

Aus der Medizinischen Poliklinik  
der Medizinischen Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin  
sowie dem Institut für Sportwissenschaft, Abteilung Sportmedizin,  
der Humboldt-Universität zu Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss dunkler Schokolade auf das Blutdruckverhalten in  
Ruhe, während und nach Belastung, sowie auf einzelne  
für den arteriellen Gefäßzustand relevante  
Stoffwechselfparameter

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Josef Vogl

aus Niederpremeischl/Rötz

Gutachter/in:     1. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. R. G. Ketelhut  
                          2. Prof. Dr. med. R. Kreuz  
                          3. Prof. Dr. med. J. Jordan

Datum der Promotion: 04.02.2011

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>5</b>
<b>2. Einleitung.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1 Einführung in die Thematik.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2 Grundlagen und Stand der Forschung .....</b>	<b>8</b>
2.2.1 arterielle Hypertonie.....	8
2.2.1.1 Definition und Klassifikation.....	8
2.2.1.2 Verhalten des arteriellen Blutdrucks unter ergometrischer Belastung.....	10
2.2.1.3 Prävalenz .....	11
2.2.1.4 Ätiologie.....	12
2.2.2 Atherosklerose .....	12
2.2.3 Flavonoide .....	14
2.2.3.1 chemische Struktur und Vorkommen .....	14
2.2.3.2 Die Geschichte des Kakao.....	16
2.2.3.3 Metabolismus der Flavonoide.....	17
2.2.3.4 Wirkungsweise der Flavonoide .....	17
<b>3. Zielsetzung der Arbeit.....</b>	<b>19</b>
<b>4. Patienten und Methoden .....</b>	<b>20</b>
<b>4.1 Patientenkollektiv und Einschlusskriterien .....</b>	<b>20</b>
<b>4.2 Studiendesign und Untersuchungsablauf .....</b>	<b>21</b>
4.2.1 Untersuchungen.....	21
4.2.2 Auswahl der Testschokolade.....	21
4.2.3 Einnahme der Testschokolade .....	22
<b>4.3 erhobene Parameter .....</b>	<b>22</b>
4.3.1 Bestimmung der Körpermaße und des BMI .....	22
4.3.2 Blutdruckmessung .....	23
4.3.3 Herzfrequenzbestimmung .....	23
4.3.4 Ergometrie.....	24
4.3.5 Laboruntersuchungen .....	24
<b>4.4 Follow-up.....</b>	<b>26</b>
<b>4.5 Datenvollständigkeit.....</b>	<b>26</b>
<b>4.6 statistische Methoden und grafische Darstellung .....</b>	<b>27</b>
<b>4.7 Literaturrecherche.....</b>	<b>28</b>
<b>5. Ergebnisse .....</b>	<b>29</b>
<b>5.1 Probandencharakteristika .....</b>	<b>29</b>
5.1.1 Alter .....	29
5.1.2 Geschlecht.....	29
<b>5.2 klinische Befunde bei 1. und 2. Untersuchung .....</b>	<b>30</b>
5.2.1 Körpermaße.....	30

5.2.2	Blutdruck .....	32
5.2.3	Herzfrequenz .....	35
<b>5.3</b>	<b>Ergometrie bei 1. und 2. Untersuchung.....</b>	<b>38</b>
5.3.1	Belastungsphase .....	38
5.3.2	Nachbelastungsphase.....	41
<b>5.4</b>	<b>Laborparameter bei 1. und 2. Untersuchung.....</b>	<b>44</b>
5.4.1	Blutbild.....	44
5.4.2	Lipidstatus.....	50
5.4.3	Glucosestoffwechsel.....	53
5.4.4	Harnsäure .....	55
5.4.5	Retentionswerte .....	56
5.4.6	Leberwerte.....	57
<b>6.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>59</b>
<b>6.1</b>	<b>Einfluss von Flavonoiden auf den Blutdruck.....</b>	<b>59</b>
6.1.1	in Ruhe.....	59
6.1.2	bei Belastung.....	60
<b>6.2</b>	<b>Einfluss von Flavonoiden auf die Herzfrequenz.....</b>	<b>62</b>
<b>6.3</b>	<b>Einfluss von Schokolade auf Gewicht und BMI.....</b>	<b>62</b>
<b>6.4</b>	<b>Einfluss von Flavonoiden auf Laborparameter.....</b>	<b>64</b>
6.4.1	Blutbild.....	64
6.4.2	Lipidstatus.....	67
6.4.3	Glucosestoffwechsel.....	69
6.4.4	Harnsäure .....	70
6.4.5	Retentionswerte .....	70
6.4.6	Leberwerte.....	71
<b>7.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>72</b>
<b>8.</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>74</b>
<b>9.</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>84</b>
<b>10.</b>	<b>Selbständigkeitserklärung.....</b>	<b>85</b>
<b>11.</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>86</b>

# 1. Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
aHT	arterielle Hypertonie
AP	Alkalische Phosphatase
BMI	Body-Mass-Index
CRP	C- reaktives Protein
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Hb	Hämoglobin
HF	Herzfrequenz
HDL	High-Density-Lipoprotein
HLP	Hyperlipoproteinämie
LDL	Low-Density-Lipoprotein
MCV	mittleres corpuskuläres Volumen
MPV	mittleres Plättchenvolumen/ mean platelet volume
min	Minute
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
SD	Standardabweichung

## **2. Einleitung**

### **2.1 Einführung in die Thematik**

In den Industrieländern stehen in der Mortalitätsstatistik die kardiovaskulären Erkrankungen an erster Stelle, während cerebrovaskuläre Ereignisse wie apoplektische Insulte die zweithäufigste Todesursache darstellen<sup>59</sup>. Für diese beiden Entitäten bestehen klar definierte Risikofaktoren, die sich in weiten Teilen überschneiden. Von den bekannten Risikofaktoren spielen insbesondere Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, Adipositas und die arterielle Hypertonie eine entscheidende Rolle<sup>70, 85</sup>. Die aufgeführten Risikofaktoren stehen in engem Zusammenhang mit dem und führen als Symptomenkomplex zum metabolischen Syndrom, welches eine überproportionale Prävalenz an kardiovaskulären Erkrankungen bewirkt<sup>85</sup>.

Der arteriellen Hypertonie ist bezüglich der kardiovaskulären Erkrankungen eine ganz entscheidende Bedeutung zuzusprechen, weil sie Sekundärkomplikationen wie apoplektische Insulte, hypertensive Herzkrankheiten, Nierenversagen und ein beschleunigtes Voranschreiten von arteriosklerotischen Veränderungen mit konsekutiven Myokardinfarkten induzieren kann<sup>70, 85</sup>. In Deutschland ist die Prävalenz im Vergleich zu anderen Industrienationen besonders hoch, wobei eine weiter ansteigende Hypertoniehäufigkeit erwartet wird<sup>22</sup>.

In den USA wurden die Kosten der Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen für das Jahr 2001 mit 181 Mrd. US \$ beziffert, wobei anteilmäßig 30 Mrd. US \$ der Behandlung von Folgeerkrankungen der arteriellen Hypertonie zugerechnet wurden<sup>1</sup>. In Deutschland wurden 1990 für die Behandlung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen ca. 23 Mrd. DM aufgewendet, wodurch die Kosten nach denen für die Therapie von dentalen Erkrankungen an zweiter Stelle standen und 16% der gesundheitlichen Gesamtaufwendungen betragen<sup>59</sup>.

Die genannten Zahlen verdeutlichen die immense Bedeutung der Bekämpfung der arteriellen Hypertonie, wobei neben den genannten epidemiologischen Aspekten immer häufiger auch die Finanzierbarkeit von präventiven Programmen im Fokus von Diskussionen steht.

In diesem Zusammenhang wird immer mehr an die Bevölkerung appelliert, durch eine gesunde Lebensweise mit ausgewogener Ernährung und ausreichender Bewegung den

Erkrankungen der Wohlstandsgesellschaft entgegenzuwirken <sup>72-74</sup>. Hierbei rücken neben diesen allgemeinen Empfehlungen auch Nahrungsmittel in den Vordergrund, von denen ein prophylaktischer oder therapeutischer Nutzen angenommen wird. Diese Nahrungskomponenten werden unter dem Begriff „Nutriceuticals“ zusammengefasst. Der Konsum von Nutriceuticals wird mit positiven Effekten bei einer Vielzahl von kardiovaskulären oder tumorösen Erkrankungen assoziiert <sup>20, 21</sup>. Mitte des 20. Jahrhunderts wurden sie erstmalig, in Form von Brotaufstrichen mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren, eingeführt und haben sich seit dieser Zeit weltweit etabliert <sup>51</sup>.

In den letzten Jahren finden Flavonoide eine zunehmende Beachtung. Flavonoide sind Pflanzeninhaltsstoffe, die in vielen Obst- und Gemüsesorten vorkommen und insbesondere im Kakao eine besonders hohe Konzentration aufweisen <sup>17</sup>. Als Effekte von Flavonoiden wurden eine Verbesserung der Insulinsensitivität <sup>53</sup>, eine verminderte Inflammation <sup>28, 30, 109, 110</sup>, eine verbesserte Endothelfunktion <sup>38, 41</sup>, ein verminderter oxidativer Stress <sup>30, 41, 67, 112</sup>, eine verbesserte Koronardurchblutung <sup>41</sup>, sowie ein geringeres KHK-Risiko <sup>35</sup> und eine reduzierte Sterblichkeit der koronaren Herzkrankheit beschrieben <sup>17, 30</sup>, so dass der Kakao und die dunkle Schokolade zukünftig möglicherweise einen bedeutsamen Stellenwert als präventive Nahrungsmittel einnehmen könnten. Zusätzlich gibt es Hinweise dafür, dass die in der dunklen Schokolade enthaltenen Flavonoide auch blutdrucksenkend wirken <sup>30, 53</sup>. Bisher gibt es hierzu unzureichende Evidenz, insbesondere hinsichtlich möglicher auftretender Nebenwirkungen, wie z.B. einer Gewichtszunahme.

