

Aus der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss von grünem Tee auf das antioxidative
Potential der Haut

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Inna Megow

aus Dnepropetrovsk

Datum der Promotion: 17.09.2021

Für Anna, Maximilian und Jörg

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in den folgenden Publikationen veröffentlicht:

Megow, I., Darvin, M. E., Meinke, M. C. & Lademann, J. A randomized controlled trial of green tea beverages on the in vivo radical scavenging activity in human skin. *Skin Pharmacol Physiol* **30**, 225–233 (2017).

Megow, I., Darvin, M. E., Meinke, M. C. & Lademann, J. The effects of green tea beverages on the radical scavenging activity in human skin in vivo [Abstract]. In VegMed: „VegMed – Scientific Congress for Plant-based Nutrition and Medicine“, April 20-22, 2018, Berlin: Abstracts. *Complement Med Res* **25 Suppl 1**, 1–20 (2018).

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	8
Abstract	10
1 Einleitung	12
1.1 Die Bedeutung von oxidativem Stress in der Haut	12
1.1.1 Oxidativer Stress in der Pathogenese von Hauterkrankungen	14
1.1.2 Reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies	14
1.1.3 Antioxidantien in der Haut	15
1.1.4 Methoden zur Bestimmung des antioxidativen Potentials	16
1.2 Antioxidantien in grünem Tee	18
1.3 Zielsetzung	23
2 Material und Methoden	24
2.1 Materialliste	24
2.2 Methoden	24
2.2.1 Studiendesign	24
2.2.2 Studienpopulation, Ein- und Ausschlusskriterien	26
2.2.3 Bestimmung der Radikalfängeraktivität mittels ESR-Spektroskopie .	27
2.2.4 Messung der kutanen Carotinoidkonzentration mittels Resonanz-Raman-Spektroskopie	30
2.2.5 Fragebogen zu Lebensstil und Ernährung	32
2.2.6 Statistische Auswertung	32

3	Ergebnisse	34
3.1	Analyse der Proband*innencharakteristika	34
3.2	Auswertung der Fragebögen	34
3.3	Bestimmung der Radikalfängeraktivität der Haut	36
3.4	Bestimmung des Carotinoidgehaltes der Haut	40
4	Diskussion	43
4.1	Zusammenfassung der Hauptergebnisse	43
4.2	Proband*innencharakteristika	43
4.3	Bestimmung der Radikalfängeraktivität der Haut	44
4.3.1	Vergleich der Kontrollgruppe mit der Benifuuki- und Yabukita-Gruppe	44
4.3.2	Vergleich der Benifuuki- mit der Yabukita-Gruppe	45
4.3.3	Non-Responder	46
4.4	Bestimmung des Carotinoidgehaltes der Haut	47
4.5	Methodische Einschränkungen	47
4.6	Ausblick	48
4.7	Schlussfolgerung	49
	Literatur	50
	Anhang	60
	Eidesstattliche Versicherung	69
	Publikationsliste	71
	Curriculum Vitae	72
	Danksagung	73

Abbildungsverzeichnis

1.1	Entstehung von oxidativem Stress	13
1.2	Hauptvertreter der Grünteepolyphenole	19
1.3	Strukturformeln der wichtigsten Grünteepolyphenole	20
1.4	Strukturformel von EGCG3''Me	23
2.1	Studiendesign	25
2.2	Der Zeeman-Effekt	27
2.3	ESR-Spektrum von TEMPO nach Penetration in die Haut	28
2.4	<i>In vivo</i> gemessener exponentieller Abfall der Signalintensität von TEMPO .	29
2.5	Resonanz-Raman-Spektrum von Carotinoiden der Haut	31
3.1	Boxplot-Darstellung der Ratenkonstantendifferenz	37
3.2	Kumulative ESR-Abklingkurven	38
3.3	Einfluss von Krankheit auf die Ratenkonstantenänderung	39
3.4	Carotinoidgehalt der Haut im Vergleich zwischen Frauen und Männern . . .	41
3.5	Korrelation zwischen Gesamtcarotinoid- und Lycopingehalt der Haut	41
3.6	Gesamtcarotinoid- und Lycopingehalt der Haut im Balkendiagramm	42

Tabellenverzeichnis

1.1	Bedeutende reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies im menschlichen Körper	15
1.2	Wichtige Antioxidantien der menschlichen Haut	16
1.3	Vergleich des antioxidativen Potentials verschiedener Antioxidantien	21
2.1	Im Rahmen der Studie verwendete Reagenzien, Hilfsmaterialien und Geräte .	24
2.2	Messparameter des ESR-Spektrometers LBM MT 03	29
3.1	Charakteristika der analysierbaren Studienpopulation	35
3.2	Ratenkonstanten zu Beginn der Studie und nach 2 Wochen	36
3.3	Gesamtcarotinoid- und Lycopingehalt zu Beginn der Studie und nach 2 Wochen	40

Abkürzungsverzeichnis

a.u.	Arbitrary units
ABTS^{•+}	Kationisches Radikal der 2,2'-Azino-di(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)
BMI	Body-Mass-Index
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
EC	Epicatechin
ECG	Epicatechingallat
EGC	Epigallocatechin
EGCG	Epigallocatechingallat
EGCG''Me	Epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallat
ESR	Elektronenspinresonanz
ET	Elektron-Transfer
FDA	Food and Drug Administration
GHz	Gigahertz
GTP	Grünteepolyphenole
HAT	Hydrogen Atom Transfer

LOS	Lipid Oxygen Species
M6	5-(3',4'-Dihydroxyphenyl)- γ -valerolacton
mT	Millitesla
Nrf2	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
ROS	Reactive Oxygen Species
RNS	Reactive Nitrogen Species
SOD	Superoxid-Dismutase
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl
Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
UV	Ultraviolettstrahlung

Zusammenfassung

Grüner Tee ist reich an Polyphenolen, welche als potente Antioxidantien agieren können. Da oxidativer Stress an der Pathogenese zahlreicher Hauterkrankungen beteiligt ist, benötigt die Haut Antioxidantien, die sowohl endogen synthetisiert als auch exogen über die Nahrung zugeführt werden. Grüner Tee und seine Extrakte finden bereits erfolgreichen Einsatz in der topischen Behandlung von Hauterkrankungen, allerdings ist bislang nur wenig über seine antioxidative Wirkung in der Haut nach oraler Aufnahme bekannt. In dieser Arbeit wurde der Einfluss der Grünteesorten Yabukita und Benifuuki auf das antioxidative Potential der menschlichen Haut nach oraler Einnahme untersucht. In einer randomisierten, kontrollierten und bezüglich der Teesorten doppelt verblindeten Pilotstudie wurden die Radikalfängeraktivität in der Haut sowie der Gesamtcarotinoid- und Lycopingehalt der Haut ermittelt. Als Messmethoden kamen dabei die *in-vivo*-Elektronenspinresonanz-(ESR-)Spektroskopie sowie die Resonanz-Raman-Spektroskopie zum Einsatz. 37 Probanden nahmen täglich drei Tassen Benifuuki-Tee, Yabukita-Tee oder Wasser (Kontrollgruppe) ein. Es konnte ein im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch signifikanter Anstieg der Radikalfängeraktivität der Haut sowohl in der Yabukita-Gruppe (+28 %) als auch in der Benifuuki-Gruppe (+29 %) festgestellt werden. Ein signifikanter Anstieg der Gesamtcarotinoid- oder Lycopinwerte der Haut wurde dabei nicht beobachtet. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die orale Einnahme von grünem Tee einen Beitrag zur Verbesserung des antioxidativen Potentials der Haut leisten kann.

Abstract

Green tea is rich in polyphenols, which can act as potent antioxidants. Since oxidative stress is involved in the pathogenesis of numerous skin diseases, it is crucial for the skin to be provided with antioxidants, which is accomplished endogenously by synthesis as well as exogenously through food. Green tea and its extracts are currently successfully used for the topical treatment of several skin diseases. However, there is only limited information available on the antioxidative effects of green tea in the skin after oral intake. In this thesis the influence of the green tea varieties Yabukita and Benifuuki on the antioxidant potential of human skin following oral administration was investigated. The radical scavenging activity of the skin as well as the total carotenoid and lycopene content of the skin were determined in a randomized, controlled and partially double-blind pilot study using *in vivo* electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy and resonance Raman spectroscopy. 37 participants were randomized to consume three cups daily of either Benifuuki tea, Yabukita tea or water (control group). Compared to the control group, a statistically significant increase in the radical scavenging activity of the skin was found in both the Yabukita group (+28%) and the Benifuuki group (+29%). No significant increases in cutaneous total carotenoid or lycopene levels were observed. The results suggest that the oral intake of green tea may contribute to an improved antioxidant potential of the skin.

1 Einleitung

1.1 Die Bedeutung von oxidativem Stress in der Haut

Die Haut ist das größte Organ des Menschen und ist zahlreichen endogenen sowie exogenen, physikalischen und chemischen Noxen ausgesetzt. Diese Noxen spielen eine wichtige Rolle bei der Pathogenese unterschiedlicher Hauterkrankungen — unter anderem dadurch, dass sie direkt oder indirekt zur Bildung von freien Radikalen beitragen [1].

Freie Radikale sind Moleküle, die mindestens ein ungepaartes Elektron enthalten. Diese Eigenschaft sorgt für eine ausgeprägte Reaktionsfreudigkeit und kann zur Schädigung von DNA, Lipiden und Proteinen im Gewebe führen. Eine der Hauptquellen für die Bildung von freien Radikalen stellt die physiologische Zellatmung dar, aber auch Entzündungsreaktionen [2], Sonnenlicht im ultravioletten (UV), sichtbaren und nah-infraroten Spektrum [3], Luftverschmutzung [4], Tabakrauch [5] und zahlreiche andere Stressoren tragen zur Radikalbildung bei. Schätzungen zufolge wird jede menschliche Zelle täglich von etwa 10^5 Hydroxylradikalen und anderen reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies attackiert [6].

Obwohl freie Radikale auch wichtige Funktionen im Körper erfüllen, beispielsweise bei der Signalübertragung [7] und Erregerabwehr [2], birgt eine übermäßige Radikalbildung die Gefahr, dass die Redox-Homöostase (das Gleichgewicht zwischen oxidativen und reduktiven Reaktionen) gestört wird, sich also das Gleichgewicht zugunsten der oxidativen Prozesse verschiebt. Der Körper muss daher in der Lage sein, die Radikale zu neutralisieren, um die Redox-Homöostase zu wahren. Diese Aufgabe erfüllen Antioxidantien. Einige Antioxidantien wie Glutathion, Superoxid-Dismutase und Katalase können vom Körper selbst gebildet werden (endogene Antioxidantien), während andere aus der Nahrung aufgenommen werden müssen

(exogene Antioxidantien). Hierbei handelt es sich vor allem um bioaktive Substanzen aus Pflanzen.

Übersteigt die Bildung von freien Radikalen die Neutralisationskapazität der Antioxidantien im Gewebe, spricht man von oxidativem Stress (Abbildung 1.1). Aus zahlreichen Untersuchungen ist bekannt, dass oxidativer Stress die Entstehung von diversen Hauterkrankungen begünstigt.

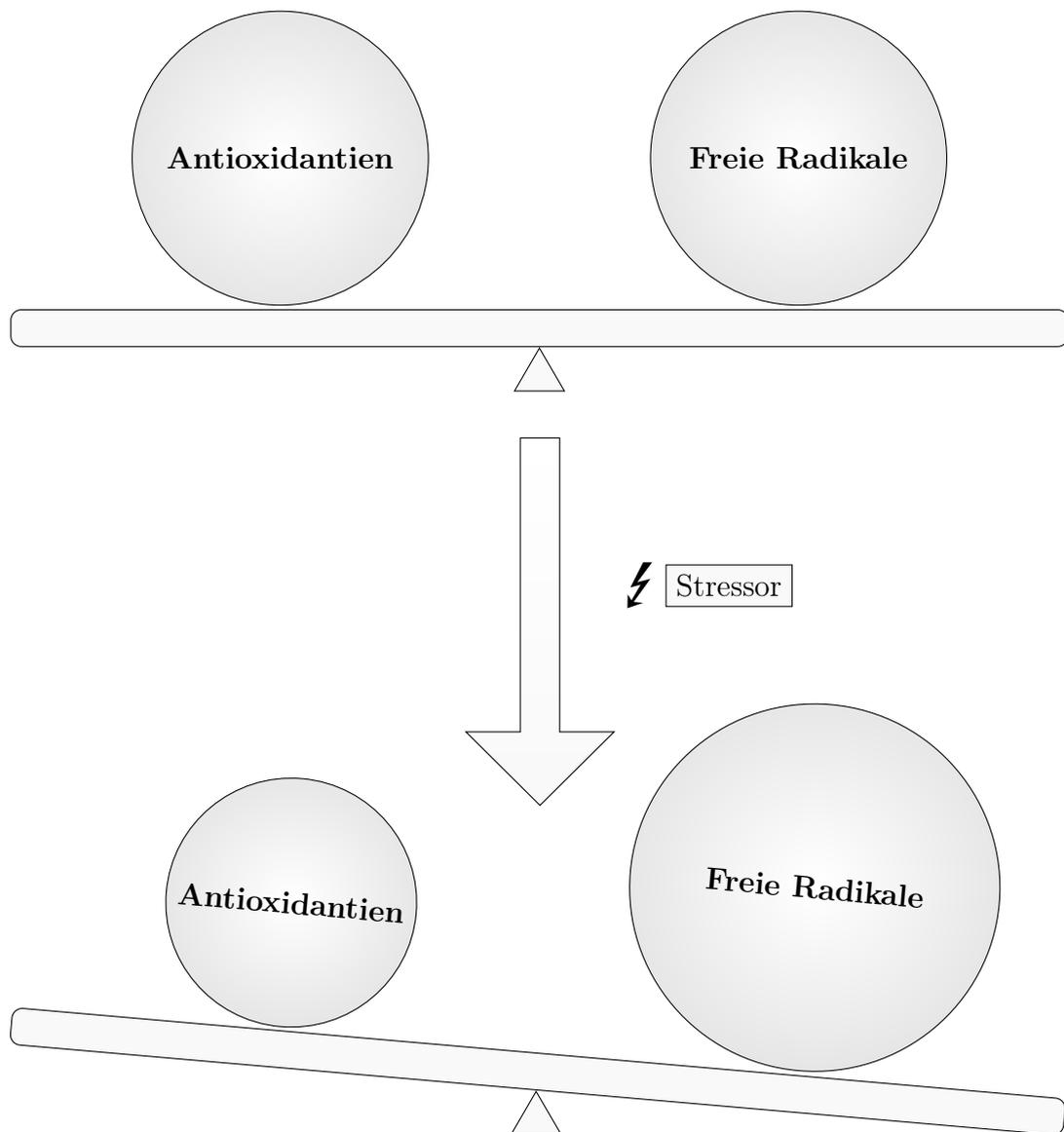


Abbildung 1.1: Oxidativer Stress entsteht durch ein Ungleichgewicht zwischen der Bildung freier Radikale und dem Antioxidantiengehalt im Gewebe.

1.1.1 Oxidativer Stress in der Pathogenese von Hauterkrankungen

Oxidativer Stress ist an allen Phasen der Tumorentstehung — Initiation, Promotion und Progression — beteiligt [8, 9]. Freie Radikale können zur Aktivierung von Onkogenen und Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen beitragen und durch die Aktivierung bestimmter Signaltransduktionswege zu einer erhöhten Expression von Genen führen, welche die Zellproliferation fördern [6].

Die häufigste Krebserkrankung bei hellhäufigen Menschen ist der nicht-melanozytäre Hautkrebs [10]. Seine Inzidenz steigt, ebenso wie die des malignen Melanoms, global an [11]. Ein veränderter Antioxidantienhaushalt konnte in immunhistochemischen Untersuchungen an Biopaten sowohl für den nicht-melanozytären als auch den melanozytären Hautkrebs nachgewiesen werden [12]. Basalzell- und Plattenepithelkarzinome wiesen einen Mangel an Katalase und Superoxid-Dismutase auf, vermutlich aufgrund von Minderung der antioxidativen Abwehr durch chronische UV-Exposition [13]. Ein etwas anderes Bild ergaben die Untersuchungen am malignen Melanom: Während die Konzentration von Malondialdehyd, eines Markers für oxidativen Stress, sowohl in Tumorzellen als auch im umliegenden Gewebe erhöht war, zeigten die Melanomzellen selbst eine signifikante Überexpression verschiedener antioxidativer Enzyme. Es wird vermutet, dass die Melanomzellen ihre Fähigkeit, freie Radikale zu generieren, dazu nutzen, das umliegende Gewebe zu schädigen und einfacher zu metastasieren, während sie sich selbst durch eine Überexpression von Antioxidantien vor Schädigung durch freie Radikale schützen [12].

Neben der Hautkrebsentstehung sind freie Radikale auch beim Photoaging von großer Bedeutung [14]. Die Funktion von oxidativem Stress in der Pathogenese anderer Hauterkrankungen ist derzeit noch Gegenstand der Forschung. Neueren Untersuchungen zufolge spielt oxidativer Stress bei der Entstehung der atopischen Dermatitis [15], der Psoriasis [16, 17], der Acne vulgaris [4] und der systemischen Sklerodermie [18] eine größere Rolle.

1.1.2 Reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies

Bei den freien Radikalen handelt es sich um aggressive Sauerstoff- oder Stickstoffverbindungen. Sie werden daher entsprechend als *reactive oxygen species* (ROS) beziehungsweise *reactive*

nitrogen species (RNS) bezeichnet. Aufgrund eines oder mehrerer ungepaarter Elektronen sind sie meist hochgradig instabil und suchen eine Vervollständigung ihrer Elektronenhülle, indem sie Elektronen aus der Hülle anderer Moleküle entfernen, was wiederum zur Entstehung eines neuen Radikals führt. Insbesondere die Phospholipide der Zellmembran sind sehr anfällig für die Oxidation durch freie Radikale [19]. Die daraus entstehenden Lipidradikale werden auch als *(reactive) lipid oxygen species* (LOS) bezeichnet [20] und können eine zellschädigende Kettenreaktion in Gang setzen [19, 21].

