenfalls 10 Minuten dauerte. Während der Messpause verblieb der Schallkopf in der Fixierung um die Einstellung beizubehalten. Der Teilnehmer wurde aufgefordert während der gesamten Zeit und insbesondere während der Videoaufzeichnungen ruhig zu liegen, aber nicht einzuschlafen. Nach Ende der NMD-Messung T0 wurde der Schallkopf aus der Halterung gelöst und die Position am Oberarm markiert. Es folgte eine weitere 10-minütige Ruhephase. Nach nochmaliger Blutdruckkontrolle war die erste Messung beendet. Während der gesamten Messdauer T0 erfolgte die regelmäßige Überwachung des Blutdruckes, EKGs und der Herzfrequenz.

Im Anschluss wurde die Zubereitung der Getränke und der Kapseln in der Küche vorgenommen und dem Teilnehmer zur oralen Aufnahme verabreicht. Der Start- und Endzeitpunkt der Substanzaufnahme wurde dokumentiert. Nach Ende der Substanzaufnahme schloss sich eine 90-minütige Wartephase im Aufenthaltsraum an, in der sich der Teilnehmer ruhig verhalten und Aufregung, Treppensteigen und sonstige Anstrengungen unterlassen sollte. Nach der Wartephase erfolgten die Messungen T2, die analog zum Messdurchlauf T0 durchgeführt wurden. Dabei wurden dieselben Zeitabstände eingehalten. Des Weiteren wurde darauf geachtet, die FMD-Messung T2 120 Minuten nach Beendigung der Substanzaufnahme vorzunehmen. Vor der FMD-Messung erfolgte die Blutentnahme T2. Auch während des gesamten Messzeitpunktes T2 erfolgte die kontinuierliche Überwachung der Herzkreislaufparameter. Nach Abschluss der Messungen wurde ein Frühstück bereitgestellt. Der zeitliche Umfang eines Messtages belief sich für den Studienteilnehmer auf ca. vier Stunden. Zu Dokumentationszwecken wurden die erhobenen Daten (FMD zum Zeitpunkt T0 und T2: jeweils Ruhedurchmesser in mm, Maximaldurchmesser in mm, Erholungsdurchmesser in mm, FMD in %; NMD zum Zeitpunkt T0 und T2: jeweils Ruhedurchmesser in mm, Maximaldurchmesser in mm, NMD in %; Blutdruck und Herzfrequenz vor und nach jeder FMD bzw. NMD-Messung) und Zeiten auf dem Messbogen vermerkt. Anschließend wurden die Daten in eine Exceltabelle übertragen.

3.5 Datenerfassung und Statistik

Die Messbögen dienten der Dokumentation des jeweiligen Messtages. Sie wurden in Ordnern abgeheftet und archiviert. Die Ergebnisse der FMD- und NMD-Messungen wurden nach jeder Untersuchung vom Computerprogramm automatisch als Dokument angezeigt. Ein Screenshot dieses Dokuments wurde als Beleg angefertigt. Die Ergebnisse wurden im Messbogen notiert. Die Videos der abgeschlossenen Messungen wurden auf zwei externe Festplatten gespeichert. Alle erhobenen Werte wurden zur Datenerfassung in Excel 2007 übertragen und die Blutparameter und Plasmawerte eingefügt. Vor der statistischen Auswertung wurde ein erneuter Abgleich der Excel-Tabelle mit allen Ergebnissen durchgeführt. Anschließend wurden die zu untersuchenden Daten in SPSS Statistics 21 importiert.

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine explorative, prospektive Pilotstudie. Soweit bekannt, war sie die erste klinische Studie, die die Wirkung einer gleichen Menge EGCG in verschiedenen Darreichungsformen auf die FMD untersucht hat. Daher war eine vorherige Fallzahlberechnung nicht möglich. Als Anhaltspunkt wurde sich an vergleichbaren Studien mit Teeinhaltsstoffen auf den Parameter FMD an einer Metaanalyse von Ras et al.⁹² orientiert und in unserer Studie eine entsprechend sehr hohe Teilnehmerzahl mit $n = 50$ gewählt. In den meisten der von Ras et al. analysierten Studien wurden weniger Probanden zur Messung der Endothelfunktion nach Konsum von Tee oder Teepolyphenolen verwendet.⁹² Primärparameter war die Veränderung der FMD (in %) der A. brachialis 2 Stunden nach Substanzeinnahme. Sekundärparameter war die Bestimmung der Plasmakonzentrationen der Teepolyphenole 2 Stunden nach Substanzeinnahme. Vor Beginn der Auswertung wurden die Daten auf Normalverteilung geprüft. Soweit nicht anders vermerkt, liegt eine Normalverteilung zugrunde. Numerische Daten im Text und in den Tabellen wurden in Mittelwerten (MW) und deren Standardabweichung (SD) angegeben. In den Abbildungen erfolgte die Darstellung in MW und deren „standard error of the mean“ (SEM). Zuerst wurden die Ausgangsparameter der 50 Studienteilnehmer beschrieben. Auf Unterschiede beim systolischen und diastolischen Blutdruck vor und zwei Stunden nach Substanzeinnahme wurde mittels gepaartem 2-seitigen t-Test getestet. Mit einer Varianzanalyse für Messwiederholungen wurde auf Unterschiede zwischen den Werten der drei Messarme (Wasser, Grüner Tee, EGCG) folgender Variablen untersucht: Ruhedurchmesser der A. brachialis zum Zeitpunkt T0 und T2, FMD und NMD zu den Zeitpunkten T0 und T2, Veränderung der FMD und Veränderung der NMD. Bei einem signifikanten Ergebnis in der Varianzanalyse für Messwiederholungen schloss sich eine multiple Testung mit Bonferroni-Korrektur an.

Mit dem gepaarten 2-seitigen t-Test wurde auf Unterschiede zwischen den Werten zum Zeitpunkt T0 und T2 der Variablen innerhalb eines Messarms getestet. Hierbei wurden Unterschiede zwischen den Ruhedurchmessern der A. brachialis, der FMD und NMD zwischen den beiden Messzeitpunkten untersucht.

Es wurden die MW der Konzentrationen der Inhaltsstoffe des Grünen Tees und der Kapsel mit isoliertem EGCG angegeben. Die Katechinplasmakonzentrationen zum Zeitpunkt T0 und T2 der Messarme mit Wasser, Grünem Tee und EGCG wurden in MW und deren SD angegeben. Die EGCG-Plasmakonzentrationen waren nicht normalverteilt. Der Vergleich der EGCG-Plasmakonzentrationen zwischen der Intervention mit Grünem Tee und mit EGCG erfolgte daher mittels Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verbundener Stichproben. Des Weiteren wurden Korrelationsanalysen nach Spearman mit der EGCG-Plasmakonzentration und der Veränderung der FMD und der FMD zum Zeitpunkt T2 für die zwei Messarme – Grüner Tee und EGCG – durchgeführt.

Bei allen statistischen Tests wurde ein p-Wert von $p < 0,05$ als statistisch signifikant gewertet. Für die statistische Auswertung der Daten wurde das Programm SPSS Statistics 21 verwendet. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte durch Balken- und Streudiagramme mithilfe von Excel 2013. Die statistische Auswertung erfolgte nach Rücksprache mit dem Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin.

4 Ergebnisse

4.1 Studienpopulation

Insgesamt wurden 56 Teilnehmer in die Studie eingeschlossen, wovon zwei Teilnehmer die Studie vorzeitig abbrachen. Zwei Teilnehmer zeigten deutlich erhöhte Triglycerid-Nüchtern-Werte und zwei Teilnehmer wiesen ein unzureichendes Gesamtcholesterin-, LDL-, HDL- Triglycerid-Profil auf, was zum Ausschluss aus der Studie führte.

50 Teilnehmer beendeten die Studie. Diese Daten gingen in die Auswertung ein. Das Durchschnittsalter der 50 Teilnehmer lag bei $33,9 \pm 7,6$ Jahren mit einer Spanne von 22 – 49 Jahren. In der Gruppe 20 – 29 Jahre befanden sich 19 Teilnehmer, in der Gruppe 30 – 39 Jahre 18 Teilnehmer und in der Gruppe 40 – 50 Jahre 13 Teilnehmer. Das Gewicht lag bei $78,9 \pm 10,39$ kg. Der BMI betrug im Durchschnitt $23,67 \pm 2,51$ kg/m². Die Blutdruckwerte jedes Studienteilnehmers vor Messbeginn zum Zeitpunkt T0 dienten der Überprüfung auf Normotonie. Der Mittelwert des Blutdrucks vor Messbeginn zum Zeitpunkt T0 aller 50 Teilnehmer lag bei $RR_{\text{sys}} 121,96 \pm 9,43$ mmHg und $RR_{\text{dia}} 69,73 \pm 7,61$ mmHg und damit im Normbereich. Die Herzfrequenz betrug im Mittel $59,12 \pm 7,47$ Schläge/min. Das Vorliegen eines manifesten Diabetes mellitus, einer Fettstoffwechselstörung und Hyperhomocysteinämie wurde durch die Bestimmung der Blutparameter (HbA1c, Gesamtcholesterin, LDL, HDL, Triglyceride, Homocystein) bei Studieneinschluss jedes Teilnehmers überprüft. Als weiterer Fettstoffwechselfparameter wurde das Lipoprotein(a) bestimmt. Die Mittelwerte aller Laborparameter zum Studieneinschluss der 50 Studienteilnehmer befanden sich im Normbereich und sind in der Tabelle 4-1 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 4-1: Laborparameter bei Studieneinschluss

Gesamtcholesterin (mg/dl)	178,7 ± 34,2
LDL-Cholesterin (mg/dl)	112,2 ± 34,2
HDL-Cholesterin (mg/dl)	54,3 ± 11,4
Triglyceride (mg/dl)	93,2 ± 51,1
Lipoprotein(a) (mg/l)	153,2 ± 277,7
HbA1c (%)	5,2 ± 0,3
C-reaktives Protein (mg/l)	1,2 ± 2,1
Homocystein (µmol/l)	11,3 ± 4,7

Die Darstellung der Werte erfolgte in MW ± SD für n = 50.

4.2 Inhaltsstoffe des Grünen Tees und der Kapsel mit isoliertem EGCG

Die Konzentrationen der Inhaltsstoffe des frisch aufgebrauhten Grünen Tees und der Kapsel mit isoliertem EGCG sind in Tabelle 4-2 angegeben.

Tabelle 4-2: Konzentrationen der Katechine und weiterer Inhaltsstoffe im Grünen Tee und der Kapsel mit isoliertem EGCG

	EC	EGC	ECG	EGCG	GC	Catechin	GCG	TB	GA	Koffein
	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
Grüner Tee	51,6	141,0	89,1	452,5	113,0	10,8	7,8	15,0	35,4	265,0
	mg/g	mg/g	mg/g	mg/g	mg/g	mg/g	mg/g	mg/g	mg/g	mg/g
Kapsel	5,0	<0,01	40,6	936,0	<0,01	0,7	<0,01	<0,01	0,5	0,04

Legende: EC – Epicatechin, EGC – Epigallocatechin, ECG – Epicatechingallat, EGCG – Epigallocatechingallat, GC – Gallocatechin, GCG – Gallocatechingallat, TB – Theobromin, GA – Gallussäure. Die Werte sind angegeben als MW für n = 6 für Grünen Tee und n = 3 für die Kapsel mit isoliertem EGCG.

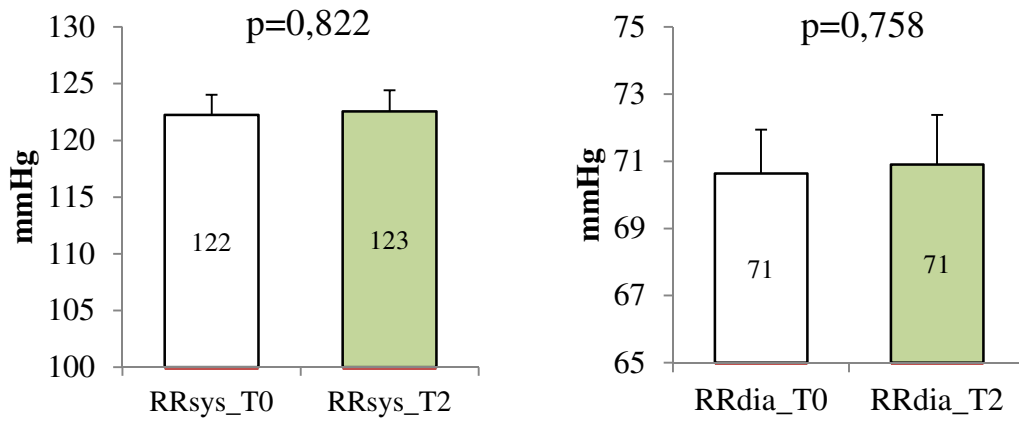
Der EGCG-Gehalt im Grünen Tee betrug 45,2 %. Um eine Dosis von 200 mg EGCG oral aufzunehmen, wurden jedem Studienteilnehmer 442 ml frisch aufgebrauhter Tee nach Protokoll (siehe 3.3.1.3) verabreicht. Bei der Kapsel mit isoliertem EGCG lag EGCG in einer Reinheit von 93,6 % vor, so dass 214 mg Kapselgewicht eingewogen wurden. Eine Kapsel enthielt somit eine

Dosis von 200 mg EGCG, welche zusammen mit 442 ml heißem Wasser oral aufgenommen wurde. 442 ml heißes Wasser diente als Kontrolle.

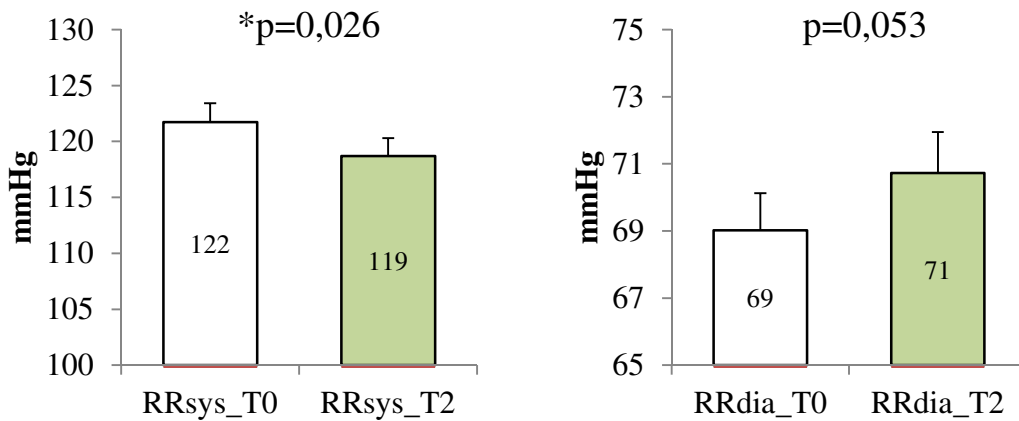
4.3 Blutdruck

Nach Wasser zeigte sich keine signifikante Veränderung des systolischen und diastolischen Blutdrucks. Nach EGCG kam es zu einer signifikanten Senkung des systolischen Blutdrucks. Der diastolische Blutdruck stieg nicht signifikant an. Nach Grünem Tee zeigte sich ein Anstieg sowohl beim systolischen als auch beim diastolischen Blutdruck. Dabei war der Anstieg beim diastolischen Blutdruck signifikant. Veränderungen in den Blutdruckwerten der drei Interventionen – Wasser, EGCG und Grüner Tee – von Zeitpunkt T0 zu T2 sind in der Abbildung 4-1 dargestellt. Aufgrund technischer Probleme konnten die Daten für den Blutdruck nicht vollständig von allen 50 Studienteilnehmern erhoben werden.

Wasser



EGCG



Grüner Tee

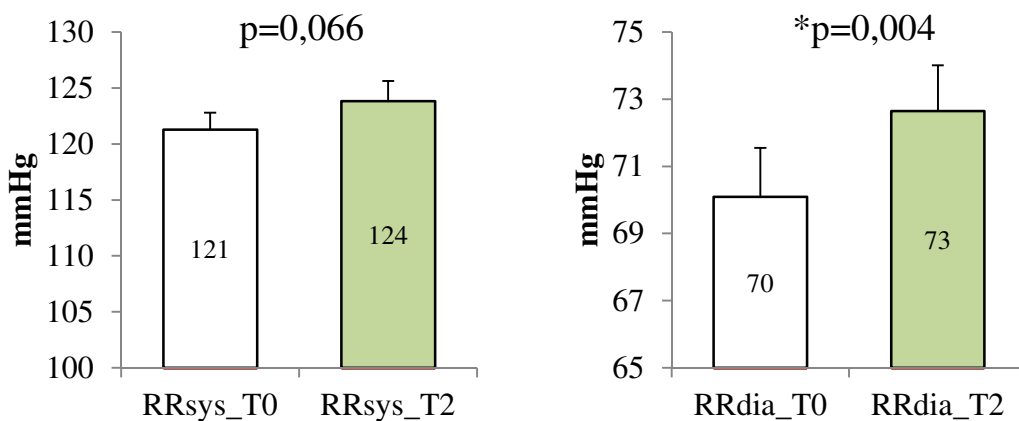


Abbildung 4-1: Systolischer und diastolischer Blutdruck zu den Zeitpunkten T0 und T2 innerhalb der Messarme. Die Darstellung erfolgte in Balkendiagrammen in MW ± SEM für n = 42 für RR_{sys} und RR_{dia} für Wasser, n = 47 für RR_{sys} und n = 48 für RR_{dia} für EGCG, n = 43 für RR_{sys} und RR_{dia} für Grünen Tee. * steht für statistisch signifikant, (p < 0,05).

4.4 Flussvermittelte Dilatation – FMD

4.4.1 Ruhedurchmesser der A. brachialis der FMD-Messungen

Beim Vergleich der Ruhedurchmesser der A. brachialis der FMD-Messungen zwischen den drei Interventionsarmen zeigten sich sowohl zum Zeitpunkt T0 als auch zum Zeitpunkt T2 keine signifikanten Unterschiede. Tabelle 4-3 fasst die Ruhedurchmesser der FMD-Messungen sowie ihre p-Werte zusammen.

Tabelle 4-3: Ruhedurchmesser der A. brachialis der FMD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee

Ruhedurchmesser der A. brachialis zum Zeitpunkt T0 in mm	Wasser	4,07 ± 0,49	} p = 0,562
	EGCG	4,08 ± 0,51	
	Grüner Tee	4,11 ± 0,51	
Ruhedurchmesser der A. brachialis zum Zeitpunkt T2 in mm	Wasser	4,14 ± 0,52	} p = 0,342
	EGCG	4,13 ± 0,50	
	Grüner Tee	4,10 ± 0,48	

Die Darstellung der Werte erfolgte in MW ± SD für n = 50 Teilnehmer.

Bei der Intervention mit Wasser war der Ruhedurchmesser zum Messzeitpunkt T2 im Vergleich zum Messzeitpunkt T0 größer. Dieser Unterschied war signifikant. Bei der Intervention mit Grünem Tee und EGCG wurde jeweils zwischen den Ruhedurchmessern zu beiden Messzeitpunkten T0 und T2 kein signifikanter Unterschied gefunden. Zur graphischen Veranschaulichung sind in Abbildung 4-2 die Ruhedurchmesser der A. brachialis zu den Zeitpunkten T0 und T2 der einzelnen Interventionsarme mit ihren p-Werten dargestellt.

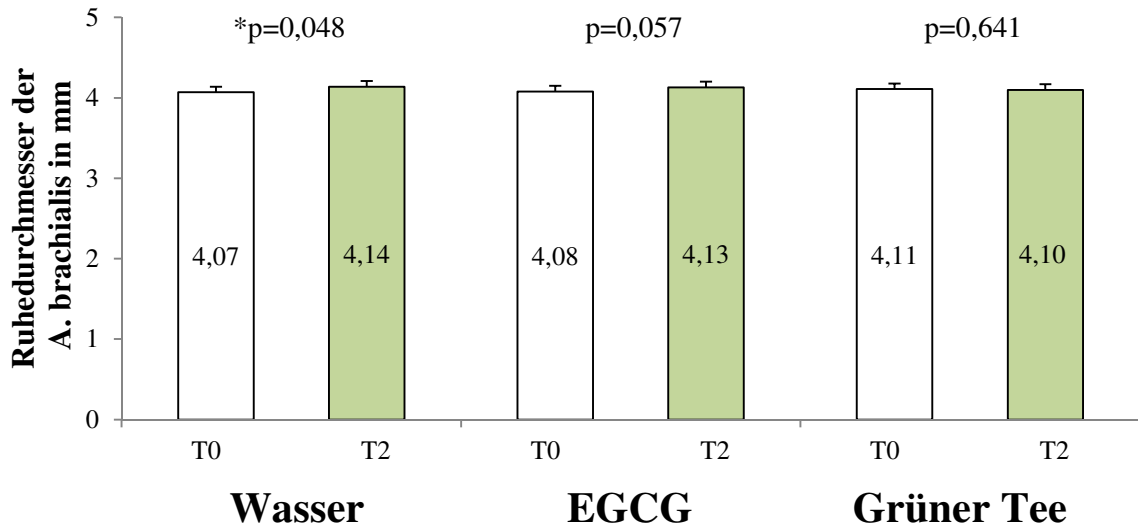


Abbildung 4-2: Ruhedurchmesser der A. brachialis der FMD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee. Die Darstellung der Werte erfolgte in $MW \pm SEM$ für $n = 50$ Teilnehmer.