Ziel der vorliegenden Studie ist eine Untersuchung der Wirkung von Schokolade mit hohem Kakaoanteil auf den arteriellen Blutdruck, die Stoffwechsellage, einzelne Laborparameter und das Körpergewicht unter kontrollierten Bedingungen in einem gesunden Kollektiv.

## **2.2 Grundlagen und Stand der Forschung**

### **2.2.1 arterielle Hypertonie**

#### **2.2.1.1 Definition und Klassifikation**

Der Blutdruck entspricht dem intravasalen Druck, der die Blutzirkulation im kleinen und großen Kreislauf aufrecht erhält. Determinanten des Blutdrucks sind dabei das Herzzeitvolumen, der Gefäßwiderstand und die Blutviskosität<sup>47, 48</sup>.

Der Gefäßwiderstand wird durch den Gefäßwandtonus und die Wandelastizität bestimmt, wobei mit zunehmender Gefäßstarre die Wandelastizität abnimmt. Der Gefäßwiderstand wird durch die Vasodilatation und –konstriktion reguliert, so dass über diese Mechanismen eine Blutdruckregulation stattfinden kann. Diese wird im physiologischen Bereich den jeweiligen Bedürfnissen angepasst und erfolgt über das neurohumorale System und die Sympathikusaktivität, wobei diese beiden Systeme ineinander greifen und synergistisch arbeiten. Die jeweiligen Steuerungssysteme erhalten Impulse über Baro- und Volumenrezeptoren, die dann eine Aktivierung bzw. Hemmung von blutdrucksteigernden Impulsen durch die neurohumoralen Parameter oder vegetative Nerven bewirken<sup>47, 48</sup>.

Ein normaler Blutdruck beträgt systolisch < 130 mmHg und diastolisch < 85 mmHg. Dabei bezeichnet der systolische Blutdruck den durch die Kontraktion aufgebauten Blutdruck, während der diastolische das Minimum zwischen zwei Austreibungsphasen darstellt. Die in Tab. 2.2.1.a aufgeführte Einteilung des Blutdrucks wurde von der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie 2008 modifiziert, so dass bei Risikopatienten mit Diabetes mellitus, KHK und renalen Erkrankungen bereits ein Blutdruck  $\geq 130/85$  mmHg als hyperten angesehen wird und somit eine strengere Blutdruckeinstellung – möglichst  $\leq 125/75$  mmHg erfolgen sollte<sup>63</sup>.

Tab. 2.2.1.1.a Klassifikation des Blutdrucks nach WHO <sup>19</sup>

Blutdruck	systolisch (mmHg)	diastolisch (mmHg)
Optimal	< 120	< 80
Normal	< 130	< 85
Grenzbereich	130 – 139	85 – 89
Hypertonie - Stadium I	140 – 159	90 – 99
- Stadium II	160 – 179	100 – 109
- Stadium III	≥ 180	≥ 110
Isolierte systolische Hypertonie	≥ 140	< 90

Die hier aufgeführte Einteilung spiegelt die aktuelle Definition wider, wobei die Bewertung des Blutdrucks dabei ausschließlich nach den Ruheblutdruckwerten erfolgt. Hierbei sollte unbedingt beachtet werden, dass der Ruheblutdruck einer großen circadianen Varianz unterworfen ist und einer Vielzahl von äußeren Einflüssen unterliegt. Hinsichtlich der circadianen Variation wurden so Schwankungen des systolischen Blutdrucks bis 58% und des diastolischen Blutdrucks bis 70% gefunden <sup>13, 14</sup>. Die intraindividuelle Variabilität des Blutdrucks ist sehr unterschiedlich, wobei hier auch psychische Faktoren berücksichtigt werden sollten <sup>78</sup>. Durch einmalige Messungen - insbesondere in ungewohnten, neuen Situationen, wie sie bei Krankenhausaufenthalten oder Arztbesuchen anzutreffen sind - besteht demnach auch die Gefahr, die Diagnose „arterielle Hypertonie“ zu häufig zu stellen <sup>107</sup>.

Zur Evaluierung des Blutdrucks ist eine einzelne Messung daher nicht ausreichend, vielmehr sollten wiederholte Messungen zu verschiedenen Zeitpunkten erfolgen <sup>119</sup>. Die Messungen sollten dabei möglichst in verschiedenen und standardisierten Situationen erfolgen, um z.B. den „Weißkitteleffekt“ oder andere Störgrößen auszuschalten <sup>55</sup>.

Die Ergometrie ist eine solche standardisierte Untersuchung und wichtiges Instrument zur Diagnosestellung einer hypertensiven Blutdruckregulation bei z.T. noch unauffälligen Blutdruckwerten in Ruhe <sup>71</sup>.

### **2.2.1.2 Verhalten des arteriellen Blutdrucks unter ergometrischer Belastung**

Ergometrische Untersuchungen haben sich bereits seit Jahrzehnten zur Beurteilung des arteriellen Blutdrucks etabliert. Hierbei ist nicht nur der maximale Blutdruckanstieg, sondern auch ein überschießender Blutdruckanstieg bzw. ein verlangsamtes Absinken des Blutdrucks nach der Belastung diagnostisch wegweisend <sup>79, 91, 102, 103, 117</sup>.

Ein großer Vorteil bei der Bewertung des Blutdruckverhaltens unter standardisierter ergometrischer Belastung ist vor allem – im Gegensatz zur einmaligen Ruheuntersuchung – die gute Reproduzierbarkeit <sup>101</sup>.

Bei richtiger Durchführung der ergometrischen Belastung besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Herzfrequenz, dem systolischen Blutdruck und dem Anstieg der ergometrischen Belastung. Oberhalb einer Leistung von 1 Watt pro kg/KG spielen psychische Einflüsse dabei keine wesentliche Rolle mehr <sup>46, 105</sup>.

Für die Beurteilung des arteriellen Blutdruckverhaltens eignen sich Belastungen bis 100 Watt besonders gut, da sie am besten Alltagsbelastungen entsprechen und von den meisten untersuchten Patienten absolviert werden können <sup>42</sup>.

Bei der Interpretation des Blutdrucks unter Belastung sollten neben der maximalen Leistung und der Dauer der ergometrischen Belastung auch das Alter und Geschlecht des Patienten berücksichtigt werden, da z.B. Frauen unter standardisierten Belastungen eine größere Leistung pro kg/KG erbringen müssen <sup>44</sup>.

Ab dem 50. Lebensjahr bewirkt die zunehmende Gefäßsklerosierung, insbesondere bei Männern, höhere Blutdruckwerte unter Belastung, so dass hier die sonst geltenden Grenzen der hypertensiven Blutdruckregulation unter Belastung von 200/100 mmHg auf 215/105 mmHg angehoben werden sollten. 5 min nach Belastung sollte der Blutdruck des normotensiven Probanden  $\leq 140/90$  mmHg betragen, ab dem 50. Lebensjahr  $\leq 150/90$  mmHg <sup>45</sup>.

Probanden, die in Ruhe auch bei mehrfachen Messungen noch normale Blutdruckwerte haben, können unter dynamischer Belastung bereits eine hypertensive Blutdruckregulation aufweisen, wobei dies oftmals mit einer späteren manifesten

arteriellen Hypertonie assoziiert ist <sup>121</sup>. Zudem zeigt sich beim Blutdruck bei submaximaler Belastung bereits frühzeitig ein starker Zusammenhang mit Endorganveränderungen, sowie der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität unabhängig vom Ruheblutdruck.

### **2.2.1.3 Prävalenz**

Die arterielle Hypertonie führt zu Sekundärerkrankungen wie dem apoplektischen Insult, der Niereninsuffizienz und dem Myokardinfarkt, die insbesondere in den Industrienationen zu den häufigsten Todesursachen zählen. In den letzten Jahrzehnten verzeichnete man eine stetige Zunahme der arteriellen Hypertonie, die auch für die nächsten 15 Jahre prognostiziert wird: Während im Jahr 2000 26,4% der Weltbevölkerung (1,54 Milliarden Menschen) an einer aHT litten, wird 2025 ein Anteil von 29,2% (2,29 Milliarden) erwartet, was einem Zuwachs von über 60% entspricht <sup>68</sup>.

Die aHT ist in den westlichen Ländern im Vergleich zu den Entwicklungsländern überrepräsentiert, wobei sich die einzelnen Industrienationen bezüglich der Prävalenz der aHT deutlich unterscheiden:

Tab. 2.2.1.3.a Prävalenz der Hypertonie

	Prävalenz (%)
Nigeria	13,5
USA- Farbige	44,0
USA- Weiße	26,8
Italien	41,5
Schweden	38,4
England	41,7
Spanien	46,8
Finnland	48,6
Deutschland	55,3

Der internationale Vergleich der Prävalenz demonstriert den großen Unterschied im Auftreten der arteriellen Hypertonie. An oberster Stelle der Erkrankungsraten liegt Deutschland, so dass hier der Therapie eine ganz besonders große Bedeutung zukommt<sup>22</sup>.

#### **2.2.1.4 Ätiologie**

Die Ursache der arteriellen Hypertonie ist in mehr als 90% der Fälle unbekannt, so dass man in diesen Fällen von einer essentiellen Hypertonie spricht. Man geht von einer multifaktoriellen Genese aus, wobei die Hypertonie durch genetische Komponenten begünstigt wird. Weitere Faktoren sind die Konstitution mit Bevorzugung des pyknischen Habitus sowie endokrine Komponenten. Zusätzlich gibt es auch beeinflussbare Faktoren wie Ernährungsgewohnheiten, so dass z.B. ein vermehrter Salzkonsum ebenso zur arteriellen Hypertonie führen kann wie ein übermäßiger Kaffeegenuss und Adipositas. Als weitere Risikofaktoren für eine Hypertonie gelten Stress und Rauchen<sup>84</sup>.