Zur Gruppe der RNS und ROS (Tabelle 1.1) gehören allerdings nicht nur die freien Radikale, sondern auch nichtradikalische Substanzen wie Wasserstoffperoxid, welches zwar nicht über ein ungepaartes Elektron verfügt, aber aufgrund seiner Reaktionsfreudigkeit schnell zur Bildung eines Radikals führen kann [21].

Tabelle 1.1: Bedeutende reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies im menschlichen Körper

	Radikalische Spezies		Nichtradikalische Spezies	
ROS	Superoxid	$O_2^{\bullet-}$	Wasserstoffperoxid	H_2O_2
	Hydroxylradikal	OH^{\bullet}	Singulett-Sauerstoff	1O_2
	Peroxyradikal	ROO^{\bullet}	Hypochlorige Säure	HOCl
RNS	Stickstoffmonoxid	NO^{\bullet}	Nitroxyl-Anion	NO^-
	Stickstoffdioxid	NO_2^{\bullet}	Peroxynitrit	ONOOH

1.1.3 Antioxidantien in der Haut

Die Haut verfügt über eine Reihe von enzymatischen sowie nicht-enzymatischen Antioxidantien zum Schutz vor oxidativem Stress (Tabelle 1.2) [22]. Während die enzymatischen und einige nicht-enzymatische Antioxidantien vom Körper selbst hergestellt werden können, muss ein großer Teil der nicht-enzymatischen Antioxidantien wie z. B. Ascorbinsäure, α -Tocopherol und die Carotinoide über die Nahrung aufgenommen werden [23].

Die wichtigsten hydrophilen nicht-enzymatischen Antioxidantien sind Glutathion und Ascorbinsäure, welche in hoher Konzentration im Zytosol der Zelle vorhanden sind. Das lipophile α -Tocopherol findet sich in der Zellmembran sowie in intrazellulären Membranen wie der Mitochondrienmembran.

Tabelle 1.2: Wichtige Antioxidantien der menschlichen Haut

Nicht-enzymatisch	Enzymatisch
Glutathion	Kupfer/Zink-SOD
Ascorbinsäure	Mangan-SOD
α -Tocopherol	Glutathion-Peroxidase
Harnsäure	Thioredoxin-Reduktase
Ubichinol	Katalase
Carotinoide	Thioredoxin-Peroxidase

Die enzymatischen Antioxidantien sind in verschiedenen Kompartimenten der Zelle lokalisiert. So ist die Katalase hauptsächlich in Peroxisomen vorhanden. Die Superoxid-Dismutase (SOD) existiert innerhalb der Zelle in zwei unterschiedlichen Unterformen: Die Kupfer/Zink-SOD im Zytosol und die Mangan-SOD in den Mitochondrien. Weitere wichtige Antioxidantien, die in Zellen der Haut vorkommen, sind Glutathion-Peroxidase, Thioredoxin-Reduktase und -Peroxidase, Harnsäure, Ubichinol und Carotinoide [24, 25].

Sowohl enzymatische als auch nicht-enzymatische Antioxidantien sind in der Epidermis in höherer Konzentration als in der Dermis vorhanden [26], was mit der wichtigen Funktion der Epidermis als erste Barriere gegen UV-Strahlung erklärbar ist. Einige exogene Antioxidantien werden vom Körper sogar aktiv in die äußeren Hautschichten transportiert: So gelangen Carotinoide über Schweiß- und Talgsekretion an die Hautoberfläche und finden sich in der höchsten Konzentration in den äußersten Schichten des Stratum corneum [27]. Für Vitamin C sind zwei natriumabhängige Transporter bekannt, welche es aus dem Extrazellulärraum in die Hautzellen transportieren [28].

1.1.4 Methoden zur Bestimmung des antioxidativen Potentials

Die Bestimmung des antioxidativen Potentials kann sowohl *in vitro* als auch *in vivo* erfolgen. Für die Bestimmung *in vitro* wurde eine Reihe unterschiedlicher Assays entwickelt. Je nach Reaktionsmechanismus lassen sich diese in zwei Fraktionen einteilen: Wasserstoffatom-Transfer-(HAT-) sowie Elektron-Transfer-(ET-)basierende Assays.

Die HAT-basierenden Methoden prüfen die Fähigkeit eines Antioxidans, Wasserstoffatome auf ein Testradikal zu übertragen [29]. Diese Assays nutzen einen synthetischen Radikalerzeuger und eine oxidierbare Testsubstanz zur Bestimmung der antioxidativen Wirksamkeit einer Probe, wobei die Testsubstanz mit dem Antioxidans um die Reaktion mit dem Radikal konkurriert [30]. Ein Beispiel für einen solchen Assay ist der Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay, bei dem der Farbstoff Fluorescein als oxidierbare Testsubstanz eingesetzt wird [31]. Da das oxidierte Fluorescein keine Fluoreszenzaktivität aufweist, nimmt die Fluoreszenzintensität der Probe in Anwesenheit des Radikalerzeugers über die Zeit ab. Gibt man ein Antioxidans dazu, verlangsamt sich der Abfall der Fluoreszenzintensität, da das Antioxidans die Oxidation der Testsubstanz hemmt. Das antioxidative Potential wird bestimmt, indem die Fläche unter der Fluoreszenzintensitätskurve errechnet wird. Das Vitamin-E-Derivat Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure) dient dabei als Referenzsubstanz für die antioxidative Wirksamkeit.

Bei den ET-basierenden Assays erfolgt eine Übertragung eines Elektrons vom Antioxidans auf das Radikal, wobei das Radikal selbst als Testsubstanz genutzt wird [30]. So beruht das Prinzip des Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay (TEAC) auf der photometrischen Bestimmung des kationischen Radikals der 2,2'-Azino-di(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure) (ABTS^{•+}), welches ein starkes Absorptionssignal u. a. bei 415 nm aufweist [32, 33]. In Anwesenheit von Antioxidantien erfolgt eine Reduktion des Testradikals ABTS^{•+}, wodurch das Absorptionssignal abnimmt. Als Referenzsubstanz wird auch hier Trolox eingesetzt.

Eine andere Möglichkeit zur Messung des Testradikal-Abbaus bietet die Elektronenspinresonanz-(ESR-)Spektroskopie. Mit ihrer Hilfe kann auch das antioxidative Potential von Proben bestimmt werden, die nicht photometrisch vermessen werden können (z. B. Emulsionen und andere trübe Gemische). Ein auf der ESR-Spektroskopie basierendes *in-vitro*-Verfahren ist die Bestimmung des Radical Protection Factor (RPF) [34]. Hierbei wird die ESR-Signalintensität des Testradikals vor und nach Zusetzung der antioxidativen Substanz gemessen. Als Testradikal wird 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) eingesetzt. Der RPF gibt an, wie viele Radikale pro mg getestete Substanz reduziert werden können.

Der Nachteil der *in-vitro*-Verfahren liegt darin, dass daraus nur schwer Rückschlüsse auf die Wirkung oral aufgenommener exogener Antioxidantien gezogen werden können. Diese sind in

unterschiedlichem Maße bioverfügbar und unterliegen oft einer Metabolisierung im Körper, die zu einer Veränderung der antioxidativen Eigenschaften führt.

Mithilfe der ESR-Spektroskopie kann allerdings, im Gegensatz zu den photometrischen Verfahren, die antioxidative Kapazität der Haut auch *in vivo* bestimmt werden. Hierbei wird ein Testradikal auf die Haut aufgetragen und dessen Signalintensität über die Zeit gemessen [35]. Aus der exponentiellen Abklingfunktion der Signalstärke lassen sich dann Rückschlüsse auf die Radikalfängeraktivität der Haut ziehen — je größer die Ratenkonstante k , desto höher ist die Radikalfängeraktivität. So konnte mittels der ESR-Spektroskopie gezeigt werden, dass die orale Aufnahme verschiedener exogener Antioxidantien wie Vitamin C, Aronia-Extrakt und Carotinoiden die Radikalfängeraktivität in der menschlichen Haut temporär erhöhen kann [36–38]. Nach Beendigung der Antioxidantien-Einnahme sinkt die Radikalfängeraktivität der Haut nach einigen Wochen wieder auf das Ausgangsniveau zurück [38].

Bei der *in-vivo*-ESR-Spektroskopie handelt es sich um eine indirekte Methode, mit der keine Rückschlüsse auf die Aktivität oder Konzentration einzelner Antioxidantien in der Haut gezogen werden können. Daneben existiert mit der Resonanz-Raman-Spektroskopie allerdings auch eine Messmethode, die es erlaubt, die Konzentration bestimmter Antioxidantien — der Carotinoide — in der Haut direkt und nicht-invasiv zu bestimmen. Da Carotinoide einen wichtigen Teil des antioxidativen Netzwerks der Haut bilden, kann ihre Konzentration als Marker für das antioxidative Potential der Hautzellen dienen [23].

1.2 Antioxidantien in grünem Tee

Grüner Tee ist ein beliebtes Getränk, welches durch einen wässrigen Auszug aus den Blättern von *Camellia sinensis* hergestellt wird. Seit Jahrzehnten ist er als wichtige Quelle von zahlreichen polyphenolischen Antioxidantien, den Grüntee polyphenolen (GTP), bekannt. Die beiden Hauptgruppen der in grünem Tee vorkommenden Antioxidantien bilden die Catechine und die Flavonole [39, 40] (Abbildung 1.2).

Epigallocatechingallat (EGCG) hat mit etwa 50% den größten Anteil an den Catechinen in grünem Tee. Neben Epicatechingallat (ECG) ist es das Catechin mit dem höchsten antioxidativen Potential [41]. Weitere wichtige Mitglieder der Catechin-Gruppe in grünem Tee sind Epicatechin (EC) und Epigallocatechin (EGC) [42]. Aus der Gruppe der Flavonole

ist insbesondere Quercetin zu nennen, welches über ein ähnliches antioxidatives Potential wie ECG und EGCG verfügt [43]. Insbesondere im Vergleich zu anderen nicht-enzymatischen Antioxidantien weisen ECG, EGCG und Quercetin *in vitro* ein sehr hohes antioxidatives Potential auf (Tabelle 1.3). Die Strukturformeln der wichtigsten im grünen Tee vorkommenden GTP sind in Abbildung 1.3 dargestellt.

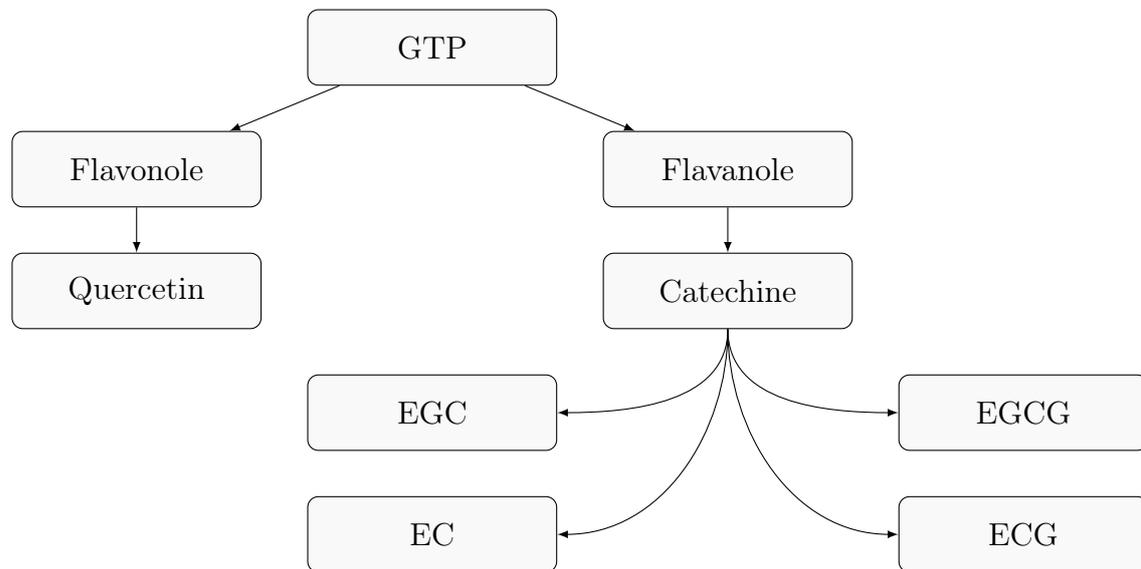


Abbildung 1.2: Hauptvertreter der Grüntee polyphenole (GTP), modifiziert nach [44] (EGC — Epigallocatechin, EGCG — Epigallocatechingallat, EC — Epicatechin, ECG — Epicatechingallat)

GTP vermitteln ihre antioxidativen, anti-inflammatorischen und antikanzerogenen Wirkungen über eine Reihe verschiedener Mechanismen [46]. So konnte gezeigt werden, dass die topische Applikation von EGCG vor UV-induzierten Entzündungsreaktionen sowie Lipidperoxidation und DNA-Schäden schützt [47, 48]. In humanen Plattenepithelkarzinom- und Melanomzellen können GTP apoptoseinduzierend wirken [49, 50]. GTP tragen zur Prävention von Photoaging bei, indem sie antimelanogen wirken, die Faltenbildung reduzieren und die UV-vermittelte Immunsuppression hemmen [51]. Darüber hinaus sind GTP in der Lage, die Transkription von Genen zu stimulieren, welche für endogene Antioxidantien kodieren [52]. Auf diese Weise können GTP synergistisch zu einem Konzentrationsanstieg sowohl von endogenen als auch von exogenen Antioxidantien im Gewebe beitragen. GTP besitzen außerdem antivirale Eigenschaften und können daher zur Behandlung von *Condylomata acuminata* (Feigwarzen) eingesetzt werden [53]. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass grüner Tee zur Prävention und Behandlung verschiedener Hautkrankheiten geeignet sein könnte.

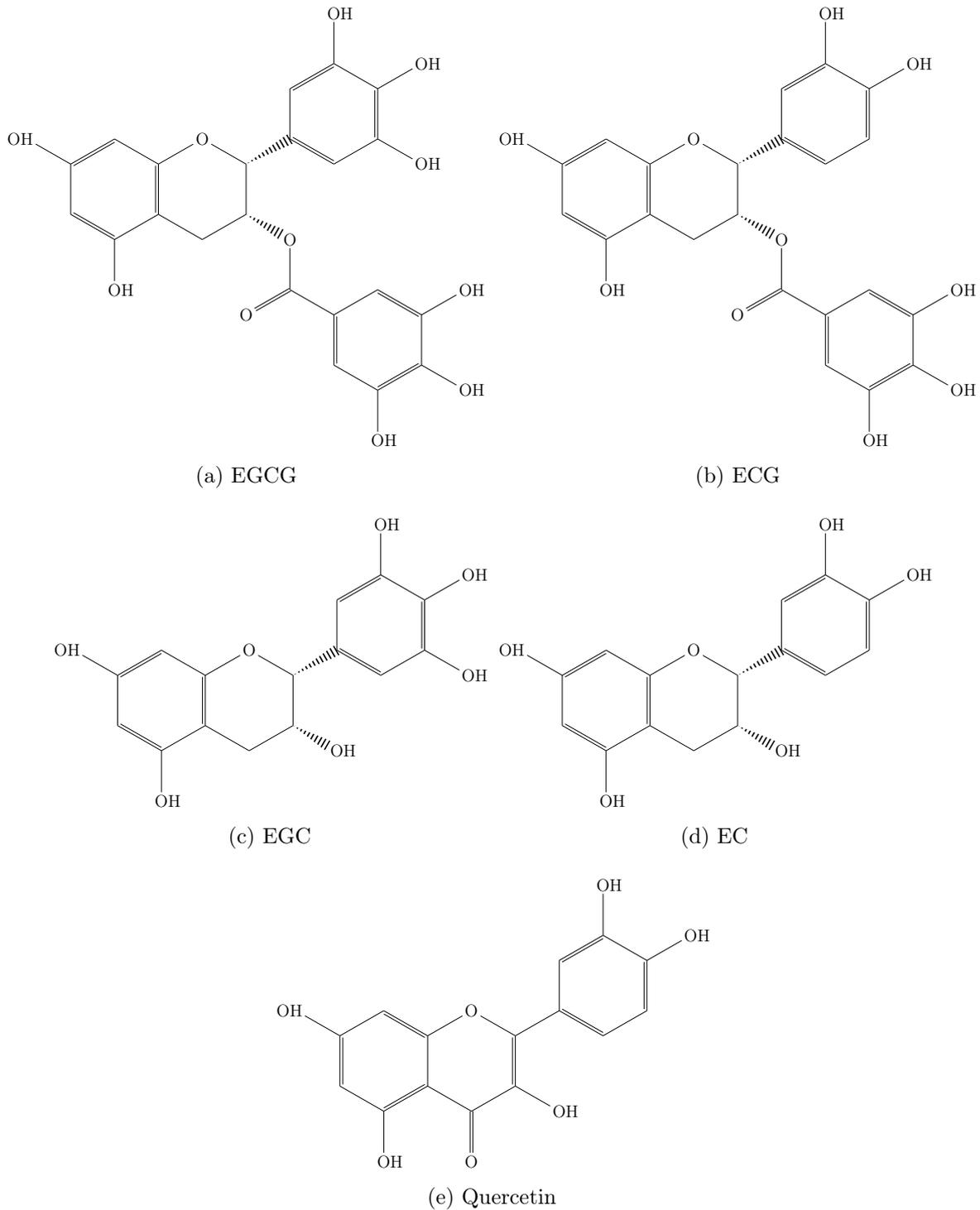


Abbildung 1.3: Strukturformeln von Epigallocatechingallat (a), Epicatechingallat (b), Epigallocatechin (c), Epicatechin (d) und Quercetin (e)

Aufgrund der vielfältigen Metabolisierungswege von grünem Tee im menschlichen Körper kann allerdings nicht immer von der *in-vitro*-Wirkung auf eine gleichgerichtete *in-vivo*-Wirkung geschlossen werden. Bislang ist noch nicht eindeutig geklärt, welche Effekte die zahlreichen

Tabelle 1.3: Vergleich des antioxidativen Potentials verschiedener nicht-enzymatischer endogener und exogener Antioxidantien, darunter GTP und deren Metabolite. TEAC — Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay

Substanz	TEAC (mM)
Epicatechingallat (ECG) ¹	4,9 ± 0,02 [43]
Epigallocatechingallat (EGCG) ¹	4,8 ± 0,06 [43]
Quercetin ¹	4,7 ± 0,1 [43]
Epigallocatechin (EGC) ¹	3,8 ± 0,06 [43]
Gallussäure ²	3,0 ± 0,05 [43]
Lycopin	2,9 ± 0,1 [33]
Epicatechin (EC) ¹	2,5 ± 0,02 [43]
Catechin ¹	2,4 ± 0,05 [43]
β -Carotin	1,9 ± 0,01 [33]
5-(3',4'-Dihydroxyphenyl)- γ -valerolacton (M6) ²	1,4 ± 0,1 [45]
Vitamin C	1,0 ± 0,1 [45]
α -Tocopherol	0,97 ± 0,01 [33]
Glutathion	0,90 ± 0,03 [33]

¹ GTP

² GTP-Metabolit

Biotransformationsprozesse wie Methylierung und Glucuronidierung auf das antioxidative Potential der GTP-Metabolite haben [39].