4.4.2 Vergleich der FMD zwischen den Interventionsarmen

Es gab keinen signifikanten Unterschied in der FMD zum Zeitpunkt T0 zwischen Wasser, EGCG und Grünem Tee ($p = 0,444$). Zum Zeitpunkt T2 war der Unterschied in der FMD zwischen den drei Interventionen signifikant ($p = 0,031$). Dabei war die FMD zum Zeitpunkt T2 nach Grünem Tee signifikant größer als nach Wasser ($p = 0,009$). Zwischen den Interventionen Wasser und EGCG ($p = 1,000$) sowie zwischen Grünem Tee und EGCG ($p = 0,349$) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der FMD zum Zeitpunkt T2. Die Werte der FMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 der drei Interventionen sind in Tabelle 4-4 dargestellt.

Tabelle 4-4: FMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünem Tee

	FMD	
	Zeitpunkt T0	Zeitpunkt T2
Wasser	$5,05 \pm 2,65$	$4,21 \pm 2,65$
EGCG	$5,00 \pm 3,07$	$4,77 \pm 3,99$
Grüner Tee	$4,49 \pm 2,77$	$5,85 \pm 3,61$

Die Darstellung der Werte erfolgte in $MW \pm SD$ für $n = 50$ Teilnehmer.

4.4.3 Vergleich der FMD innerhalb eines Interventionsarms

Wasser und EGCG hatten keinen signifikanten Einfluss auf die FMD. Grüner Tee führte jedoch zu einem signifikanten Anstieg der FMD. Abbildung 4-3 zeigt die FMD der einzelnen Interventionsarme zu den Zeitpunkten T0 und T2 mit den p-Werten.

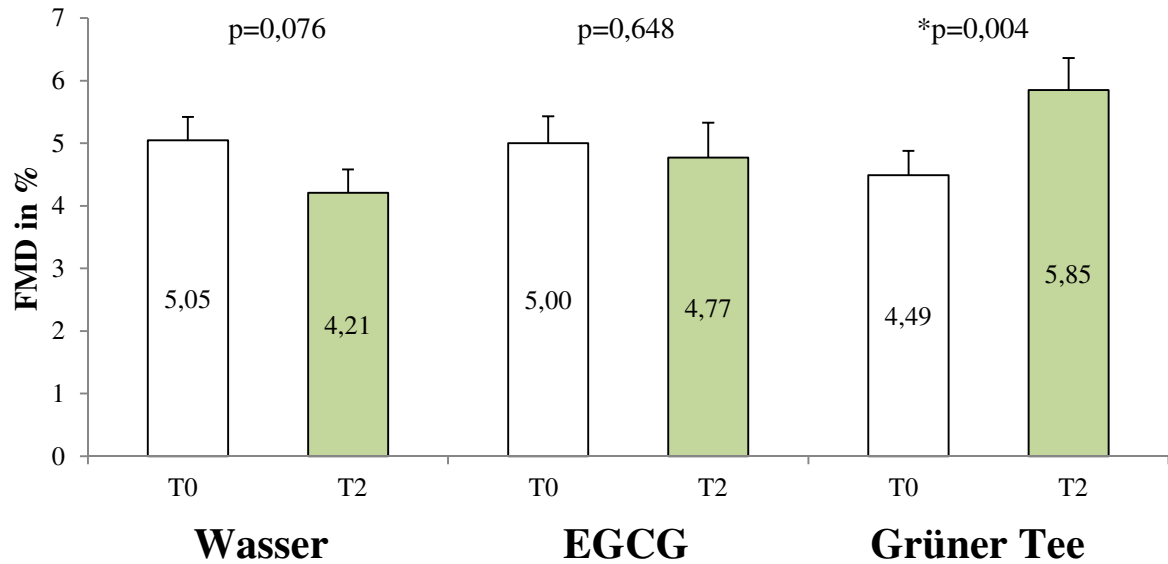
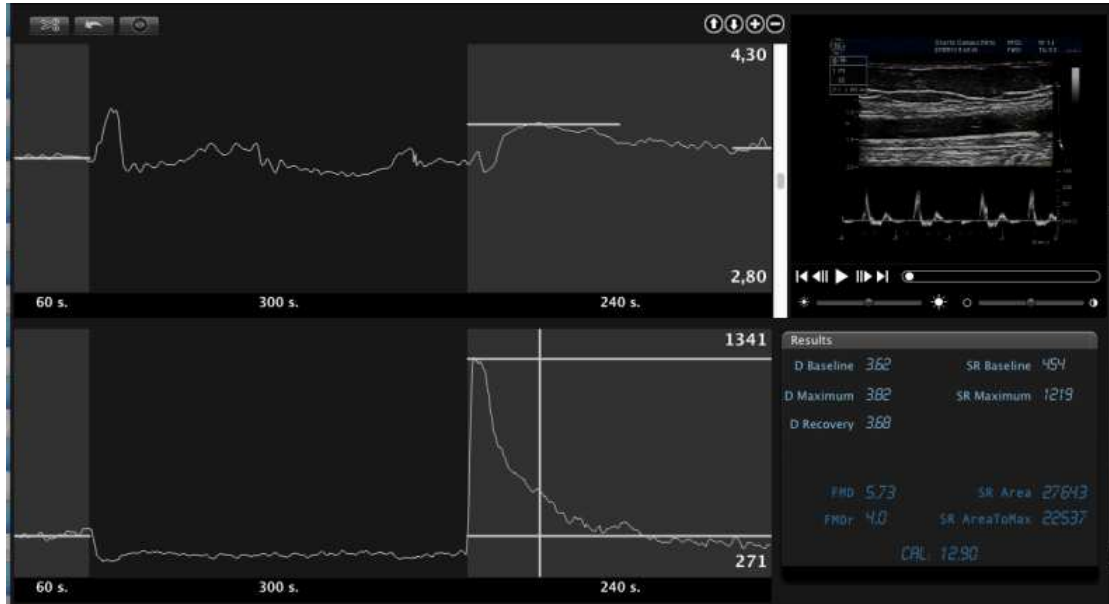


Abbildung 4-3: FMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee. Die Darstellung der Werte erfolgte in $MW \pm SEM$ für $n = 50$ Teilnehmer.

Ergebnisse

In Abbildung 4-4 bis Abbildung 4-6 sind repräsentative Screenshots für die einzelnen Interventionen der FMD-Messungen gezeigt.

FMD-Messung von Wasser zum Zeitpunkt T0



FMD-Messung von Wasser zum Zeitpunkt T2

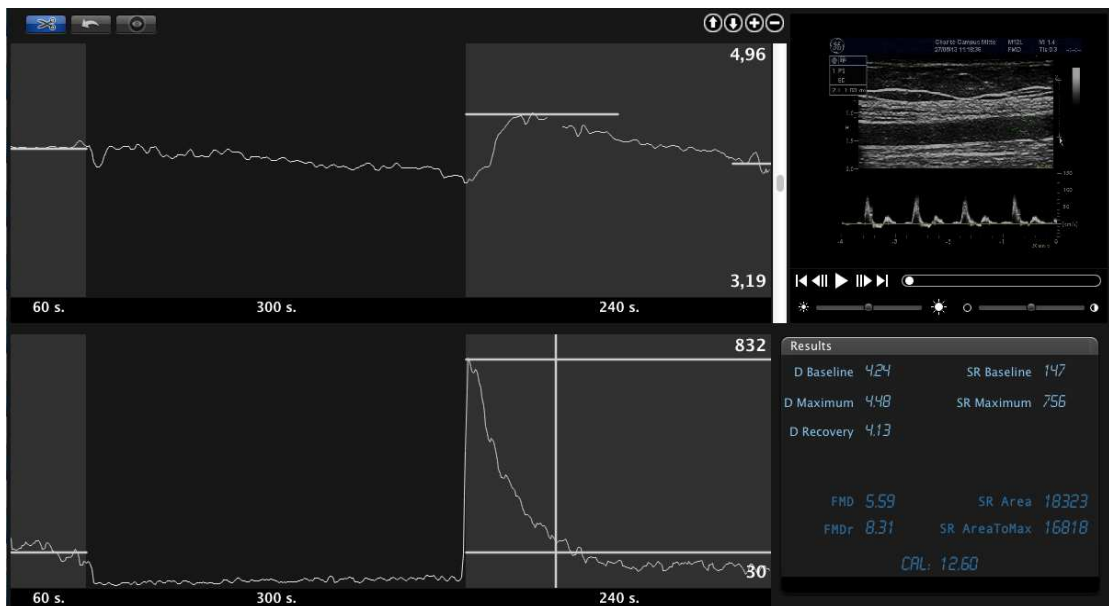
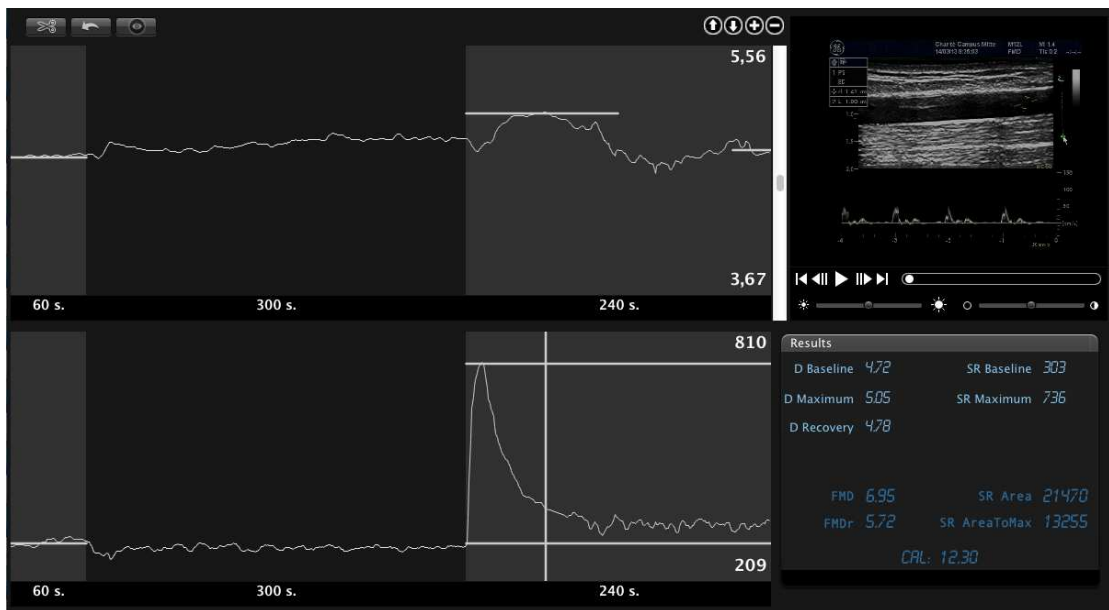


Abbildung 4-4: Repräsentative Screenshots der FMD-Messungen von Wasser

Ergebnisse

FMD-Messung von EGCG zum Zeitpunkt T0



FMD-Messung von EGCG zum Zeitpunkt T2

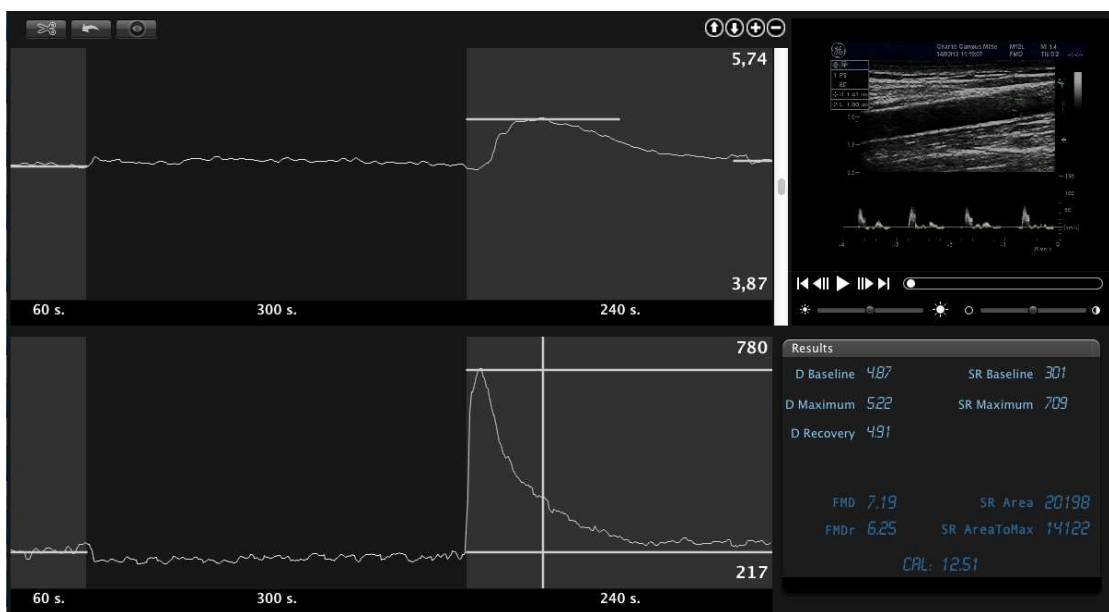
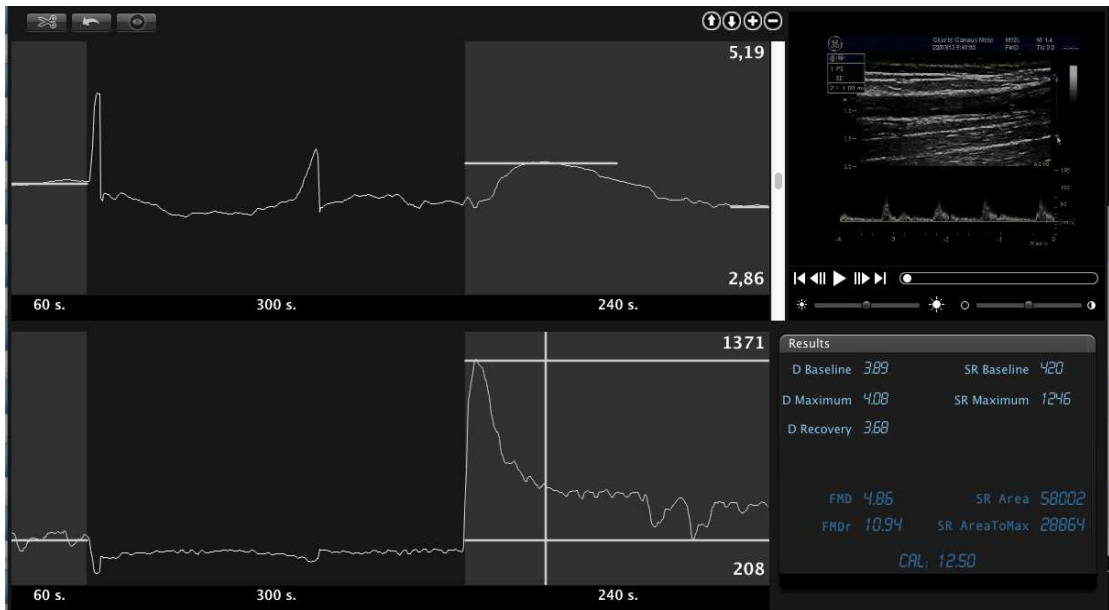


Abbildung 4-5: Repräsentative Screenshots der FMD-Messungen von EGCG

FMD-Messung von Grünem Tee zum Zeitpunkt T0



FMD-Messung von Grünem Tee zum Zeitpunkt T2

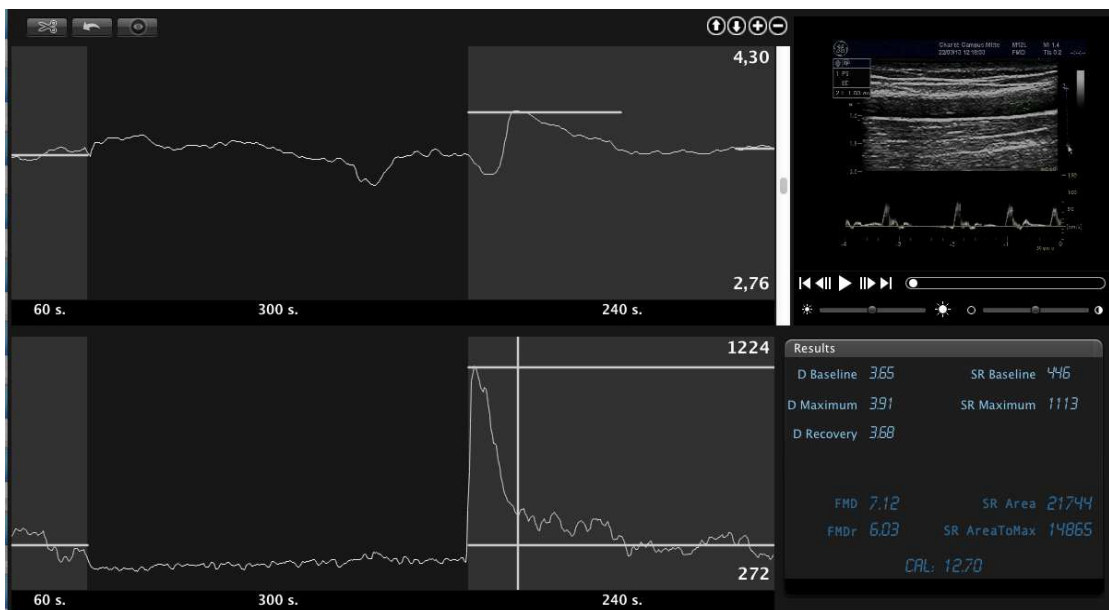


Abbildung 4-6: Repräsentative Screenshots der FMD-Messungen von Grünem Tee

4.4.4 *Veränderung der FMD (ΔFMD)*

Die Veränderung der FMD ($\Delta FMD[\%]$) wurde aus der Differenz der FMD zum Zeitpunkt T2 und der FMD zum Zeitpunkt T0 jedes einzelnen Messarmes gebildet. Ihr Wert zeigt den prozentualen Unterschied zwischen den FMD-Werten vor und nach Substanzeinnahme an.

$$\Delta FMD[\%] = FMD[\%]_{T2} - FMD[\%]_{T0}$$

Die Veränderung der FMD war bei der Intervention mit Wasser am geringsten und mit Grünem Tee am größten. Dabei zeigte sich beim Grünen Tee eine Verbesserung der FMD. Die Veränderung der FMD bei EGCG lag zwischen den Werten von Wasser und Grünem Tee. Eine Übersicht der Werte der Veränderung der FMD ist in Tabelle 4-5 aufgeführt.

Tabelle 4-5: Veränderung der FMD für Wasser, EGCG und Grünem Tee

Veränderung der FMD in %	
Wasser	-0,84 ± 3,27
EGCG	-0,23 ± 3,47
Grüner Tee	1,36 ± 3,18

Die Darstellung der Werte erfolgte in $MW \pm SD$ für $n = 50$ Teilnehmer.

Zwischen den drei Interventionen zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Veränderung der FMD ($p = 0,004$). Dabei waren die Veränderungen der FMD zwischen Wasser und Grünem Tee und zwischen EGCG und Grünem Tee signifikant unterschiedlich. Zwischen den Interventionen Wasser und EGCG ergab sich bei den Veränderungen der FMD kein signifikanter Unterschied. In Abbildung 4-7 sind die Veränderungen der FMD der drei Interventionen mit ihren p-Werten gezeigt.

Ergebnisse

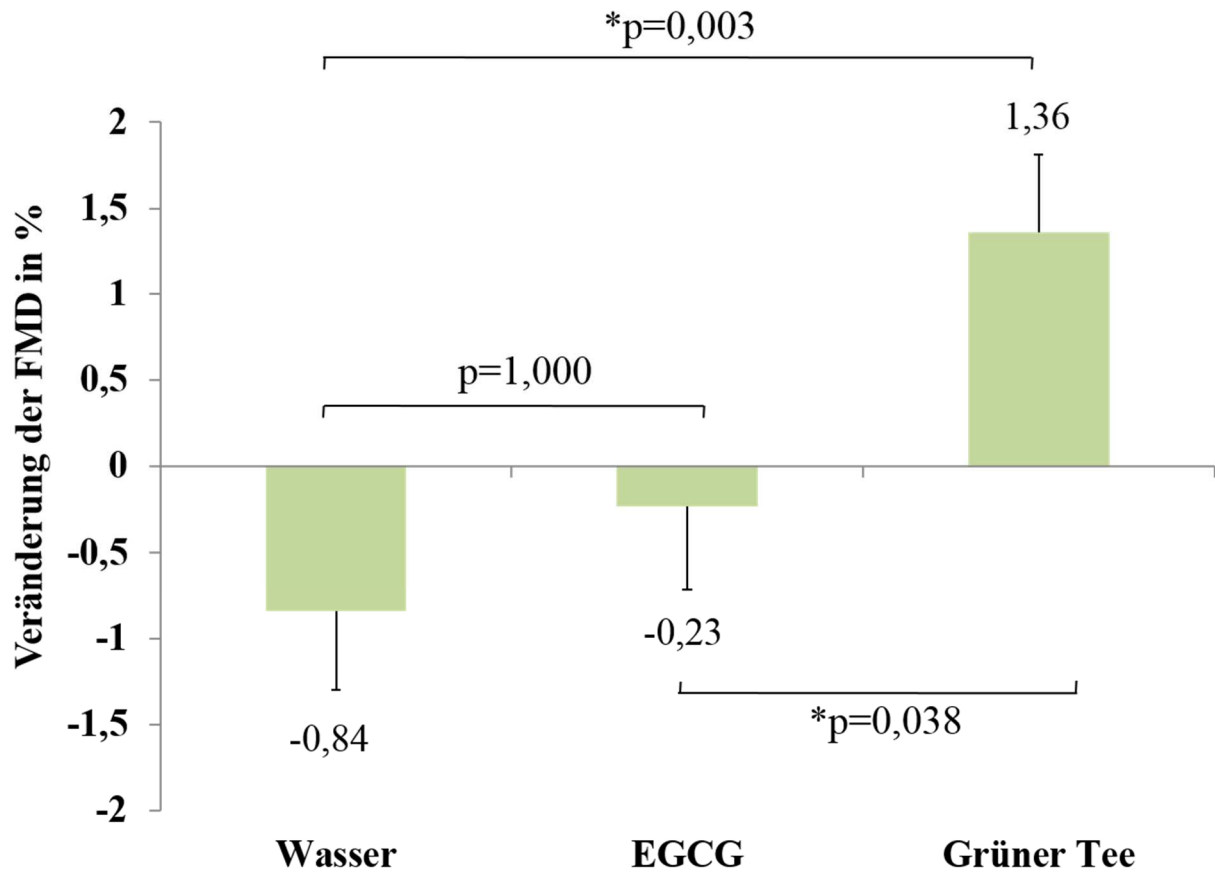


Abbildung 4-7: Veränderung der FMD der drei Interventionsarme mit p-Werten. Die Darstellung der Werte erfolgte in MW ± SEM für n = 50 Teilnehmer.