Die sekundären Hypertonien machen weniger als 10% der arteriellen Hypertonien aus und sind hinsichtlich ihrer Entstehung einer definierbaren Ursache zuzuschreiben. Am häufigsten werden sie durch renale Erkrankungen wie renoparenchymatöse Leiden oder Nierenarterienstenosen bedingt, während endokrinologische Ursachen wie z.B. der Hyperaldosteronismus, das Cushing-Syndrom oder das Phäochromozytom seltener auftreten<sup>84</sup>. Eine relativ häufige Ursache der sekundären Hypertonie ist das Schlaf-Apnoe-Syndrom, wobei häufig bereits primär eine essentielle Hypertonie besteht, die durch das Schlaf-Apnoe-Syndrom aggraviert wird<sup>4</sup>. Eine weitere, seltene Ursache einer Hypertonie stellt die Aortenisthmusstenose dar.

Die Übersicht verdeutlicht, dass die ganz überwiegende Mehrzahl der Hypertoniefälle essentiell ist und hinsichtlich der Ursache meistens nicht vollständig aufgeklärt werden kann. Aufgrund der meist vorhandenen Risikofaktoren wie Übergewicht und falscher Ernährung lässt sich jedoch durch Änderung der Essgewohnheiten zumindest häufig eine Besserung der Blutdruckregulation erreichen, so dass der Einsatz von Flavonoiden in diesen Fällen ebenfalls erfolgversprechend sein könnte<sup>17</sup>.

#### **2.2.2 Atherosklerose**

Die Atherosklerose ist eine variable Kombination von Veränderungen der Gefäßintima, bei der es zu einer herdförmigen Einlagerung von Komplexen aus Lipiden, Kalziumablagerungen, Erythrozyten, Thrombozyten und weiteren Blutbestandteilen kommt. Das derzeit diskutierte Modell sieht die Atherogenese als eine zelluläre, entzündlich-proliferative Reaktion der Gefäßwand auf eine chronische Reizung<sup>99</sup>.

Die Ätiologie der Atherosklerose ist ein multifaktorielles Geschehen und wird durch eine Vielzahl von Faktoren begünstigt. So wurde in der PROCAM-Studie<sup>8</sup> (Prospective Cardiovascular Münster) der Einfluss multipler Faktoren auf die Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen beschrieben:

Tab. 2.2.2.a Risikofaktoren für die Atherosklerose

Arterielle Hypertonie
Diabetes mellitus
Adipositas
Nikotinabusus
HLP (bes. LDL-Erhöhung)
Hypertriglyceridämie
Erniedrigtes HDL
Bewegungsmangel
Stress

Die Tabelle 2.2.2.a verdeutlicht die Bedeutung der aHT hinsichtlich der Atherogenese, wobei die Atherosklerose insbesondere durch eine Kombination mehrerer Faktoren begünstigt wird, die die Bildung eines metabolischen Syndroms induziert, in dem die arterielle Hypertonie eine zentrale Bedeutung einnimmt.

Die Manifestationsformen der Atherosklerose sind vielfältig und reichen von der koronaren Herzkrankheit über den apoplektischen Insult und die vaskuläre Demenz bis hin zur pAVK und zur Niereninsuffizienz. Oftmals leiden die Patienten an mehreren dieser Erkrankungen gleichzeitig, was eine hohe Mortalität zur Folge hat.

Die frühesten atherosklerotischen Veränderungen finden im Endothel statt, welches eine gesteigerte Permeabilität für Lipoproteine und andere Plasmabestandteile aufweist<sup>100</sup>. Die Exsudation von Plasmabestandteilen ist ein Trigger der endothelialen Dysfunktion. Dies führt zu einer Beeinträchtigung der Sekretion von antiadhäsiven Metaboliten wie Stickstoffmonoxid (NO) und zu einer vermehrten Expression von Adhäsionsmolekülen wie ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), VCAM-1 (vascular adhesion molecule-1) und mehrerer Selektine. Dies bewirkt eine Chemotaxis sowie eine Migration von Leukozyten in die Gefäßwand. Zusätzlich werden glatte Muskelzellen aktiviert, so dass insgesamt gesehen eine chronische Entzündung initiiert wird<sup>95</sup>.

Im weiteren Verlauf der Atherogenese kommt es zur Ansammlung von „fatty streaks“. Hierbei nehmen die eingewanderten Monozyten und Makrophagen lipidhaltige Proteine

auf und wandeln sich mit Hilfe von LDL zu Schaumzellen um<sup>100</sup>. Weiterhin kommt es zu einer Vermehrung von glatten Muskelzellen, was durch den platelet derived growth factor (PDGF), den fibroblast growth factor-2 (FGF-2) und den transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) unterstützt wird. Die beschriebenen Prozesse führen schließlich zu einer Verdickung der Gefäßintima<sup>100</sup>.

Die fatty streaks verfestigen sich beim Fortschreiten der Atherosklerose, was zu einem atherosklerotischen Plaque mit einer fibrösen Kappe führt. Bei weiterer Anlagerung von Plaquematerial kann es zu einer Instabilität kommen, wodurch eine Plaqueruptur z.B. mit konsekutivem Myokardinfarkt ausgelöst werden kann<sup>100</sup>. Der letzte Schritt wird durch eine Thrombozytenaktivierung bedingt, der zu einer Aggregation von Thrombozyten mit gleichzeitigem Gefäßverschluss führt<sup>100</sup>.

## **2.2.3 Flavonoide**

### **2.2.3.1 chemische Struktur und Vorkommen**

Flavonoide (von *flavus*, lat.: gelb) gehören zu den in der Nahrung häufig vorkommenden Polyphenolen, die als bioaktive Pflanzeninhaltsstoffe bezeichnet werden und in der Pflanze multiple Funktionen wie z.B. Schädlingsabwehr und Schutz vor UV-Strahlung übernehmen. Sie bestehen aus 3 Kohlenstoffringen mit zwei aromatischen und einem O-heterozyklischen Ring. Die Flavonoide unterscheiden sich im C-Ring, wodurch eine Einteilung in 6 Hauptgruppen ermöglicht wird. Insgesamt sind mehr als 6000 verschiedene Flavonoide beschrieben worden, die sich durch Substitutionen am Grundgerüst z.B. durch Hydroxy- und Methylgruppen unterscheiden. Flavonoide liegen überwiegend in glykosylierter Form vor, wobei sich auch hier zahlreiche Derivate abgrenzen lassen<sup>16</sup>. In den Abb. 2.2.3.1.a und b sind exemplarisch 2 Strukturformeln von Flavonoiden wiedergegeben, in denen das Grundgerüst leicht erkennbar ist:

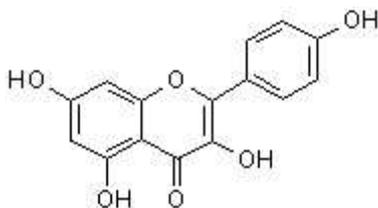


Abb. 2.2.3.1.a Flavonol

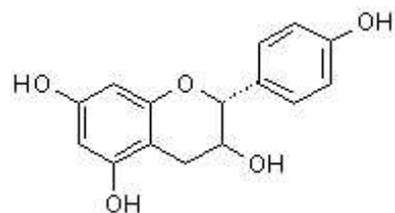


Abb. 2.2.3.1.b Flavanol

Aufgrund seiner protektiven Wirkung ist aus medizinischer Sicht insbesondere das Flavanol hervorzuheben, das in hoher Konzentration in dunkler (bitterer) Schokolade und Rotwein vorkommt <sup>17</sup>. Die nachfolgende Tabelle veranschaulicht die 6 Hauptgruppen der Flavonoide mit den wichtigsten Vertretern:

Tab. 2.2.3.1.a Flavonoide – Gruppeneinteilung und Vorkommen  
(Watzl B: Flavonoide. Ernährungsumschau 2000. 48: 498-502)

Gruppe	Vertreter	Vorkommen
Flavonole	Quercetin	Zwiebeln
	Kämpferol	Endivien
Flavanole	Catechin	Rotwein, Tee
	Epicatechin	Dunkle Schokolade
Flavanone	Naringenin	Grapefruit
	Hesperidin	Orange
Flavone	Apigenin	Sellerie
	Luteolin	Paprika
Anthocyane	Malvidin	Blaue Trauben
	Cyanidin	Kirschen
Isoflavonoide	Genistein	Sojabohnen
	Daidzein	

In den Pflanzen ist der Anteil der Flavonoide von mehreren Faktoren abhängig, wobei insbesondere der Einfluss der Sonnenstrahlung eine Rolle spielt. Daher werden Flavonoide an der Blattoberseite und in Fruchtschalen in besonders hoher Konzentration gefunden <sup>61</sup>.

Aufgrund der komplexen Biokinetik, in der neben der Sonneneinstrahlung auch die Pflanzenart und geologische Faktoren bedeutsam sind, werden Flavonoide – und als wichtigste Vertreter die Flavanole – in sehr unterschiedlicher Konzentration in pflanzlichen Lebensmitteln nachgewiesen. Die nachfolgende Tabelle veranschaulicht den Gehalt an Catechin und Epicatechin, die die wichtigsten Vertreter der Flavanole darstellen <sup>6,7</sup>

Tab. 2.2.3.1.b Flavanole in ausgewählten Lebensmittel <sup>6,7</sup>

Lebensmittel	Catechin (mg/kg)	Epicatechin (mg/kg)	Gesamtcatechine (mg/kg)
Äpfel mit Schale	4,0 – 15,6	67,1 – 103,2	71,1 – 115,4
Äpfel ohne Schale	2,8 – 16,5	48,3 – 86,1	51,2 – 95,6
Aprikose	49,5	60,6	110,1
Süßkirsche	21,7	95,3	117,1
Schwarzer Tee	3,5 – 8,8	12,5 – 62,4	101,9 – 418,4
Rotwein	16,3 – 53,8	9,2 – 42,1	27,3 – 95,5
Dunkle Schokolade	132,4	327,4	459,8

Der höchste Gehalt an Flavanolen wird in dunkler Schokolade gefunden, deren Gehalt an Gesamtcatechinen ca. 4x höher als z.B. in Äpfeln ist. Der Flavanolanteil entstammt dem Kakao, wodurch erklärt wird, dass der Flavanolanteil in der dunklen, sehr kakaohaltigen Schokolade besonders hoch ist. Deshalb ist der Kakao hinsichtlich einer möglichen protektiven Wirkung der Flavanole von besonderem Interesse.