In Bezug auf die Haut ist außerdem festzustellen, dass noch weitgehend unerforscht ist, welche Metabolite in welcher Konzentration in welcher Hautschicht vorzufinden sind. Bislang sind lediglich zwei Studien publiziert worden, die sich mit der Aufnahme von GTP-Metaboliten in die menschliche Haut beschäftigt haben. Beide Studien [54, 55] stammen aus derselben Arbeitsgruppe. In der jüngeren der beiden Studien konnten nach oraler Zufuhr von grünem Tee 26 GTP-Metabolite im Plasma der Proband*innen festgestellt werden, aber nur 7 in Hautbiopsien [55]. Darunter befanden sich Quercetin und 5-(3',4'-Dihydroxyphenyl)- γ -valerolacton (M6), ein Ringspaltprodukt der Catechine, welches durch die menschliche Darmflora erzeugt wird [56]. Das antioxidative Potential von M6 ist zwar geringer als das der Catechine, aber vergleichbar mit dem von β -Carotin und Vitamin C (Tabelle 1.3). Auch die

Gallussäure als antioxidativ wirksames Spaltprodukt von EGCG scheint sich in der Haut anzureichern. EGCG selbst konnte hingegen, im Unterschied zur vorhergegangenen Arbeit dieser Gruppe [54], nicht in einer Hautbiopsie identifiziert werden. Somit bleibt festzustellen, dass sich einige antioxidativ wirksame GTP-Metabolite nach Einnahme von grünem Tee in der menschlichen Haut anreichern können, allerdings ist die Studienlage zum aktuellen Zeitpunkt noch widersprüchlich.

Ein anderes Problem bei der Beurteilung der biologischen Effekte von grünem Tee bildet die sehr variable Bioverfügbarkeit [55, 57–60]. Ursächlich hierfür können zum einen eine genetische Prädisposition [61] oder die Aufnahme von Nahrungsmitteln, die die Bioverfügbarkeit von Polyphenolen vermindern [62, 63], sein. Der wichtigste Effekt aber geht vermutlich von der menschlichen Darmflora aus, welche die GTP metabolisiert: Durch eine individuell unterschiedliche Zusammensetzung der Darmflora kommt es zu einer schwankenden Bioverfügbarkeit der Ringspalt-Valerolactone, welche mit 90 % den größten Anteil an ausgeschiedenen Catechin-Metaboliten bilden [58, 59]. Dies könnte eine Erklärungsgrundlage für die sehr widersprüchliche Studienlage zu grünem Tee bilden [62, 64]. So ist es nicht weiter verwunderlich, dass die Studien, welche die photoprotektiven Effekte von grünem Tee untersucht haben, zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen sind [54, 65–68].

Infolgedessen sind in den letzten Jahren einige Versuche unternommen worden, die Bioverfügbarkeit der GTP zu steigern. Einer der vielversprechendsten Ansätze ist dabei die Verwendung der Sorte Benifuuki. Hierbei handelt es sich um eine neuere Züchtung, die im Unterschied zur herkömmlichen Sorte Yabukita methylierte Catechine wie Epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallat (EGCG3''Me) enthält (Strukturformel in Abbildung 1.4). Es konnte gezeigt werden, dass EGCG3''Me eine deutlich höhere Bioverfügbarkeit aufweist, als EGCG [69].

In einer klinischen Studie zur Überprüfung der Wirksamkeit von Benifuuki- und Yabukita-Tee bei der Behandlung der saisonalen allergischen Rhinitis konnte Benifuuki-Tee durch eine höhere Wirksamkeit überzeugen, was auf die bessere Bioverfügbarkeit der methylierten Catechine zurückgeführt wurde [70].

Diese Studienergebnisse legen nahe, dass der Einsatz von Benifuuki-Tee zu einer gesteigerten Absorption und somit zu einer höheren Wirksamkeit der GTP führen kann. Allerdings sind bislang keine Studien zur Aufnahme von methylierten Catechinen in die Haut publiziert

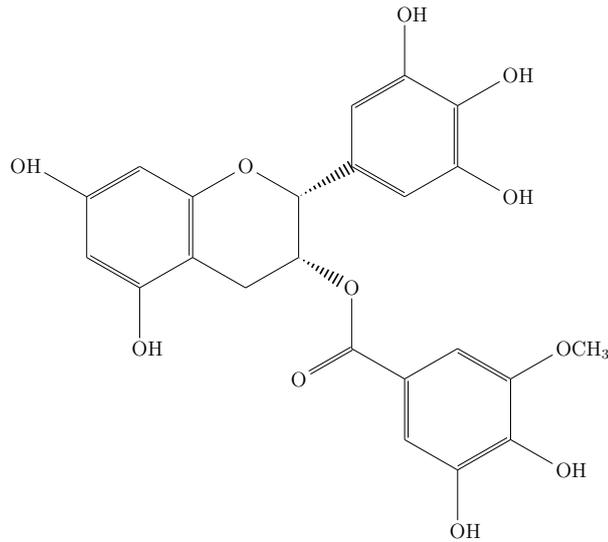


Abbildung 1.4: Strukturformel von EGCG3''Me

worden, so dass gegenwärtig keine evidenzbasierte Aussage darüber getroffen werden kann, ob Benifuuki-Tee auch zur Verbesserung des antioxidativen Potentials der Haut beitragen kann.

1.3 Zielsetzung

Infolge der hohen Inzidenz der durch oxidativen Stress bedingten Hauterkrankungen hat die Prävention von oxidativem Stress eine große Bedeutung. Dieses Ziel kann auf zwei Arten erreicht werden — zum einen durch eine Reduktion der Radikalbildung in der Haut und zum anderen durch Stärkung des antioxidativen Potentials der Haut (beispielsweise durch eine gesteigerte Aufnahme von Antioxidantien aus Nahrungsmitteln wie Obst, Gemüse, Tee und Kräutern).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von grünem Tee der Sorten Yabukita und Benifuuki auf das antioxidative Potential der menschlichen Haut untersucht. Als Messmethoden kamen die ESR- und die Resonanz-Raman-Spektroskopie zum Einsatz. Hierbei wurden die beiden Grünteesorten Benifuuki und Yabukita im Rahmen einer randomisierten, kontrollierten und in Bezug auf die Teesorten doppelt verblindeten Studie sowohl gegeneinander als auch gegen eine Kontrollgruppe verglichen. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen zur Klärung der Frage beitragen, ob die orale Einnahme von grünem Tee den oxidativen Stress in der Haut reduzieren und so präventiv und/oder kurativ gegen Hautkrankheiten wirken kann. Teilergebnisse sind bereits in [71, 72] veröffentlicht worden.

2 Material und Methoden

2.1 Materialliste

Tabelle 2.1: Im Rahmen der Studie verwendete Reagenzien, Hilfsmaterialien und Geräte

Material	Hersteller
Deckplättchen	R. Langenbrinck, Emmendingen
Ethanol	Merck, Darmstadt
Filterpapierscheiben	SmartPractice, Phoenix, AZ (USA)
L-Band ESR-Spektrometer LBM MT 03	Magnettech, Berlin
Finn Chamber Epikutanpflaster	SmartPractice, Phoenix, AZ (USA)
TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy)	Sigma-Aldrich, Steinheim

Als Studienpräparate wurden die Teesorten „Sencha Kirishima Yabukita“ (bezogen vom Tee Kontor Kiel) und „KEIKO Benifuuki No. 1“ (bezogen vom Teehandel Kolodziej & Lieder OHG) ausgewählt. Beide Teesorten stammen aus ökologischer Landwirtschaft der japanischen Präfektur Kagoshima.

2.2 Methoden

2.2.1 Studiendesign

Die Untersuchungen der vorliegenden Studie erfolgten am Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité –

Universitätsmedizin Berlin. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki sowie den Prinzipien der „Good Clinical Practice“ durchgeführt und ist durch die Ethikkommission der Charité genehmigt worden.

Zur Ermittlung der antioxidativen Wirkungen von grünem Tee auf die menschliche Haut wurden nach Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien sowie mündlicher und schriftlicher Aufklärung 37 gesunde Proband*innen mittels Blockrandomisierung im Verhältnis 1:1:1 auf drei Gruppen aufgeteilt (Abbildung 2.1). Zwei Gruppen erhielten grünen Tee der Sorte Yabukita bzw. Benifuuki. Die dritte Gruppe, welche als Kontrollgruppe diente, erhielt keinen Tee. Vor der Aushändigung an die Proband*innen wurde der Tee von einer nicht in die Messungen involvierten Person in nummerierte Dosen gefüllt. Die Teesorte war somit weder den Proband*innen noch der die Untersuchungen durchführenden Person bekannt.

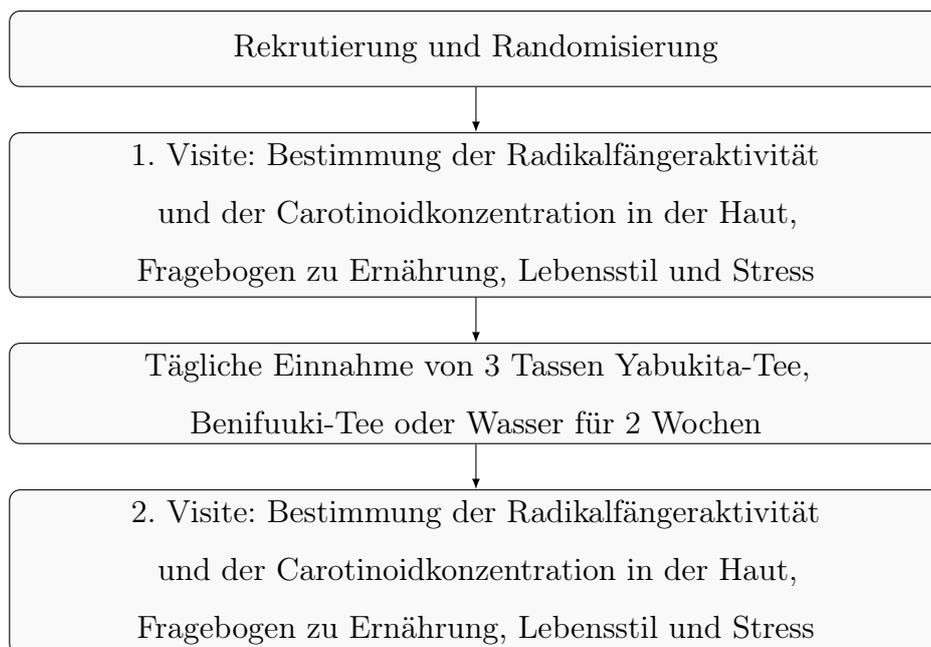


Abbildung 2.1: Studiendesign

Bei der ersten Visite erfolgte eine Bestimmung der Radikalfängeraktivität und der Carotinoidkonzentration in der Haut. Die Proband*innen füllten zudem einen Fragebogen zu Ernährung, Lebensstil und Stress aus. Proband*innen der Teegruppen erhielten zwei Dosen mit Teeblättern, einen Dosierlöffel und eine Anleitung zum Zubereiten und Einnehmen des Tees. Es sollten dreimal täglich je 2 g Teeblätter mit 200 ml heißem Wasser übergossen werden, mit einer anschließenden Ziehzeit von 90 Sekunden. Das Teegetränk war zeitnah nach

der Zubereitung einzunehmen. Der Verbrauch der Studienpräparate wurde durch Wiegen der Teedosen zu Beginn und zum Ende der Studie überprüft.

Die Kontrollgruppe erhielt die Anweisung, dreimal täglich 200 ml Wasser einzunehmen. Alle Proband*innen wurden dazu aufgefordert, während der Dauer der Studie ihre Ernährung (bis auf die drei zusätzlichen Tassen Tee oder Wasser) und ihren Lebensstil nicht zu ändern.

Nach 14 Tagen fand die 2. Visite statt, bei der die Untersuchungen zur Radikalfängeraktivität, Carotinoidkonzentration, Ernährung, Lebensstil und Stress wiederholt wurden.

2.2.2 Studienpopulation, Ein- und Ausschlusskriterien

Nach Bewilligung des Ethikantrages durch die Ethikkommission der Charité wurden insgesamt 37 gesunde Proband*innen im Alter zwischen 20 und 55 Jahren rekrutiert. Dabei wurden folgende Ein- und Ausschlusskriterien berücksichtigt:

Einschlusskriterien:

Die Untersuchungen wurden an Studienteilnehmer*innen durchgeführt, die zwischen 18 und 60 Jahren alt und darüber hinaus gesund waren, über die Ziele der Studie und das Wesen der Untersuchungen informiert waren, und nach Aufklärung ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme gegeben haben.

Ausschlusskriterien:

- bekannte Hauterkrankungen
- Störung der Barrierefunktion der Haut
- metallische Implantate (Schrauben, Stifte etc.) im Bereich des Unterarms
- bekannte Allergien/Unverträglichkeitsreaktionen auf Kosmetika und Nahrungsmittel
- Alter unter 18 Jahren
- Schwangerschaft und Stillzeit
- fehlende Einwilligungsfähigkeit

2.2.3 Bestimmung der Radikalfängeraktivität mittels ESR-Spektroskopie

Zur Messung der Radikalfängeraktivität und somit zur indirekten Einschätzung des Antioxidantiengehaltes der Haut wurde die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR-Spektroskopie) als nicht-invasive *in-vivo*-Messmethode genutzt [35].

Das Prinzip der ESR-Spektroskopie gründet auf dem Zeeman-Effekt [73], der die Aufspaltung der Energieniveaus von ungepaarten Elektronen unter dem Einfluss eines externen Magnetfeldes bezeichnet (Abbildung 2.2). Aufgrund ihres Spins verhalten sich Elektronen paramagnetisch – sie richten sich parallel oder antiparallel zum äußeren Magnetfeld aus. Die antiparallele Ausrichtung führt hierbei zu einem höheren und die parallele zu einem niedrigeren Energieniveau. Die Energiedifferenz zwischen den beiden Niveaus ist von der äußeren Magnetfeldstärke abhängig und wird als Resonanzenergie bezeichnet.

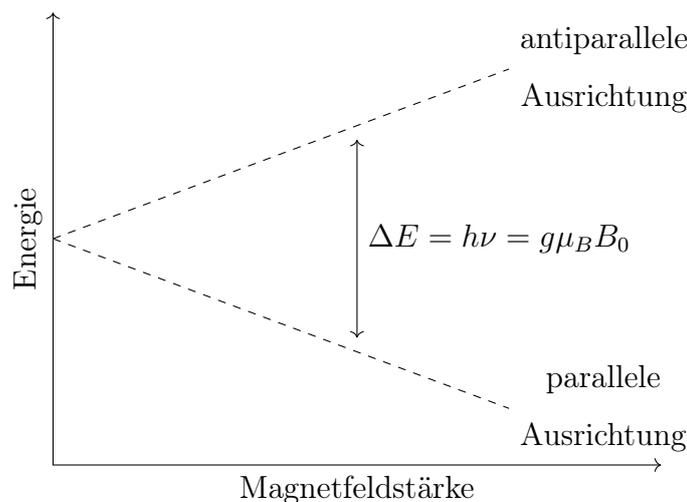


Abbildung 2.2: Der Zeeman-Effekt. Durch den Einfluss eines externen Magnetfeldes werden die Energieniveaus von ungepaarten Elektronen aufgespalten. Eine Resonanz tritt auf, wenn die Energie der elektromagnetischen Strahlung der Energiedifferenz zwischen den beiden Energieniveaus entspricht.

Die Energieniveau-Aufspaltung führt zur Absorption von elektromagnetischer Strahlung, wenn deren Energie der Resonanzenergie entspricht. Dieser Prozess wird durch Gleichung 2.1 beschrieben:

$$h\nu = g\mu_B B_0 \quad (2.1)$$

mit h als Planckschem Wirkungsquantum, ν als Resonanzfrequenz der elektromagnetischen Strahlung, g als Landé-Faktor, μ_B als Bohrschem Magneton und B_0 als Magnetfeldstärke.

Im Rahmen der ESR-Spektroskopie werden die paramagnetischen Eigenschaften von freien Radikalen genutzt, um diese über den Zeeman-Effekt nachzuweisen. Hierbei wird die Magnetfeldstärke variiert („Sweep“), bis die Resonanzfeldstärke erreicht ist und ein Absorptionssignal auftritt. Das ESR-Spektrum (Abbildung 2.3) zeichnet das Absorptionssignal gegen die Modulation der Feldstärke auf und entspricht daher der ersten Ableitung der Absorptionslinienform nach der Feldstärke.