4.5 Nitro-vermittelte Dilatation – NMD

4.5.1 Ruhedurchmesser der A. brachialis der NMD-Messungen

Bei den NMD-Messungen fanden sich zwischen den drei Interventionen zu beiden Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede bei den Ruhedurchmessern der A. brachialis. Eine Zusammenfassung der Ruhedurchmesser der NMD-Messungen mit ihren p-Werten ist in Tabelle 4-6 aufgeführt.

Tabelle 4-6: Ruhedurchmesser der A. brachialis der NMD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee

Ruhedurchmesser der A. brachialis zum Zeitpunkt T0 in mm	Wasser	4,06 ± 0,50	} p = 0,778
	EGCG	4,06 ± 0,53	
	Grüner Tee	4,08 ± 0,50	
Ruhedurchmesser der A. brachialis zum Zeitpunkt T2 in mm	Wasser	4,11 ± 0,52	} p = 0,787
	EGCG	4,12 ± 0,49	
	Grüner Tee	4,10 ± 0,49	

Die Darstellung der Werte erfolgte in MW ± SD für n = 50 Teilnehmer.

Innerhalb eines Interventionsarmes stiegen die Ruhedurchmesser der A. brachialis zu den Zeitpunkten T0 und T2 nach Wasser und EGCG signifikant an. Nach Grünem Tee fand sich kein signifikanter Unterschied. In Abbildung 4-8 sind die Ruhedurchmesser der NMD-Messungen der drei Interventionen mit ihren p-Werten zur Veranschaulichung graphisch dargestellt.

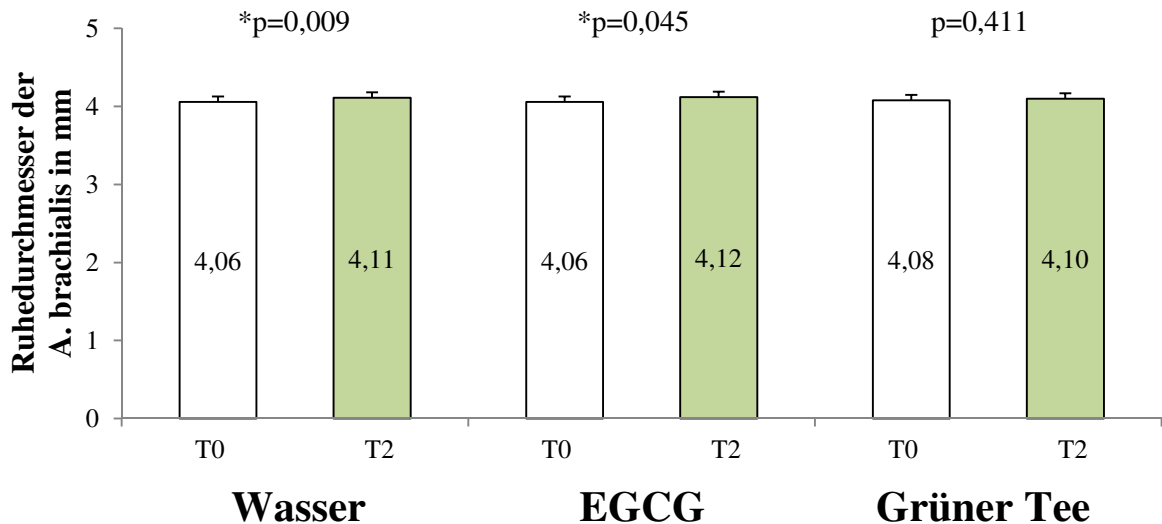


Abbildung 4-8: Ruhedurchmesser der A. brachialis der NMD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee. Die Darstellung der Werte erfolgte in MW \pm SEM für n = 50 Teilnehmer.

4.5.2 Vergleich der NMD zwischen den Interventionsarmen

Zwischen den drei Interventionen gab es keine signifikanten Unterschiede der NMD zum Zeitpunkt T0 ($p = 0,145$) und zum Zeitpunkt T2 ($p = 0,329$). Als Übersicht sind die Werte der NMD der beiden Messzeitpunkte in Tabelle 4-7 dargestellt.

Tabelle 4-7: NMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee

	NMD	
	Zeitpunkt T0	Zeitpunkt T2
Wasser	19,57 \pm 6,40	19,25 \pm 7,42
EGCG	18,19 \pm 5,59	18,04 \pm 6,24
Grüner Tee	19,70 \pm 6,14	18,91 \pm 6,24

Die Darstellung der Werte erfolgte in MW \pm SD für n = 50 Teilnehmer.

4.5.3 Vergleich der NMD innerhalb eines Interventionsarms

Auch innerhalb der Interventionsarme gab es keine signifikanten Unterschiede zu beiden Messzeitpunkten. Abbildung 4-9 zeigt die NMD der drei Interventionen mit ihren p-Werten.

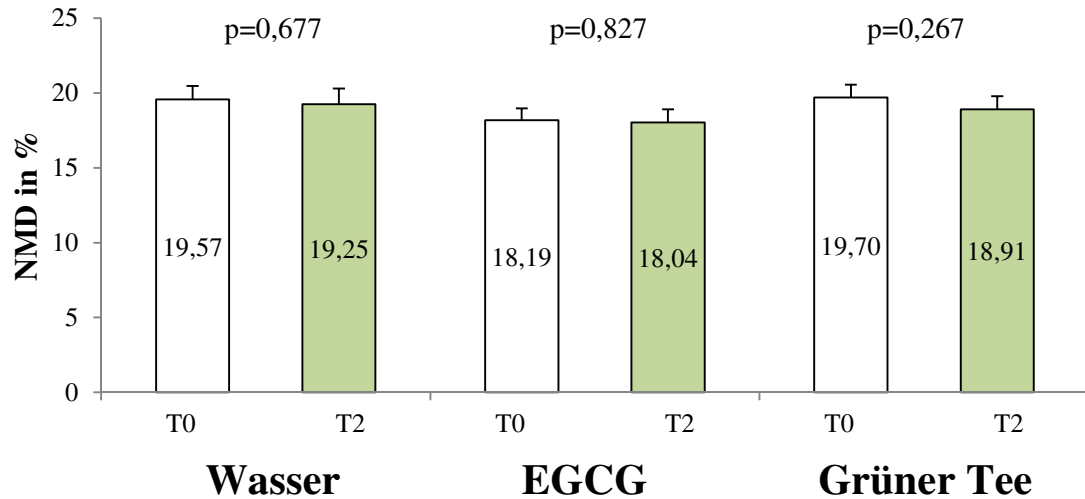


Abbildung 4-9: NMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee. Die Darstellung der Werte erfolgte in $MW \pm SEM$ für $n = 50$ Teilnehmer.

Abbildung 4-10 zeigt repräsentative Screenshots der NMD-Messungen von Grünem Tee.

NMD-Messung von Grünem Tee zum Zeitpunkt T0



NMD-Messung von Grünem Tee zum Zeitpunkt T2



Abbildung 4-10: Repräsentative Screenshots der NMD-Messungen von Grünem Tee

4.5.4 Veränderung der NMD (ΔNMD)

Die Veränderung der NMD ($\Delta NMD[\%]$) wurde aus der Differenz der NMD zum Zeitpunkt T2 und der NMD zum Zeitpunkt T0 jedes einzelnen Messarmes gebildet. Ihr Wert zeigt den prozentualen Unterschied zwischen den NMD-Werten vor und nach Substanzeinnahme an.

$$\Delta NMD[\%] = NMD[\%]_{T2} - NMD[\%]_{T0}$$

In der Veränderung der NMD zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Interventionen. Die Werte der Veränderung der NMD von Wasser, EGCG und Grünem Tee sind in Abbildung 4-11 zu sehen.

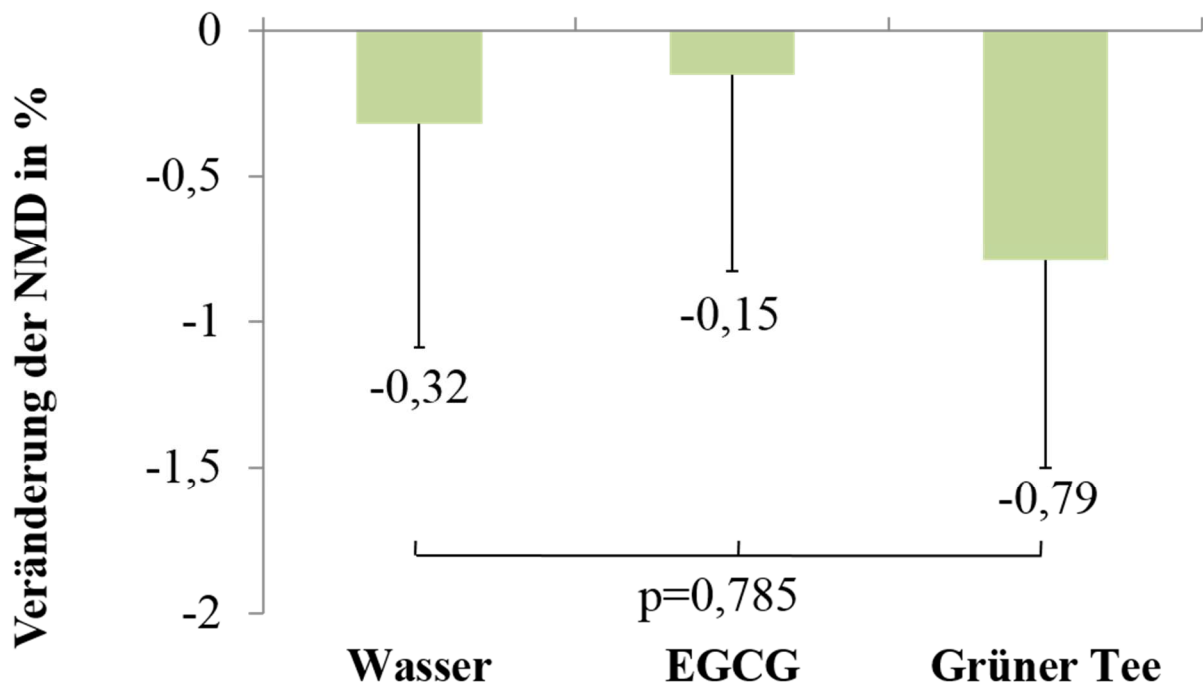


Abbildung 4-11: Veränderung der NMD der drei Interventionsarme. Die Darstellung der Werte erfolgte in $MW \pm SEM$ für $n = 50$ Teilnehmer.

4.6 Katechinplasmakonzentrationen in den Interventionsarmen

Die Plasmakonzentrationen der Teekatechine (EC, EGC, ECG, EGCG) der 50 Studienteilnehmer wurden sowohl vor als auch nach Dekonjugation mittels HPLC-Methode gemessen.⁸⁹ Die Ergebnisse sind in Tabelle 4-8 aufgeführt. Die statistischen Berechnungen wurden jeweils mit den Katechinplasmakonzentrationen nach Dekonjugation (= Katechine nach Deglucuronidierung und Desulfatierung) vorgenommen.

Zum Zeitpunkt T0 wurden bei allen Interventionen keine Teekatechine im Plasma nachgewiesen. Nach Wasser war bei 49 Studienteilnehmern das Blutplasma zum Zeitpunkt T2 katechinfrei. Bei einem Teilnehmer fand sich ein EGCG-ähnlicher, verschobener Peak. Nach Verabreichung von Grünem Tee wurden im Plasma der Studienteilnehmer $65,2 \pm 28,0$ ng/ml und bei der Intervention der Kapsel mit isoliertem EGCG $145,9 \pm 109,6$ ng/ml EGCG nach Dekonjugation gemessen. Die Aufnahme von EGCG ins Blut war somit bei der Intervention mit EGCG deutlich höher als beim Grünen Tee ($p < 0,001$). Bei zwei Teilnehmern war nach der Intervention mit EGCG im Plasma kein EGCG nachzuweisen.

Beim Vergleich der EGCG-Plasmakonzentrationen zwischen den Zeitpunkten T0 und T2 innerhalb eines Messarmes zeigten sich signifikante Unterschiede beim Grünen Tee ($p < 0,001$) und EGCG ($p < 0,001$).

Tabelle 4-8: Plasmakonzentrationen der Teekatechine nach Intervention mit EGCG und Grünem Tee zum Zeitpunkt T2

	EGCG		Grüner Tee	
	vor Dekonjugation (ng/ml)	nach Dekonjugation (ng/ml)	vor Dekonjugation (ng/ml)	nach Dekonjugation (ng/ml)
EC	0	0	0	$12,6 \pm 13,5$
EGC	$0,5 \pm 3,3$	$1,9 \pm 6,7$	$1,7 \pm 4,3$	$27,3 \pm 12,8$
ECG	$5,9 \pm 8,9$	$5,8 \pm 8,8$	$34,1 \pm 15,0$	$35,8 \pm 15,1$
EGCG	$149,0 \pm 112,0$	$145,9 \pm 109,6$	$66,9 \pm 27,0$	$65,2 \pm 28,0$
Summe Katechine	$154,8 \pm 118,7$	$153,1 \pm 117,2$	$103,9 \pm 41,9$	$140,2 \pm 52,9$

Die Werte sind in MW \pm SD angegeben für n = 50 Plasmaproben.

Der EGCG-Anteil an den Gesamtkatechinen nach Dekonjugation im Plasma betrug beim Grünen Tee 46,5 % und bei der Kapsel mit isoliertem EGCG 95,3 %. Neben EGCG wurden bei der

Intervention der Kapsel mit isoliertem EGCG im Plasma auch 1,2 % EGC und 3,8 % ECG nachgewiesen.

Zwischen den nicht-gallierten Katechinen (EC, EGC) und den Katechingallaten (ECG, EGCG) ist ein Unterschied im Grad der Konjugation zu erkennen. EC und EGC lagen vorwiegend in konjugierter Form im Plasma vor. Hingegen waren ECG und EGCG weitgehend unkonjugiert.

4.7 Vergleich der EGCG-Plasmakonzentrationen mit der FMD nach Substanzeinnahme

In Abbildung 4-12 wurde die FMD und die EGCG-Plasmakonzentration zum Zeitpunkt T2 im Diagramm aufgetragen. Nach EGCG-Intervention wurde mehr EGCG im Blut nachgewiesen als nach Grünem Tee. Die FMD zum Zeitpunkt T2 war jedoch bei der Intervention mit EGCG im Vergleich zur Intervention mit Grünem Tee geringer.

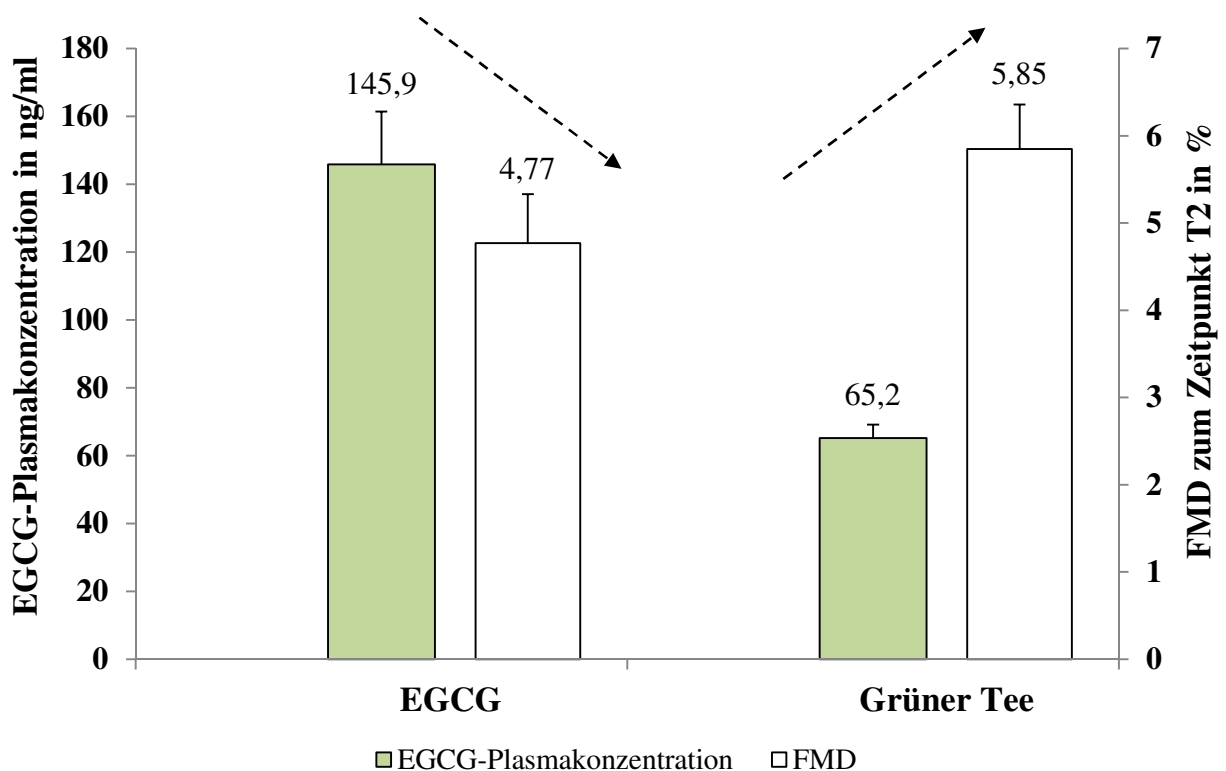


Abbildung 4-12: EGCG-Plasmakonzentration und FMD zum Zeitpunkt T2 nach EGCG und Grünem Tee. Die Werte sind in MW \pm SEM für n = 50 Teilnehmer angegeben.

Auch die Veränderung der FMD war nach EGCG geringer als nach Grünem Tee. Wasser wies von den drei Interventionen den geringsten Wert für die Veränderung der FMD auf (siehe 4.4.4, Abbildung 4-7). Zusammenfassend zeigten sich somit gegenläufige Ergebnisse zwischen den gemessenen EGCG-Plasmakonzentrationen und der Höhe der Veränderung der FMD sowie der FMD zum Zeitpunkt T2 bei der Intervention mit EGCG und Grünem Tee.

In den Korrelationsanalysen zeigte sich nach EGCG und Grünem Tee zwischen der aufgenommenen EGCG-Menge im Blut sowohl für die Amplitude der Veränderung der FMD als auch für Amplitude der FMD zum Zeitpunkt T2 kein signifikanter Zusammenhang. Die Streudiagramme in Abbildung 4-13 und Abbildung 4-14 zeigen die EGCG-Plasmakonzentrationen und Werte der FMD (Veränderung der FMD, FMD zum Zeitpunkt T2).