### **2.2.3.2 Die Geschichte des Kakao**



Abb. 2.2.3.2.a Kakaopflanze

Kakao wird aus den gerösteten und gemahlene Früchten des Kakaobaumes (*Theobroma cacao*) gewonnen. Die Kakaopflanze stammt ursprünglich aus Mittel- und Südamerika. Schon um 1100 v. Chr. wurden etwa an der mexikanischen Golfküste Kakaobäume gepflanzt. Damals wurde aus dem Fruchtfleisch eine alkoholhaltige Flüssigkeit vergoren, also aus Kakao ein berauschendes Getränk zubereitet. Später wurden auch Getränke aus den Bohnen hergestellt. Das Wissen über die Zubereitung wurde von den frühen über die späten Maya-Kulturen zu den Tolteken und schließlich den Azteken weitergegeben, die den Kakao für ein Geschenk des Gottes Quetzalcoatl hielten, dessen Genuss nur Mitgliedern des Königshauses vorbehalten war. Kakao hat in der Vergangenheit viele Funktionen erfüllt – außer als Genussmittel diente Kakao z.B. auch als Zahlungsmittel<sup>29</sup>.



Abb. 2.2.3.2.b Gottheit Quetzalcoatl

Kakao wurde 1521, nach Eroberung des Aztekenreiches, erstmalig durch die Spanier nach Europa importiert und verbreitete sich im Laufe der nächsten Jahre rasant. Dabei spielte Kakao auch zunehmend eine medizinische Rolle und fand Anwendung zur Heilung von Blasen- und Nierenleiden, sollte bei schweren Infekten eine fiebersenkende Wirkung besitzen und wurde zum Zweck der Gewichtszunahme von kachektischen Patienten eingesetzt <sup>29</sup>.

### **2.2.3.3 Metabolismus der Flavonoide**

Die Resorption der Flavonoide erfolgt partiell bereits über die Mundschleimhaut; zusätzlich wurde im Speichel eine Catechin-Esterase-Aktivität nachgewiesen, die Epigallocatechingallat (EGCG) zu Epigallocatechin abbaut <sup>114</sup>.

Die überwiegend in glykosidierter Form vorliegenden Flavonoide werden vor allem im Dünndarm abgebaut, wobei die Glykoside vorwiegend über einen spezifischen Transporter, den „sodium-dependent glucose transporter 1“ (SGLT1) aufgenommen werden <sup>62</sup>. In den Mukosazellen des Dünndarms werden die glykosidischen Bindungen durch die  $\beta$ -Glukosidase gespalten <sup>26</sup>, wonach jetzt eine Konjugation mit Glukuronsäure erfolgen kann <sup>32</sup>. Nach Aufnahme in die Hepatozyten folgt die Metabolisierung durch Glukuronidierung, Sulfatierung und Methylierung, wobei hier der Catecholamin-O-Methyltransferase (COMT) eine wesentliche Bedeutung zukommt <sup>80</sup>. Im Anschluss findet eine Sezernierung in die Galle statt, so dass die Konjugate Teil des enterohepatischen Kreislaufs werden. Bezüglich der Bioverfügbarkeit der unterschiedlichen Flavonoide stehen für viele Verbindungen valide Zahlen noch aus, während für das Quercetin bereits eine Resorptionsrate von 53% nach oraler Aufnahme ermittelt wurde <sup>118</sup>.

### **2.2.3.4 Wirkungsweise der Flavonoide**

Aufgrund ihrer chemischen Struktur können viele Flavonoide direkt mit radikalischen Molekülen reagieren. Zusätzlich gehen sie oftmals Komplexbindungen mit Kationen wie  $\text{Cu}^{2+}$  oder  $\text{Fe}^{3+}$  ein und wirken somit antioxidativ. Während früher vor allem diese antioxidativen Eigenschaften als ursächlich bezüglich der beobachteten protektiven Eigenschaften angesehen wurden, hat man in den letzten Jahren zunehmend auch Interaktionen mit Enzymen beobachtet, die nach neueren Erkenntnissen zumindest teilweise den günstigen Effekt vor allem der Flavanole zu erklären scheinen <sup>120</sup>. Diese

Interaktionen wurden im Bereich von zellulären Signalprozessen, des Fremdstoffmetabolismus (z.B. Cytochrom P450) und im Bereich von DNA-Reparaturenzymen nachgewiesen. Zusammenfassend lässt sich somit ein direkter antioxidativer Effekt und zusätzlich eine Wirkung durch Modulation der Expression von protektiven Enzymen annehmen<sup>111</sup>.

Ein weiterer protektiver Mechanismus, die Hemmung der rekombinanten 5-Lipoxygenase, ist insbesondere für das Epicatechin beschrieben worden. Die 5-Lipoxygenase ist das Schlüsselenzym der Biosynthese der Leukotriene, einer wichtigen Gruppe von Entzündungsmediatoren. Dieser Mechanismus erklärt die antiinflammatorische Wirkung der Flavonoide, insbesondere der Flavanole<sup>106</sup>.

Die Myeloperoxidase (MPO) übernimmt eine wichtige Rolle bei der Infektabwehr und tötet kleinste Mikroorganismen ab. Weiterhin modifiziert die MPO das Low-Density-Protein (LDL) oxidativ, wodurch eine Umwandlung in eine Form katalysiert wird, die die Atherosklerose fördert. Dieser Prozess hängt massgeblich von der Gegenwart von NO und Nitrit ab. Flavanole hemmen das MPO-Nitrit-System, was zu einer Hemmung der Nitrierung im LDL führt. Weiterhin wird die durch Kupferionen katalysierte Oxidation des LDL unterdrückt.

Insgesamt ergibt sich daher ein deutlicher Anhalt, dass den Flavonoiden, vor allem den Flavanolen, eine protektive Wirkung hinsichtlich der Atherogenese zugeschrieben werden kann<sup>75</sup>.

### **3. Zielsetzung der Arbeit**

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob es Hinweise für gefäßprotektive, bzw. kardioprotektive Wirkungen durch den Verzehr dunkler Schokolade gibt, wobei angenommen wurde, dass diese Effekte durch die enthaltenen Flavonoide erzielt werden. Somit wurden die Einflüsse der Flavonoide auf den Stoffwechsel und die Blutdruckregulation untersucht. Hierbei wurden insbesondere folgende Fragestellungen berücksichtigt:

- Lässt sich durch Schokoladenverzehr eine signifikante Reduktion des Blutdrucks in Ruhe und bei Belastung erzielen?
- Hat dunkle Schokolade, ggf. über welchen Mechanismus, einen bedeutsamen Effekt auf die Herzfrequenz in Ruhe und bei Belastung?
- Kommt es durch den gezielten Konsum von Schokolade mit hohem Kakaoanteil zu einer Gewichtszunahme?
- Ergibt sich ein Anhalt für eine Abnahme der Thrombozytenaktivierung durch Flavonoide oder bewirken sie andere Blutbildveränderungen?
- Welchen Einfluss haben die in der Schokolade enthaltenen Flavonoide auf den Glukose- und Lipidstoffwechsel?
- Kommt es durch den vermehrten Genuss von Schokolade zu einem Anstieg der Cholestaseparameter oder der Retentionswerte? Steigen die Harnsäurewerte durch Flavonoide an?
- Ist aufgrund protektiver Wirkungen der in der Schokolade enthaltenen Flavonoide eine primär- bzw. sekundärprophylaktische Einnahme von Schokolade zu empfehlen?

## **4. Patienten und Methoden**

### **4.1 Patientenkollektiv und Einschlusskriterien**

Die Patientenrekrutierung erfolgte vom 25.08.2007 – 18.02.2008. In dieser Zeitspanne wurden 34 männliche Probanden im Alter zwischen 21 und 70 Jahren in die Studie eingeschlossen, die sich auf eine Zeitungsannonce zu einer kostenlosen präventiven kardiopulmonalen Untersuchung gemeldet hatten. Weibliche Probanden wurden aufgrund der zyklusabhängigen Hormon- und auch Blutdruckschwankungen nicht in die Studie aufgenommen. Die Studie wurde vorab von der zuständigen Ethikkommission beraten. Bei allen Probanden erfolgten eine gründliche anamnestische Erhebung, eine körperliche Untersuchung inklusive Blutdruckmessung sowie ein Laborscreening. Zur Evaluierung der kardiopulmonalen Leistungsfähigkeit wurde eine Ergometrie unter ärztlicher Aufsicht durchgeführt.

Alle Probanden gaben vor Beginn der Studie eine Einverständniserklärung zur Studienteilnahme sowie zur anonymisierten Datenerfassung und -auswertung ab, wobei diese Einwilligung das einzige Einschlusskriterium war. Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren:

- kardiopulmonale Erkrankungen wie das Vorliegen einer koronaren Herzkrankheit, relevanter Vitien oder eine bekannte linksventrikuläre Dysfunktion
- Anamnestisch bestehende oder in den Untersuchungen neu diagnostizierte arterielle Hypertonie bzw. Medikation mit antihypertensiv wirkenden Substanzen (z.B. ACE-Hemmer,  $\beta$ -Blocker, Calciumkanalantagonisten, Diuretika)
- Hyperlipoproteinämien
- endokrinologische Erkrankungen wie manifeste Hyper- oder Hypothyreosen, bzw. bestehende Medikation mit Thyreostatika oder anderen stoffwechselrelevanten Substanzen
- konsumierende Erkrankungen wie Karzinome
- fortgeschrittene degenerative Erkrankungen am Bewegungsapparat, die eine relevante Einschränkung der ergometrischen Belastbarkeit bedingt hätten

## **4.2 Studiendesign und Untersuchungsablauf**

### **4.2.1 Untersuchungen**

Es fanden zwei Untersuchungen im Abstand von 6 Wochen statt, wobei die erste Untersuchung vor der regelmäßigen Einnahme der Testschokolade und die Zweituntersuchung nach Beendigung des Schokoladenkonsums erfolgte. Alle Untersuchungen wurden vormittags zur gleichen Zeit an arbeitsfreien Sonnabenden durchgeführt.