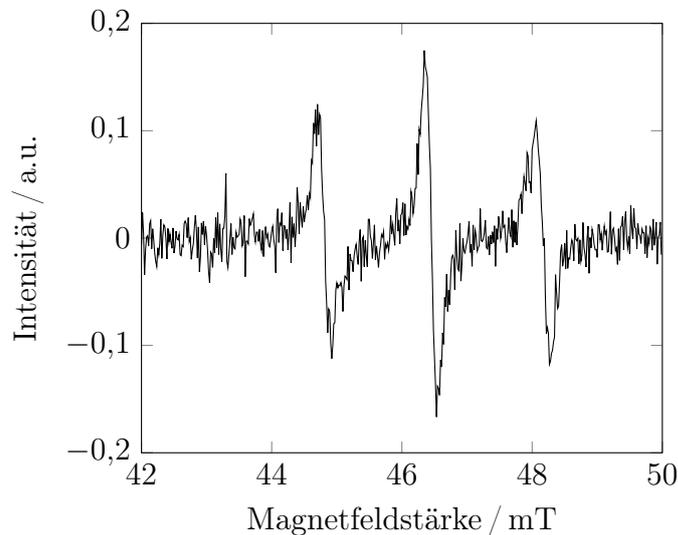


Abbildung 2.3: ESR-Spektrum von TEMPO nach Penetration in die Haut, gemessen *in vivo* mit dem LBM MT 03, als Beispiel für eine im Rahmen dieser Studie vorgenommene Messung

Wird ein freies Testradikal (ein sog. ESR-Marker) auf die Haut aufgetragen, so interagiert es mit den körpereigenen Antioxidantien, die das Radikal neutralisieren. Die Konzentration des Radikals verringert sich und die Intensität des ESR-Signals nimmt entsprechend ab [74] (Abbildung 2.4). Wird die Intensität des ESR-Signals über die Zeit aufgetragen, kann über die Gleichung 2.2 mittels eines exponentiellen Fits die Ratenkonstante k berechnet werden [75]:

$$I(t) = I_0 \cdot e^{-kt} \quad (2.2)$$

mit I als ESR-Signalintensität, I_0 als Anfangsintensität, k als Ratenkonstante und t als Zeit. Die Ratenkonstante k repräsentiert hierbei die Radikalfängeraktivität in der Haut: Je größer k , desto schneller erfolgt die Neutralisation des Testradikals.

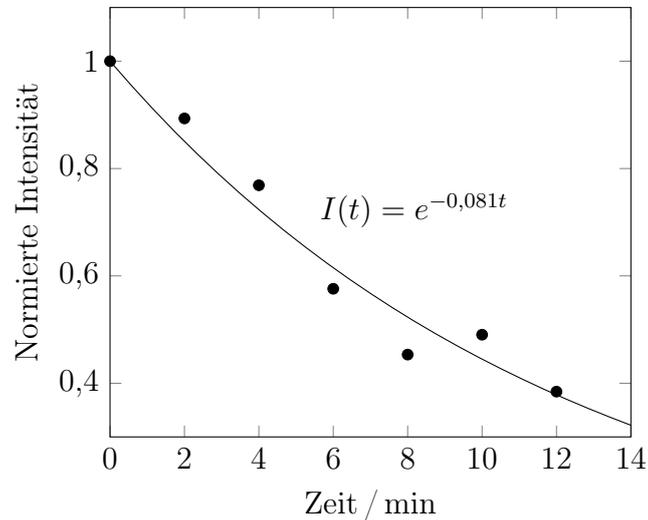


Abbildung 2.4: *In vivo* gemessener exponentieller Abfall der Signalintensität von TEMPO, als Beispiel für eine im Rahmen dieser Studie durchgeführte Messung

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde das ESR-Spektrometer LBM MT 03 verwendet, welches Mikrowellenstrahlung im L-Band-Frequenzbereich emittiert.

Tabelle 2.2: Messparameter des ESR-Spektrometers LBM MT 03

Parameter	Einstellung
Frequenz der Mikrowellenstrahlung	1,3 GHz
Magnetfeldstärke	46 mT
Sweep width	8 mT
Sweep time	10 s
Magnetfeldstärken-Modulationsamplitude	0,15 mT

Als ESR-Marker wurde das freie Radikal TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy) auf die Haut der Proband*innen aufgetragen. Hierfür wurde eine Lösung mit einer TEMPO-Konzentration von 30 mmol/l verwendet, welche am Tag der jeweiligen Messung mithilfe eines 1:1-Gemisches aus Ethanol und Wasser hergestellt wurde.

Die Messungen erfolgten jeweils am inneren rechten Unterarm. Zunächst wurde die Hautoberfläche mit einem in Ethanol getränkten Papierhandtuch gereinigt. Falls notwendig, wurden Haare vorsichtig mit einer medizinischen Schere entfernt. Anschließend erfolgte das Auftragen von 50 μl der kürzlich angesetzten TEMPO-Lösung auf eine Filterpapier-Scheibe, die auf dem Unterarm platziert und mit einem Epikutanpflaster abgedeckt wurde. Die Einwirkzeit betrug 10 Minuten, um eine ausreichende Penetration des ESR-Markers in die Epidermis zu gewährleisten. Nach dem Ende der Einwirkzeit wurden das Epikutanpflaster sowie das Filterpapier entfernt und überschüssige TEMPO-Lösung wurde mit einem Papierhandtuch abgewischt.

Der Unterarm wurde auf die Armschiene des ESR-Spektrometers gelegt und immobilisiert. Nachdem das mit TEMPO behandelte Areal durch ein dünnes Deckplättchen von der Messspule des Spektrometers abgetrennt worden war, wurde die Messung eingeleitet. Die Dauer einer Messung betrug 14 Minuten, wobei 4 ESR-Spektren pro Minute aufgezeichnet wurden (insgesamt 56 Spektren). Zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses erfolgte eine Summierung und Mittelung von jeweils acht aufeinander folgenden ESR-Spektren. Die ersten acht Spektren (aufgezeichnet im Zeitraum 0 bis 2 Minuten) wurden zum Wert für den Zeitpunkt 0 Minuten gemittelt, die nächsten acht (2 bis 4 Minuten) zum Wert für Zeitpunkt 2 Minuten, usw. Die ESR-Signalintensität wurde durch Ausmessen der Zentrallinie des durch Mittelung erzeugten ESR-Spektrums bestimmt.

Die Berechnung der Ratenkonstante erfolgte gemäß Gleichung 2.2 als exponentieller Fit aus den 7 nach der oben beschriebenen Methode ermittelten Intensitätswerten (Zeitpunkte 0, 2, 4, 6, 8, 10 und 12 min). Zur Sicherstellung reproduzierbarer Ergebnisse wurde die Messung anschließend an einer benachbarten Hautstelle wiederholt. Die Messung galt als erfolgreich, wenn die Abweichung der Ratenkonstanten zweier benachbarter Hautareale weniger als 30 % betrug.

2.2.4 Messung der kutanen Carotinoidkonzentration mittels Resonanz-Raman-Spektroskopie

Als direkte und nicht-invasive *in-vivo*-Methode zur Quantifizierung von Carotinoiden in der Haut hat sich die Resonanz-Raman-Spektroskopie etabliert [23]. Die Methode basiert

auf dem Raman-Effekt – der unelastischen Streuung von Licht an Atomen oder Molekülen. Durch Wechselwirkung der elektromagnetischen Strahlung mit Molekülschwingungen und -rotationen kann eine Energieübertragung in beide Richtungen erfolgen: Sowohl eine Energieübertragung vom Photon auf das streuende Molekül (Stokes-Raman-Streuung) als auch eine Energieübertragung vom streuenden Molekül auf das Photon (Anti-Stokes-Raman-Streuung) sind möglich. Je nach Richtung der Energieübertragung kommt es hierbei zu einer Erniedrigung oder Erhöhung der Frequenz des gestreuten Photons, was im Streuspektrum anhand der Entstehung von sog. Raman-Linien oberhalb- und unterhalb der Anregungsfrequenz sichtbar wird.

Die Raman-Linien sind charakteristisch für das jeweilige Molekül und ihre Intensität ist proportional zur Konzentration der zu messenden Substanz. Somit lässt sich bei Kenntnis der Raman-Linien eines Moleküls seine Konzentration in einem Gewebe bestimmen. Carotinoide zeigen drei prominente Raman-Linien bei 1005 cm^{-1} , 1156 cm^{-1} und 1523 cm^{-1} . Diese entstehen durch Kippbewegungen der Methylgruppen (C-CH₃) und durch Schwingungen der C-Atome der Einfach- (C-C) und Doppelbildungen (C=C) im konjugierten Kohlenstoffgerüst (Abbildung 2.5).

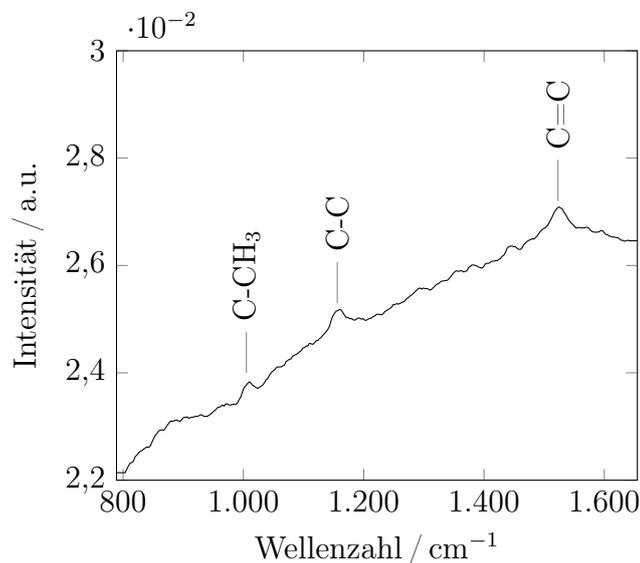


Abbildung 2.5: Resonanz-Raman-Spektrum von Carotinoiden der Haut, aus [23]

Die Messung von Carotinoiden in der Haut ist aufgrund ihrer sehr geringen Konzentration (ca. $0,5\text{ nmol/g}$ Haut) technisch anspruchsvoll und erfordert den Einsatz von Resonanz-Raman-Spektroskopie. Hierbei wird die Substanz im Wellenlängenbereich des elektronischen

Überganges (Absorptionspeak) angeregt, was zu einem Intensitätsanstieg der Raman-Linien führt und auch die Messung von geringen Mengen einer Substanz ermöglicht [76].

Im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgte die Anregung mithilfe eines Argonlasers bei den Wellenlängen 488 nm sowie 514,5 nm. Da alle Carotinoide gut im blau-grünen Spektralbereich absorbieren, wurde die Wellenlänge von 488 nm zur Messung der Gesamtcarotinoid-Konzentration genutzt. Mit der Wellenlänge von 514,5 nm wurde hingegen vor allem Lycopin angeregt, welches im Gegensatz zu den anderen Carotinoiden in diesem Bereich einen prominenten Absorptionspeak aufweist und sich somit getrennt von den übrigen Carotinoiden messen lässt [77]. Die Berechnung der Signalintensität erfolgte für beide Wellenlängen anhand der Raman-Linie bei 1523 cm^{-1} , wobei ein Mittelwert aus sechs Einzelmessungen gebildet wurde. Als Messort wurde für alle Proband*innen die Innenfläche der rechten Hand gewählt.

2.2.5 Fragebogen zu Lebensstil und Ernährung

Zur Erfassung eines möglichen Einflusses des Lebensstils auf das antioxidative Potential der Haut füllten alle Proband*innen zu Beginn der Studie und am Tag der letzten Messung einen Fragebogen (modifiziert nach [78]) aus. Dieser beinhaltete allgemeine Fragen zu Sonnenexposition, Stress, Stimmung und Gesundheit sowie einen detaillierten Abschnitt zur Ernährung. Die Proband*innen sollten mittels Selbsteinschätzung Auskunft darüber geben, wie oft sie in den vergangenen 2 Wochen bestimmte Obst- und Gemüsesorten, Tees und Säfte konsumiert haben. Hieraus wurde für jedes Lebensmittel eine Verzehrhäufigkeit abgeschätzt und ein individueller Score errechnet.

2.2.6 Statistische Auswertung

Als primärer Endpunkt der Studie diente die Radikalfängeraktivität in der Haut, als sekundärer die kutane Gesamtcarotinoid- sowie die Lycopinkonzentration. Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe der Software IBM SPSS Statistics 22. Der Shapiro-Wilk-Test wurde genutzt, um zu prüfen, ob die zu analysierenden Datensätze über eine Normalverteilung verfügten. Falls diese vorhanden war, wurde der gepaarte T-Test (bei verbundenen Stichproben) bzw. der ungepaarte T-Test (bei nicht verbundenen Stichproben) angewandt. Bei nicht normal verteilten Datensätzen kam der Wilcoxon-Test an verbundenen Stichproben und der Mann-

Whitney-U-Test an nichtverbundenen Stichproben zum Einsatz. Korrelationen zwischen nicht normalverteilten Variablen wurden mithilfe des Rangkorrelationskoeffizienten Kendalls τ_b errechnet. Für alle statistischen Analysen wurde die statistische Signifikanz anhand eines zweiseitigen p-Werts von $\leq 0,05$ beurteilt.

3 Ergebnisse

3.1 Analyse der Proband*innencharakteristika

Es wurden insgesamt 37 Proband*innen für die Studie rekrutiert. Eine Probandin der Yabukita-Gruppe schied auf eigenen Wunsch vorzeitig aus der Studie aus. Eine weitere Probandin dieser Gruppe musste von der Studie ausgeschlossen werden, da es während der 2. Visite nicht möglich war, reproduzierbare ESR-Messungen durchzuführen. Drei Proband*innen (einer aus der Kontrollgruppe und zwei aus der Benifuuki-Gruppe) wurden aufgrund von mittel- bis schwergradigen Infektionen, die während der zweiten Versuchswoche auftraten und antiinfektiv behandelt werden mussten, von der Studie ausgeschlossen. Somit konnten 32 Proband*innen in die statistische Analyse eingeschlossen werden (Tabelle 3.1). Im Folgenden werden die Ergebnisse für diese 32 Proband*innen (analysierbare Studienpopulation) beschrieben.

Das Geschlechterverhältnis war mit 15 Männern zu 17 Frauen weitestgehend ausgeglichen. Das durchschnittliche Alter betrug 31 Jahre. Der Anteil der Rauchenden betrug 13 %, der Anteil der Vegetarier*innen lag bei 19 %. Die Mehrheit der Proband*innen (78 %) hatte Normalgewicht (BMI zwischen 20 und 25 kg/m²), 16 % hatten einen BMI über 25 kg/m² und 9 % einen BMI unter 20 kg/m².

3.2 Auswertung der Fragebögen

Die Auswertung der Fragebögen ergab keine signifikanten Unterschiede im Lebensstil der Proband*innen zwischen den drei Studienarmen. So war insbesondere der Konsum von Obst, Gemüse und grünem Tee sowie der empfundene Stress und die Stimmung zwischen den Studienarmen nicht signifikant unterschiedlich.

Tabelle 3.1: Charakteristika der analysierbaren Studienpopulation

	Wasser	Yabukita	Benifuuki	Gesamt
	$n = 10$	$n = 11$	$n = 11$	$n = 32$
Geschlecht				
Männlich	4	6	5	15
Weiblich	6	5	6	17
Alter in Jahren				
Mittelwert \pm SD	31 \pm 11	29 \pm 9	30 \pm 8	31 \pm 10
Spannweite	(21 – 52)	(23 – 55)	(20 – 44)	(20 – 55)
Body-Mass-Index (BMI) in kg/m ²				
< 20	0	0	3	3
20 – 25	9	9	6	24
> 25	1	2	2	5
Ernährung				
Omnivor	8	8	10	26
Vegetarisch	2	3	1	6
Nikotinkonsum				
Rauchend	2	1	1	4
Nichtrauchend	8	10	10	28

Der Vergleich der Fragebögen zu Studienbeginn und nach 2 Wochen zeigte, mit Ausnahme des Konsums von grünem Tee in den beiden Teegruppen, keine signifikanten Änderungen im Essverhalten der Proband*innen während der Durchführung der Studie. In der analysierbaren Studienpopulation wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Konsums von Obst ($p = 0,851$) und Gemüse ($p = 0,229$) zwischen Visite 1 und Visite 2 gefunden. Ebenfalls unverändert blieben der empfundene Stress ($p = 0,401$) und die Stimmung ($p = 0,361$). Diese Ergebnisse bestätigten sich auch bei der Analyse der einzelnen Studienarme.

Somit gab es keine Hinweise darauf, dass Lifestyle-Faktoren einen Einfluss auf das Studienergebnis ausgeübt haben.

3.3 Bestimmung der Radikalfängeraktivität der Haut

Die Messung der Radikalfängeraktivität mittels ESR-Spektroskopie ergab signifikante Änderungen der Ratenkonstante (Δk) bei den Proband*innen der Yabukita- und der Benifuuki-Gruppe im Vergleich zu den Proband*innen der Kontrollgruppe.

Zu Beginn der Studie betrug der Mittelwert der Ratenkonstanten der analysierbaren Studienpopulation $4,5 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, ohne signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

Nach 2 Wochen zeigten Proband*innen beider Teegruppen einen durchschnittlichen Anstieg der individuell errechneten Ratenkonstante um $0,9 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, während in der Kontrollgruppe ein Abfall um $0,4 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ zu verzeichnen war (Tabelle 3.2). Im direkten Vergleich zur Kontrollgruppe war der Anstieg der Ratenkonstante in jeder der beiden Teegruppen signifikant größer (Abbildung 3.1), allerdings fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Yabukita- und der Benifuuki-Gruppe.

Tabelle 3.2: Mittelwerte und Standardabweichungen sowie absolute (Δk) und relative ($\Delta k/k_0$) Änderungen der Ratenkonstante k , gemessen zu Beginn der Studie und nach 2 Wochen

	Wasser	Yabukita	Benifuuki	Gesamt
Ratenkonstante (10^{-2} min^{-1})				
Ausgangswert	5,2 \pm 1,2	4,1 \pm 1,6	4,2 \pm 1,4	4,5 \pm 1,5
2 Wochen	4,8 \pm 1,7	5,0 \pm 1,9	5,1 \pm 1,6	5,0 \pm 1,6
Δk	-0,4 \pm 1,1	0,9 \pm 1,4	0,9 \pm 1,5	0,5 \pm 1,5
$\Delta k/k_0$ (%)	-9 \pm 23	28 \pm 43	29 \pm 52	17 \pm 44

Ein ähnliches Bild lieferte der Vergleich der kumulativen ESR-Abklingkurven (Abbildung 3.2). Hier verringerte sich die Ratenkonstante der Kontrollgruppe um $0,4 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ (Abbildung 3.2a), während die Ratenkonstanten in der Yabukita- und der Benifuuki-Gruppe um $0,8 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ bzw. $0,6 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ (Abbildungen 3.2b, 3.2c) anstiegen.