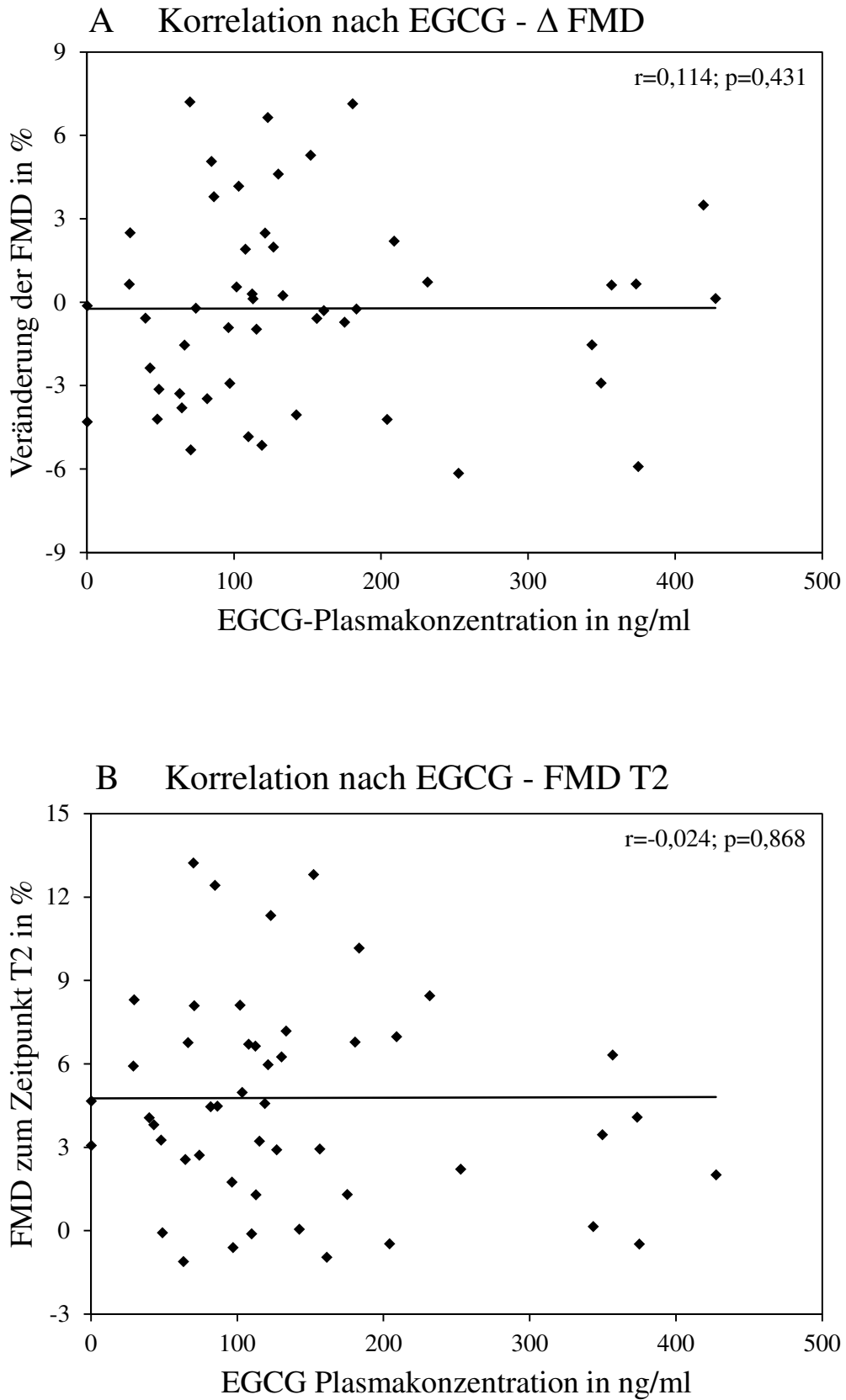


Abbildung 4-13: Korrelationen der EGCG-Plasmakonzentrationen mit der Veränderung der FMD (A) und der FMD (B) nach EGCG für n = 50 Teilnehmer

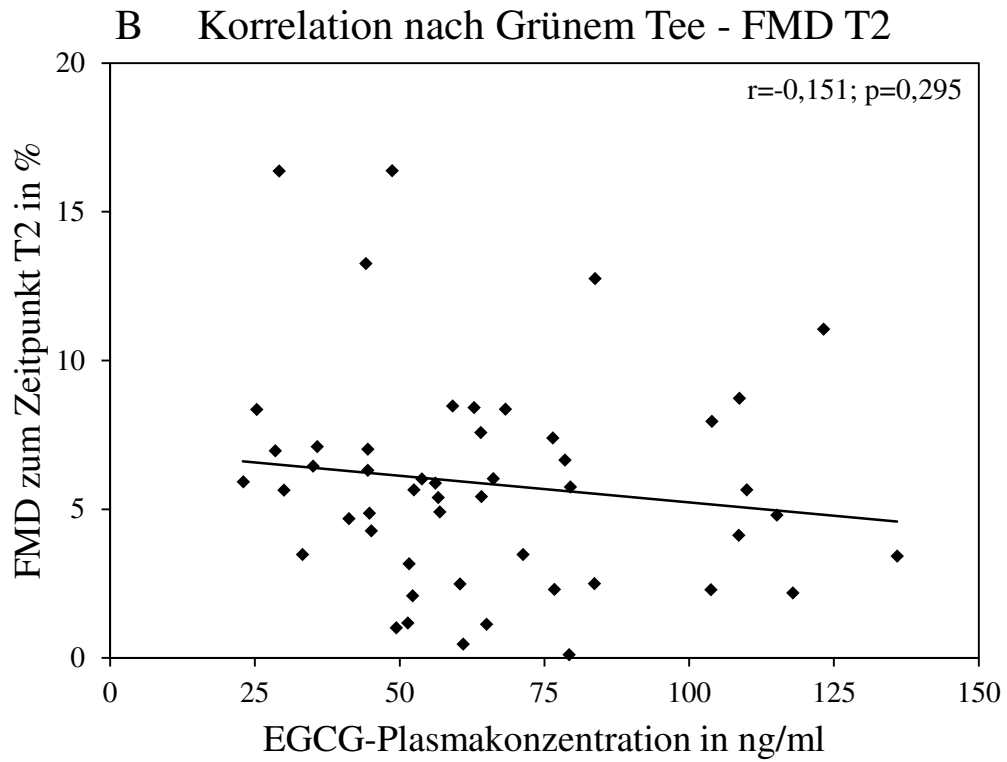
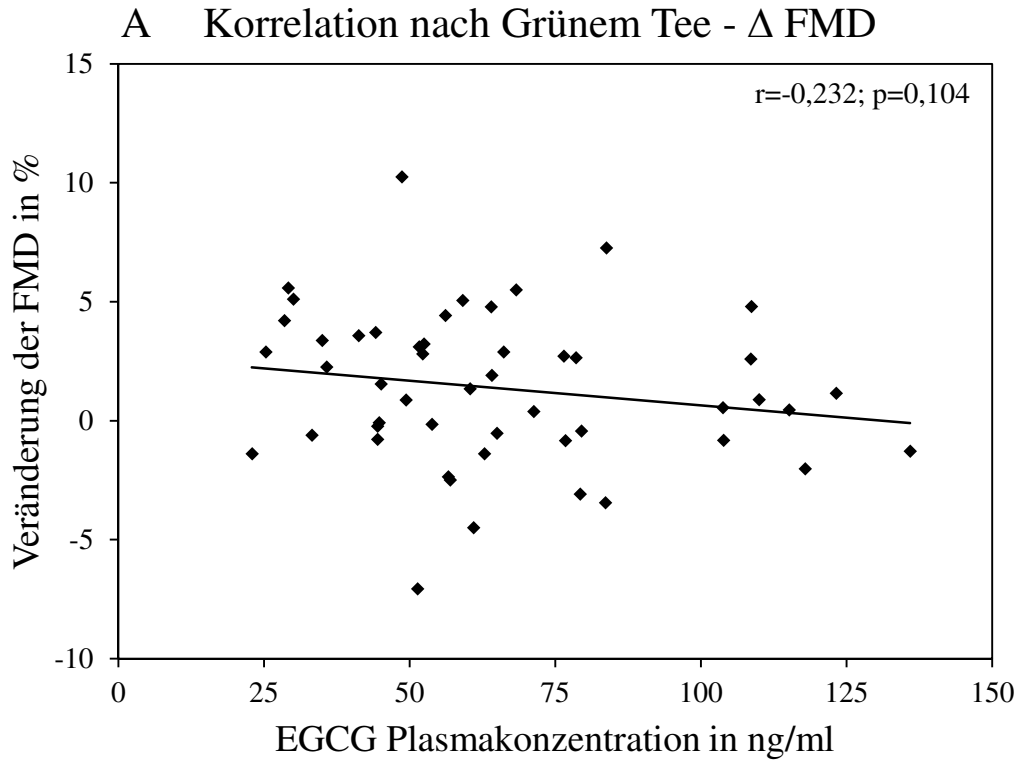


Abbildung 4-14: Korrelationen der EGCG-Plasmakonzentrationen mit der Veränderung der FMD (A) und der FMD (B) nach Grünem Tee für n = 50 Teilnehmer

5 Diskussion

5.1 Wirkung von Grünem Tee auf die Endothelfunktion

Die endotheliale Dysfunktion stellt einen unabhängigen kardiovaskulären Risikofaktor dar. Sie spielt im frühen Entwicklungsprozess der Arteriosklerose eine entscheidende Rolle und tritt bei chronischen Erkrankungen wie Diabetes mellitus aber auch bei Nikotinmissbrauch auf. Epidemiologische Studien geben Hinweise darauf, dass sich der Konsum von Grünem Tee protektiv auf die kardiovaskuläre Gesundheit auswirkt und mit einer Reduktion der kardiovaskulären Mortalität einhergeht.⁹³ In einer 2011 veröffentlichten Metaanalyse wurde beschrieben, dass Teezufuhr die flussvermittelte Gefäßdilatation im Menschen steigert.⁹² Zudem konnte in einigen Untersuchungen gezeigt werden, dass Grüner Tee die Endothelfunktion bei Rauchern^{94–96}, postmenopausalen gesunden Frauen⁸¹ sowie Patienten mit chronischer Nierenkrankheit⁹⁷ akut^{80,81,95,96} und mittelfristig^{94,96,97} verbesserte. Diese Ergebnisse stimmen mit dem Resultat der vorliegenden Studie überein, in der eine akute Steigerung der FMD zwei Stunden nach Intervention mit Grünem Tee bei gesunden Männern ohne kardiovaskuläre Risikofaktoren festgestellt wurde. Die Studien sind allerdings nicht einheitlich. Miller et al. fanden keine akute Besserung der Endothelfunktion nach Aufnahme eines Grüntee-Extraktes mittels Endo-PAT-Methode bei gesunden Männern.⁹⁸ Auch Frank et al. konnten keine Verbesserung der Endothelfunktion bei gesunden Männern im Vergleich zur Placebogruppe nach einer längerfristigen Einnahme (drei Wochen) eines Grüntee-Extrakts feststellen.⁹⁹ Die unterschiedlichen Ergebnisse der Teestudien lassen sich möglicherweise durch Unterschiede im Studiendesign in Hinblick auf Messmethode, Geschlecht, Wirkungszeitraum, aufgenommener Menge Grünen Tees bzw. Teekatechine, Nikotinkonsum und Studienpopulation erklären. Beim Design der vorliegenden Studie wurde sich in Bezug auf Zeitpunkt zur Bestimmung der FMD, Teemenge und Zahl der Studienteilnehmer an der Metaanalyse von Ras et al.⁹² und der Studie von Jochmann et al.⁸¹ orientiert. Mit diesem Studienaufbau konnte ein signifikanter, positiver Einfluss von Grünem Tee auf die Endothelfunktion bestätigt werden.

Erwähnenswert ist, dass Studien mit Grünem Tee zur Endothelfunktion am Menschen bis jetzt vorwiegend mit Studienpopulationen mit eingeschränkter Endothelfunktion oder vorliegenden kardiovaskulären Risikofaktoren durchgeführt wurden. Die hier vorliegende Studie hingegen untersuchte die Wirkung von Teekatechinen oder Grünem Tee bei einem gesunden Probandenkollektiv mit normaler Endothelfunktion ohne kardiovaskuläre Risikofaktoren. Diese Studie ist daher eine der ersten Humanstudien, die einen akut verbessernden Effekt auf die

Endothelfunktion bei gesunden Männern ohne kardiovaskuläre Risikofaktoren nach Intervention mit Grünem Tee zeigt. Folglich können die vorliegenden Ergebnisse als Hinweis gewertet werden, dass Menschen verschiedenster Bevölkerungs- bzw. Risikogruppen von akuten Effekten des Grünen Tees profitieren. Sowohl bei gesundem als auch bei geschädigtem Endothel kann Grüner Tee dessen Funktion verbessern.

5.2 Einfluss von EGCG auf die Endothelfunktion

Die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse liefern deutliche Hinweise, dass isoliertes EGCG in einer Dosis von 200 mg keinen Effekt auf die flussvermittelte Dilatation bei gesunden Männern ohne vorliegende kardiovaskuläre Risikofaktoren im Vergleich zur gleichen EGCG-Menge im Grünen Tee bewirkte. 200 mg EGCG entsprechen dabei einer täglichen ernährungsrelevanten Aufnahmemenge an Grünem Tee (ca. ½ Liter). Die Aufnahme von EGCG (zusammen mit 442 ml heißem Wasser) zeigte keinen signifikanten Unterschied in der FMD gegenüber der alleinigen Wasseraufnahme. Dabei waren sowohl der Vergleich der Veränderung der FMD als auch der FMD zum Zeitpunkt T2 nicht signifikant verschieden. Auch innerhalb des jeweiligen Arms konnten bei Wasser und EGCG keine signifikanten Unterschiede zwischen der FMD im Vergleich zur Baseline-Messung gefunden werden, wobei die FMD zum Zeitpunkt T2 bei Wasser geringer war als beim EGCG. Grüner Tee hingegen bewirkte eine signifikante Verbesserung der FMD.

Bei der Veränderung der FMD sowie bei der FMD zum Zeitpunkt T2 zeigten sich bei der Intervention mit Wasser die geringsten und bei der Intervention mit Grünem Tee die höchsten FMD-Werte. Die FMD-Werte der Intervention mit EGCG lagen dazwischen. Bei der Veränderung der FMD gab es signifikante Unterschiede sowohl zwischen Wasser und Grünem Tee als auch zwischen EGCG und Grünem Tee. Bei der FMD zum Zeitpunkt T2 unterschieden sich Wasser und Grüner Tee signifikant, EGCG und Grüner Tee jedoch nicht.

Zusammenfassend deuten die vorliegenden Ergebnisse darauf hin, dass 200 mg isoliertes EGCG kaum eine Wirkung auf die Endothelfunktion ausübt. Die Effekte der drei Interventionen auf die FMD können in dieser Studie in folgende Beziehung gesetzt werden: Grüner Tee >> EGCG > Wasser. Dabei beeinflusste der Grüne Tee die Endothelfunktion positiv, isoliertes EGCG und Wasser hingegen führten zu keiner Steigerung der flussvermittelten Dilatation.

5.3 Wirkung von EGCG im Kontext der aktuellen Studienlage

5.3.1 *Klinische Studien*

Die akute Wirkung von EGCG auf die Endothelfunktion wurde ebenfalls von Widlansky et al. untersucht.¹⁰⁰ Dabei wurde in einer Cross-over-Design Studie bestehend aus zwei Armen (300 mg EGCG, Placebo) die FMD der A. brachialis zu drei Messzeitpunkten (Zeitpunkt T0, nach zwei Stunden sowie nach zweiwöchiger täglicher Einnahme der Substanzen) gemessen. Dabei wurde eine signifikante Verbesserung der Endothelfunktion zwei Stunden nach Einnahme von EGCG festgestellt. Für den Unterschied zum Ergebnis unserer Arbeit können verschiedene Faktoren diskutiert werden.

Zum einen war die FMD zum Zeitpunkt T0 zwischen dem Placebo- und dem EGCG-Arm bei Widlansky et al. verschieden.¹⁰⁰ Die Amplituden der FMD-Werte zwei Stunden nach Substanzeinnahme waren jedoch gleich groß. Diese Tatsache könnte, wie auch von den Autoren angedeutet, eine Fehlerquelle der Ergebnisse erklären. In unserer Studie waren die Werte der FMD zum Zeitpunkt T0 zwischen der Kontrollsubstanz Wasser und der Intervention mit EGCG nahezu gleich groß. Dies lässt eine gute Vergleichbarkeit und Interpretation der Ergebnisse zu.

Zum anderen ist aufgrund der unterschiedlichen Studienpopulationen ein Vergleich der Ergebnisse von Widlansky et al. mit den Ergebnissen unserer Studie nur eingeschränkt möglich.¹⁰⁰ Die Daten unserer Studie wurden mit gesunden Studienteilnehmern erhoben, wohingegen Widlansky et al. ausschließlich Patienten mit bestehender koronarer Gefäßerkrankung in ihre Studie einschlossen.¹⁰⁰ Chronische Erkrankungen gehen mit einer Dysfunktion des Endothels einher.^{101,102} Trotz der von Widlansky et al. verwendeten höheren Dosis von 300 mg EGCG wurde eine deutlich geringere EGCG-Konzentration im Plasma als in unserer Studie gemessen.¹⁰⁰ Das könnte dadurch erklärt werden, dass bei Widlansky et al. die EGCG-Kapsel zusammen mit einem Standardfrühstück verabreicht wurde. Nahrungsmittelbestandteile können die Aufnahme von Katechinen in das Blut beeinflussen.^{36,103} Somit ist eine vergleichende Aussage über die Konzentrationsabhängigkeit der oral aufgenommenen Menge EGCG und der Größe der gemessenen Plasmakonzentration zwischen diesen beiden Studien nicht möglich.

5.3.2 *Tierexperimentelle und in vitro Studien*

In verschiedenen ex vivo Untersuchungen am Tiermodell konnte die akute gefäßdilatorische Wirkung von EGCG an unterschiedlichen Gefäßen demonstriert werden. So wurde eine konzentrationsabhängige EGCG-vermittelte Gefäßrelaxation in vorkontrahierten mesenterialen

Gefäßen von SHR-Ratten (Rattenmodell mit metabolischem Syndrom mit Bluthochdruck und Insulinresistenz) beschrieben. Sie wurde sowohl durch den NO-Synthase-Inhibitor L-NAME als auch durch den PI3K-Inhibitor Wortmannin gehemmt.⁸³ Diese Resultate konnten an bovinen Gefäßen bestätigt werden.¹⁰⁴ Auch Aggio et al. und Experimente unserer Arbeitsgruppe zeigten eine durch EGCG induzierte konzentrationsabhängige Gefäßerweiterung vorkontrahierter Rattenaortenringe.^{59,85,105} Im Gegensatz dazu gibt es auch aus tierexperimentellen Ergebnissen Hinweise darauf, dass EGCG nur einen geringen Effekt auf die Endothelfunktion besitzt. So konnte in Aortenringen gesunder Sprague-Dawley Ratten mit 4 µg/ml (~8,73 µM) und 12 µg/ml (~26,18 µM) EGCG die gefäßkontrahierende Wirkung von Phenylephrin im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant abgeschwächt werden.¹⁰⁶ Auch im Tiermodell wurden somit Forschungsergebnisse mit konträren Aussagen über die Wirkung von EGCG gefunden. Verschiedene Studiendesigns erschweren dabei den Vergleich der Studien untereinander. Die Ergebnisse müssen daher stets im Kontext des jeweiligen Studienaufbaus gewertet werden.

Als molekularer Aktivierungsmechanismus der eNOS wurde ein PI3K-, PKA- und Akt-abhängiger Signaltransduktionsweg identifiziert, der nach EGCG-Gabe zur Phosphorylierung der Ser¹¹⁷⁹ der eNOS in Endothelzellen führt.⁸⁵ EGCG ist unter physiologischen Bedingungen an der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies, wie H₂O₂, beteiligt und initiiert darüber intrazelluläre Signaltransduktionswege.¹⁰⁷ Die EGCG-induzierte Bildung reaktiver Sauerstoffspezies ist dabei insbesondere vom Gallatrest und seiner Hydroxylgruppen abhängig.¹⁰⁸ Später wurde die Aktivierung der Tyrosinproteinkinase Fyn als vorgeschalteter Schritt für die PI3K/Akt-Aktivierung ermittelt.¹⁰⁷ Als alternativen Mechanismus der gefäßdilatierenden Wirkung von EGCG wurde zudem die nichtselektive Hemmung der Aktivität der Phosphodiesterase beschrieben.⁶⁰

In *in vivo* Tierstudien wirkte sich EGCG vorteilhaft auf die Endothelfunktion aus.^{83,109} Dabei wurde den Nagern jeweils längerfristig EGCG oral verabreicht (3 Wochen, 10 Wochen) und anschließend *ex vivo* die Gefäßdilataion gemessen.

5.3.3 Vergleich von *in vitro* Studien mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie

Der aus *in vitro* Studien beschriebene Effekt von EGCG auf die Endothelfunktion entspricht nicht dem Resultat unserer Studie. Ein möglicher Erklärungsansatz könnten die unterschiedlich verwendeten Dosierungen von EGCG sein. *In vitro* wurden Konzentrationen von 0,001 µM bis 1 mM verwendet, signifikante Vasorelaxationen aber erst ab 1 µM beschrieben.^{59,105} Vergleichbar hohe Plasmakonzentrationen werden beim Menschen nach oraler Aufnahme von EGCG jedoch

kaum erreicht. In einer Studie von Ullmann et al. wurden gesunden Studienteilnehmern unterschiedliche EGCG-Dosen (50 mg bis 1600 mg) oral verabreicht und anschließend die Plasmakonzentrationen gemessen.¹¹⁰ Dabei wurden maximale Plasmakonzentrationen 1,3 bis 2,2 Stunden nach Aufnahme erreicht und ab einer oralen EGCG-Dosis von 400 mg eine durchschnittliche Maximalkonzentration von $> 1 \mu\text{M}$ im Plasma gemessen. In unserer Studie wurden 200 mg EGCG verwendet, wobei nach der Intervention mit EGCG eine Plasmakonzentration von 145,9 ng/ml zum Zeitpunkt T2 erreicht wurde. Diese liegt mit $0,32 \mu\text{M}$ weit unter den in *in vitro* Versuchen verwendeten und dort gefäßerweiternd wirkenden EGCG-Konzentrationen. Dies könnte eine Ursache für die fehlende Wirkung nach Intervention mit EGCG auf die Endothelfunktion sein. Jedoch war nach Grünem Tee eine EGCG-Plasmakonzentration von nur 65,2 ng/ml zum Zeitpunkt T2 gemessen worden. Sie war somit deutlich geringer als nach EGCG. Grüner Tee bewirkte aber im Gegensatz zu EGCG eine Steigerung der FMD.