Die schriftliche Einwilligung zu den Untersuchungen, der Studienteilnahme und zur anonymisierten Datenauswertung wurde einen Tag vor Studienbeginn eingeholt. Die Probanden waren angewiesen, sich am Tag vor den geplanten Untersuchungen sowie am Untersuchungstag selbst nicht wesentlich körperlich zu betätigen, insbesondere auf jegliche sportlichen Aktivitäten zu verzichten. Vor Einwilligung zur Studie sowie ebenfalls vor Beginn der Untersuchungen wurden die Probanden ausführlich über den Ablauf der Studie aufgeklärt.

Die Probanden nahmen eine Woche vor Studienbeginn jeweils eine Testpackung Schokolade ein, um geschmackliche Verträglichkeiten zu überprüfen.

Die Blutentnahmen erfolgten morgens zwischen 8:00 - 9:00 Uhr beim nüchternen Probanden. Nach Verabreichung eines kleinen Frühstücks wurde eine gründliche Anamneseerhebung durchgeführt, an die eine körperliche Untersuchung incl. Bestimmung der Körpergröße und des Körpergewichtes angeschlossen wurde.

Nach einer Pause von 5 Minuten wurden Ruhepuls und Ruheblutdruck bestimmt, wobei jeweils ein Mittelwert aus zwei Messungen dokumentiert wurde. Puls und Blutdruck wurden jeweils im Liegen, Sitzen und im Stehen gemessen. Alle Messungen wurden dabei vom selben Untersucher durchgeführt, um Messungenauigkeiten zu minimieren.

### **4.2.2 Auswahl der Testschokolade**

Vor Studienbeginn wurde eine Edelbitter-Schokolade mit hohem Kakaoanteil ausgesucht. Dabei wurden von 5 Personen, die nicht an der Studie teilnahmen, mehrere Schokoladesorten mit einem Kakaoanteil zwischen 60 - 80% hinsichtlich des Geschmacks und der Praktikabilität bewertet.

Es wurde eine Schokoladensorte der Marke Moser Roth Edelbitter mit einem 70%igen Kakaoanteil ausgewählt. Diese Schokolade wurde von den Testern geschmacklich preferiert und zeichnete sich ferner aufgrund der Packungsgrößen von 25g-Tafeln auch durch überdurchschnittliche Praktikabilität aus.

### **4.2.3 Einnahme der Testschokolade**

Die Dauer der Studie betrug 6 Wochen, in denen die Probanden täglich 100g der festgelegten Testschokolade einnahmen. Die Probanden waren angewiesen, innerhalb dieses Zeitraumes außer der Einnahme der Testschokolade ihre Lebens- und Ernährungsgewohnheiten nicht zu verändern, um unabsehbare Einflussfaktoren im Sinne von Confoundern zu vermeiden.

Das Einnahmeintervall begann jeweils direkt am Tag der 1. Untersuchung und endete einen Tag vor der Zweituntersuchung, so dass bei allen Probanden gleiche Bedingungen gegeben waren

## **4.3. erhobene Parameter**

### **4.3.1. Bestimmung der Körpermaße und des BMI**

Die Größe der Probanden wurde ohne Schuhe mit Hilfe einer geeichten Messlatte bestimmt, so dass bei allen Patienten eine aktuelle und valide Größenangabe vorhanden war.

Das Gewicht der Probanden wurde im nüchternen Zustand mit Teilbekleidung (in Unterwäsche, ohne Schuhe) erhoben. Es wurde eine geeichte mechanische Waage verwendet, wobei diese präzise Gewichtsangaben in 100g-Schritten lieferte.

Mit Hilfe von Größe und Gewicht wurde der BMI durch folgende Formel errechnet:

$$\text{BMI} = \text{Gewicht (kg)} / [\text{Größe (m)}]^2$$

### **4.3.2. Blutdruckmessung**

Die Messungen der Blutdruckwerte wurden immer durch denselben Untersucher vorgenommen. Es wurden dabei immer jeweils 2 Blutdruckmessungen durchgeführt, woraus dann ein Mittelwert gebildet wurde.

Die Blutdruckmessungen erfolgten nach der klinischen Standardmethode zur indirekten Messung nach dem Prinzip von Riva-Rocci und Korotkow. Beim Anlegen des Blutdruckmessgerätes wurde auf die richtige Größe sowie den richtigen Sitz der Manschette geachtet. Sowohl bei den Ruhemessungen als auch bei der Ergometrie befand sich die Manschette in Herzhöhe. Vor den Messungen erfolgte die Palpation der A. cubitalis, so dass die auskultatorisch günstigste Position des Stethoskops gewährleistet war.

Zur genauen Messung kamen geeichte, nicht-elektrische Blutdruckgeräte zum Einsatz. Dabei wurde bei der Einzelmessung der Spitzendruck in der Manschette 30 mmHg über dem palpatorischen Verschwinden des Radialispulses gewählt. Bei der Auskultation wurde die Stethoskopmembran nur leicht aufgesetzt, um Artefakte im Sinne von Kompressionsgeräuschen oder Abdrücken der Arterie zu vermeiden. Um den Messfehler so gering wie möglich zu halten, betrug die Ablassgeschwindigkeit linear 2-3 mmHg/s, wodurch eine genaue Zuordnung der Korotkow-Töne zum jeweiligen Manschettendruck gewährleistet war. Weiterhin wurde auf eine senkrechte Lage der Manometersäule und auf ein in Augenhöhe des Untersuchers stehendes Quecksilbermanometer geachtet, welches in 2-mmHg-Schritten skaliert war. Der systolische Blutdruck wurde mit dem Auftreten der ersten leisen Korotkow-Töne ermittelt. Das Ablesen des diastolischen Blutdrucks erfolgte beim ersten deutlichen Leiser- und Dunklerwerden der Geräusche. Da bei der Ergometrie die Korotkow-Töne häufig noch sehr lange gehört werden können und so das Messergebnis verfälscht werden kann, wurde nicht das vollständige Verschwinden der Geräusche zur Bestimmung des diastolischen Blutdrucks gewählt.

### **4.3.3. Herzfrequenzbestimmung**

Zur Ermittlung der Herzfrequenz pro Minute wurde der Puls in Ruhe über 30 Sekunden im Bereich der Arteria radialis palpiert und mit dem Faktor 2 multipliziert. Während und nach der Belastung wurden die Herzfrequenzen anhand der abgeleiteten EKGs

ermittelt. Hierfür wurde ein EKG/Ergometrie-Arbeitsplatz der Firma Ergoline verwendet. Die Herzfrequenz wurde vom Monitor abgelesen.

#### **4.3.4. Ergometrie**

Die fahrradergometrische Belastung fand unter ärztlicher Aufsicht unter standardisierten Bedingungen in halbliegender Position auf einem Ergometer der Firma Picker, Modell Schwarzer EL 900B, statt. Vor Beginn der Belastungsphase erfolgte eine zweimalige Blutdruck- und Pulsmessung sowie die Ableitung eines 12-Kanal-Ruhe-EKG's, wobei für die Extremitätenableitungen die Elektroden am Körperstamm angelegt wurden.

Bei allen Patienten wurden vor Beginn der Belastungsphase ischämietypische Kammerendteilveränderungen sowie bedeutsame Arrhythmien im Ruhe-EKG ausgeschlossen.

Der Belastungsbereich lag zwischen 50 - 100 Watt, wobei die Belastung, mit 50 Watt beginnend, pro Minute um 10 Watt gesteigert wurde. Die Trittfrequenz wurde während der gesamten Belastungsphase konstant bei 50 Umdrehungen pro Minute gehalten. An die Belastungsphase schloss sich eine 5-minütige Erholungsphase an.

Während der ergometrischen Belastung erfolgte ein Monitoring mittels Blutdruckmessungen, EKG-Registrierungen und kontinuierlichen Bildschirmüberwachungen der Herzfrequenz und des EKG's. Der Blutdruck wurde dabei jeweils in den letzten 20 Sekunden einer Belastungsstufe sowie gegen Ende der 1., 3., und 5. Minute in der Erholungsphase am rechten Arm gemessen. In den letzten 10 Sekunden der jeweiligen Leistungs- und Nachbelastungsphasen wurde ein EKG abgeleitet, das hinsichtlich möglicher Ischämiezeichen überprüft wurde und auch der Ermittlung der Herzfrequenzen diente.

#### **4.3.5. Laboruntersuchungen**

##### **Methodik zur Bestimmung**

Die Blutabnahme erfolgte unter standardisierten Bedingungen in den Morgenstunden zwischen 8<sup>00</sup> und 9<sup>00</sup> Uhr beim nüchternen, liegenden Probanden nach einer Liegezeit von mindestens 20 Minuten. Die Proben wurden in folgenden Röhrchen abgenommen:

Tab. 4.3.5.a verwendete Abnahmeröhrchen

Parameter	Blutröhrchen
Blutbild	EDTA-Röhrchen
MPV	EDTA-Röhrchen
Retentionsparameter	Serumröhrchen
Lipidstatus	Serumröhrchen
Serumglucose, HBA1c	Serumröhrchen
Leberwerte	Serumröhrchen
Harnsäure	Serumröhrchen

Das Blut wurde möglichst durch primäre Punktion mittels großlumiger Kanülen abgenommen und sofort nach der Abnahme zur Verarbeitung ins Labor weitergeleitet.

Die Analysen wurden mit etablierten Standardmethoden und Reagenzien des Labors des Instituts für medizinische Diagnostik, Berlin durchgeführt.