Relativ zum Ausgangswert stieg die individuell ermittelte Ratenkonstante in der Yabukita-Gruppe um durchschnittlich 28 % und in der Benifuuki-Gruppe um 29 %. Dagegen verringerte sich die Ratenkonstante in der Kontrollgruppe um 9 %.

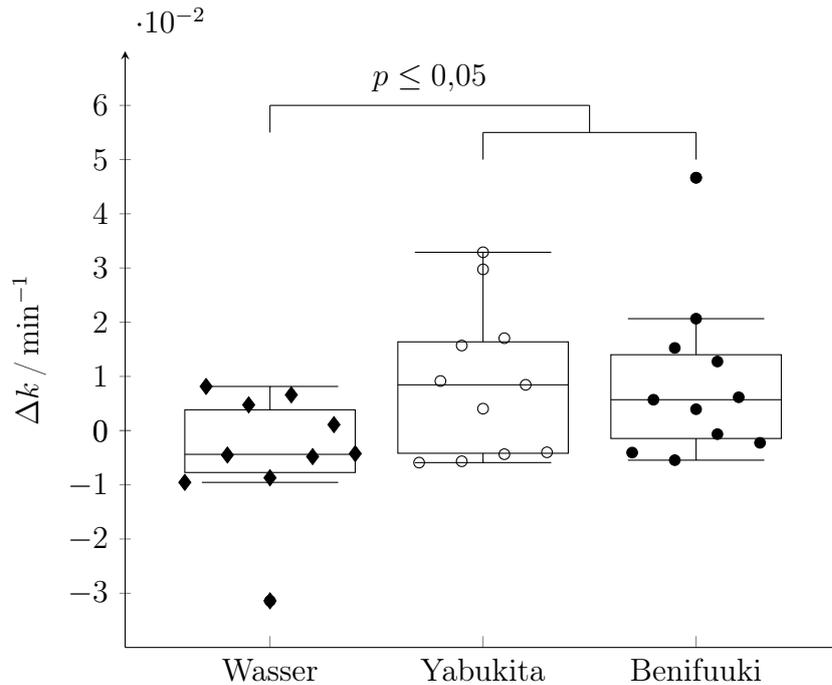
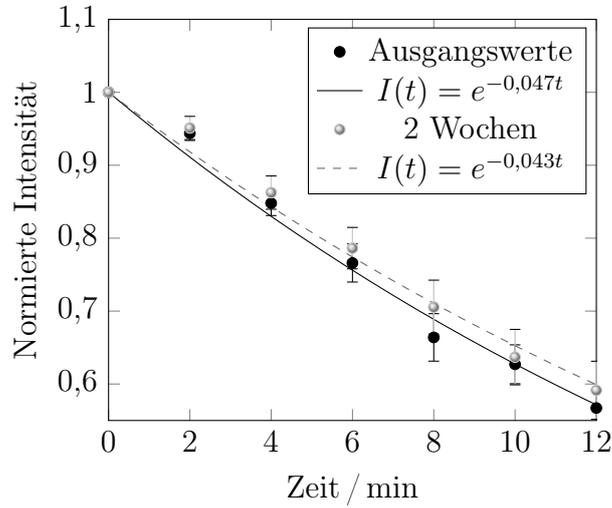


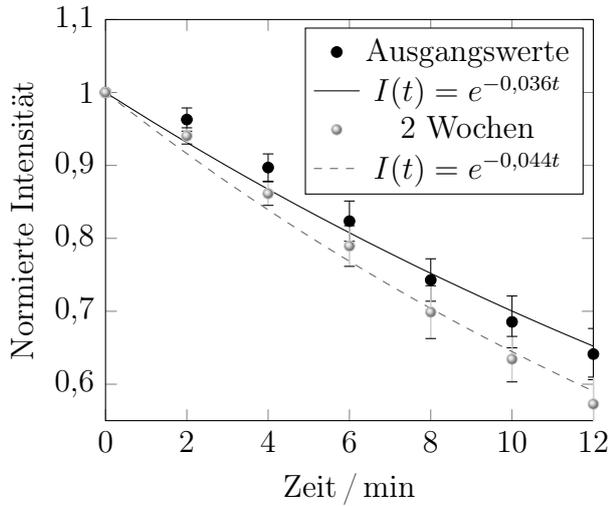
Abbildung 3.1: Boxplot-Darstellung der Ratenkonstantendifferenz Δk zwischen Visite 1 (zu Beginn der Studie) und Visite 2 (nach 2 Wochen). Der Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den Teegruppen ist gemäß Mann-Whitney-U-Test signifikant.

Gleichzeitig zeigte Δk eine große interindividuelle Variabilität. So betrug der maximale individuelle Anstieg der Ratenkonstante in der Yabukita-Gruppe 102 % und in der Benifuuki-Gruppe 173 %, in der Kontrollgruppe hingegen lediglich 18 %. Dabei zeigte allerdings auch die Hälfte der Teegruppen-Proband*innen (5 Proband*innen der Yabukita-Gruppe und 6 Proband*innen der Benifuuki-Gruppe) einen Anstieg um weniger als 18 % oder einen Abfall der Ratenkonstante. Legt man einen maximalen Anstieg um 18 % als Cut-Off-Wert für den Responderstatus zugrunde, so können 45 % der Yabukita-Proband*innen und 55 % der Benifuuki-Proband*innen als Non-Responder klassifiziert werden.

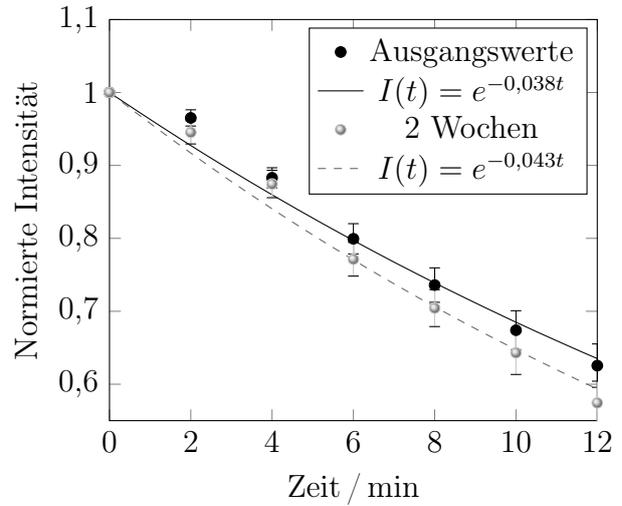
Insgesamt 5 Proband*innen (2 aus der Yabukita-Gruppe und 3 aus der Benifuuki-Gruppe) klagten während der zweiten Studienwoche über Krankheitsgefühle, meist verbunden mit Symptomen einer Erkältung. Diese 5 Proband*innen zeigten einen Abfall der Ratenkonstante um durchschnittlich $0,2 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ bzw. 4 %, während die gesunden Tee-Proband*innen einen Anstieg der Ratenkonstante um durchschnittlich $1,2 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ bzw. 38 % aufwiesen (Abbildung 3.3a, 3.3b).



(a) Kontrollgruppe

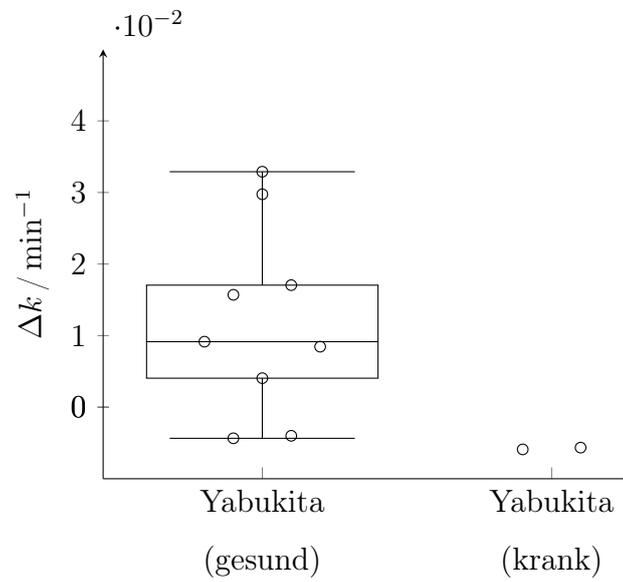


(b) Yabukita-Gruppe

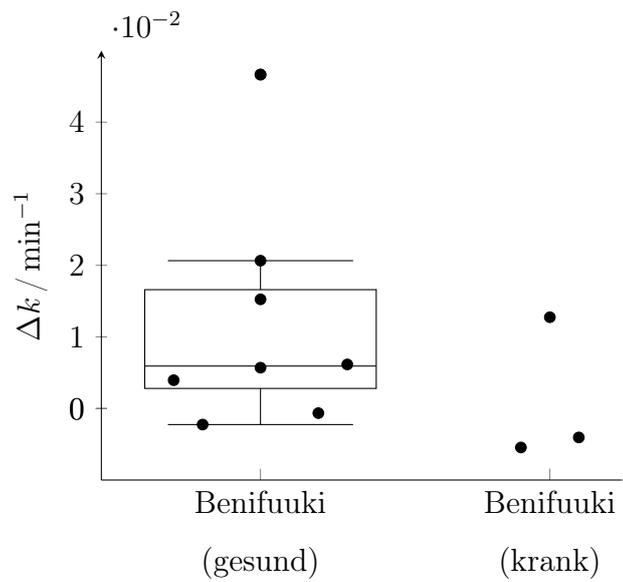


(c) Benifuuki-Gruppe

Abbildung 3.2: Vergleich der kumulativen ESR-Abklingkurven in der Kontrollgruppe (a), der Yabukita-Gruppe (b) und der Benifuuki-Gruppe (c) zu Beginn der Studie (schwarz) und nach 2 Wochen (grau), jeweils gemittelte Messwerte \pm Standardabweichung, exponentieller Fit.



(a)



(b)

Abbildung 3.3: Vergleich von Δk zwischen gesunden und erkrankten Proband*innen der Yabukita-Gruppe (a) und der Benifuuki-Gruppe (b). Bei 4 der 5 Proband*innen, welche über Krankheitssymptome während der Studie berichteten, fand ein Abfall der Ratenkonstante statt.

3.4 Bestimmung des Carotinoidgehaltes der Haut

Die Messung des Carotinoidgehaltes in der Haut mittels Resonanz-Raman-Spektroskopie ergab keine signifikanten Änderungen des Gesamtcarotinoid- oder Lycopingehaltes nach zweiwöchiger Einnahme von grünem Tee im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Der mittlere Gesamtcarotinoidgehalt der Haut der analysierbaren Proband*innen betrug zu Beginn der Studie $5,1 \cdot 10^{-4}$ a.u., der mittlere Lycopingehalt $1,5 \cdot 10^{-4}$ a.u. (Tabelle 3.3). Es wurden hierbei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt.

Tabelle 3.3: Mittelwerte und Standardabweichungen der Gesamtcarotinoid- und Lycopinwerte, gemessen zu Beginn der Studie und nach 2 Wochen

	Wasser	Yabukita	Benifuuki	Gesamt
Gesamtcarotinoide (10^{-4} a.u.)				
Ausgangswert	5,7 ± 2,0	4,3 ± 1,0	5,5 ± 2,3	5,1 ± 1,9
2 Wochen	5,2 ± 1,6	4,5 ± 1,3	5,5 ± 2,0	5,1 ± 1,7
Lycopin (10^{-4} a.u.)				
Ausgangswert	1,7 ± 0,5	1,3 ± 0,4	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,5
2 Wochen	1,9 ± 0,5	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,7	1,7 ± 0,6

Auffällig war der unterschiedliche Carotinoidgehalt der Haut im Vergleich zwischen Frauen und Männern (Abbildung 3.4). So wiesen Frauen einen im Durchschnitt um 44 % höheren Gesamtcarotinoidgehalt auf, als Männer ($p = 0,002$). Der Lycopingehalt in der Haut der Frauen war um 23 % höher, mit $p = 0,057$ allerdings nicht signifikant unterschiedlich zum durchschnittlichen Wert bei den Männern. Es war zudem eine hohe Korrelation zwischen dem Lycopingehalt und dem Gesamtcarotinoidgehalt der Haut vorhanden ($\tau_b = 0,63$, $p < 0,001$, Abbildung 3.5).

In der Benifuuki-Gruppe kam es nur zu einer minimalen Änderung des Gesamtcarotinoidgehaltes. Proband*innen der Yabukita-Gruppe zeigten einen nicht-signifikanten Anstieg des Gesamtcarotinoidgehaltes, während die Kontrollgruppe einen ebenfalls nicht signifikanten Abfall aufwies (Abbildung 3.6a). In allen Gruppen konnte ein leichter Anstieg des Lycopingehaltes der Haut beobachtet werden, der allerdings ebenfalls nicht statistisch signifikant war (Abbildung 3.6b).

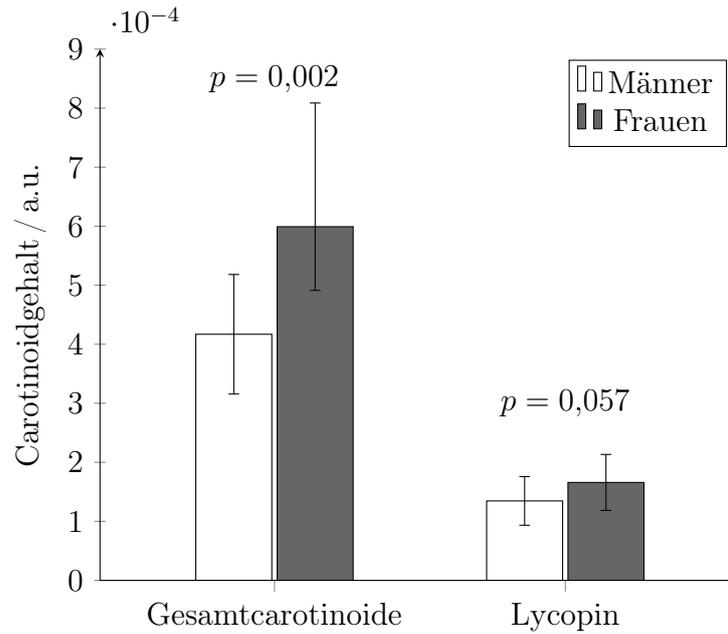


Abbildung 3.4: Balkendiagramme der Mittelwerte (mit Standardabweichung) des Gesamtcarotinoid- sowie des Lycopingehaltes der Haut im Vergleich zwischen Frauen und Männern. Der Unterschied im Gesamtcarotinoidgehalt ist gemäß ungepaartem T-Test signifikant.

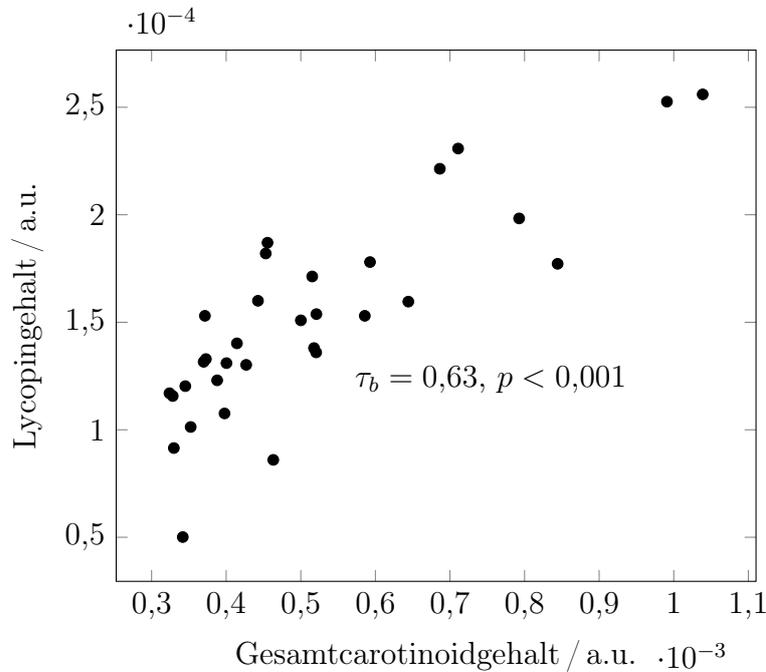
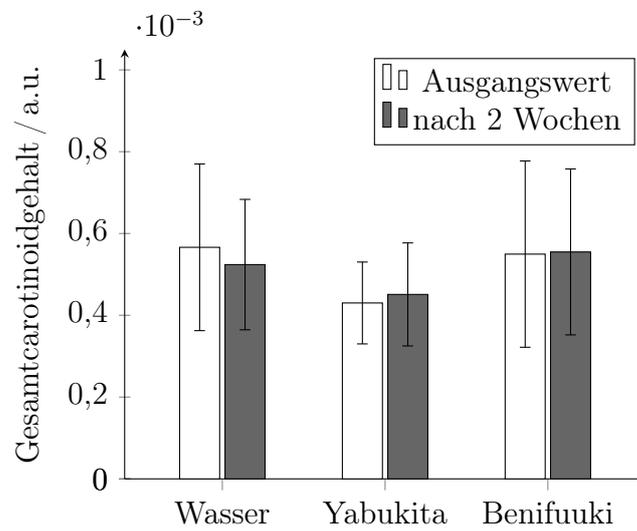
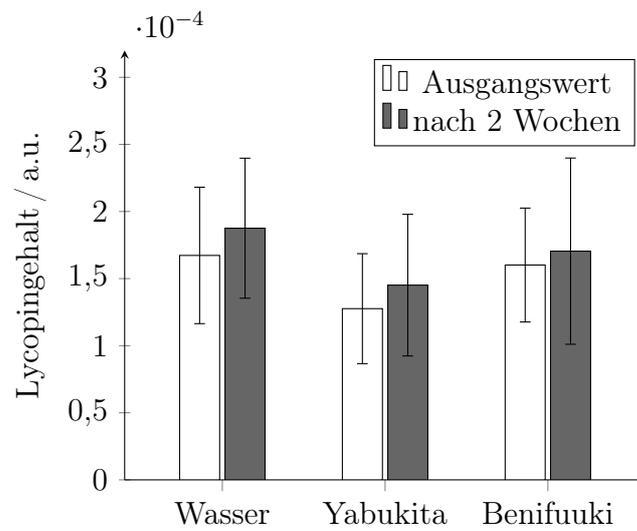


Abbildung 3.5: Korrelation zwischen Gesamtcarotinoid- und Lycopingehalt der Haut



(a)



(b)

Abbildung 3.6: Balkendiagramme der Mittelwerte (mit Standardabweichung) des Gesamtcarotinoidgehaltes (a) sowie des Lycopingehtes (b) der Haut, zu Beginn der Studie und nach 2 Wochen.