5.4 Aufnahme von EGCG und anderen Katechinen in das Blut

In der vorliegenden Studie bewirkte Grüner Tee im Gegensatz zur verabreichten Katechinmenge eine niedrigere Plasmakonzentration von EGCG im Vergleich zu den anderen Katechinen ECG, EC und EGC. Damit konnte das Ergebnis der Arbeit von Lee et al. bestätigt werden, wo nach Intervention mit Grünem Tee geringere Plasmakonzentration für EGCG als für EGC und EC gemessen wurden.⁴⁵

In unserer Studie war nach Gabe von EGCG der EGCG-Plasmaspiegel höher als nach Grünem Tee. Sowohl bei der Intervention mit EGCG als auch bei Grünem Tee wurden jeweils 200 mg EGCG oral verabreicht und zum Zeitpunkt T2 geringe Plasmakonzentrationen von $0,32 \mu\text{M}$ bzw. $0,14 \mu\text{M}$ erreicht. Für die niedrigere EGCG-Plasmakonzentration nach der Intervention mit Grünem Tee könnten die folgenden Ursachen eine Rolle spielen:

Die *in vitro* ermittelten Permeabilitätskoeffizienten zur Absorption der vier Katechine EC, EGC, ECG und EGCG sind niedrig, in Bereichen 10^{-7} cm/s .⁴⁰ In humanen intestinalen Caco-2-Zellen wurde kein signifikanter Unterschied in der Absorptionsrate zwischen den einzeln verabreichten Teekatechinen und einer Grüntee-Extraktlösung gefunden, so dass sowohl die Pflanzenmatrix bzw. Substratzusammensetzung aber auch das gleichzeitige Vorhandensein anderer Katechine die Aufnahme der Katechine aus dem Darmlumen in die Dünndarmzellen vermutlich nicht beeinflusst.¹¹¹ Es zeigten sich aber Unterschiede in der intestinalen Sekretion der Katechine in Abhängigkeit, ob diese einzeln oder als Katechinmischung verabreicht wurden. So wurde eine

größere Menge EGCG nach apikal sezerniert, wenn EGCG zusammen mit EC, EGC und ECG gegeben wurde.¹¹¹ Dennoch war in einer Vorstudie die Sekretion der gallierten Katechine im Vergleich zu den nicht-gallierten Katechinen gering (Permeabilitätskoeffizienten von basal nach apikal: EC $29,96 \times 10^{-7}$ cm/s, EGC $7,72 \times 10^{-7}$ cm/s, ECG $3,86 \times 10^{-7}$ cm/s, EGCG $1,52 \times 10^{-7}$ cm/s).⁴⁰ MDR-Transporter sind an der Sekretion der reinen Katechine und derer Metaboliten beteiligt.⁴⁰ In einer in vitro Studie von Hong et al. wurde beschrieben, dass EGCG und dessen Methylmetaboliten von MDR-Transportern transportiert werden können.¹¹² Zhang et al. postulierten, dass die Katechine bei zeitgleicher Verabreichung in Konkurrenz treten und sich in ihrer Metabolisierung in den Dünndarmzellen als auch in der Sekretion über MDR-Transporter zurück ins Darmlumen gegenseitig beeinflussen könnten.¹¹¹ Konkurrierende Faktoren in der Metabolisierung und Sekretion könnten demnach als ein Erklärungsansatz dienen, warum in unserer Studie nach Grünem Tee eine geringere Menge EGCG im Plasma als nach der Kapsel mit isoliertem EGCG gemessen werden konnte. Weiterhin sind Unterschiede in der hepatischen Verstoffwechslung denkbar. Inwieweit die Hypothesen bezogen auf Metabolisierung und Sekretion für die geringere EGCG-Plasmakonzentration beim Grünen Tee von Bedeutung sind, wurde jedoch im Rahmen dieser Studie nicht geklärt.

Für die Stabilität von EGCG spielen der pH-Wert, die Konzentration von EGCG und weiterer Teeinhaltsstoffe und die Temperatur eine Rolle.¹¹³ In vitro zeigten sich sowohl das reine EGCG in einer 0,32%igen Lösung als auch die Katechine in einer 0,6%igen Grüntee-Extraktlösung über einen Inkubationszeitraum von 7 Tagen stabiler als in niedrigeren Konzentrationen von 0,025 % und 0,1 % bzw. 0,05 % und 0,2 %. Als Bestandteil der Grüntee-Extraktlösung wies das EGCG sogar eine noch bessere Stabilität als in der reinen EGCG-Lösung auf. Weiterhin wirkte sich in vitro eine niedrigere Temperatur von 23°C gegenüber 37°C stabilisierend auf das EGCG aus.¹¹³ In unserer Studie konnte ein Einfluss der Ausgangskonzentration auf die Stabilität des EGCG aufgrund der gleichen verabreichten Menge (200 mg EGCG) pro Messarm ausgeschlossen werden. Eine Beeinflussung des EGCG-Gehalts im Grünteegetränk durch den Aufguss der getrockneten Teeblätter mit kochendem Wasser ist zu diskutieren. Dies erscheint jedoch unwahrscheinlich, da in den in vitro Experimenten von Sang et al.¹¹³ die Stabilitätsstudien über mehrere Tage durchgeführt wurden (bis 7 Tage bei 37°C und bis 10 Tage bei 23°C) und der Tee in unserer Studie innerhalb eines kurzen Zeitraums von wenigen Minuten von den Teilnehmern eingenommen wurde. Ferner konnte in einer Studie von Zhu et al. demonstriert werden, dass sich der Katechingehalt in kochendem Wasser über 7 Stunden nicht ändert.¹¹⁴ Katechine sind im sauren Milieu bei einem pH-Wert < 4 über mindestens 18 Stunden stabil, ab einem pH-Wert von $\geq 6,0$

werden sie mit zunehmenden pH-Wert instabiler und schnell zersetzt. Dies gilt insbesondere für EGCG und EGC.¹¹⁴ In vitro wurde EGCG bei einem pH-Wert von 7,4 schnell oxidiert und es bildeten sich Dimere mit Peak-Zeiten bei 2-4 Stunden.¹¹⁵ Auch in anderen Arbeiten konnte in vitro gezeigt werden, dass sich EGCG und Teekatechine durch autooxidative Prozesse und Epimerisierungsvorgänge verändern.^{113,116} Dabei kann es zur Bildung von Homo- und Heterodimeren kommen.¹¹⁶ Die Entstehung von Heterodimeren im Grünen Tee könnte als ein Erklärungsansatz für die geringere EGCG-Plasmakonzentration nach der Intervention mit Grünem Tee dienen. Durch die Dimerisierung würde ein Teil der Katechine des Grünen Tees in seiner Struktur verändert und folglich eine kleinere Menge EGCG über die Darmzellen absorbiert werden. Ob Dimerisierungsvorgänge jedoch tatsächlich in vivo von Bedeutung sind, ist bisher nicht bekannt.

Zudem bietet die Kapsel Schutz während der Passage durch die Mundhöhle und den Ösophagus, so dass der Wirkstoff den Magen als geschlossene Einheit erreicht. So können Einflüsse der Mund- und Ösophagusschleimhaut minimiert werden. Der Grüne Tee hingegen wird als Flüssigkeit aufgenommen. Eine Wirkung der Schleimhäute und ihrer physiologischen Bedingungen, wie z. B. der relativ neutralen pH-Wert der Mundhöhle, auf die Inhaltsstoffe während der Passage kann dabei nicht ausgeschlossen werden. In einer Humanstudie von Henning et al. konnte in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen gezeigt werden, dass die Plasmakonzentrationen der Katechine prozentual zur Aufnahmemenge nach einer Grüntee-Extraktkapsel höher waren als nach einem Grünteegetränk (für EGC 0,53 % vs. 0,36 %, für EC 0,75 % vs. 0,56 %, für EGCG 0,14 % vs. 0,07 %, für ECG 0,2 % vs. 0,12 %).¹¹⁷ Dabei wurden jedoch die maximalen Plasmakonzentrationen der vier Katechine bei der Grüntee-Extraktkapsel 1 Stunde später erreicht als beim Grünen Tee.¹¹⁷ Es ist daher auch möglich, dass die in unserer Studie gemessene EGCG-Plasmakonzentration bei der Kapsel mit isoliertem EGCG nicht das Maximum darstellt und gegebenenfalls unterschätzt wurde. Hierfür wären mehrere Blutentnahme- und FMD-Messzeitpunkte nötig gewesen, was technisch und zeitlich nur schwer umsetzbar gewesen wäre. Trotzdem wurde in unserer Studie 2 Stunden nach Intervention mit der Kapsel mit isoliertem EGCG eine höhere EGCG-Plasmakonzentration als 2 Stunden nach Intervention mit der gleichen Menge an EGCG durch Grünen Tee gemessen. Jedoch zeigte sich nur nach Intervention mit Grünem Tee eine Verbesserung der FMD. Dies spricht weiterhin dafür, dass EGCG in der vorliegenden Studie nicht der endothelvermittelnde Stoff war. Teekatechine zeigten eine geringere Stabilität, wenn sie in Leitungswasser aufgelöst wurden, so dass auch ein Zusammenhang mit dem Vorliegen von Metallionen im Wasser vermutet wurde.¹¹³ Auch in unserer Studie wurde der Grüne

Tee mit Leitungswasser zubereitet, so dass ein Einfluss von Metallionen auf das im Tee ungeschützt befindliche EGCG nicht ausgeschlossen werden kann. Weiterhin spielt das Vorhandensein von Antioxidantien für die Stabilität von EGCG eine Rolle.¹¹³ Daher wurden die Teilnehmer in unserer Studie gebeten am Vor- und Messtag keine Vitamin- und Mineralstofftabletten einzunehmen, um die Einflussnahme durch Antioxidantien auf die Katechine zu minimieren.

Ob diese Faktoren jedoch den deutlichen Unterschied der EGCG-Plasmakonzentrationen zwischen den beiden Armen verursacht haben könnten, bleibt fraglich und wurde im Rahmen unserer Studie nicht untersucht.

Bei der Intervention mit EGCG stimmte die relative Zusammensetzung der Inhaltsstoffe weitestgehend mit den gemessenen Teekatechinen im Blutplasma überein. Die Kapsel mit isoliertem EGCG bestand zu ca. 95 % aus EGCG. Die restlichen fünf Prozent setzten sich aus ECG, EC, Catechin, Gallussäure und Koffein zusammen und können aufgrund der geringen Konzentrationen vernachlässigt werden. Auch im Blutplasma des EGCG-Arms bildete EGCG mit ca. 95 % den Hauptanteil. Die übrigen fünf Prozent lagen als ECG und EGC vor. Auffällig war, dass sich in der Kapsel nahezu kein EGC befand, aber der EGC-Anteil an den Gesamtkatechinen im Plasma bei ca. 1,2 % lag. Die Umwandlung von EGCG in EGC durch Degallierung nach oraler Aufnahme von isoliertem EGCG wurde bereits beschrieben und könnte für den kleinen EGC-Anteil im Blutplasma beim EGCG-Arm verantwortlich sein.⁴⁴

Bei der Analyse der EGCG-Plasmakonzentrationen ergaben sich zwei Auffälligkeiten. Nach Wasser fand sich bei einem Teilnehmer im Blutplasma zum Zeitpunkt T2 ein EGCG-ähnlicher Peak im Voltammogramm, wohingegen vor der Wasseraufnahme im Plasma keine Katechine detektiert wurden. Der Teilnehmer hatte das heiße Wasser wie vorgesehen ausgetrunken und auch keine weiteren Substanzen oder Flüssigkeiten während der Pause zu sich genommen, die den Peak begründen könnten. Allerdings war der Ausschlag des Voltammogramms etwas verschoben, so dass es sich auch um eine andere Substanz handeln könnte, die zufällig eine ähnliche Retentionszeit wie das EGCG aufweist. Weiterhin konnte beim EGCG-Arm bei zwei Teilnehmern kein EGCG im Blutplasma zum Zeitpunkt T2 gemessen werden, obwohl die Kapseln nach Vorschrift eingenommen wurden. Bei der Intervention mit Grünem Tee waren bei beiden Teilnehmern Katechine im Plasma zum Zeitpunkt T2 nachgewiesen worden. Daher ist nicht davon auszugehen, dass bei den Teilnehmern eine intestinale Absorptionsstörung vorlag. Zudem erfolgten die Untersuchungen im nüchternen Zustand, so dass eine Wechselwirkung oder

Absorptionshemmung durch Lebensmittelbestandteile ausgeschlossen werden konnte. Die Nüchternheit beider Teilnehmer wurde durch die Bestimmung des Lipidprofils zum Zeitpunkt T0 überprüft und bestätigt.

Besonders hervorzuheben ist, dass die Menge von EGCG im Plasma nicht mit der FMD korrelierte. Eine Veränderung in der FMD war also nicht von der Plasmakonzentration des EGCG abhängig. Die EGCG-Plasmakonzentration und die Veränderung in der FMD verhielten sich sogar gegenläufig. Obwohl die EGCG-Plasmakonzentration nach Gabe von Grünem Tee viel geringer war, wies der Grüne Tee eine deutliche Verbesserung der Endothelfunktion im Vergleich zur Intervention mit EGCG auf.

5.5 Effekte weiterer Inhaltsstoffe des Grünen Tees auf die Endothelfunktion

EGCG wird für den Großteil der gesundheitsfördernden Effekte des Grünen Tees, die in diversen tierexperimentellen und in vitro Experimenten gezeigt wurden, verantwortlich gemacht.¹¹⁸ Im Rahmen dieser Arbeit sollte daher die akute Wirksamkeit von EGCG auf die flussvermittelte Dilatation im Menschen untersucht werden. Da EGCG in einer Menge von 200 mg offensichtlich nicht zu den physiologischen Effekten von Grünem Tee auf die Endothelfunktion im Menschen beigetragen hat, stellt sich die Frage, welche anderen Inhaltsstoffe für die Steigerung der FMD im Grünen Tee ursächlich sein könnten.

Grüner Tee enthält eine Vielzahl von Inhaltsstoffen, wovon besonders die polyphenolischen Teekatechine im Interesse der Forschung stehen und protektive Wirkungen auf die Gesundheit besitzen. Eine Tasse Grüner Tee enthält ca. 80 mg Katechine.⁹⁶ In tierexperimentellen Studien konnte ex vivo die akut verbessernde Wirkung verschiedener Teekatechine auf die Endothelfunktion gezeigt werden.^{105,119,120} Neben EGCG bewirkten EC, EGC und ECG in sehr hohen, nicht-physiologischen Dosen eine Gefäßrelaxation an vorkontrahierten Mesenterialgefäßen von Ratten.¹²⁰ Epicatechin zeigte eine NO-abhängige Vasodilatation, die vermutlich teilweise durch Aktivierung Ca²⁺-aktivierter K⁺-Kanäle hervorgerufen wurde.¹¹⁹ Bei in vitro Experimenten mit der Zelllinie EA.hy926 wurde eine signifikante Steigerung des NO-Spiegels durch ECG bei einer Konzentration von 100 µM gezeigt.¹²¹ In HUVECs war die NO-Produktion durch EGC signifikant erhöht.¹²² Hierbei wurden jedoch ausgesprochen hohe Konzentrationen der Katechine im Millimolbereich verwendet. In Voruntersuchungen unserer

Arbeitsgruppe bewirkte ECG eine leichte Gefäßerweiterung an Rattenaortenringen bei einer Konzentration von 10 μ M. EC und EGC zeigten bis zu einer Konzentration von 10 μ M keinen Effekt.⁵⁹ In einer Humanstudie von Schroeter et al. mit 6 Probanden konnte eine Steigerung der FMD zwei Stunden nach Intervention mit 1-2 mg/kg Körpergewicht EC beobachtet werden.¹²³ In einer Humanstudie von Dower et al. konnte hingegen bei 33 Probanden nach täglicher Einnahme von 100 mg EC für vier Wochen keine signifikante Veränderung der FMD sowohl zwei Stunden nach letzter Gabe als auch nach Overnight-Fasting im Vergleich zur Kontrolle nachgewiesen werden.¹²⁴ Obwohl in der Literatur unterschiedliche Resultate bezüglich des Effekts der einzelnen Teekatechine beschrieben wurden, liefern diese Ergebnisse Hinweise darauf, dass neben EGCG auch EC, ECG und EGC vasoreaktive Eigenschaften besitzen und partiell für die gefäßverbessernden Wirkungen des Grünen Tees mitverantwortlich sein könnten. Dabei ist unklar, ob sich die einzelnen Teekatechine gegenseitig in ihrer Wirkung verstärken und das gemeinsame Vorliegen der verschiedenen Teekatechine für den gefäßdilatierenden Effekt von Bedeutung ist. Zudem gilt es zu bedenken, dass in vitro deutlich höhere Konzentrationen der Katechine Anwendung finden als physiologischerweise im humanen Blutplasma nach oraler Gabe erreicht werden können. Ein Zusammenspiel der Teekatechine könnte aber als ein möglicher Erklärungsansatz für die bessere Wirkung des Grünen Tees im Vergleich zu EGCG auf die Endothelfunktion dienen. Dies müsste mittels weiterer klinischer Humanstudien auch im Hinblick auf konzentrationsabhängige Wirkungen überprüft und evaluiert werden.

Grüner Tee enthält neben Katechinen weitere Inhaltsstoffe wie Koffein, Theobromin, Gallussäure und Quercetin. In der Kapsel mit isoliertem EGCG waren Koffein, Theobromin und Gallussäure nur in minimalen Mengen vorhanden. Quercetin wurde sowohl im Tee als auch in der Kapsel mit isoliertem EGCG nicht bestimmt, so dass über dessen Wirkung in unserer Studie keine Aussage getroffen werden kann. In der Literatur finden sich jedoch in Hinsicht auf die Wirkung von Quercetin auf die Endothelfunktion unterschiedliche Aussagen. In einer Humanstudie mit 30 Teilnehmern mit vorhandenen kardiovaskulären Risikofaktoren konnte eine akute Verbesserung der FMD ein und zwei Stunden nach Intervention mit einer quercetinreichen Apfzubereitung beobachtet werden.¹²⁵ Hingegen wurde in einer Studie von Brüll et al. kein Effekt auf die Endothelfunktion beschrieben.¹²⁶ Sie untersuchten an 68 Studienteilnehmern mit Übergewicht und Bluthochdruck (Vorstufe: $RR_{sys} \geq 120 - 139$ mmHg und/oder $RR_{dia} \geq 80 - 89$ mmHg, oder Hypertonie 1. Grades: $RR_{sys} \geq 140 - 159$ mmHg und/oder $RR_{dia} \geq 90 - 99$ mmHg) die Wirkung von Quercetin auf die Endothelfunktion mittels EndoPAT-Methode. Über einen Zeitraum von

6 Wochen wurden 162 mg Quercetin pro Tag in Form von Kapseln aus extrahierten Zwiebelschalen verabreicht.¹²⁶ Ergänzend führten sie im Anschluss an diese Studie postprandiale Untersuchungen durch. Hierbei wurde 22 Teilnehmern eine hochkalorische Mahlzeit zusammen mit einer Kapsel mit 54 mg Quercetin verabreicht und 2 und 4 Stunden nach Einnahme die Endothelfunktion gemessen. Auch hier wurde kein Effekt auf die Endothelfunktion durch die gleichzeitige Einnahme von Quercetin beobachtet.¹²⁷ In einer weiteren Studie von Dower et al. konnte bei 33 Teilnehmern nach 4-wöchiger Gabe von täglich 160 mg Quercetin-3-glucosid keine Verbesserung der FMD gezeigt werden. Sie schlussfolgerten, dass Quercetin vermutlich nicht an den endothelfunktionsverbessernden Effekten des Tees beteiligt ist.¹²⁴ Klinische Studien liefern Hinweise darauf, dass Koffein eine akute Verbesserung der Endothelfunktion hervorruft.^{128,129} Shechter et al. konnten in einer Placebo-kontrollierten Cross-over Studie eine deutliche Verbesserung der FMD bei gesunden Teilnehmern sowie bei Patienten mit koronarer Gefäßkrankheit eine Stunde nach Verabreichung einer Koffein-Kapsel (200 mg Koffein) zeigen.¹²⁸ Ebenso fanden Umemura et al. eine Steigerung der endothelvermittelten Vasodilatation in gesunden jungen Männern nach Gabe von 300 mg Koffein.¹²⁹ Im Gegensatz dazu gibt es aber auch klinische Studien, wo die Intervention mit koffeinhaltigem Kaffee zu einer akuten Abnahme der FMD führte.^{130,131} In unserer Arbeit wurde koffeinhaltiger Grüner Tee verwendet. Die Kapsel mit isoliertem EGCG enthielt hingegen nahezu kein Koffein. Eine signifikante Verbesserung der FMD im Vergleich zu Wasser war nur beim Grünen Tee vorhanden. Alexopoulos et al. untersuchten die FMD nach Intervention mit Grünem Tee und verabreichten zudem eine dem Tee entsprechende Menge isoliertes Koffein.⁸⁰ Hierbei konnte eine Steigerung der FMD bei beiden Interventionen gezeigt werden, wobei aber nur der Grüne Tee ein signifikantes Ergebnis erzielte. Diese Resultate könnten darauf hindeuten, dass Koffein möglicherweise zu einem gewissen Anteil zur Verbesserung der Endothelfunktion durch Grünem Tee beigetragen haben könnte. Für den Beweis dieser Hypothese müssten jedoch weitere Untersuchungen mit entkoffeiniertem Grünem Tee unter gleichen Studienbedingungen durchgeführt werden. Weiterhin könnte auch eine Verstärkung synergetischer Effekte durch das Zusammenwirken verschiedener Teeinhaltsstoffe in Betracht gezogen werden. Auch der Beitrag bisher unbekannter Stoffe kann nicht ausgeschlossen werden.