### **Referenzwerte**

Für ein gesundes Kollektiv gelten im Institut für medizinische Diagnostik, Berlin, folgende Normalwerte:

Tab. 4.3.5.b Referenzwerte

Parameter	Referenzbereich
Leukozyten	4,4 - 11,3 [G/l]
Hb	14,0 - 18,0 [g/dl]
Hämatokrit	38 - 49 [%]
MCV	80 - 96 [fl]
Thrombozyten	150 - 400 [G/l]
MPV	9,4 - 12,6 [fl]
Cholesterin	110 - 200 [mg/dl]
HDL	40 - 60 [mg/dl]
LDL	- 100 [mg/dl]
Triglyceride	70 - 150 [mg/dl]
HBA1c	3,0 - 6,1 [%]
Harnsäure	3,6 - 7,0 [mg/dl]
Kreatinin	0,7 - 1,2 [mg/dl]
Harnstoff	18 - 55 [mg/dl]
γ-GT	- 66 [U/l]
Bilirubin	- 1,2 [mg/dl]

## 4.4. Follow-up

Die Nachuntersuchungen erfolgten bei allen Teilnehmern nach 6 Wochen. Die Patienten erschienen zur gleichen Uhrzeit wie bei der ersten Vorstellung und waren wiederum nüchtern. Die Untersuchungen erfolgten stets durch denselben Arzt wie bei der Ersterhebung. Dabei entsprachen die Untersuchungen in Umfang und Ablauf dem Protokoll der Erstuntersuchung, so dass vergleichbare Bedingungen gegeben waren und ein Bias ausgeschlossen war.

Zusätzlich wurden die Patienten hinsichtlich der Regelmäßigkeit der Einnahme sowie der Verträglichkeit der Schokolade befragt. Während 34 Probanden vollständig am beschriebenen Untersuchungs- und Studienprogramm teilnahmen und glaubhaft eine regelmäßige Einnahme der Schokolade angaben, brachen zwei Teilnehmer die Schokoladeneinnahme nach 10 bzw. 17 Tagen aus geschmacklichen Gründen ab. Diese beiden Teilnehmer wurden aus der Studie ausgeschlossen und in den Auswertungen nicht berücksichtigt. Die Fallzahl orientierte sich an den Fallzahlen in den vergleichbaren Studien von Grassi et al. (2008) und Taubert et al.(2007).

Die letzte Schokolade wurde von den Patienten jeweils einen Tag vor dem Follow-up eingenommen.

## 4.5. Datenvollständigkeit

Tab. 4.5.a Datenvollständigkeit

Parameter	Vollständigkeit
Geschlecht	100 %
Alter	100 %
Gewicht vor Therapie	100 %
Gewicht nach Therapie	100 %
Blutdruck vor Therapie	100 %
Blutdruck nach Therapie	100 %
Ergometrie vor Therapie	100 %
Ergometrie nach Therapie	100 %
Blutparameter vor Therapie	100 %
Blutparameter nach Therapie	100 %

Wie in Tabelle 4.5.a ersichtlich, bestanden sowohl vor als auch nach dem Einnahmeintervall vollständige Erfassungen der klinischen Parameter incl. Blutdruck- und Gewichtsmessung als auch ergometrische Untersuchungen und Laborbestimmungen mit allen der in Tabelle 4.3.5.b aufgelisteten Parametern.

## 4.6 statistische Methoden und grafische Darstellung

Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SPSS für Windows, Version 15.0 (SPSS Inc., U.S.A.) durchgeführt. Die Darstellung der kontinuierlichen Variablen erfolgte als Mittelwerte, während als Streumaße die Standardabweichungen gewählt wurden.

Die kontinuierlichen Variablen wurden mittels des Shapiro-Wilk-Tests hinsichtlich ihrer Normalverteilung überprüft. Während einige der getesteten Variablen keine Normalverteilung aufwiesen (Shapiro-Wilk-Test:  $p < 0,05$ ), konnte für andere Variablen eine Normalverteilung berechnet werden (Shapiro-Wilk-Test:  $p \geq 0,05$ ). Bei den Mittelwertvergleichen wurden daher Tests für normalverteilte Stichproben und nichtparametrische Tests für nicht normalverteilte Stichproben herangezogen.

2 verbundene, normalverteilte Stichproben wurden mittels des t- Tests für gepaarte Stichproben verglichen, dagegen wurden 2 verbundene, nicht normalverteilte Stichproben durch den Wilcoxon- Test überprüft.

Bei allen durchgeführten Tests erfolgte eine zweiseitige Signifikanzüberprüfung, wobei für alle statistischen Tests ein p-Wert  $\leq 0,05$  als statistisch signifikant angenommen wurde.

In den grafischen Darstellungen, die ebenfalls mit SPSS erstellt wurden, wurden zur Veranschaulichung der Mittelwerte bei normalverteilten Stichproben Fehlerbalken verwendet, wobei als Streumaß aufgrund der großen Streubreite die Standardfehler aufgeführt wurden. Zur Veranschaulichung der Mediane und Quartilsabstände bei nicht normalverteilten Stichproben wurden Boxplots verwendet. Während in den Boxen der Median sowie die 25.-75. Perzentile aufgetragen sind, entsprechen die T-Balken dem kleinsten und größten Wert, sofern diese keine Ausreißer bzw. Extremwerte sind. Die Ausreißer sind dabei Werte, die zwischen 1 1/2 - 3 Boxlängen außerhalb der Box liegen; sie sind in den Grafiken als Kreise dargestellt, während Extremwerte, die mehr als 3 Boxlängen außerhalb der Box gemessen wurden, als Kreuzchen aufgetragen sind. Die kategorisierten Daten wurden grafisch mit Hilfe von einfachen und gruppierten Balkendiagrammen dargestellt.

Da die Verabreichung von Schokolade keine interventionelle Studie darstellt, wurden keine primären Endpunkte gewählt, aber klare Fragestellungen formuliert, die sorgfältig abgearbeitet wurden.

## 4.7 Literaturrecherche

Die Literaturrecherche erfolgte zur Aufarbeitung der wissenschaftlichen Diskussion zu den Themen arterielle Hypertonie, Atherosklerose und Flavonoide. Dabei wurde einerseits der aktuelle Stand der Forschung als auch die Entwicklung der Thematik im Verlauf der letzten Jahrzehnte recherchiert. Die Literaturrecherche erstreckte sich daher über den Zeitraum von 1965 bis 2009 und umfasste systematische Reviews, Metaanalysen, sowie experimentelle, anatomische, neurophysiologische und klinische Studien an Tier und Mensch.

Schwerpunkt der Literaturrecherche waren deutschsprachige, amerikanische sowie europäische Publikationen, wobei insbesondere Erstbeschreibungen, Multicenterstudien und Metaanalysen bei der Auswahl berücksichtigt wurden.

Die Recherche erfolgte mittels Zugriff auf die Datenbank PubMed. Diese ist eine englischsprachige textbasierte Meta-Datenbank mit medizinischen Artikeln und wird als Service der U.S. National Library of Medicine kostenfrei angeboten. PubMed ist eine bibliografische Referenzdatenbank und hat Zugriff auf ca. 15 000 000 Zitate, die 5200 Zeitschriften zuzuordnen sind.

Die Literaturrecherche erfolgte unter Verwendung des Literaturverwaltungsprogramms Endnote X3<sup>®</sup>, wobei mittels Endnote die Erstellung eigener Bibliotheken ermöglicht wurde. Diese dienten über eine Verknüpfung mit Word zum Zitieren und Erstellen des Literaturverzeichnisses. Bei der Formatierung der Zitate wurde auf die offizielle Formatierung der Fachzeitschrift Circulation zurückgegriffen.

Als Suchbegriffe wurden folgende Stichwörter bzw. Themenkomplexe ausgewählt: arterial hypertension, atherosclerosis, flavonoid, cacao, chocolate.

Insbesondere wurden dabei unter den Treffern jene ausgesucht, welche in engem Zusammenhang mit der Wirkungsweise von Kakao und Flavonoiden standen, so dass ein umfassender Überblick über den Stand der Literatur geschaffen wurde.

## 5. Ergebnisse

### 5.1 Probandencharakteristika

#### 5.1.1 Alter

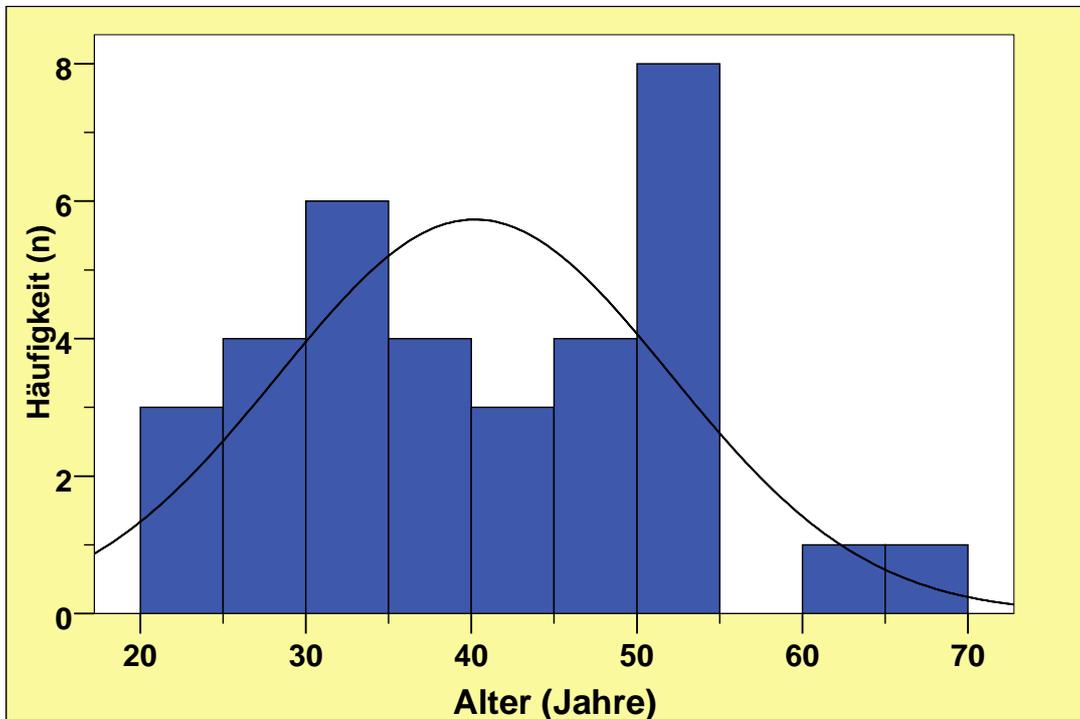


Abb. 5.1.1.a Altersverteilung

Das Alter der Probanden reichte von 21 – 70 Jahren, wobei der Mittelwert bei  $40 \pm 12$  Jahren und der Median bei 39 Jahren lag. Wie in Abb. 5.1.1.a veranschaulicht, ließ sich hinsichtlich der Altersverteilung ein Häufigkeitsgipfel zwischen dem 50.-55. Lebensjahr dokumentieren.