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Das Ziel der vorliegenden Pilotstudie bestand darin, den Einfluss von grünem Tee auf die Radikalfängeraktivität der menschlichen Haut zu untersuchen. Darüber hinaus sollte die Frage geklärt werden, ob Benifuuki-Tee, welcher ein Catechin mit einer besonders hohen Bioverfügbarkeit enthält [69], einen stärkeren Effekt auf die Radikalfängeraktivität der Haut hat als Yabukita-Tee.

Es konnte gezeigt werden, dass die orale Einnahme von grünem Tee der Sorten Yabukita und Benifuuki die Radikalfängeraktivität in der Haut im Vergleich zur Kontrollgruppe innerhalb von 2 Wochen signifikant erhöht. Allerdings konnte kein Unterschied zwischen der Yabukita- und der Benifuuki-Gruppe festgestellt werden. Es wurde auch kein signifikanter Effekt der Einnahme von Yabukita- oder Benifuuki-Tee auf den Gesamtcarotinoid- und Lycopingehalt der Haut festgestellt.

4.2 Proband*innencharakteristika

Die Untersuchung der Proband*innencharakteristika zeigte, dass die meisten Proband*innen jung (Durchschnittsalter 31 Jahre), normalgewichtig (78 %) sowie nicht rauchend (87 %) waren. Damit wich die untersuchte Population in einigen Kernpunkten von der Durchschnittsbevölkerung ab. So war der Anteil der Rauchenden mit 13 % weniger als halb so hoch wie in der Gesamtbevölkerung, wo er unter den 18- bis 79-jährigen fast 30 % beträgt [79]. Auch der Anteil der Proband*innen mit Übergewicht war mit 13 % sehr niedrig. Im Bevölkerungsdurchschnitt sind 67 % der Männer und 53 % der Frauen übergewichtig [80]. Dagegen ist der Anteil der

Vegetarier*innen mit 19% mehr als viermal so hoch wie in der Durchschnittsbevölkerung, wo er bei lediglich 4% liegt [81].

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die rekrutierten Proband*innen einem überdurchschnittlich gesunden Lebensstil nachgingen. Aufgrund des in der Bevölkerung verbreiteten Bildes von grünem Tee als gesundheitsförderndem Getränk ist es möglich, dass insbesondere diejenigen Personen zur Teilnahme an der Studie motiviert waren, die sich ohnehin schon gesundheitsbewusst ernährten. Dies muss bei der Übertragung der Ergebnisse auf die Durchschnittsbevölkerung bedacht werden.

4.3 Bestimmung der Radikalfängeraktivität der Haut

4.3.1 Vergleich der Kontrollgruppe mit der Benifuuki- und Yabukita-Gruppe

Sowohl unter der Einnahme von Yabukita- als auch von Benifuuki-Tee stieg die Radikalfängeraktivität in der Haut der Proband*innen innerhalb der Studiendauer von 2 Wochen um durchschnittlich fast 30%, was im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch signifikant war. In der Kontrollgruppe wurde ein Abfall der Radikalfängeraktivität um durchschnittlich 9% ermittelt. Anhand dieser Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass der Antioxidantiengehalt der Haut der Teegruppen-Proband*innen angestiegen ist, wodurch eine schnellere Neutralisation des Testradikals TEMPO erreicht werden konnte.

Die Effekte von grünem Tee auf die Radikalfängeraktivität der Haut waren vergleichbar mit denen von Vitamin C, Aronia-Extrakt und Carotinoiden, welche die Ratenkonstante in früheren Studien (Einnahmezeitraum: 2 bis 8 Wochen) um 22% bis 48% erhöhten [36–38]. Allerdings ist dies die erste Studie, die gezeigt hat, dass ein natürliches Produkt ohne zugesetzte Antioxidantien die Radikalfängeraktivität der Haut steigern kann.

Unklar bleibt allerdings, welche Substanzen für diesen Effekt verantwortlich sind. Aufgrund der Forschungsergebnisse zur Bioverfügbarkeit der GTP und deren Metabolite in der menschlichen Haut [54, 55] kann davon ausgegangen werden, dass sich bestimmte Polyphenole aus grünem Tee in der Haut anreichern und dort einen direkten antioxidativen Effekt ausüben.

Polovka *et al.* konnten mithilfe der ESR-Spektroskopie zeigen, dass grüner Tee *in vitro* als effektiver Radikalfänger für die Radikale 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) und 4-Hydroxy-TEMPO agiert [82].

Darüber hinaus sind Polyphenole aber auch für die Aktivierung von Transkriptionswegen endogener Antioxidantien bekannt [52]. So konnte gezeigt werden, dass Quercetin die endogene Glutathionsynthese steigert [83] und antioxidative Phase-II-Enzyme durch die Aktivierung Nrf2-abhängiger Genexpression induziert [84]. In einer klinischen Studie, welche die Effekte von grünem Tee auf den antioxidativen Status von Patienten mit einem metabolischen Syndrom untersucht hat, ging die Einnahme von grünem Tee mit einer Erhöhung des Glutathionspiegels im Blut einher, während die Spiegel anderer antioxidativer Enzyme wie Glutathionperoxidase und Katalase unverändert blieben [85]. Zu beachten ist an dieser Stelle auch, dass grüner Tee beträchtliche Mengen von Koffein enthalten kann. In einer kürzlich publizierten Studie konnten deutliche Effekte der Einnahme von reinem Koffein auf die antioxidativen Parameter im Blut nachgewiesen werden, insbesondere wurde eine Verdopplung der Glutathionplasmaspiegel beobachtet [86]. Unklar bleibt jedoch bislang, ob Koffein und seine Metabolite nach oraler Aufnahme in die Haut gelangen.

Die beschriebenen Effekte von Grünteebestandteilen auf die Glutathionsynthese sind vermutlich von hoher Relevanz für die Radikalfängeraktivität in der Haut, da Glutathion neben der Ascorbinsäure als einer der Haupt-Elektronendonatoren für die Reduktion von TEMPO in der menschlichen Haut agiert [74].

4.3.2 Vergleich der Benifuuki- mit der Yabukita-Gruppe

Trotz der guten Bioverfügbarkeit und der hohen antioxidativen Aktivität von EGCG^{Me} [87] blieben die Wirkungen von Benifuuki- und Yabukita-Tee auf die Radikalfängeraktivität ohne Unterschied. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die methylierten Catechine des Benifuuki-Tees keinen Zusatznutzen für die antioxidativen Effekte von grünem Tee in der menschlichen Haut haben. Bestimmte GTP können antioxidative Signalwege stärker aktivieren als andere [88], und bislang gibt es nur wenige Daten zu den pharmakologischen Effekten von EGCG^{Me}. Insbesondere liegt bislang keine Studie vor, die überprüft hat, ob sich EGCG^{Me} in der menschlichen Haut anreichert. Daher wären weitere Studien wünschenswert, um die Wirkung

von unterschiedlichen GTP und deren Metaboliten auf das antioxidative Netzwerk der Haut zu untersuchen.

4.3.3 Non-Responder

Während der mittlere Anstieg der Ratenkonstante in beiden Teegruppen ungefähr 30% betrug, konnten große interindividuelle Unterschiede beobachtet werden. Eine hohe Zahl an Proband*innen beider Gruppen zeigte nur einen geringfügigen oder keinen Anstieg der Ratenkonstante. Das Problem des Nicht-Ansprechens ist charakteristisch für GTP und wurde im Detail von Mereles *et al.* [62] diskutiert.

Legt man den maximalen Ratenkonstantenanstieg in der Kontrollgruppe zugrunde, welcher 18% betrug, und definiert diesen als Cut-Off für den Responderstatus, so kann man etwa die Hälfte der Proband*innen beider Teegruppen als Non-Responder klassifizieren.

Für diesen hohen Anteil an Non-Respondern gibt es in der Literatur unterschiedliche Erklärungsmodelle. Zum einen zeigen Studien durchgehend sehr große interindividuelle Unterschiede bei der Bioverfügbarkeit von GTP. Calani *et al.* [57] berichteten über eine durchschnittliche GTP-Bioverfügbarkeit von 62% bei Proband*innen, denen grüner Tee verabreicht wurde. Bei einem Fünftel dieser Proband*innen wurde eine 100-prozentige Bioverfügbarkeit festgestellt, während bei einem Viertel die Bioverfügbarkeit weniger als 30% betrug.

Zum anderen konnte in der vorliegenden Studie beobachtet werden, dass akute Infektionen mit einem Abfall der Ratenkonstante einhergehen können. Dies hängt möglicherweise mit einem krankheitsbedingtem Verbrauch von Antioxidantien in der Haut [89, 90] sowie im Blut [91, 92] zusammen, welcher in früheren Untersuchungen nachgewiesen werden konnte.

Schließlich muss auch an die Non-Compliance als mögliche Ursache für die niedrige Responder-Rate gedacht werden. Aufgrund der Tatsache, dass Biomarker des Teekonsums in der vorliegenden Studie nicht bestimmt wurden, kann nicht ausgeschlossen werden, dass einige Proband*innen den Tee nicht oder nur unregelmäßig eingenommen hatten.

4.4 Bestimmung des Carotinoidgehaltes der Haut

Der Gesamtcarotinoidgehalt in der Benifuuki-Gruppe blieb fast unverändert, während es in der Yabukita-Gruppe zu einem leichten, aber nicht signifikanten Anstieg kam. Ebenfalls nicht statistisch signifikant waren die Anstiege in der Lycopinkonzentration bei den Proband*innen beider Teegruppen.

Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen früherer Studien, welche den antioxidativen Status nach Konsum von grünem Tee untersucht haben. In einer achtwöchigen Studie, welche an Patient*innen mit metabolischem Syndrom durchgeführt wurde, stieg durch die Einnahme von grünem Tee zwar die antioxidative Kapazität des Plasmas an, allerdings blieben die Serumcarotinoide und -tocopherole unverändert [85]. In einer anderen Studie wurden bei einer Gruppe von Rauchenden keine Änderungen im β -Carotin- und Vitamin-C-Gehalt des Plasmas nach vierwöchiger Einnahme von GTP festgestellt [93]. Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass bei einer längeren Studiendauer signifikante Effekte der oralen Einnahme von grünem Tee auf den Carotinoidgehalt der Haut gezeigt hätten werden können.

Die Ergebnisse zur Korrelation des Gesamtcarotinoid- und Lycopingehaltes der Haut sowie zum höheren Carotinoidgehalt in der Haut der untersuchten Frauen sind im Einklang mit früheren Untersuchungen [94]. Eine Tendenz zu höheren Carotinoidwerten bei Frauen zeigte sich auch bei Messungen im Serum, was mit einer in der Regel höheren Carotinoidaufnahme aus der Nahrung erklärt werden kann [95].

4.5 Methodische Einschränkungen

Durch den Einsatz der ESR-Spektroskopie ergeben sich einige methodische Einschränkungen, denen Beachtung geschenkt werden sollte. So ist TEMPO zwar sehr gut für die Messung der Antioxidantien-Aktivität im Gewebe geeignet [96], da es leicht Elektronen akzeptiert und zu einem Hydroxylamin ohne eigenes ESR-Signal umgewandelt wird. Allerdings kann eine Abnahme der ESR-Signalintensität nicht nur die Neutralisation durch Antioxidantien, sondern auch die Zersetzung von TEMPO infolge von Radikaleinwirkung als Ursache haben. Hier spielen insbesondere Hydroxylradikale, kohlenstoffzentrierte Radikale und Peroxylradikale eine Rolle [74].

Außerdem haben GTP nicht nur anti-, sondern auch pro-oxidative Effekte und können sogar oxidativen Stress verursachen. Bislang ist noch nicht eindeutig geklärt, welchen Stellenwert diese pro-oxidativen Effekte haben. Ein Erklärungsmodell postuliert, dass der durch grünen Tee ausgelöste leichtgradige oxidative Stress für die Aktivierung von Signalwegen, welche die Spiegel endogener Antioxidantien erhöhen, verantwortlich ist und somit eine gesundheitsfördernde Wirkung hat [97].

Aufgrund dieser komplexen und zum Teil widersprüchlichen Modelle ist eine Beurteilung der ESR-Messergebnisse nicht immer einfach und sollte mit Vorsicht vorgenommen werden.

Weitere Limitationen dieser Pilotstudie schließen zum einen die fehlende Verblindung der Kontrollgruppe gegenüber den Teegruppen ein, zum anderen ergeben sich durch den Pilotcharakter eine vergleichsweise geringe Proband*innenanzahl und kurze Studiendauer. Aus vorhergehenden ESR-Spektroskopie-Studien ist bekannt, dass hydrophile Substanzen wie Ascorbinsäure das antioxidative Potential der Haut schon nach einer Einnahmedauer von zwei Wochen steigern können [37]. Hingegen benötigen Carotinoide als hydrophobe Moleküle bis zu acht Wochen, um ihre vollen Effekte zu entfalten [38]. GTP sind grundsätzlich amphiphil, wobei einige, wie Quercetin und Epicatechin, eher als lipophil betrachtet werden [98]. Insofern wäre es vorteilhaft, in Zukunft Studien mit einer längeren Dauer durchzuführen, um die Kinetik der Effekte von grünem Tee auf die Radikalfängeraktivität in der Haut besser und längerfristig zu erfassen.

4.6 Ausblick

Die vorliegende Studie zeigt, dass die orale Einnahme von grünem Tee den antioxidativen Status der Haut verbessern kann. Bislang war der Einsatz von grünem Tee in der Dermatologie hingegen hauptsächlich auf die topische Applikation beschränkt.

Veregen[®], ein Trockenextrakt aus Grüntee-Blättern, welches sich als wirksam bei der Therapie von *Condylomata acuminata* (Feigwarzen) erwies, war das erste von der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) zugelassene pflanzliche Arzneimittel [99]. Andere Einsatzgebiete von topischen Grüntee-Extrakt-Formulierungen liegen in der Therapie von Rosacea, Acne vulgaris und atopischer Dermatitis [99].

Aufgrund der zunehmenden Anzahl an Forschungsergebnissen, die darauf hindeuten, dass auch oral eingenommener grüner Tee über antioxidative Wirkungsweisen in der Haut verfügt, sollten weitere Untersuchungen zu den Effekten von grünem Tee bei der Prävention und Behandlung von Hautkrankheiten (insbesondere derer, die mit oxidativem Stress assoziiert sind) erfolgen.

4.7 Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit trägt zum Verständnis der Wirkung von grünem Tee auf das antioxidative Potential der Haut bei. Es konnte gezeigt werden, dass das tägliche Trinken von drei Tassen frisch gebrühten grünen Tees der Sorten Yabukita bzw. Benifuuki die Radikalfängeraktivität in der menschlichen Haut erhöht. Es wurde hierbei kein Unterschied zwischen den Wirkungen von Yabukita- und Benifuuki-Tee festgestellt.

Diese Ergebnisse sollten in größeren Studien bestätigt und die mögliche Wirksamkeit von grünem Tee bei der Behandlung oder der Prävention von Hauterkrankungen, die mit oxidativem Stress assoziiert sind, sollte geprüft werden.

Literatur

1. Bickers, D. R. & Athar, M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J Invest Dermatol* **126**, 2565–2575 (2006).
2. Fantone, J. C. & Ward, P. A. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* **107**, 395–418 (1982).
3. Lohan, S. B., Müller, R., Albrecht, S., Mink, K., Tschersch, K., Ismaeel, F., Lademann, J., Rohn, S. & Meinke, M. C. Free radicals induced by sunlight in different spectral regions - in vivo versus ex vivo study. *Exp Dermatol* **25**, 380–385 (2016).
4. Kim, K. E., Cho, D. & Park, H. J. Air pollution and skin diseases: Adverse effects of airborne particulate matter on various skin diseases. *Life Sci* **152**, 126–134 (2016).
5. Valavanidis, A., Vlachogianni, T. & Fiotakis, K. Tobacco smoke: involvement of reactive oxygen species and stable free radicals in mechanisms of oxidative damage, carcinogenesis and synergistic effects with other respirable particles. *Int J Environ Res Public Health* **6**, 445–462 (2009).
6. Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J. & Telser, J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* **266**, 37–56 (Nov. 2004).
7. Remacle, J., Raes, M., Toussaint, O., Renard, P. & Rao, G. Low levels of reactive oxygen species as modulators of cell function. *Mutat Res* **316**, 103–122 (1995).
8. Kruk, J. & Aboul-Enein, H. Y. Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Carcinogenesis: Implications of Oxidative Stress on the Progression and Development of Several Cancer Types. *Mini Rev Med Chem* **17**, 904–919 (2017).