5.6 Ausgangswert der FMD

Die FMD ist vom Gefäßdurchmesser der A. brachialis abhängig,^{132,133} wobei ein inverser Zusammenhang zwischen dem Baseline-Diameter und der FMD besteht.¹³⁴ Um eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erreichen, ist es daher wichtig, die Unterschiede der Ruhedurchmesser zwischen den beiden Messzeitpunkten T0 und T2 sowie zwischen den einzelnen Messtagen so gering wie möglich zu halten.

In der vorliegenden Arbeit gab es zwischen den einzelnen Interventionen keine signifikanten Unterschiede bei den Ruhedurchmessern zu beiden Messzeitpunkten. Innerhalb eines Messtages waren jedoch die Ruhedurchmesser zum Zeitpunkt T2 bei den Interventionen Wasser und EGCG im Vergleich zum Zeitpunkt T0 größer. Bei der Intervention Grüner Tee hingegen waren die Ruhedurchmesser zwischen den beiden Zeitpunkten T0 und T2 nahezu identisch. Der nicht signifikante Unterschied in den FMD-Werten zum Zeitpunkt T2 zwischen Grünem Tee und EGCG könnte daher auch durch einen Anstieg des Ruhedurchmessers bei EGCG erklärt werden. Die Grundaussage dieser Arbeit bleibt hiervon jedoch unberührt, der Grüne Tee besitzt eine Wirkung auf die Endothelfunktion, EGCG und Wasser dagegen nicht.

Zwischen der FMD zum Zeitpunkt T0 der drei Interventionsarme gab es keine signifikanten Unterschiede. Der Mittelwert der Ausgangs-FMD in den drei Interventionen war mit 4,85 % etwas unterhalb der in der Literatur beschriebenen Werte. Jedoch ist die Datenlage bezogen auf die FMD nicht einheitlich. Bei gesunden Männern ohne vorliegende kardiovaskuläre Risikofaktoren im Durchschnittsalter von 33 bis 35 Jahren wurden FMD-Werte von 6,2 % bis 8,2 % beschrieben.^{27,135–137} Es wurden aber auch niedrigere FMD-Werte bei gesunden Männern mit einem geringeren Durchschnittsalter von 20 Jahren (FMD 2,4 %) und bei gesunden Männern mit einem höheren Durchschnittsalter von 41,7 Jahren (FMD 2,28 % und 2,43 %) gemessen.^{138,139} Eine ähnliche Ausgangs-FMD wie in unserer Studie wurde bei gesunden Männern mit einem Durchschnittsalter von 50,4 Jahren (FMD 5,00 %) ermittelt.¹⁴⁰

Die FMD wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst,⁹¹ so dass die verschiedenen Ergebnisse auf Abweichungen im Versuchsaufbau bzw. unterschiedliche Studienprotokolle zurückzuführen sein können. Bei der FMD-Auswertung der Ultraschallbilder können je nach Methode – manuell vs. automatisiert mittels Softwareprogrammen – unterschiedliche Ergebnisse erzielt werden, wobei die Software-gestützte Auswertung genauere und robustere Ergebnisse liefert.⁹¹ In unserer Studie wurde für die FMD-Analyse eine automatische „Edge-Detection“-Erkennungssoftware verwendet, die eine kontinuierliche Messung des Gefäßdurchmessers

während der 10-minütigen Messzeit ermöglicht und damit den aktuellen FMD-Empfehlungen entspricht.²⁸ Die oben genannten Studien unterscheiden sich jedoch hinsichtlich der verwendeten Auswertungsmethoden und Studienprotokolle, so dass eine exakte Vergleichbarkeit der FMD nicht gewährleistet werden kann.^{27,135–140} Weiterhin bleibt unklar, ob der Messzeitpunkt die FMD beeinflusst hat. In der vorliegenden Studie erfolgten die Messungen morgens zwischen 7.00 und 8.15 Uhr, was für die geringe FMD ursächlich sein könnte. So gibt es in der Literatur Hinweise darauf, dass die FMD tageszeitlichen Schwankungen unterliegt. FMD-Messungen um 8.00 Uhr morgens ergaben eine geringere FMD im Vergleich zum Mittag und Nachmittag.¹⁴¹ In einer anderen Arbeit mit 13 männlichen und 12 weiblichen gesunden Studienteilnehmern zeigte sich hingegen kein Unterschied in der FMD bezogen auf die Tageszeit.¹⁴² Die Messzeiten der oben genannten Studien sind nicht bekannt.^{27,135–140}

5.7 Nitro-vermittelte Dilatation

Zur Testung der maximalen Vasodilatation wurde Nitro-Spray sublingual verabreicht. Dabei wird die Gefäßerweiterung endothelunabhängig durch die exogene Zufuhr von NO über eine direkte Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase mit nachfolgender Verminderung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration in den glatten Gefäßmuskelzellen vermittelt. In allen drei Interventionen kam es bei beiden Messzeitpunkten nach Applikation von Nitro-Spray zu einer Gefäßerweiterung, so dass zu jedem Messzeitpunkt von einer intakten Responsivität der glatten Gefäßmuskelzellen auf NO ausgegangen werden konnte. Signifikante Unterschiede in der Nitro-vermittelten Dilatation zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten T0 und T2 innerhalb eines Messarmes sowie zwischen den drei Interventionen Wasser, Grüner Tee und EGCG zeigten sich nicht.

5.8 Blutdruck

Wasser führte in der vorliegenden Studie zu keiner relevanten Änderung des Blutdrucks. In einer in China durchgeführten Querschnittsstudie bei Erwachsenen ≥ 60 Jahren zeigte sich, dass Teilnehmer, die regelmäßig Grünen Tee konsumierten einen niedrigeren Blutdruck im Vergleich zu Teilnehmern, die nicht regelmäßig Grüntee konsumierten, aufwiesen.¹⁴³ Zwei Metaanalysen beschrieben eine Senkung des Blutdrucks durch die tägliche Aufnahme von Grünem Tee, insbesondere bei einer Einnahmedauer von ≥ 12 Wochen.^{144,145} Die akute Wirkung von Grünem Tee auf den Blutdruck ist eher blutdrucksteigernd. So konnte bei 20 normotensiven Männern eine akute Steigerung des systolischen und diastolischen Blutdrucks 30 Minuten nach Gabe von

Grünem Tee gezeigt werden.¹⁴⁶ In einer Arbeit von Alexopoulos et al. stieg der systolische Blutdruck 90 Minuten nach Grünem Tee signifikant an, der diastolische Blutdruck zeigte keine relevante Veränderung.⁸⁰ Eine akute Steigerung des Blutdrucks nach Intervention mit Grünem Tee konnte auch in unserer Studie beobachtet werden, wobei jedoch nur der diastolische Blutdruckwert ein signifikantes Ergebnis aufwies.

Ein akuter Blutdruckanstieg durch Koffein beim Menschen wurde in mehreren Arbeiten beschrieben.^{129,130} Ein möglicher Beitrag des im Grünen Tee enthaltenen Koffeins auf die akute blutdruckerhöhende Wirkung ist daher vollstellbar und kann nicht ausgeschlossen werden. Zur Prüfung dieser Annahme wären weitere Untersuchungen mit entkoffeiniertem Tee sinnvoll. In einer Studie mit 50 Teilnehmern zeigte sich jedoch eine akute Steigerung insbesondere des diastolischen Blutdrucks auch nach Gabe eines entkoffeinierten Grüntee-Extrakts im Vergleich zu Placebo. Es wurde jedoch eine deutlich höhere Katechin-Konzentration (~ 828 mg pro Kapsel) als in unserer Arbeit verwendet.⁹⁸ Weiterhin gibt es auch Studien, die keine akuten Effekte auf den Blutdruck durch Grünen Tee zeigen konnten.⁹⁵ Auch Katechine aus anderen Nahrungsquellen wie z. B. Kakaoprodukten führen offenbar zu einer Senkung des Blutdrucks. Ellinger et al. beschrieben, dass die Aufnahme von 25 mg Epicatechin pro Tag den systolischen Blutdruck um -4,1 mmHg und den diastolischen Blutdruck um -2,0 mmHg, vermutlich insbesondere bei Menschen mit erhöhten Blutdruckwerten ($RR_{\text{sys}} > 120$ mmHg, $RR_{\text{dia}} > 80$ mmHg), reduziert.¹⁴⁷ In einer mittelfristig angelegten Interventionsstudie mit täglich 25 mg aufgenommenem Epicatechin wurde jedoch kein relevanter blutdrucksenkender Effekt bei Teilnehmern mit vorhandenen Zeichen eines metabolischen Syndroms gefunden.¹⁴⁸ Eine blutdrucksenkende Wirkung anderer im Grüntee enthaltener Katechine ist daher denkbar, wurde aber im Rahmen dieser Promotionsarbeit nicht untersucht.

Nach Intervention mit EGCG zeigten sich in der vorliegenden Studie beim Blutdruck gegenläufige Ergebnisse. Der systolische Blutdruck sank signifikant, der diastolische Blutdruck stieg hingegen an. Eine hinreichende Erklärung für diese unterschiedlichen Verläufe kann nicht gefunden werden und lässt vermuten, dass kein realer Effekt durch EGCG bezogen auf den Blutdruck vorlag. Widlansky et al. konnten zwei Stunden nach der Gabe von 300 mg EGCG keine relevanten Veränderungen sowohl beim systolischen als auch beim diastolischen Blutdruck im Menschen nachweisen und untermauern somit diese Hypothese.¹⁰⁰ Auch in einer 2016 veröffentlichten Studie mit gesunden männlichen Studienteilnehmern wurde nach Verabreichung von 200 mg EGCG keine signifikante Veränderung im mittleren Blutdruck beobachtet.¹⁴⁹

5.9 Rahmenbedingungen

Die FMD-Messung zur Bestimmung der Endothelfunktion ist eine technisch anspruchsvolle Methode, die hohe Ansprüche an den Untersucher stellt. Sie ist störanfällig und leicht durch endogene und exogene Faktoren beeinflussbar. Dabei können bereits kleine Unterschiede im Versuchsaufbau einen Einfluss auf die FMD-Antwort ausüben.²⁸ Um diese Einflüsse auf ein minimales Maß zu beschränken und die Variabilität der Messungen so gering wie möglich zu halten, wurden die Untersuchungsbedingungen dieser Studie bestmöglich entsprechend der Guidelines und der aktuellsten Empfehlungen angepasst.^{28,88,91} Durch die Größe der Stichprobe und die Randomisierung konnten zudem mögliche Einflüsse auf die Messungen reduziert und zufällig verteilt werden.

5.9.1 *Endogene und exogene Einflussgrößen auf die FMD*

In der Literatur werden als exogene Einflussgrößen Rauchen,¹⁵⁰ Alkohol,¹⁵¹ Koffein,¹³⁰ die Aufnahme insbesondere fetthaltiger und kohlenhydratreicher Speisen,^{152,153} die Einnahme vasoaktiver Medikamente,^{139,154} die Aufnahme von Antioxidantien wie Vitamin C,¹⁵⁵ Temperatur- bzw. jahreszeitliche Abhängigkeiten und tageszeitliche Schwankungen beschrieben.^{87,141,156} Endogen kann die FMD-Antwort durch sportliche Aktivität,¹⁵⁷ der Phase des Menstruationszykluses bei geschlechtsreifen Frauen,⁸⁶ sympathischer Aktivierung,¹⁴⁰ Nachtschichtarbeit sowie chronische Erkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus Typ 2 beeinflusst werden.^{158,159}

Um hormonelle und krankheitsbedingte Einflüsse zu minimieren, wurden gesunde männliche Teilnehmer ohne vorliegende kardiovaskuläre Risikofaktoren im Alter zwischen 20 und 50 Jahren eingeschlossen. Weiterhin waren ein Nichtraucherstatus und kein Alkoholabusus obligat. Koffeinhaltige Getränke durften letztmals am Vortag der Messung eingenommen werden. Die Untersuchungen der Teilnehmer erfolgten nach einer mindestens 8-stündigen Nüchternphase immer zur selben Uhrzeit zwischen 7.00 und 8.15 Uhr in einem temperaturregulierten Raum, so dass zirkadiane Unregelmäßigkeiten sowie nahrungs- und temperaturbedingte Einflüsse auf die FMD-Antwort ausgeschlossen werden konnten. Weiterhin waren die Teilnehmer aufgefordert am Tag vor der Messung keinen Sport zu treiben und falls zutreffend, mindestens drei Tage vor der Messung nicht im Nachtschichtbetrieb gearbeitet zu haben. Zu Beginn des Messtages wurde die Compliance jedes Teilnehmers überprüft. Dabei wurde abgefragt, ob die Teilnehmer die vorbereitenden Maßnahmen für die Messung beachtet haben. Der nüchterne Zustand wurde im

Rahmen der morgendlichen Blutentnahme kontrolliert. Eine vollständige Kontrolle über das Einhalten der Rahmenbedingungen konnte jedoch unter den gegebenen Umständen nicht erfolgen, so dass Einflüsse infolge eines Nicht-Erfüllens der Kriterien nicht gänzlich ausgeschlossen werden konnten.

5.9.2 *Interindividuelle Variabilität und Reproduzierbarkeit*

Neben der Auswahl einer geeigneten Studienpopulation sowie der Reduzierung exogener und endogener Einflussgrößen wurde darauf geachtet, die Einflussnahme des Untersuchers auf die Messergebnisse so gering wie möglich zu halten. Die Messungen wurden von zwei Untersuchern durchgeführt, wodurch potentiell die Gefahr interindividueller Variabilität besteht, aber gleichzeitig systematischen Fehlern vorgebeugt werden konnte. Magda et al. zeigten eine gute Reproduzierbarkeit der FMD zwischen zwei Untersuchern.¹⁶⁰ In einer Multicenter-Studie konnte eine gute Reproduzierbarkeit im kurzzeitigen (2 Tage) und mittleren (3 Monate) Messintervall gezeigt werden.¹⁶¹ Ghiadoni et al. fanden heraus, dass mit qualifizierten Untersuchern und einem definiertem Untersuchungsaufbau eine gute Reproduzierbarkeit der FMD zwischen verschiedenen Untersuchungszentren erreicht werden kann, sofern sich an das Studienprotokoll gehalten wird.¹⁶² Weiterhin wurde in einer 2016 veröffentlichten Übersichtsarbeit beschrieben, dass die Fehleranfälligkeit der FMD-Messungen reduziert werden kann, wenn die aktuellen Guidelines berücksichtigt werden.¹⁶³ Auch in der vorliegenden Studie wurde das Studienprotokoll streng befolgt. Zudem wurde das Risiko durch die Verwendung einer Schallkopfhaltung, eines Computer-gestützten Auswertprogramms, einheitlicher Ultraschalleinstellungen und regelmäßiger Validierung der Messungen innerhalb der Arbeitsgruppe minimiert. Beide Untersucher haben alle vier Interventionsarme gemessen. Dabei erfolgte eine zufällige Verteilung der Messungen auf die beiden Untersucher, so dass mögliche interindividuelle Unterschiede stochastisch verteilt waren.

5.10 Limitationen

Eine Verblindung war in unserer Studie nicht möglich. Sowohl die Messung als auch die Zubereitung des Getränks wurden vom gleichen Untersucher durchgeführt. Daher kann eine Einflussnahme des Untersuchers auf die Messergebnisse aufgrund der Kenntnis über die verabreichte Substanz nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Durch Verwendung der Computer-gestützten Software mit Echtzeit-Messung und automatisierter Berechnung der Ergebnisse wurde

das Risiko der Einflussnahme auf die Messung bzw. der Messergebnisse jedoch weitgehend reduziert. Korrekturen der FMD-Amplitude wurden ausschließlich in begründeten Fällen zum Beispiel bei Bewegungen des Studienteilnehmers oder dem Verrutschen des Schallkopfes im Anschluss an die Messung durchgeführt. Auch die Verblindung der Studienteilnehmer war methodenbedingt nur eingeschränkt möglich. Die beiden Kapsel-Messungen wurden verblindet durchgeführt. Der Geschmacks- und Farbunterschied des Grünen Tees im Vergleich zum Wasser war jedoch zu erkennen bzw. zu schmecken. Inwieweit die Kenntnis des Teilnehmers über die Aufnahme des Grünen Tees das Ergebnis beeinflusst und eventuell eine sympathische Aktivierung durch mentale Aufregung verursacht haben könnte, bleibt unklar. Hinsichtlich der Einflussnahme des sympathischen Nervensystems auf die FMD-Antwort gibt es zudem unterschiedliche Aussagen, weswegen über einen mental bedingten Einfluss auf die Messergebnisse nur spekuliert werden kann.^{140,164} Um aber auch solche Einflüsse auf die FMD-Antwort auszuschließen, müssten die Substanzen so verabreicht werden, dass keine Rückschlüsse auf den Inhalt möglich sind. Die zusätzliche Gabe einer Placebo-Kapsel bei der Intervention mit Wasser hätte die Verblindung gegenüber den beiden anderen Kapsel-Messungen komplettiert. Beim frisch aufgebrühten Grünen Tee wäre eine Verblindung schwer umsetzbar gewesen, da der Unterschied zum Wasser immer erkennbar geblieben wäre.

In unserer Studie wurde eine Dosis von 200 mg EGCG verwendet. Ob isoliertes EGCG in höheren Dosen einen Effekt auf die Endothelfunktion im Menschen ausübt, bleibt unklar und müsste durch Verabreichung verschiedener Dosierungen untersucht werden. In molekularen und tierexperimentellen Studien konnten mit höheren EGCG-Dosen vorteilhafte endothelwirksame Effekte gezeigt werden. In vivo werden diese Dosen jedoch unter physiologischen Bedingungen in der Regel nicht erreicht.

Weiterhin lassen die Ergebnisse unserer Arbeit nur eine Aussage über die akute Wirkung von EGCG auf die Endothelfunktion zu. Eine Extrapolation der Ergebnisse auf einen Effekt durch eine längerfristige Einnahme ist nicht möglich. In einer anderen Studie konnte nach der zweiwöchigen Einnahme von täglich 300 mg EGCG bei kardiovaskulär vorerkrankten Patienten keine Verbesserung der FMD gezeigt werden.¹⁰⁰ Zusätzliche Studien sind daher notwendig, um sowohl die akuten als auch die chronischen Effekte von EGCG auf die Endothelfunktion im Menschen weiter zu untersuchen.

In unserer Studie wurden ausschließlich gesunde männliche Studienteilnehmer ohne vorliegende kardiovaskuläre Risikofaktoren eingeschlossen. Daher ist eine Übertragung der Ergebnisse auf die Gesamtbevölkerung schwierig.

In der Auswertung nicht berücksichtigt wurde die vermehrte Scherspannung, der eigentliche Stimulus einer gesteigerten endothelvermittelten NO-Produktion während der hyperämischen Phase. Die Shear Rate wurde jedoch während jeder FMD-Messung bestimmt und zur Kontrolle des gesteigerten Blutflusses während der Untersuchung herangezogen. Von einem ausreichenden Stimulus in jeder Messung war durch das Aufpumpen der Blutdruckmanschette auf suprasystolische Werte auszugehen.

6 Zusammenfassung

Endotheliale Funktionsstörungen gelten als Risikofaktor für die Entstehung der Atherosklerose. Die Verbesserung der Endothelfunktion wird daher als ein wichtiger Schritt in Richtung der Vorbeugung des atherosklerotischen Erkrankungsprozesses angesehen. Epidemiologische Studien zeigten einen inversen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Grünem Tee und dem Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen. Es wird allgemein angenommen, dass das Teekatechin Epigallocatechingallat (EGCG), der biologisch aktivste Inhaltsstoff im Grünen Tee, maßgeblich für seine kardiovaskulär protektiven Eigenschaften verantwortlich ist. Dabei geht der aktuelle Stand der Forschung davon aus, dass EGCG positive Effekte auf die Endothelfunktion ausübt. So zeigten zahlreiche tierexperimentelle ex vivo Studien die gefäßdilatierende Wirkung des EGCG. Auch die an der Gefäßdilatation beteiligten molekularen Mechanismen konnten teilweise aufgeklärt werden. Inwiefern diese endothelfunktionsverbessernden Effekte auch für den Menschen zutreffen, sollte in dieser Arbeit untersucht werden. Dazu wurde die akute Wirkung einer Einmaldosis von 200 mg EGCG in den Darreichungsformen Grüner Tee und einer Kapsel mit isoliertem EGCG im Vergleich zu Wasser auf die Flow-mediated Dilatation untersucht. Es wurde gezeigt, dass isoliertes EGCG bei gesunden, jungen Männern keine verbessernden Effekte auf die FMD ausübte. Grüner Tee hingegen führte zu einer deutlichen Steigerung der FMD, was mit den Ergebnissen anderer Studien übereinstimmt. Interessanterweise waren dabei die EGCG-Plasmakonzentrationen nach Intervention mit EGCG höher als nach Grünem Tee. Die Menge von EGCG im Plasma korrelierte nicht mit der FMD. Die EGCG-Plasmakonzentrationen und die Veränderung in der FMD in den beiden Interventionen verhielten sich vielmehr gegenläufig. Zusammenfassend liefern unsere Ergebnisse Hinweise darauf, dass EGCG in einer Dosis von 200 mg vermutlich eine untergeordnete Rolle bei den protektiven Effekten von Grünem Tee auf die Endothelfunktion im Menschen spielt. Dagegen könnte ein Zusammenspiel der Teeinhaltsstoffe oder ein Beitrag anderer, teils noch unbekannter Stoffe, für die Wirkung des Grünen Tees verantwortlich sein. Zusätzlich ist offen, ob eine höhere Dosierung von EGCG und/oder längerfristige Einnahme einen gefäßdilatierenden Effekt zeigt. Auch bedarf es zusätzlicher Untersuchungen, ob andere Bevölkerungspopulationen von protektiven Effekten des EGCG auf die Endothelfunktion profitieren. Die klinische Bedeutung von EGCG im Rahmen der Primär- und Sekundärprävention kardiovaskulärer Erkrankungen sollte daher in weiteren Studien untersucht werden.