#### 5.1.2 Geschlecht

Alle 34 rekrutierten Patienten waren männlichen Geschlechts.

## 5.2 klinische Befunde bei 1. und 2. Untersuchung

### 5.2.1 Körpermaße

#### Körpergewicht

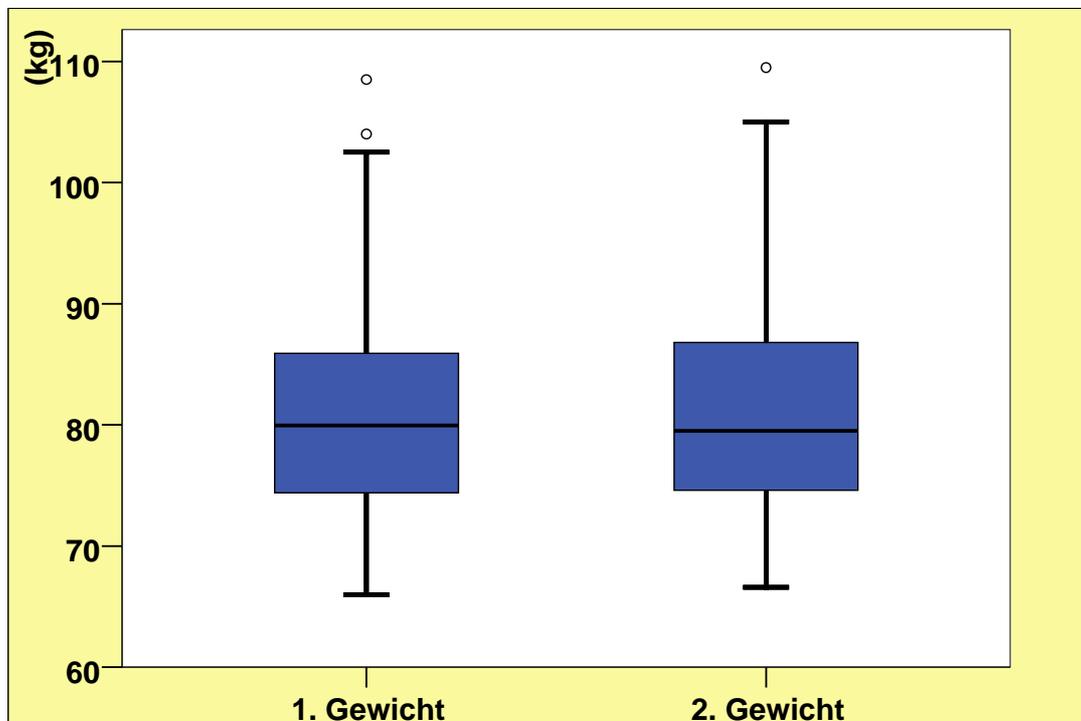


Abb. 5.2.1.a Gewicht bei 1. und 2. Untersuchung

Das vor dem Einnahmeintervall gemessene Gewicht betrug im Mittel  $82,0 \pm 10,6$  kg bei einem Median von 80,0 kg. Hinsichtlich des Körpergewichtes bestand eine große Spanne, die von 66,0 – 105,5 kg reichte.

Bei der Zweituntersuchung nach der Einnahme von Schokolade ließen sich nur geringe Gewichtsschwankungen nachweisen: Während das mittlere Gewicht mit  $82,2 \pm 10,7$  kg diskret höher lag als bei der 1. Untersuchung, war der Median mit 79,5 kg etwas niedriger als bei der ersten Messung. Hinsichtlich dieser beschriebenen Unterschiede bestand keine Signifikanz zwischen den Erhebungen ( $82,0 \pm 10,6$  vs.  $82,2 \pm 10,7$  kg; Wilcoxon-Test,  $p=0,187$ ).

Bei der Analyse des individuellen Gewichtsverhaltens ließen sich innerhalb des Kollektives verschiedene Verläufe beobachten: Während die maximale Gewichtsabnahme mit 3,3 kg dokumentiert wurde, lag die größte Gewichtszunahme bei 2,6 kg. Insgesamt hatten 10 Patienten eine Gewichtsabnahme, während bei 2 Patienten keine Gewichtsveränderung und bei 22 Patienten eine Gewichtszunahme beobachtet

wurde. Wie aus Abb. 5.2.1.b ersichtlich, waren dabei die Gewichtsveränderungen in den meisten Fällen gering, so dass bei 64,7% (n=22) die Gewichtsveränderung  $\leq 1$  kg betrug.

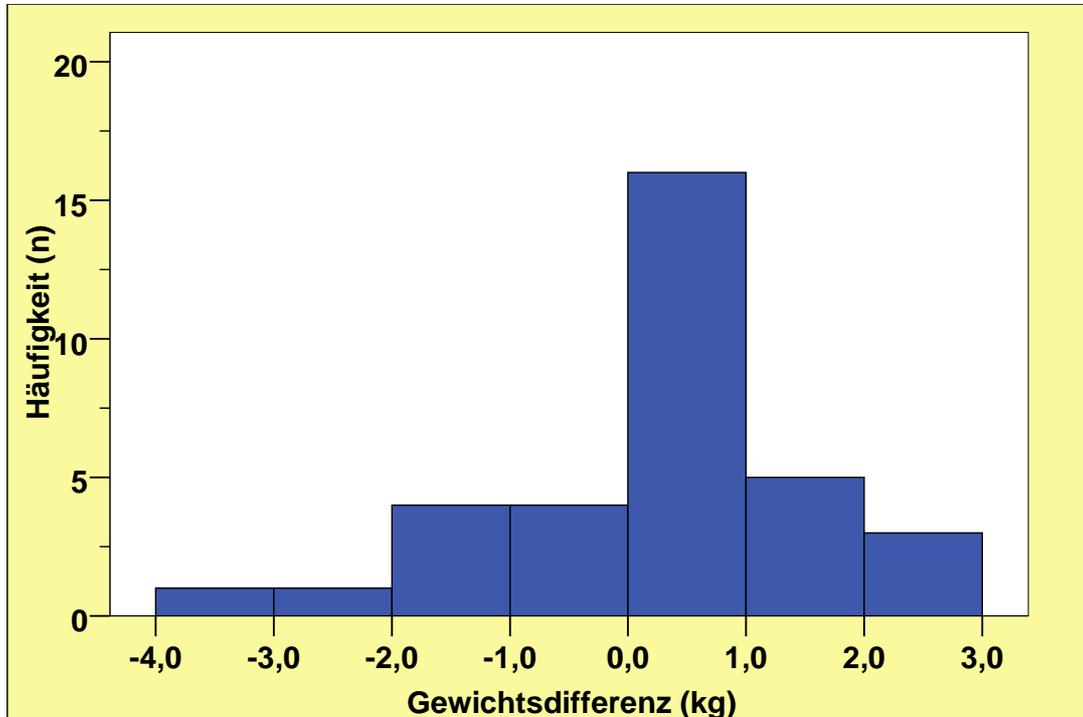


Abb. 5.2.1.b Gewichtsdifferenz zwischen 1. und 2. Untersuchung

## BMI

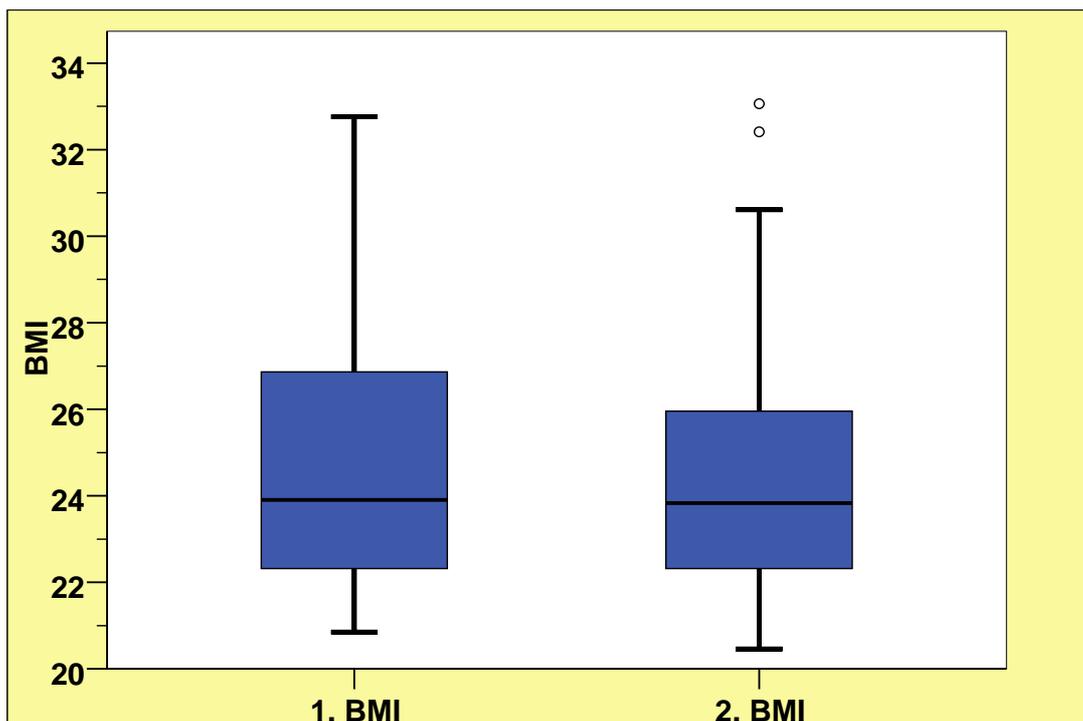


Abb. 5.2.1.c BMI bei 1. und 2. Untersuchung

Der BMI betrug vor Einnahme  $24,6 \pm 3,2$  (Median 23,9) und war nach Einnahme mit  $24,6 \pm 3,3$  (Median 23,8) annähernd gleich, so dass sich kein Anhalt für einen wesentlichen Einfluss der Schokolade auf den BMI finden ließ (Wilcoxon-Test:  $p=0,228$ ).