9. Sander, C. S., Chang, H., Hamm, F., Elsner, P. & Thiele, J. J. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol* **43**, 326–335 (2004).
10. Lomas, A., Leonardi-Bee, J. & Bath-Hextall, F. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *British Journal of Dermatology* **166**, 1069–1080.
11. Leiter, U., Eigentler, T. & Garbe, C. Epidemiology of skin cancer. *Adv Exp Med Biol* **810**, 120–140 (2014).
12. Sander, C., Hamm, F., Elsner, P. & Thiele, J. Oxidative stress in malignant melanoma and non-melanoma skin cancer. *British Journal of Dermatology* **148**, 913–922.
13. Sander, C. S., Chang, H., Salzman, S., Müller, C. S., Ekanayake-Mudiyanselage, S., Elsner, P. & Thiele, J. J. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo. *J Invest Dermatol* **118**, 618–625 (2002).
14. Miyachi, Y. Photoaging from an oxidative standpoint. *J Dermatol Sci* **9**, 79–86 (1995).
15. Ji, H. & Li, X. K. Oxidative Stress in Atopic Dermatitis. *Oxid Med Cell Longev* **2016**, 2721469 (2016).
16. Trouba, K. J., Hamadeh, H. K., Amin, R. P. & Germolec, D. R. Oxidative Stress and Its Role in Skin Disease. *Antioxidants & Redox Signaling* **4**, 665–673 (2002).
17. Lin, X. & Huang, T. Oxidative stress in psoriasis and potential therapeutic use of antioxidants. *Free Radic Res* **50**, 585–595 (2016).
18. Vona, R., Giovannetti, A., Gambardella, L., Malorni, W., Pietraforte, D. & Straface, E. Oxidative stress in the pathogenesis of systemic scleroderma: An overview. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* **22**, 3308–3314.
19. Rice-Evans, C. & Burdon, R. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res* **32**, 71–110 (1993).
20. Zastrow, L., Doucet, O., Ferrero, L., Groth, N., Klein, F., Kockott, D. & Lademann, J. Free Radical Threshold Value: A New Universal Body Constant. *Skin Pharmacol Physiol* **28**, 264–268 (2015).
21. Phaniendra, A., Jestadi, D. B. & Periyasamy, L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem* **30**, 11–26 (2015).

22. Brand, R. M., Wipf, P., Durham, A., Epperly, M. W., Greenberger, J. S. & Faló, L. D. Targeting Mitochondrial Oxidative Stress to Mitigate UV-Induced Skin Damage. *Frontiers in Pharmacology* **9**, 920 (2018).
23. Lademann, J., Meinke, M. C., Sterry, W. & Darvin, M. E. Carotenoids in human skin. *Exp Dermatol* **20**, 377–382 (2011).
24. Godic, A., Poljšak, B., Adamic, M. & Dahmane, R. The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. *Oxid Med Cell Longev* **2014**, 860479 (2014).
25. Schallreuter, K. U. & Wood, J. M. Thioredoxin reductase — its role in epidermal redox status. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **64**. ESP Conference on Photoprotection, 179–184 (2001).
26. Shindo, Y., Witt, E., Han, D., Epstein, W. & Packer, L. Enzymic and Non-Enzymic Antioxidants in Epidermis and Dermis of Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology* **102**, 122–124 (1994).
27. Darvin, M. E., Fluhr, J. W., Caspers, P., Van Der Pool, A., Richter, H., Patzelt, A., Sterry, W. & Lademann, J. In vivo distribution of carotenoids in different anatomical locations of human skin: comparative assessment with two different Raman spectroscopy methods. *Experimental Dermatology* **18**, 1060–1063.
28. Steiling, H., Longet, K., Moodycliffe, A., Mansourian, R., Bertschy, E., Smola, H., Mauch, C. & Williamson, G. Sodium-dependent vitamin C transporter isoforms in skin: Distribution, kinetics, and effect of UVB-induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med* **43**, 752–762 (2007).
29. Prior, R. L., Wu, X. & Schaich, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* **53**, 4290–4302 (2005).
30. Huang, D., Ou, B. & Prior, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 1841–1856 (2005).
31. Ou, B., Hampsch-Woodill, M. & Prior, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* **49**, 4619–4626 (2001).

32. Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V. & Milner, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. *Clinical Science* **84**, 407–412 (1993).
33. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* **26**, 1231–1237 (1999).
34. Herrling, J., Zastrow, L. & Groth, N. Classification of cosmetic products – The Radical Protection Factor (RPF). *SÖFW-J* **124**, 282–284 (1998).
35. Haag, S. F., Taskoparan, B., Darvin, M. E., Groth, N., Lademann, J., Sterry, W. & Meinke, M. C. Determination of the antioxidative capacity of the skin in vivo using resonance Raman and electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Exp Dermatol* **20**, 483–487 (2011).
36. Meinke, M. C., Lauer, A. C., Haag, S. F., Darvin, M. E., Groth, N. & Lademann, J. Cutaneous radical scavenging effects of orally administered antioxidants measured by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *e-SPEN Journal* **7**, e160–e166 (2012).
37. Lauer, A. C., Groth, N., Haag, S. F., Darvin, M. E., Lademann, J. & Meinke, M. C. Dose-dependent vitamin C uptake and radical scavenging activity in human skin measured with in vivo electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Skin Pharmacol Physiol* **26**, 147–154 (2013).
38. Meinke, M. C., Friedrich, A., Tschersch, K., Haag, S. F., Darvin, M. E., Vollert, H., Groth, N., Lademann, J. & Rohn, S. Influence of dietary carotenoids on radical scavenging capacity of the skin and skin lipids. *Eur J Pharm Biopharm* **84**, 365–373 (2013).
39. Feng, W. Y. Metabolism of green tea catechins: an overview. *Curr Drug Metab* **7**, 755–809 (2006).
40. Riemersma, R. A., Rice-Evans, C. A., Tyrrell, R. M., Clifford, M. N. & Lean, M. E. Tea flavonoids and cardiovascular health. *QJM* **94**, 277–282 (2001).
41. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M. & Pridham, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res* **22**, 375–383 (1995).

42. Roy, M. K., Koide, M., Rao, T. P., Okubo, T., Ogasawara, Y. & Juneja, L. R. ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: relationship between total polyphenol and individual catechin content. *Int J Food Sci Nutr* **61**, 109–124 (2010).
43. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. & Paganga, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* **20**, 933–956 (1996).
44. Saric, S., Notay, M. & Sivamani, R. K. Green Tea and Other Tea Polyphenols: Effects on Sebum Production and Acne Vulgaris. *Antioxidants* **6** (2017).
45. Unno, T., Tamemoto, K., Yayabe, F. & Kakuda, T. Urinary excretion of 5-(3',4'-dihydroxyphenyl)-gamma-valerolactone, a ring-fission metabolite of (-)-epicatechin, in rats and its in vitro antioxidant activity. *J Agric Food Chem* **51**, 6893–6898 (2003).
46. Katiyar, S. K., Ahmad, N. & Mukhtar, H. Green tea and skin. *Arch Dermatol* **136**, 989–994 (2000).
47. Elmetts, C. A., Singh, D., Tubesing, K., Matsui, M., Katiyar, S. & Mukhtar, H. Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. *J Am Acad Dermatol* **44**, 425–432 (2001).
48. Katiyar, S. K., Afaq, F., Perez, A. & Mukhtar, H. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. *Carcinogenesis* **22**, 287–294 (2001).
49. Ahmad, N., Feyes, D. K., Nieminen, A. L., Agarwal, R. & Mukhtar, H. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* **89**, 1881–1886 (1997).
50. Nihal, M., Ahmad, N., Mukhtar, H. & Wood, G. S. Anti-proliferative and proapoptotic effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on human melanoma: possible implications for the chemoprevention of melanoma. *Int J Cancer* **114**, 513–521 (2005).
51. Roh, E., Kim, J. E., Kwon, J. Y., Park, J. S., Bode, A. M., Dong, Z. & Lee, K. W. Molecular mechanisms of green tea polyphenols with protective effects against skin photoaging. *Crit Rev Food Sci Nutr* **57**, 1631–1637 (2017).

52. Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C. & Giovannini, C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem* **16**, 577–586 (2005).
53. Tatti, S., Stockfleth, E., Beutner, K. R., Tawfik, H., Elsasser, U., Weyrauch, P. & Mescheder, A. Polyphenon E: a new treatment for external anogenital warts. *Br J Dermatol* **162**, 176–184 (2010).
54. Rhodes, L. E., Darby, G., Massey, K. A., Clarke, K. A., Dew, T. P., Farrar, M. D., Bennett, S., Watson, R. E., Williamson, G. & Nicolaou, A. Oral green tea catechin metabolites are incorporated into human skin and protect against UV radiation-induced cutaneous inflammation in association with reduced production of pro-inflammatory eicosanoid 12-hydroxyeicosatetraenoic acid. *Br J Nutr* **110**, 891–900 (2013).
55. Clarke, K. A., Dew, T. P., Watson, R. E., Farrar, M. D., Osman, J. E., Nicolaou, A., Rhodes, L. E. & Williamson, G. Green tea catechins and their metabolites in human skin before and after exposure to ultraviolet radiation. *J Nutr Biochem* **27**, 203–210 (2016).
56. Meng, X., Sang, S., Zhu, N., Lu, H., Sheng, S., Lee, M. J., Ho, C. T. & Yang, C. S. Identification and characterization of methylated and ring-fission metabolites of tea catechins formed in humans, mice, and rats. *Chem Res Toxicol* **15**, 1042–1050 (2002).
57. Calani, L., Del Rio, D., Luisa Callegari, M., Morelli, L. & Brighenti, F. Updated bioavailability and 48 h excretion profile of flavan-3-ols from green tea in humans. *Int J Food Sci Nutr* **63**, 513–521 (2012).
58. 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* **26**, 1110–1116 (2010).
59. Lee, M. J., Maliakal, P., Chen, L., Meng, X., Bondoc, F. Y., Prabhu, S., Lambert, G., Mohr, S. & Yang, C. S. 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* **11**, 1025–1032 (2002).
60. Maiani, G., Serafini, M., Salucci, M., Azzini, E. & Ferro-Luzzi, A. Application of a new high-performance liquid chromatographic method for measuring selected polyphenols in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* **692**, 311–317 (1997).

61. Wu, A. H., Tseng, C. C., Van Den Berg, D. & Yu, M. C. Tea intake, COMT genotype, and breast cancer in Asian-American women. *Cancer Res* **63**, 7526–7529 (2003).
62. Mereles, D. & Hunstein, W. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) for clinical trials: more pitfalls than promises? *Int J Mol Sci* **12**, 5592–5603 (2011).
63. Naumovski, N., Blades, B. L. & Roach, P. D. Food Inhibits the Oral Bioavailability of the Major Green Tea Antioxidant Epigallocatechin Gallate in Humans. *Antioxidants (Basel)* **4**, 373–393 (2015).
64. Clement, Y. Can green tea do that? A literature review of the clinical evidence. *Prev Med* **49**, 83–87 (2009).
65. Chow, H. H., Cai, Y., Hakim, I. A., Crowell, J. A., Shahi, F., Brooks, C. A., Dorr, R. T., Hara, Y. & Alberts, D. S. Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E in healthy individuals. *Clin Cancer Res* **9**, 3312–3319 (2003).
66. Heinrich, U., Moore, C. E., De Spirt, S., Tronnier, H. & Stahl, W. Green tea polyphenols provide photoprotection, increase microcirculation, and modulate skin properties of women. *J Nutr* **141**, 1202–1208 (2011).
67. Farrar, M. D., Nicolaou, A., Clarke, K. A., Mason, S., Massey, K. A., Dew, T. P., Watson, R. E., Williamson, G. & Rhodes, L. E. A randomized controlled trial of green tea catechins in protection against ultraviolet radiation-induced cutaneous inflammation. *Am J Clin Nutr* **102**, 608–615 (2015).
68. Farrar, M. D., Huq, R., Mason, S., Nicolaou, A., Clarke, K. A., Dew, T. P., Williamson, G., Watson, R. E. B. & Rhodes, L. E. Oral green tea catechins do not provide photoprotection from direct DNA damage induced by higher dose solar simulated radiation: A randomized controlled trial. *J Am Acad Dermatol* **78**, 414–416 (2018).
69. Maeda-Yamamoto, M., Ema, K. & Shibuichi, I. In vitro and in vivo anti-allergic effects of 'benifuuki' green tea containing O-methylated catechin and ginger extract enhancement. *Cytotechnology* **55**, 135–142 (2007).
70. Masuda, S., Maeda-Yamamoto, M., Usui, S. & Fujisawa, T. 'Benifuuki' green tea containing O-methylated catechin reduces symptoms of Japanese cedar pollinosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Allergol Int* **63**, 211–217 (2014).

71. Megow, I., Darvin, M. E., Meinke, M. C. & Lademann, J. A Randomized Controlled Trial of Green Tea Beverages on the in vivo Radical Scavenging Activity in Human Skin. *Skin Pharmacol Physiol* **30**, 225–233 (2017).
72. Megow, I., Darvin, M. E., Meinke, M. C. & Lademann, J. The effects of green tea beverages on the radical scavenging activity in human skin in vivo [Abstract]. In VegMed: "VegMed - Scientific Congress for Plant-based Nutrition and Medicine", April, 20-22, 2018, Berlin: Abstracts. *Complement Med Res* **25 Suppl 1**, 1–20 (2018).
73. Plonka, P. M. Electron paramagnetic resonance as a unique tool for skin and hair research. *Exp Dermatol* **18**, 472–484 (2009).
74. Fuchs, J., Groth, N., Herrling, T. & Zimmer, G. Electron paramagnetic resonance studies on nitroxide radical 2,2,5,5-tetramethyl-4-piperidin-1-oxyl (TEMPO) redox reactions in human skin. *Free Radic Biol Med* **22**, 967–976 (1997).
75. Fuchs, J., Groth, N. & Herrling, T. In vivo measurement of oxidative stress status in human skin. *Methods Enzymol* **352**, 333–339 (2002).
76. Darvin, M., Gersonde, I., Meinke, M., Sterry, W. & Lademann, J. Non-invasive in vivo determination of the carotenoids beta-carotene and lycopene concentrations in the human skin using the Raman spectroscopic method. *Journal of Physics D: Applied Physics* **38**, 2696–2700 (2005).
77. Darvin, M. E., Gersonde, I., Albrecht, H., Meinke, M., Sterry, W. & Lademann, J. Non-invasive in vivo detection of the carotenoid antioxidant substance lycopene in the human skin using the resonance Raman spectroscopy. *Laser Physics Letters* **3**, 460–463 (2006).
78. Friedrich, A. *Einfluss oral eingenommener Carotinoide auf den antioxidativen Status der Haut, die Radikalschutzfunktion der Haut und auf das Lipidprofil der Haut*. Dissertation (Charité — Universitätsmedizin Berlin, 2005).
79. Lampert, T., Lippe, E. v. d. & Müters, S. Verbreitung des Rauchens in der Erwachsenenbevölkerung in Deutschland. *Bundesgesundheitsbl* **56**, 802–808 (2013).
80. Mensink, G., Schienkiewitz, A., Handaftenberger, M., Lampert, T., Ziese, T. & Scheidt-Nave, C. Übergewicht und Adipositas in Deutschland. *Bundesgesundheitsbl* **56**, 786–794 (2013).

81. Mensink, G., Barbosa, C. L. & Brettschneider, A.-K. Verbreitung der vegetarischen Ernährungsweise in Deutschland. *Journal of Health Monitoring* **1**, 786–794 (2016).
82. Polovka, M., Brezová, V. & Stasko, A. Antioxidant properties of tea investigated by EPR spectroscopy. *Biophys Chem* **106**, 39–56 (2003).
83. Moskaug, J., Carlsen, H., Myhrstad, M. C. & Blomhoff, R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nutr* **81**, 277S–283S (2005).
84. Kashyap, D., Mittal, S., Sak, K., Singhal, P. & Tuli, H. S. Molecular mechanisms of action of quercetin in cancer: recent advances. *Tumour Biol* (2016).
85. Basu, A., Betts, N. M., Mulugeta, A., Tong, C., Newman, E. & Lyons, T. J. Green tea supplementation increases glutathione and plasma antioxidant capacity in adults with the metabolic syndrome. *Nutr Res* **33**, 180–187 (2013).
86. Metro, D., Cernaro, V., Santoro, D., Papa, M., Buemi, M., Benvenga, S. & Manasseri, L. Beneficial effects of oral pure caffeine on oxidative stress. *J Clin Transl Endocrinol* **10**, 22–27 (2017).
87. Zhang, X., Wu, Z. & Weng, P. Antioxidant and hepatoprotective effect of (-)-epigallocatechin 3-O-(3-O-methyl) gallate (EGCG3''Me) from Chinese oolong tea. *J Agric Food Chem* **62**, 10046–10054 (2014).
88. Chen, C., Yu, R., Owuor, E. D. & Kong, A. N. Activation of antioxidant-response element (ARE), mitogen-activated protein kinases (MAPKs) and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death. *Arch Pharm Res* **23**, 605–612 (2000).
89. Darvin, M. E., Patzelt, A., Knorr, F., Blume-Peytavi, U., Sterry, W. & Lademann, J. One-year study on the variation of carotenoid antioxidant substances in living human skin: influence of dietary supplementation and stress factors. *J Biomed Opt* **13**, 1–9 (2008).
90. Lademann, J., Köcher, W., Yu, R., Meinke, M. C., Na Lee, B., Jung, S., Sterry, W. & Darvin, M. E. Cutaneous carotenoids: the mirror of lifestyle? *Skin Pharmacol Physiol* **27**, 201 (2014).