7 Literaturverzeichnis

1. World Health Organization: Fact sheet, Updated January 2017: The top 10 causes of death, [online] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/> [12.03.2017].
2. Statistisches Bundesamt Deutschland: Pressemitteilung Nr. 022 vom 19.01.2017: Zahl der Todesfälle im Jahr 2015 um 6,5 % gestiegen, [online] https://www.destatis.de/DE/PresseService/Presse/Pressemitteilungen/2017/01/PD17_022_232.html [12.03.2017].
3. Statistisches Bundesamt Deutschland: erstellte Tabelle vom 12.03.2017 um 13.25 Uhr: Sterbefälle (absolut, Sterbeziffer, Ränge, Anteile) für die 10/20/50/100 häufigsten Todesursachen (ab 1998). Gliederungsmerkmale: Jahre, Region, Alter, Geschlecht, ICD-10, [online] <http://www.gbe-bund.de/gbe10/i?i=516:22756705D> [12.03.2017].
4. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115–26.
5. Mendis S, Puska P, Norrving B Herausgeber. World Health Organization: Genf 2011:3: Global atlas on cardiovascular disease prevention and control, [online] http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/atlas_cvd/en/ [26.02.2014].
6. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* 2007;115(10):1285–95.
7. Brandes R, Busse R. Kapitel 28 Kreislauf. Schmidt RF, Lang F, Heckmann M Herausgeber. *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*. 31., überarbeitete und aktualisierte Auflage. Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2010:596–602.
8. Busse R, Edwards G, Félétou M, Fleming I, Vanhoutte PM, Weston AH. EDHF: bringing the concepts together. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23(8):374–80.
9. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288(5789):373–6.
10. Förstermann U, Münzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation* 2006;113(13):1708–14.
11. Fleming I, Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;284(1):R1–12.
12. Davies PF, Tripathi SC. Mechanical stress mechanisms and the cell. An endothelial paradigm. *Circ Res* 1993;72(2):239–45.
13. Gnasso A, Carallo C, Irace C, De Franceschi MS, Mattioli PL, Motti C, Cortese C. Association between wall shear stress and flow-mediated vasodilation in healthy men. *Atherosclerosis* 2001;156(1):171–6.
14. Inoue T, Matsuoka H, Higashi Y, Ueda S, Sata M, Shimada KE, Ishibashi Y, Node K; Vascular Failure Workshop Group. Flow-mediated vasodilation as a diagnostic modality for vascular failure. *Hypertens Res* 2008;31(12):2105–13.

15. Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter DH, Breuer S, Dimmeler S, Zeiher AM. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;102(9):1000–6.
16. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996;97(11):2601–10.
17. Lovren F, Verma S. Evolving role of microparticles in the pathophysiology of endothelial dysfunction. *Clin Chem* 2013;59(8):1166–74.
18. Widlansky ME, Gokce N, Keaney J John F, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;42(7):1149–60.
19. Poredos P, Jezovnik MK. Testing endothelial function and its clinical relevance. *J Atheroscler Thromb* 2013;20(1):1–8.
20. Halcox JP, Schenke WH, Zalos G, Mincemoyer R, Prasad A, Waclawiw MA, Nour KR, Quyyumi AA. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation* 2002;106(6):653–8.
21. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, Johnson C, Polak JF, Post W, Lima JA, Crouse JR, Herrington DM. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation* 2009;120(6):502–9.
22. Münzel T, Sinning C, Post F, Warnholtz A, Schulz E. Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann Med* 2008;40(3):180–96.
23. Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, Blann A, Boulanger CM, Cockcroft J, Cosentino F, Deanfield J, Gallino A, Ikonomidis I, Kremastinos D, Landmesser U, Protogerou A, Stefanadis C, Tousoulis D, Vassalli G, Vink H, Werner N, Wilkinson I, Vlachopoulos C. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2011;18(6):775–89.
24. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986;315(17):1046–51.
25. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangé D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, Selwyn AP. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995;26(5):1235–41.
26. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340(8828):1111–5.
27. Doshi SN, Naka KK, Payne N, Jones CJ, Ashton M, Lewis MJ, Goodfellow J. Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clin Sci* 2001;101(6):629–35.

28. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, Parker B, Widlansky ME, Tschakovsky ME, Green DJ. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;300(1):H2–12.
29. Green DJ, Jones H, Thijssen D, Cable NT, Atkinson G. Flow-mediated dilation and cardiovascular event prediction: does nitric oxide matter? *Hypertension* 2011;57(3):363–9.
30. Gemignani V, Faita F, Ghiadoni L, Poggianti E, Demi M. A system for real-time measurement of the brachial artery diameter in B-mode ultrasound images. *IEEE Trans Med Imaging* 2007;26(3):393–404.
31. Graham HN. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med* 1992;21(3):334–50.
32. Ahmed S, Stepp JR. Green Tea: The Plants, Processing, Manufacturing and Production. Preedy VR Herausgeber. *Tea in Health and Disease Prevention*. 1. Auflage. Academic Press; 2012:19–31.
33. Deutscher Teeverband e.V.: Hamburg, 26. Mai 2016: Jahresbericht 2015, [online] http://www.teeverband.de./wirtschaft/Jahresbericht_2015.php [12.03.2017].
34. Balentine DA, Wiseman SA, Bouwens LC. The chemistry of tea flavonoids. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1997;37(8):693–704.
35. Stangl V, Lorenz M, Stangl K. The role of tea and tea flavonoids in cardiovascular health. *Mol Nutr Food Res* 2006;50(2):218–28.
36. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2004;79(5):727–47.
37. Senthil Kumar RS, Murugesan S, Kottur G, Gyamfi D. Black Tea: The Plants, Processing/Manufacturing and Production. Preedy VR Herausgeber. *Tea in Health and Disease Prevention*. 1. Auflage. Academic Press; 2012:41–57.
38. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998;56(11):317–33.
39. Liu Z, Bruins ME, Ni L, Vincken JP. Green and Black Tea Phenolics: Bioavailability, Transformation by Colonic Microbiota, and Modulation of Colonic Microbiota. *J Agric Food Chem* 2018;66(32):8469–77.
40. Zhang L, Zheng Y, Chow MS, Zuo Z. Investigation of intestinal absorption and disposition of green tea catechins by Caco-2 monolayer model. *Int J Pharm* 2004;287(1-2):1–12.
41. Del Rio D, Calani L, Brighenti F. Green Tea Flavan-3-ol Bioavailability. Preedy VR Herausgeber. *Tea in Health and Disease Prevention*. 1. Auflage. Academic Press; 2012:413–23.
42. Stalmach A, Mullen W, Steiling H, Williamson G, Lean ME, Crozier A. Absorption, metabolism, and excretion of green tea flavan-3-ols in humans with an ileostomy. *Mol Nutr Food Res* 2010;54(3):323–34.

43. Ottaviani JI, Borges G, Momma TY, Spencer JP, Keen CL, Crozier A, Schroeter H. The metabolome of [2-(14)C](-)-epicatechin in humans: implications for the assessment of efficacy, safety, and mechanisms of action of polyphenolic bioactives. *Sci Rep* 2016;6:29034.
44. Van Amelsvoort JM, Van Hof KH, Mathot JN, Mulder TP, Wiersma A, Tijburg LB. Plasma concentrations of individual tea catechins after a single oral dose in humans. *Xenobiotica* 2001;31(12):891–901.
45. Lee MJ, Maliakal P, Chen L, Meng X, Bondoc FY, Prabhu S, Lambert G, Mohr S, Yang CS. Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)-epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11(10 Pt 1):1025–32.
46. Fung ST, Ho CK, Choi SW, Chung WY, Benzie IF. Comparison of catechin profiles in human plasma and urine after single dosing and regular intake of green tea (*Camellia sinensis*). *Br J Nutr* 2013;109(12):2199–207.
47. Müller N, Ellinger S, Alteheld B, Ulrich-Merzenich G, Berthold HK, Vetter H, Stehle P. Bolus ingestion of white and green tea increases the concentration of several flavan-3-ols in plasma, but does not affect markers of oxidative stress in healthy non-smokers. *Mol Nutr Food Res* 2010;54(11):1636–45.
48. Stalmach A, Troufflard S, Serafini M, Crozier A. Absorption, metabolism and excretion of Choladi green tea flavan-3-ols by humans. *Mol Nutr Food Res* 2009;53 Suppl 1:S44–53.
49. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005;81(1 Suppl):230S – 42S.
50. Del Rio D, Calani L, Cordero C, Salvatore S, Pellegrini N, Brighenti F. Bioavailability and catabolism of green tea flavan-3-ols in humans. *Nutrition* 2010;26(11-12):1110–6.
51. Campesi I, Marino M, Cipolletti M, Romani A, Franconi F. Put “gender glasses” on the effects of phenolic compounds on cardiovascular function and diseases. *Eur J Nutr* 2018;57(8):2677–91.
52. Warden BA, Smith LS, Beecher GR, Balentine DA, Clevidence BA. Catechins are bioavailable in men and women drinking black tea throughout the day. *J Nutr* 2001;131(6):1731–7.
53. Scholl C, Lepper A, Lehr T, Hanke N, Schneider KL, Brockmöller J, Seufferlein T, Stingl JC. Population nutrkinetics of green tea extract. *PLoS One* 2018;13(2):e0193074.
54. Odamaki T, Kato K, Sugahara H, Hashikura N, Takahashi S, Xiao JZ, Abe F, Osawa R. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol* 2016;16:90.
55. Santangelo R, Silvestrini A, Mancuso C. Ginsenosides, catechins, quercetin and gut microbiota: Current evidence of challenging interactions. *Food Chem Toxicol* 2019;123:42–9.

56. Rodriguez-Mateos A, Cifuentes-Gomez T, Gonzalez-Salvador I, Ottaviani JI, Schroeter H, Kelm M, Heiss C, Spencer JP. Influence of age on the absorption, metabolism, and excretion of cocoa flavanols in healthy subjects. *Mol Nutr Food Res* 2015;59(8):1504–12.
57. Stangl V, Dreger H, Stangl K, Lorenz M. Molecular targets of tea polyphenols in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 2007;73(2):348–58.
58. Bhardwaj P, Khanna D. Green tea catechins: defensive role in cardiovascular disorders. *Chin J Nat Med* 2013;11(4):345–53.
59. Lorenz M, Urban J, Engelhardt U, Baumann G, Stangl K, Stangl V. Green and black tea are equally potent stimuli of NO production and vasodilation: new insights into tea ingredients involved. *Basic Res Cardiol* 2009;104(1):100–10.
60. Alvarez E, Campos-Toimil M, Justiniano-Basaran H, Lugnier C, Orallo F. Study of the mechanisms involved in the vasorelaxation induced by (-)-epigallocatechin-3-gallate in rat aorta. *Br J Pharmacol* 2006;147(3):269–80.
61. Pang J, Zhang Z, Zheng TZ, Bassig BA, Mao C, Liu X, Zhu Y, Shi K, Ge J, Yang YJ, DeJia-Huang, Bai M, Peng Y. Green tea consumption and risk of cardiovascular and ischemic related diseases: A meta-analysis. *Int J Cardiol* 2016;202:967–74.
62. Zhang C, Qin YY, Wei X, Yu FF, Zhou YH, He J. Tea consumption and risk of cardiovascular outcomes and total mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Eur J Epidemiol* 2015;30(2):103–13.
63. Kuriyama S, Shimazu T, Ohmori K, Kikuchi N, Nakaya N, Nishino Y, Tsubono Y, Tsuji I. Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan: the Ohsaki study. *JAMA* 2006;296(10):1255–65.
64. Liu J, Liu S, Zhou H, Hanson T, Yang L, Chen Z, Zhou M. Association of green tea consumption with mortality from all-cause, cardiovascular disease and cancer in a Chinese cohort of 165,000 adult men. *Eur J Epidemiol* 2016;31(9):853–65.
65. Iwai N, Ohshiro H, Kurozawa Y, Hosoda T, Morita H, Funakawa K, Okamoto M, Nose T. Relationship between coffee and green tea consumption and all-cause mortality in a cohort of a rural Japanese population. *J Epidemiol* 2002;12(3):191–8.
66. Hartley L, Flowers N, Holmes J, Clarke A, Stranges S, Hooper L, Rees K. Green and black tea for the primary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;6:CD009934.
67. Bogdanski P, Suliburska J, Szulinska M, Stepien M, Papek-Musialik D, Jablecka A. Green tea extract reduces blood pressure, inflammatory biomarkers, and oxidative stress and improves parameters associated with insulin resistance in obese, hypertensive patients. *Nutr Res* 2012;32(6):421–7.
68. Nantz MP, Rowe CA, Bukowski JF, Percival SS. Standardized capsule of *Camellia sinensis* lowers cardiovascular risk factors in a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrition* 2009;25(2):147–54.

69. Kafeshani M, Entezari MH, Karimian J, Pourmasoumi M, Maracy MR, Amini MR, Hadi A. A comparative study of the effect of green tea and sour tea on blood pressure and lipid profile in healthy adult men. *ARYA Atheroscler* 2017;13(3):109–16.
70. Miura Y, Chiba T, Tomita I, Koizumi H, Miura S, Umegaki K, Hara Y, Ikeda M, Tomita T. Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice. *J Nutr* 2001;131(1):27–32.
71. Auclair S, Milenkovic D, Besson C, Chauvet S, Gueux E, Morand C, Mazur A, Scalbert A. Catechin reduces atherosclerotic lesion development in apo E-deficient mice: a transcriptomic study. *Atherosclerosis* 2009;204(2):e21–7.
72. Nakagawa T, Yokozawa T. Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. *Food Chem Toxicol* 2002;40(12):1745–50.
73. Kalaiselvi P, Rajashree K, Bharathi Priya L, Padma VV. Cytoprotective effect of epigallocatechin-3-gallate against deoxynivalenol-induced toxicity through anti-oxidative and anti-inflammatory mechanisms in HT-29 cells. *Food Chem Toxicol* 2013;56:110–8.
74. Yamabe N, Yokozawa T, Oya T, Kim M. Therapeutic potential of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate on renal damage in diabetic nephropathy model rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;319(1):228–36.
75. Ramesh E, Geraldine P, Thomas PA. Regulatory effect of epigallocatechin gallate on the expression of C-reactive protein and other inflammatory markers in an experimental model of atherosclerosis. *Chem Biol Interact* 2010;183(1):125–32.
76. Suzuki J, Ogawa M, Futamatsu H, Kosuge H, Sagesaka YM, Isobe M. Tea catechins improve left ventricular dysfunction, suppress myocardial inflammation and fibrosis, and alter cytokine expression in rat autoimmune myocarditis. *Eur J Heart Fail* 2007;9(2):152–9.
77. Lu LH, Lee SS, Huang HC. Epigallocatechin suppression of proliferation of vascular smooth muscle cells: correlation with c-jun and JNK. *Br J Pharmacol* 1998;124(6):1227–37.
78. Chen ZY, Law WI, Yao XQ, Lau CW, Ho WK, Huang Y. Inhibitory effects of purified green tea epicatechins on contraction and proliferation of arterial smooth muscle cells. *Acta Pharmacol Sin* 2000;21(9):835–40.
79. Kang WS, Lim IH, Yuk DY, Chung KH, Park JB, Yoo HS, Yun YP. Antithrombotic activities of green tea catechins and (-)-epigallocatechin gallate. *Thromb Res* 1999;96(3):229–37.
80. Alexopoulos N, Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Baou K, Vasiliadou C, Pietri P, Xaplanteris P, Stefanadi E, Stefanadis C. The acute effect of green tea consumption on endothelial function in healthy individuals. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2008;15(3):300–5.
81. Jochmann N, Lorenz M, Krosigk Av, Martus P, Böhm V, Baumann G, Stangl K, Stangl V. The efficacy of black tea in ameliorating endothelial function is equivalent to that of green tea. *Br J Nutr* 2008;99(4):863–8.

82. Minatti J, Wazlawik E, Hort MA, Zaleski FL, Ribeiro-do-Valle RM, Maraschin M, da Silva EL. Green tea extract reverses endothelial dysfunction and reduces atherosclerosis progression in homozygous knockout low-density lipoprotein receptor mice. *Nutr Res* 2012;32(9):684–93.
83. Potenza MA, Marasciulo FL, Tarquinio M, Tiravanti E, Colantuono G, Federici A, Kim JA, Quon MJ, Montagnani M. EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292(5):E1378–87.
84. Lorenz M, Klinkner L, Baumann G, Stangl K, Stangl V. Endothelial NO production is mandatory for epigallocatechin-3-gallate-induced vasodilation: results from eNOS knockout (eNOS $-/-$) mice. *J Cardiovasc Pharmacol* 2015;65(6):607–10.
85. Lorenz M, Wessler S, Follmann E, Michaelis W, Düsterhöft T, Baumann G, Stangl K, Stangl V. A constituent of green tea, epigallocatechin-3-gallate, activates endothelial nitric oxide synthase by a phosphatidylinositol-3-OH-kinase-, cAMP-dependent protein kinase-, and Akt-dependent pathway and leads to endothelial-dependent vasorelaxation. *J Biol Chem* 2004;279(7):6190–5.
86. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kozaki K, Toba K, Sagara Y, Taketani Y, Orimo H, Ouchi Y. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995;92(12):3431–5.
87. Otto ME, Svatikova A, Barretto RB, Santos S, Hoffmann M, Khandheria B, Somers V. Early morning attenuation of endothelial function in healthy humans. *Circulation* 2004;109(21):2507–10.
88. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R, International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(2):257–65.
89. Zimmermann BF, Papagiannopoulos M, Brachmann S, Lorenz M, Stangl V, Galensa R. A shortcut from plasma to chromatographic analysis: straightforward and fast sample preparation for analysis of green tea catechins in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009;877(8-9):823–6.
90. Lee MJ, Wang ZY, Li H, Chen L, Sun Y, Gobbo S, Balentine DA, Yang CS. Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995;4(4):393–9.
91. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension* 2010;55(5):1075–85.
92. Ras RT, Zock PL, Draijer R. Tea consumption enhances endothelial-dependent vasodilation; a meta-analysis. *PLoS One* 2011;6(3):e16974.
93. Kuriyama S. The relation between green tea consumption and cardiovascular disease as evidenced by epidemiological studies. *J Nutr* 2008;138(8):1548S – 53S.

94. Kim W, Jeong MH, Cho SH, Yun JH, Chae HJ, Ahn YK, Lee MC, Cheng X, Kondo T, Murohara T, Kang JC. Effect of green tea consumption on endothelial function and circulating endothelial progenitor cells in chronic smokers. *Circ J* 2006;70(8):1052–7.
95. Nagaya N, Yamamoto H, Uematsu M, Itoh T, Nakagawa K, Miyazawa T, Kangawa K, Miyatake K. Green tea reverses endothelial dysfunction in healthy smokers. *Heart* 2004;90(12):1485–6.
96. Oyama J, Maeda T, Kouzuma K, Ochiai R, Tokimitsu I, Higuchi Y, Sugano M, Makino N. Green tea catechins improve human forearm endothelial dysfunction and have antiatherosclerotic effects in smokers. *Circ J* 2010;74(3):578–88.
97. Park CS, Kim W, Woo JS, Ha SJ, Kang WY, Hwang SH, Park YW, Kim YS, Ahn YK, Jeong MH, Kim W. Green tea consumption improves endothelial function but not circulating endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure. *Int J Cardiol* 2010;145(2):261–2.
98. Miller RJ, Jackson KG, Dadd T, Mayes AE, Brown AL, Lovegrove JA, Minihane AM. The impact of the catechol-O-methyltransferase genotype on vascular function and blood pressure after acute green tea ingestion. *Mol Nutr Food Res* 2012;56(6):966–75.
99. Frank J, George TW, Lodge JK, Rodriguez-Mateos AM, Spencer JP, Minihane AM, Rimbach G. Daily consumption of an aqueous green tea extract supplement does not impair liver function or alter cardiovascular disease risk biomarkers in healthy men. *J Nutr* 2009;139(1):58–62.
100. Widlansky ME, Hamburg NM, Anter E, Holbrook M, Kahn DF, Elliot JD, Keaney JF Jr, Vita JA. Acute EGCG supplementation reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Nutr* 2007;26(2):95–102.
101. Grenon SM, Chong K, Alley H, Nosova E, Gasper W, Hiramoto J, Boscardin WJ, Owens CD. Walking disability in patients with peripheral artery disease is associated with arterial endothelial function. *J Vasc Surg* 2014;59(4):1025–34.
102. Liao YF, Feng Y, Chen LL, Zeng TS, Yu F, Hu LJ. Coronary heart disease risk equivalence in diabetes and arterial diseases characterized by endothelial function and endothelial progenitor cell. *J Diabetes Complications* 2014;28(2):214–8.
103. Naumovski N, Blades BL, Roach PD. Food inhibits the oral bioavailability of the major green tea antioxidant epigallocatechin gallate in humans. *Antioxidants (Basel)* 2015;4(2):373–93.
104. Romano MR, Lograno MD. Epigallocatechin-3-gallate relaxes the isolated bovine ophthalmic artery: involvement of phosphoinositide 3-kinase-Akt-nitric oxide/cGMP signalling pathway. *Eur J Pharmacol* 2009;608(1-3):48–53.
105. Aggio A, Grassi D, Onori E, D'Alessandro A, Masedu F, Valenti M, Ferri C. Endothelium/nitric oxide mechanism mediates vasorelaxation and counteracts vasoconstriction induced by low concentration of flavanols. *Eur J Nutr* 2013;52(1):263–72.

106. Lim DY, Lee ES, Park HG, Kim BC, Hong SP, Lee EB. Comparison of green tea extract and epigallocatechin gallate on blood pressure and contractile responses of vascular smooth muscle of rats. *Arch Pharm Res* 2003;26(3):214–23.
107. Kim JA, Formoso G, Li Y, Potenza MA, Marasciulo FL, Montagnani M, Quon MJ. Epigallocatechin gallate, a green tea polyphenol, mediates NO-dependent vasodilation using signaling pathways in vascular endothelium requiring reactive oxygen species and Fyn. *J Biol Chem* 2007;282(18):13736–45.
108. Auger C, Kim JH, Chabert P, Chaabi M, Anselm E, Lanciaux X, Lobstein A, Schini-Kerth VB. The EGCg-induced redox-sensitive activation of endothelial nitric oxide synthase and relaxation are critically dependent on hydroxyl moieties. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;393(1):162–7.
109. Jang HJ, Ridgeway SD, Kim JA. Effects of the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate on high-fat diet-induced insulin resistance and endothelial dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;305(12):E1444–51.
110. Ullmann U, Haller J, Decourt JP, Girault N, Girault J, Richard-Caudron AS, Pineau B, Weber P. A single ascending dose study of epigallocatechin gallate in healthy volunteers. *J Int Med Res* 2003;31(2):88–101.
111. Zhang L, Chow MS, Zuo Z. Effect of the co-occurring components from green tea on the intestinal absorption and disposition of green tea polyphenols in Caco-2 monolayer model. *J Pharm Pharmacol* 2006;58(1):37–44.
112. Hong J, Lambert JD, Lee SH, Sinko PJ, Yang CS. Involvement of multidrug resistance-associated proteins in regulating cellular levels of (-)-epigallocatechin-3-gallate and its methyl metabolites. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;310(1):222–7.
113. Sang S, Lee MJ, Hou Z, Ho CT, Yang CS. Stability of tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate and formation of dimers and epimers under common experimental conditions. *J Agric Food Chem* 2005;53(24):9478–84.
114. Zhu QY, Zhang A, Tsang D, Huang Y, Chen ZY. Stability of Green Tea Catechins. *J Agric Food Chem* 1997;45(12):4624–8.
115. Hong J, Lu H, Meng X, Ryu JH, Hara Y, Yang CS. Stability, cellular uptake, biotransformation, and efflux of tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate in HT-29 human colon adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2002;62(24):7241–6.
116. Neilson AP, Hopf AS, Cooper BR, Pereira MA, Bomser JA, Ferruzzi MG. Catechin degradation with concurrent formation of homo- and heterocatechin dimers during in vitro digestion. *J Agric Food Chem* 2007;55(22):8941–9.
117. Henning SM, Niu Y, Lee NH, Thames GD, Minutti RR, Wang H, Go VL, Heber D. Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or green tea extract supplement. *Am J Clin Nutr* 2004;80(6):1558–64.
118. Nagle DG, Ferreira D, Zhou YD. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): chemical and biomedical perspectives. *Phytochemistry* 2006;67(17):1849–55.

119. Huang Y, Chan NW, Lau CW, Yao XQ, Chan FL, Chen ZY. Involvement of endothelium/nitric oxide in vasorelaxation induced by purified green tea (-)epicatechin. *Biochim Biophys Acta* 1999;1427(2):322–8.
120. Huang Y, Zhang A, Lau CW, Chen ZY. Vasorelaxant effects of purified green tea epicatechin derivatives in rat mesenteric artery. *Life Sci* 1998;63(4):275–83.
121. Appeldoorn MM, Venema DP, Peters TH, Koenen ME, Arts IC, Vincken JP, Gruppen H, Keijer J, Hollman PC. Some phenolic compounds increase the nitric oxide level in endothelial cells in vitro. *J Agric Food Chem* 2009;57(17):7693–9.
122. Persson IA, Josefsson M, Persson K, Andersson RG. Tea flavanols inhibit angiotensin-converting enzyme activity and increase nitric oxide production in human endothelial cells. *J Pharm Pharmacol* 2006;58(8):1139–44.
123. Schroeter H, Heiss C, Balzer J, Kleinbongard P, Keen CL, Hollenberg NK, Sies H, Kwik-Urbe C, Schmitz HH, Kelm M. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(4):1024–9.
124. Dower JI, Geleijnse JM, Gijbbers L, Zock PL, Kromhout D, Hollman PC. Effects of the pure flavonoids epicatechin and quercetin on vascular function and cardiometabolic health: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Am J Clin Nutr* 2015;101(5):914–21.
125. Bondonno NP, Bondonno CP, Blekkenhorst LC, Considine MJ, Maghzal G, Stocker R, Woodman RJ, Ward NC, Hodgson JM, Croft KD. Flavonoid-Rich Apple Improves Endothelial Function in Individuals at Risk for Cardiovascular Disease: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Mol Nutr Food Res* 2018;62(3).
126. Brüll V, Burak C, Stoffel-Wagner B, Wolfram S, Nickenig G, Müller C, Langguth P, Alteheld B, Fimmers R, Naaf S, Zimmermann BF, Stehle P, Egert S. Effects of a quercetin-rich onion skin extract on 24 h ambulatory blood pressure and endothelial function in overweight-to-obese patients with (pre-)hypertension: a randomised double-blinded placebo-controlled cross-over trial. *Br J Nutr* 2015;114(8):1263–77.
127. Brüll V, Burak C, Stoffel-Wagner B, Wolfram S, Nickenig G, Müller C, Langguth P, Alteheld B, Fimmers R, Stehle P, Egert S. Acute intake of quercetin from onion skin extract does not influence postprandial blood pressure and endothelial function in overweight-to-obese adults with hypertension: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Eur J Nutr* 2017;56(3):1347–57.
128. Shechter M, Shalmon G, Scheinowitz M, Koren-Morag N, Feinberg MS, Harats D, Sela BA, Sharabi Y, Chouragui P. Impact of acute caffeine ingestion on endothelial function in subjects with and without coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2011;107(9):1255–61.
129. Umemura T, Ueda K, Nishioka K, Hidaka T, Takemoto H, Nakamura S, Jitsuiki D, Soga J, Goto C, Chayama K, Yoshizumi M, Higashi Y. Effects of acute administration of caffeine on vascular function. *Am J Cardiol* 2006;98(11):1538–41.

130. Buscemi S, Verga S, Batsis JA, Donatelli M, Tranchina MR, Belmonte S, Mattina A, Re A, Cerasola G. Acute effects of coffee on endothelial function in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr* 2010;64(5):483–9.
131. Papamichael CM, Aznaouridis KA, Karatzis EN, Karatzi KN, Stamatelopoulos KS, Vamvakou G, Lekakis JP, Mavrikakis ME. Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. *Clin Sci (Lond)* 2005;109(1):55–60.
132. Thijssen DH, Dawson EA, Black MA, Hopman MT, Cable NT, Green DJ. Heterogeneity in conduit artery function in humans: impact of arterial size. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295(5):H1927–34.
133. Pyke KE, Tschakovsky ME. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. *J Physiol* 2005;568(Pt 2):357–69.
134. Maruhashi T, Soga J, Fujimura N, Idei N, Mikami S, Iwamoto Y, Iwamoto A, Kajikawa M, Matsumoto T, Oda N, Kishimoto S, Matsui S, Hashimoto H, Aibara Y, Yusoff FM, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Noma K, Nakashima A, Goto C, Tomiyama H, Takase B, Kohro T, Suzuki T, Ishizu T, Ueda S, Yamazaki T, Furumoto T, Kario K, Inoue T, Koba S, Watanabe K, Takemoto Y, Hano T, Sata M, Ishibashi Y, Node K, Maemura K, Ohya Y, Furukawa T, Ito H, Ikeda H, Yamashina A, Higashi Y. Brachial artery diameter as a marker for cardiovascular risk assessment: FMD-J study. *Atherosclerosis* 2018;268:92–98.
135. Grassi D, Mulder TP, Draijer R, Desideri G, Molhuizen HO, Ferri C. Black tea consumption dose-dependently improves flow-mediated dilation in healthy males. *J Hypertens* 2009;27(4):774–81.
136. Imamura M, Biro S, Kihara T, Yoshifuku S, Takasaki K, Otsuji Y, Minagoe S, Toyama Y, Tei C. Repeated thermal therapy improves impaired vascular endothelial function in patients with coronary risk factors. *J Am Coll Cardiol* 2001;38(4):1083–8.
137. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Selwyn AP, Ganz P, Yeung AC, Creager MA. Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients <40 years of age with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1996;78(11):1210–4.
138. Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, Jubb M, World M, Deanfield JE. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol* 1999;33(5):1379–85.
139. Lunder M, Janić M, Habjan S, Sabovič M. Subtherapeutic, low-dose fluvastatin improves functional and morphological arterial wall properties in apparently healthy, middle-aged males—a pilot study. *Atherosclerosis* 2011;215(2):446–51.
140. Ghiadoni L, Donald AE, Cropley M, Mullen MJ, Oakley G, Taylor M, O'Connor G, Betteridge J, Klein N, Steptoe A, Deanfield JE. Mental stress induces transient endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2000;102(20):2473–8.
141. Gaenzer H, Sturm W, Kirchmair R, Neumayr G, Ritsch A, Patsch J. Circadian variation of endothelium-dependent vasodilatation of the brachial artery as a confounding factor in the evaluation of endothelial function. *Atherosclerosis* 2000;149(1):227–8.

142. Kim YC, Yun KH, Woo SH, Yeong YH, Lim JH, Hwang KB, Jeong JW, Lee MR, Lee JM, Rhee SJ, Kim NH, Oh SK, Jeong JW. Diurnal variation of flow-mediated dilatation in healthy humans. *Clin Hypertens* 2015;21:6.
143. Yin JY, Duan SY, Liu FC, Yao QK, Tu S, Xu Y, Pan CW. Blood pressure is associated with tea consumption: a cross-sectional study in a rural, elderly population of Jiangsu China. *J Nutr Health Aging* 2017;21(10):1151–9.
144. Peng X, Zhou R, Wang B, Yu X, Yang X, Liu K, Mi M. Effect of green tea consumption on blood pressure: a meta-analysis of 13 randomized controlled trials. *Sci Rep* 2014;4:6251.
145. Liu G, Mi XN, Zheng XX, Xu YL, Lu J, Huang XH. Effects of tea intake on blood pressure: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr* 2014;112(7):1043–54.
146. Hodgson JM, Puddey IB, Burke V, Beilin LJ, Jordan N. Effects on blood pressure of drinking green and black tea. *J Hypertens* 1999;17(4):457–63.
147. Ellinger S, Reusch A, Stehle P, Helfrich HP. Epicatechin ingested via cocoa products reduces blood pressure in humans: a nonlinear regression model with a Bayesian approach. *Am J Clin Nutr* 2012;95(6):1365–77.
148. Kirch N, Berk L, Liegl Y, Adelsbach M, Zimmermann BF, Stehle P, Stoffel-Wagner B, Ludwig N, Schieber A, Helfrich HP, Ellinger S. A nutritive dose of pure (-)-epicatechin does not beneficially affect increased cardiometabolic risk factors in overweight-to-obese adults - a randomized, placebo-controlled, double-blind crossover study. *Am J Clin Nutr* 2018;107(6):948–56.
149. Han JY, Moon YJ, Han JH, Kim JH, Woo JH, Yoo HS, Hong JT, Ahn HY, Hong JM, Oh KW. (-)-Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) attenuates the hemodynamics stimulated by caffeine through decrease of catecholamines release. *Arch Pharm Res* 2016;39(9):1307–12.
150. Amato M, Frigerio B, Castelnuovo S, Ravani A, Sansaro D, Tremoli E, Squellerio I, Cavalca V, Veglia F, Sirtori CR, Werba JP, Baldassarre D. Effects of smoking regular or light cigarettes on brachial artery flow-mediated dilation. *Atherosclerosis* 2013;228(1):153–60.
151. Hijmering ML, de Lange DW, Lorscheid A, Kraaijenhagen RJ, van de Wiel A. Binge drinking causes endothelial dysfunction, which is not prevented by wine polyphenols: a small trial in healthy volunteers. *Neth J Med* 2007;65(1):29–35.
152. Tushuizen M, Nieuwland R, Scheffer P, Sturk A, Heine R, Diamant M. Two consecutive high-fat meals affect endothelial-dependent vasodilation, oxidative stress and cellular microparticles in healthy men. *J Thromb Haemost* 2006;4(5):1003–10.
153. Kawano H, Motoyama T, Hirashima O, Hirai N, Miyao Y, Sakamoto T, Kugiyama K, Ogawa H, Yasue H. Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 1999;34(1):146–54.
154. Furuno T, Yamasaki F, Yokoyama T, Sato K, Sato T, Doi Y, Sugiura T. Effects of various doses of aspirin on platelet activity and endothelial function. *Heart Vessels* 2011;26(3):267–73.

155. Johnson BD, Mather KJ, Newcomer SC, Mickleborough TD, Wallace JP. Vitamin C prevents the acute decline of flow-mediated dilation after altered shear rate patterns. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013;38(3):268–74.
156. Widlansky ME, Vita JA, Keyes MJ, Larson MG, Hamburg NM, Levy D, Mitchell GF, Osypiuk EW, Vasani RS, Benjamin EJ. Relation of season and temperature to endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in subjects without clinical evidence of cardiovascular disease (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 2007;100(3):518–23.
157. Harris RA, Padilla J, Hanlon KP, Rink LD, Wallace JP. The flow-mediated dilation response to acute exercise in overweight active and inactive men. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16(3):578–84.
158. Tarzia P, Milo M, Di Franco A, Di Monaco A, Cosenza A, Laurito M, Lanza GA, Crea F. Effect of shift work on endothelial function in young cardiology trainees. *Eur J Prev Cardiol* 2012;19(5):908–13.
159. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, Sampson M, Sorensen KE, Adams M, Yue DK, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Am Coll Cardiol* 1996;28(3):573–9.
160. Magda SL, Ciobanu AO, Florescu M, Vinereanu D. Comparative reproducibility of the noninvasive ultrasound methods for the assessment of vascular function. *Heart Vessels* 2013;28(2):143–50.
161. Charakida M, de Groot E, Loukogeorgakis SP, Khan T, Lüscher T, Kastelein JJ, Gasser T, Deanfield JE. Variability and reproducibility of flow-mediated dilatation in a multicentre clinical trial. *Eur Heart J* 2013;34(45):3501–7.
162. Ghiadoni L, Fatta F, Salvetti M, Cordiano C, Biggi A, Puato M, Di Monaco A, De Sisti L, Volpe M, Ambrosio G, Gemignani V, Muiesan ML, Taddei S, Lanza GA, Cosentino F. Assessment of flow-mediated dilation reproducibility: a nationwide multicenter study. *J Hypertens* 2012;30(7):1399–405.
163. Greyling A, van Mil AC, Zock PL, Green DJ, Ghiadoni L, Thijssen DH, TIFN International Working Group on Flow Mediated Dilation. Adherence to guidelines strongly improves reproducibility of brachial artery flow-mediated dilation. *Atherosclerosis* 2016;248:196–202.
164. Dyson KS, Shoemaker JK, Hughson RL. Effect of acute sympathetic nervous system activation on flow-mediated dilation of brachial artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290(4):H1446–53.

8 Anhang

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2-1: Grundstruktur der Flavonoide.....	19
Abbildung 2-2: Effekte und molekulare Wirkmechanismen der Teekatechine.....	24
Abbildung 2-3: Chemische Struktur des EGCG	25
Abbildung 3-1: Fließdiagramm zur Rekrutierung.....	31
Abbildung 3-2: Versuchsaufbau der FMD- und NMD-Messung	40
Abbildung 3-3: Fixierung des rechten Armes	41
Abbildung 3-4: Beispielscreenshot von einem Dokument einer FMD-Messung	43
Abbildung 3-5: Beispielscreenshot von einem Dokument einer NMD-Messung.....	44
Abbildung 4-1: Systolischer und diastolischer Blutdruck zu den Zeitpunkten T0 und T2 innerhalb der Messarme	51
Abbildung 4-2: Ruhedurchmesser der A. brachialis der FMD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee.....	53
Abbildung 4-3: FMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee.....	54
Abbildung 4-4: Repräsentative Screenshots der FMD-Messungen von Wasser	55
Abbildung 4-5: Repräsentative Screenshots der FMD-Messungen von EGCG	56
Abbildung 4-6: Repräsentative Screenshots der FMD-Messungen von Grünem Tee	57
Abbildung 4-7: Veränderung der FMD der drei Interventionsarme mit p-Werten.....	59
Abbildung 4-8: Ruhedurchmesser der A. brachialis der NMD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee.....	61
Abbildung 4-9: NMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee.....	62
Abbildung 4-10: Repräsentative Screenshots der NMD-Messungen von Grünem Tee	63
Abbildung 4-11: Veränderung der NMD der drei Interventionsarme.....	64
Abbildung 4-12: EGCG-Plasmakonzentration und FMD zum Zeitpunkt T2 nach EGCG und Grünem Tee	66
Abbildung 4-13: Korrelationen der EGCG-Plasmakonzentrationen mit der Veränderung der FMD und der FMD nach EGCG.....	68
Abbildung 4-14: Korrelationen der EGCG-Plasmakonzentrationen mit der Veränderung der FMD und der FMD nach Grünem Tee	69

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1: Chemische Bestandteile eines grünen Teeblatts	18
Tabelle 4-1: Laborparameter bei Studieneinschluss	49
Tabelle 4-2: Konzentrationen der Katechine und weiterer Inhaltsstoffe im Grünen Tee und der Kapsel mit isoliertem EGCG	49
Tabelle 4-3: Ruhedurchmesser der A. brachialis der FMD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee	52
Tabelle 4-4: FMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünem Tee.....	53
Tabelle 4-5: Veränderung der FMD für Wasser, EGCG und Grünen Tee	58
Tabelle 4-6: Ruhedurchmesser der A. brachialis der NMD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee.....	60
Tabelle 4-7: NMD zu den Zeitpunkten T0 und T2 für Wasser, EGCG und Grünen Tee	61
Tabelle 4-8: Plasmakonzentrationen der Teekatechine nach Intervention mit EGCG und Grünem Tee zum Zeitpunkt T2.....	65

8.3 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Franziska Rauhut, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss von Epigallocatechingallat auf die Endothelfunktion im Menschen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

„Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in Scientific Reports am 23.05.2017.“

Veröffentlichte Publikation:

„Lorenz M, Rauhut F, Hofer C, Gwosc S, Müller E, Praeger D, Zimmermann BF, Wernecke KD, Baumann G, Stangl K, Stangl V. Tea-induced improvement of endothelial function in humans: No role for epigallocatechin gallate (EGCG). Sci Rep 2017;7(1):2279.“

Franziska Rauhut hatte daran folgenden Anteil:

- Durchführung der Experimente
- Datenerhebung

Weiterhin wurden Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit auf der 81. Jahrestagung der DGK (Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung e.V.) im Rahmen eines Vortrags durch Franziska Rauhut am 11.04.2015 vorgetragen.

Thema: „The contribution of epigallocatechin gallate (EGCG) to endothelial function in humans“

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

8.4 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

8.5 Danksagung

Ich möchte mich bei Frau Professor Verena Stangl für die Überlassung des Themas und das Vertrauen bedanken. Ein besonderer Dank geht an meinen Betreuer, Dr. Mario Lorenz, für die wunderbare Zusammenarbeit, anregenden Diskussionen und das Vertrauen, das er mir entgegenbrachte. Einen besseren Betreuer hätte ich mir nicht wünschen können. Ein großer Dank geht auch an meine Mitdotorandin, Christine Hofer, für die reibungslose und produktive Zusammenarbeit. Weiterhin möchte ich allen danken, die in der Klinik für Kardiologie und Angiologie des Campus Mitte arbeiten und dieses Vorhaben in vielen Kleinigkeiten unterstützt haben; insbesondere danke ich dabei Dr. Eda Müller, Stephanie Gwosc, Angelika Westphal, Urte Lemma und Thomas Düsterhöft. Ich danke auch allen Probanden für deren Teilnahme, Ausdauer und Geduld. Weiterhin möchte ich mich bei meinen Freunden für die lieben Worte und Zusprüche während der Zeit bedanken. Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern für ihre bedingungslose Unterstützung in meinen Leben – ohne sie wäre dieses Vorhaben nicht möglich gewesen.