91. Cemek, M., Caksen, H., Bayiroğlu, F., Cemek, F. & Dede, S. Oxidative stress and enzymic-non-enzymic antioxidant responses in children with acute pneumonia. *Cell Biochem Funct* **24**, 269–273 (2006).
92. Cemek, M., Dede, S., Bayiroğlu, F., Caksen, H., Cemek, F. & Yuca, K. Oxidant and antioxidant levels in children with acute otitis media and tonsillitis: a comparative study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* **69**, 823–827 (2005).
93. Princen, H. M., van Duyvenvoorde, W., Buytenhek, R., Blonk, C., Tijburg, L. B., Langius, J. A., Meinders, A. E. & Pijl, H. No effect of consumption of green and black tea on plasma lipid and antioxidant levels and on LDL oxidation in smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **18**, 833–841 (1998).
94. Meinke, M. C., Lauer, A., Taskoparan, B., Gersonde, I., Lademann, J. & Darvin, M. E. Influence on the carotenoid levels of skin arising from age, gender, body mass index in smoking/non-smoking individuals. *Free Radicals and Antioxidants* **1**, 15–20 (2011).
95. Brady, W. E., Mares-Perlman, J. A., Bowen, P. & Stacewicz-Sapuntzakis, M. Human serum carotenoid concentrations are related to physiologic and lifestyle factors. *J Nutr* **126**, 129–137 (1996).
96. Fuchs, J., Herrling, T. & Groth, N. Detection of free radicals in skin: a review of the literature and new developments. *Curr Probl Dermatol* **29**, 1–17 (2001).
97. Lambert, J. D. & Elias, R. J. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention. *Arch Biochem Biophys* **501**, 65–72 (2010).
98. Alonso, C., Rubio, L., Touriño, S., Martí, M., Barba, C., Fernández-Campos, F., Coderch, L. & Parra, J. L. Antioxidative effects and percutaneous absorption of five polyphenols. *Free Radic Biol Med* **75**, 149–155 (2014).
99. Zink, A. & Traidl-Hoffmann, C. Green tea in dermatology — myths and facts. *J Dtsch Dermatol Ges* **13**, 768–775 (2015).

Anhang

Fragebogen zur Ernährung und Lebensgewohnheiten

Bitte beantworten Sie den folgenden Fragebogen wahrheitsgemäß. Die Auswertung der Daten erfolgt ausschließlich im Rahmen der Studie. Keine der von Ihnen gemachten Angaben wird in Bezug zu Ihrem Namen veröffentlicht. Wenn Sie meinen, zu einer Frage gibt es keine passende Antwortmöglichkeit, nehmen Sie die Antwort, die am ehesten zutrifft.

1. Welche Probandennummer haben Sie?
(bitte hier eintragen:) _____.
Visite _____

2. Wann sind Sie geboren? Geben Sie bitte Monat und Jahr an.
Monat: _____ / Jahr: _____

3. Sie sind
 männlich weiblich ?

4. Verwenden Sie regelmäßig Hautpflegeprodukte an den Unterarmen (z.B. Bodylotion)?
 ja nein

Enthält dieses Produkt Antioxidantien?
 ja nein vielleicht

Nennen Sie den Namen des Produktes, das Sie für die Unterarme am häufigsten verwenden:
(bitte Produktnamen eintragen:) _____.

5. Angaben zum Hauttyp
(bei allen Angaben zum Hauttyp (Punkt 5) sind nur Einmalnennungen möglich!
Kreuzen Sie bitte an:)

Augenfarbe:	<input type="checkbox"/> braun	<input type="checkbox"/> grau	<input type="checkbox"/> blau	<input type="checkbox"/> grün
Haarfarbe (=natürliche Haarfarbe):	<input type="checkbox"/> braun	<input type="checkbox"/> schwarz	<input type="checkbox"/> blond	
Haben Sie Sommersprossen?	<input type="checkbox"/> ja		<input type="checkbox"/> nein	
Wenn ja, bekommen Sie im Sommer deutlich mehr Sommersprossen?	<input type="checkbox"/> ja		<input type="checkbox"/> nein	

Wie oft haben Sie Sonnenbrände pro Jahr?	<input type="checkbox"/> > 2 Mal pro Jahr	<input type="checkbox"/> ≤ 2 Mal pro Jahr
Treten bei Ihnen Sonnenbrände auf, obwohl Sie starke Sonneneinstrahlung meiden?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Werden Sie bei Sonnenstrahlung regelmäßig braun ohne vorher rot zu werden?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein

6. Angaben zur Sonnenexposition: Bitte schätzen Sie Ihre Sonnenexposition in den Sommermonaten des Jahres ein.

SoS= Sonnenschutz

Scha= Aufenthalt im Schatten

<input type="checkbox"/> immer SoS und/oder Scha (ich meide die Sonne)	<input type="checkbox"/> nur gelegentlich SoS und/oder nur gelegentlich Scha (Ich gehe lieber in die Sonne als in den Schatten und nehme Sonnenmilch, wenn es heiß ist)	<input type="checkbox"/> selten SoS und/oder wenig Scha (ich bade gern mal in der Sonne- auch wenn es richtig warm ist und habe öfter keinen Sonnenschutz parat)
---	--	---

7. Angaben zur körperlichen Bewegung

Treiben sie Sport? (=mind. 30 Minuten körperlich anstrengende Bewegung am Stück ohne längere Pausen)

<input type="checkbox"/> nie
<input type="checkbox"/> <1x/Monat
<input type="checkbox"/> 1-2x/Monat
<input type="checkbox"/> ≥ 1x/Woche
<input type="checkbox"/> > 2x/Woche

8. Schätzen Sie bitte ein, wie viele Gehminuten pro Tag Sie insgesamt zu Fuß zurücklegen!

<input type="checkbox"/> <10 Minuten/ Tag
<input type="checkbox"/> 10 -20 Minuten/ Tag
<input type="checkbox"/> 20 -40 Minuten pro Tag
<input type="checkbox"/> >40 Minuten/ Tag

9. Stimmung

Wo befanden Sie sich im Schnitt während der letzten zwei Wochen auf einer Skala von 1 bis 10, wenn 1 bedeutet "ich fühle mich nicht wohl" und 10 "ich fühle mich sehr wohl"?

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

10. Stress

Hatten Sie während der letzten zwei Wochen einen geregelten Tagesablauf?

ja nein

10.2 Hatten Sie den letzten zwei Wochen eher viel oder eher wenig Stress?

eher wenig eher viel

10.3 Schätzen Sie bitte Ihr Stresslevel in den letzten zwei Wochen noch etwas genauer ein!

<input type="checkbox"/> kaum Stress
<input type="checkbox"/> relativ wenig Stress
<input type="checkbox"/> mittelmäßiger Stress
<input type="checkbox"/> viel Stress
<input type="checkbox"/> sehr viel Stress

10.4 Schätzen Sie bitte Ihren beruflichen Stress in den letzten zwei Wochen ein!
Dazu zählt auch Stress durch Ihre Ausbildung/ Ihr Studium!

Wieviel beruflichen Stress hatten Sie in den letzten zwei Wochen?

<input type="checkbox"/> kaum
<input type="checkbox"/> relativ wenig
<input type="checkbox"/> mittelmäßig
<input type="checkbox"/> viel
<input type="checkbox"/> sehr viel

10.5 Schätzen Sie bitte Ihren privaten Stress in den letzten zwei Wochen ein!

Wieviel privaten Stress hatten Sie in den letzten zwei Wochen?

<input type="checkbox"/> kaum
<input type="checkbox"/> relativ wenig
<input type="checkbox"/> mittelmäßig
<input type="checkbox"/> viel
<input type="checkbox"/> sehr viel

11. Fragen zur Gesundheit

11.1 Waren Sie in den letzten zwei Wochen erkältet?

ja nein

Schätzen Sie bitte die Schwere Ihrer Erkältung auf einer Skala von 1-6 ein:
(Wenn mehr als eine Erkältung vorkam, dann die schwerere Erkältung beschreiben)

1= leichte Erkältung

6=schwere Erkältung

1

2

3

4

5

6

Geben Sie die Dauer der Erkältung in Tagen an!

Das Ende Ihrer Erkältung ist der Zeitpunkt der deutlichsten Beschwerdebesserung.
Also der Zeitpunkt, zu dem Sie sich wieder annähernd so leistungsfähig wie vor der Erkältung fühlten.

1Tag Dauer 2 Tage 3 Tage 4 Tage 5Tage 6Tage 7Tage 8Tage >8Tage

Waren Sie in den letzten zwei Wochen so stark erkältet, dass Sie nicht zur Arbeit/ zur Uni/ zur Ausbildung gehen konnten?

ja nein

Hatten Sie während der letzten zwei Wochen Fieber?

ja nein

Geben Sie die Dauer Ihrer Beschwerden in Tagen an!

Das Ende Ihres Infektes ist der Zeitpunkt der deutlichsten Beschwerdeverbesserung.
Also der Zeitpunkt zu dem Sie sich wieder annähernd so gesund wie vor Ihren
Beschwerden fühlten.

1Tag Dauer 2 Tage 3 Tage 4 Tage 5Tage 6Tage 7Tage 8Tage >8Tage

11.2 Gesundheit im Allgemeinen:

Wie häufig haben Sie Infekte pro Jahr? (z.B. Erkältungen oder Durchfallerkrankungen bei denen man sich krank fühlt)	<input type="checkbox"/> ≤ 2 / Jahr	<input type="checkbox"/> 2-4/ Jahr	<input type="checkbox"/> > 4/ Jahr
--	-------------------------------------	------------------------------------	------------------------------------

Nehmen Sie derzeit Medikamente oder Nahrungsergänzungsmittel ein?

ja nein

Wenn ja, welches Präparat nehmen Sie ein? _____

Aus welchem Grund nehmen Sie dieses Präparat ein? _____

Seit wann nehmen Sie dieses Präparat ein? _____

12. Ernährungsgewohnheiten

Essen Sie eher viel oder eher wenig Gemüse?

eher wenig eher viel

Essen Sie eher viel oder eher wenig Obst und Gemüse?

eher wenig eher viel

Essen Sie eher viel oder eher wenig Obst?

eher wenig eher viel

Ernähren Sie sich vegetarisch oder vegan?

vegetarisch vegan weder noch

Obst:

Diese Obstsorte esse ich...:	selten oder nie	≥1 Mal pro Monat	≥1Mal/ Woche	≥ 4 Mal pro Woche	weiß nicht
Apfel	<input type="checkbox"/>				
Orange	<input type="checkbox"/>				
Banane	<input type="checkbox"/>				
Kiwi	<input type="checkbox"/>				
Mango	<input type="checkbox"/>				
Wassermelone	<input type="checkbox"/>				
Erdbeeren	<input type="checkbox"/>				
Kirschen	<input type="checkbox"/>				
Feigen	<input type="checkbox"/>				
rote Trauben	<input type="checkbox"/>				
grüne Trauben	<input type="checkbox"/>				
Kaki/ Sharon	<input type="checkbox"/>				
Ananas	<input type="checkbox"/>				
Andere: _____ _____	<input type="checkbox"/>				

Gemüse:

Diese Gemüsesorte esse ich...:	selten oder nie	>1 Mal pro Monat	>1Mal/ Woche	≥ 4 Mal pro Woche	weiß nicht
Tomate	<input type="checkbox"/>				
Tomatensojßen, Ketchup	<input type="checkbox"/>				
Paprika	<input type="checkbox"/>				
Brokkoli	<input type="checkbox"/>				
Kartoffeln	<input type="checkbox"/>				
Spinat	<input type="checkbox"/>				
Blattsalat	<input type="checkbox"/>				
Karotten	<input type="checkbox"/>				
Grünkohl	<input type="checkbox"/>				
Zucchini	<input type="checkbox"/>				
Gurke	<input type="checkbox"/>				
Blumenkohl	<input type="checkbox"/>				
Kürbis	<input type="checkbox"/>				
Andere: _____ _____	<input type="checkbox"/>				

Getränke

Dieses Getränk trinke ich...:	selten oder nie	>1 Mal pro Monat	>1Mal/ Woche	≥ 4 Mal pro Woche	weiß nicht
Grüner Tee	<input type="checkbox"/>				
Weißer Tee	<input type="checkbox"/>				
Schwarzer Tee	<input type="checkbox"/>				
Kräutertee	<input type="checkbox"/>				

Andere Teesorten	<input type="checkbox"/>				
Orangensaft	<input type="checkbox"/>				
Apfelsaft	<input type="checkbox"/>				
Multivitaminsaft	<input type="checkbox"/>				
Andere Obstsäfte	<input type="checkbox"/>				
Tomatensaft	<input type="checkbox"/>				
Andere Gemüsesäfte	<input type="checkbox"/>				
Wein	<input type="checkbox"/>				
Andere: _____	<input type="checkbox"/>				

Fisch/Fleisch/Ei:

	selten oder nie	>1 Mal pro Monat	>1Mal/ Woche	≥ 4 Mal pro Woche	weiß nicht
Fisch esse ich	<input type="checkbox"/>				
rotes Fleisch esse ich	<input type="checkbox"/>				
Geflügel esse ich	<input type="checkbox"/>				
Eier (gekocht oder gebraten) esse ich	<input type="checkbox"/>				

13. Kennen Sie den Wert Ihres BMI?

<20	20-25	25-30	>30
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

14. Genussmittel

14.1 Wie häufig konsumieren Sie alkoholische Getränke?

Selten/ nie	>1 Mal pro Monat	>1Mal/ Woche	≥ 4 Mal pro Woche
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Sind Sie derzeit aktiver Raucher?

ja nein

Wenn ja, wieviele Zigaretten rauchen Sie pro Tag im Schnitt?

<input type="checkbox"/> < 10 Zig/ Tag	<input type="checkbox"/> >10 Zig/ Tag
--	---------------------------------------

Seit wie vielen Jahren rauchen Sie?

<input type="checkbox"/> <5 Jahre	<input type="checkbox"/> 5 -10 Jahre	<input type="checkbox"/> 10 - 15 Jahre	<input type="checkbox"/> >15 Jahre
-----------------------------------	--------------------------------------	--	------------------------------------

14.2 Wenn Sie derzeit nicht rauchen, haben Sie früher einmal geraucht?

ja nein

Über welchen Zeitraum haben Sie regelmäßig geraucht?

<input type="checkbox"/> <5 Jahre	<input type="checkbox"/> 5 -10 Jahre	<input type="checkbox"/> 10 - 15 Jahre	<input type="checkbox"/> >15 Jahre
-----------------------------------	--------------------------------------	--	------------------------------------

Wieviele Zigaretten haben Sie im Schnitt am Tag geraucht?

<input type="checkbox"/> < 10 Zig/ Tag	<input type="checkbox"/> >10 Zig/ Tag
--	---------------------------------------

Wie lange ist ihr Zigarettenkonsum her?

<input type="checkbox"/> <5 Jahre	<input type="checkbox"/> 5 -10 Jahre	<input type="checkbox"/> 10 - 15 Jahre	<input type="checkbox"/> >15 Jahre
-----------------------------------	--------------------------------------	--	------------------------------------

15. Lebensstiländerung

Änderung des Lebensstils in den letzten fünf Jahren			
Mein Lebensstil ist:	<input type="checkbox"/> gleichgeblieben	<input type="checkbox"/> leicht verändert	<input type="checkbox"/> grundlegend verändert
Leben sie heute eher gesünder oder ungesünder als vor fünf Jahren?	<input type="checkbox"/> gesünder	<input type="checkbox"/> ungesünder	<input type="checkbox"/> gleich gesund

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Inna Megow, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Der Einfluss von grünem Tee auf das antioxidative Potential der Haut“ („The influence of green tea on the antioxidant potential of the skin“) 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/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité — Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an erfolgten Publikationen

Inna Megow hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

1. **Megow, I.**, Darvin, M. E., Meinke, M. C. & Lademann, J. A randomized controlled trial of green tea beverages on the in vivo radical scavenging activity in human skin. *Skin Pharmacol Physiol* **30**, 225–233 (2017).

Beitrag im Einzelnen: Entwicklung der Fragestellung, Mitwirkung an der Planung des Studienkonzepts, Mitwirkung am Verfassen des Ethikantrags, Rekrutierung der Probanden, Erhebung der Primärdaten (Durchführung der ESR-Spektroskopie und der Resonanz-Raman-Spektroskopie, Erhebung der Umfragedaten), statistische Auswertung, Erstentwurf und Überarbeitung des Manuskriptes, Erstellung der Tabellen (Tabelle 1 und 2), Erstellung der Abbildung (Abbildung 1), korrespondierende Autorenschaft.

2. **Megow, I.**, Darvin, M. E., Meinke, M. C. & Lademann, J. The effects of green tea beverages on the radical scavenging activity in human skin in vivo [Abstract]. In VegMed: „VegMed – Scientific Congress for Plant-based Nutrition and Medicine“, April 20-22, 2018, Berlin: Abstracts. *Complement Med Res* **25 Suppl 1**, 1–20 (2018).

Beitrag im Einzelnen: Erstellung des Posters inkl. der Abbildungen, Präsentation des Posters auf dem Kongress in einem Kurzvortrag.

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Publikationsliste

1. **Megow, I.**, Darvin, M. E., Meinke, M. C. & Lademann, J. A randomized controlled trial of green tea beverages on the in vivo radical scavenging activity in human skin. *Skin Pharmacol Physiol* **30**, 225–233 (2017).
2. **Megow, I.**, Darvin, M. E., Meinke, M. C. & Lademann, J. The effects of green tea beverages on the radical scavenging activity in human skin in vivo [Abstract]. In VegMed: „VegMed – Scientific Congress for Plant-based Nutrition and Medicine“, April 20-22, 2018, Berlin: Abstracts. *Complement Med Res* **25 Suppl 1**, 1–20 (2018).

Curriculum Vitae

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

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Erstbetreuer Herrn Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann und meiner Zweitbetreuerin Frau Prof. Dr. Martina Meinke dafür, dass sie es mir ermöglicht haben, über dieses Thema zu promovieren, sowie für die hervorragende Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung der Dissertation.

Herrn Dr. Maxim Darwin gilt mein Dank für die Einführung in die Raman-Spektroskopie. Frau Sabine Schanzer danke ich für die Einarbeitung in die ESR-Spektroskopie sowie für die Randomisierung der Probanden und Verblindung der Studienpräparate.

Bei Herrn Dr. Bastian Thaa und Frau Dr. Silke Lohan möchte ich mich herzlich für das gründliche Korrekturlesen und die wertvollen Anregungen bedanken.

Meinen Mitdoktorand*innen und allen anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe danke ich für die freundliche und angenehme Arbeitsatmosphäre und die stete Hilfsbereitschaft.

Mein aufrichtiger Dank gilt auch allen Proband*innen, die sich bereit erklärt haben, an der Studie teilzunehmen. Nicht zuletzt möchte ich meinem Mann Jörg und meinen Kindern Anna und Maximilian für ihre Geduld und Unterstützung danken.