## 5.2.2 Blutdruck

### sitzend

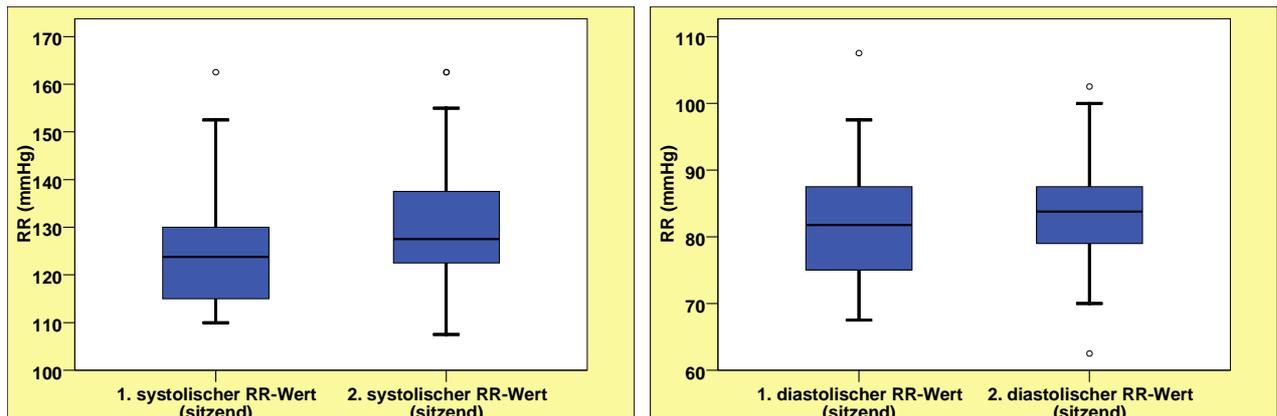


Abb. 5.2.2.a+b systolischer RR-Wert (sitzend) bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.2.2.a systolischer und diastolischer RR-Wert (sitzend) bei 1. und 2. Untersuchung

		1.	2.	1.	2.
		systolischer	systolischer	diastolischer	diastolischer
		RR (sitzend)	RR (sitzend)	RR (sitzend)	RR (sitzend)
		[mmHg]	[mmHg]	[mmHg]	[mmHg]
n=34					
Mittelwert±SD		126±14	130±14	83±9	84±9
Median		124	128	82	84
Minimum		110	108	68	63
Maximum		163	163	108	103
Perzentile	25	115	122	75	79
	50	124	128	82	84
	75	130	138	88	88

In Abb. und Tab. 5.2.2.a sind die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte im Sitzen aufgeführt. Vor Einnahme wurden mittlere systolische Blutdruckwerte von  $126 \pm 14$  mmHg gemessen, die im Mittel um 4 mmHg auf  $130 \pm 14$  mmHg anstiegen. Im Wilcoxon-Test wurde bezüglich dieses Anstiegs eine statistische Signifikanz berechnet ( $p=0,007$ ).

Der diastolische Blutdruckwert betrug im Mittel vor Einnahme  $83\pm 9$  mmHg und blieb im Beobachtungszeitraum mit  $84\pm 9$  mmHg annähernd gleich (t-Test für gepaarte Stichproben;  $p=0,44$ ).

**stehend**

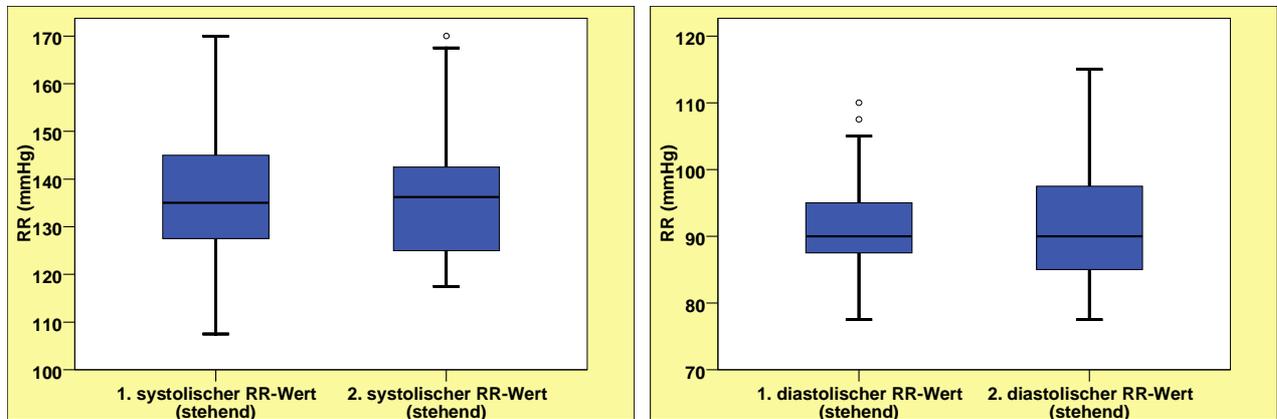


Abb. 5.2.2.c+d systolischer RR-Wert (stehend) bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.2.2.b systolischer und diastolischer RR-Wert (stehend) bei 1. und 2. Untersuchung

		1. systolischer RR (stehend) [mmHg]	2. systolischer RR (stehend) [mmHg]	1. diastolischer RR (stehend) [mmHg]	2. diastolischer RR (stehend) [mmHg]
n=34					
Mittelwert± SD		137±14	137±14	91±8	92±9
Median		135	136	90	90
Minimum		108	118	78	78
Maximum		170	170	110	115
Perzentile	25	127	125	87	85
	50	135	136	90	90
	75	146	144	96	98

Bei den im Stehen gemessenen systolischen und diastolischen Blutdruckmessungen traten im Verlauf keine signifikanten Änderungen auf: Sowohl vor als auch nach der Phase der Schokoladeneinnahme wurden im Mittel systolische Blutdruckwerte von  $137\pm 14$  mmHg gemessen, wobei die Mediane 135 mmHg bzw. 136 mmHg betragen (Wilcoxon-Test;  $p=0,651$ ). Auch bei den diastolischen Blutdruckwerten traten keine wesentlichen Veränderungen zwischen der 1. und 2. Erhebung auf ( $91\pm 8$  mmHg vs.  $92\pm 9$  mmHg; Wilcoxon-Test,  $p=0,343$ ).

## liegend

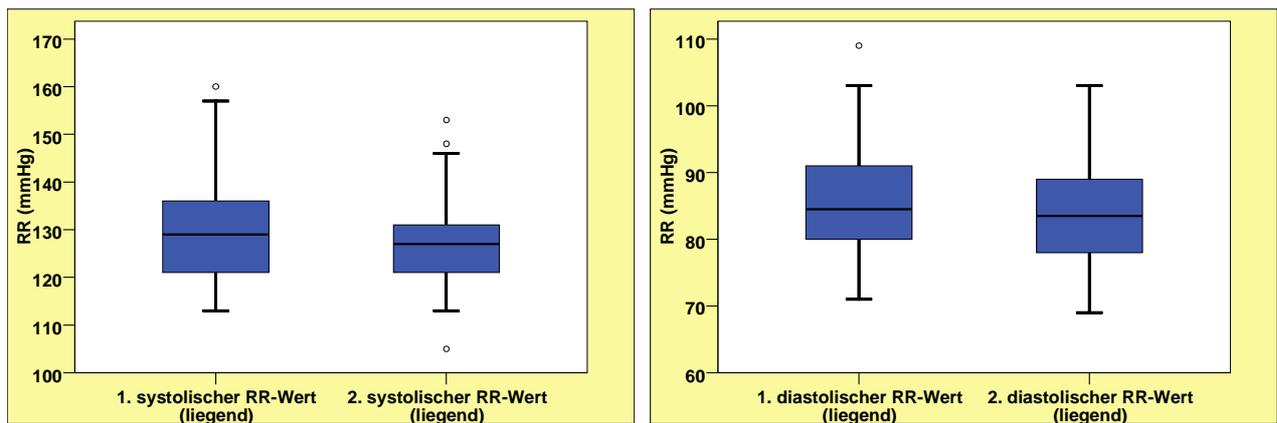


Abb. 5.2.2.e+f systolischer und diastolischer RR-Wert (liegend) bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.2.2.c systolischer und diastolischer RR-Wert (liegend) bei 1. und 2. Untersuchung

		1. systolischer RR (liegend) [mmHg]	2. systolischer RR (liegend) [mmHg]	1. diastolischer RR (liegend) [mmHg]	2. diastolischer RR (liegend) [mmHg]
n=34					
Mittelwert±SD		130±11	127±9	87±9	84±9
Median		129	127	85	84
Minimum		113	105	71	69
Maximum		160	153	109	103
Perzentile	25	121	121	80	78
	50	129	127	85	84
	75	136	131	91	89

Bei der 2. Untersuchung wurde bezüglich des systolischen Blutdrucks im Liegen im Vergleich zur Erstuntersuchung ein signifikant niedrigerer Wert dokumentiert: Während initial ein Mittelwert von  $130 \pm 11$  mmHg erhoben wurde, war dieser im Verlauf im Mittel um 3 mmHg niedriger (t-Test für gepaarte Stichproben,  $p=0,036$ ).

Hinsichtlich des diastolischen Liegendblutdrucks zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Abfall zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten: Während bei der Erstuntersuchung der mittlere diastolische Blutdruck  $87 \pm 9$  mmHg betrug, war nach der Phase der Einnahme der Blutdruck im Mittel ebenfalls um 3 mmHg niedriger (t-Test für gepaarte Stichproben,  $p=0,04$ ).

## 5.2.3 Herzfrequenz

### sitzend

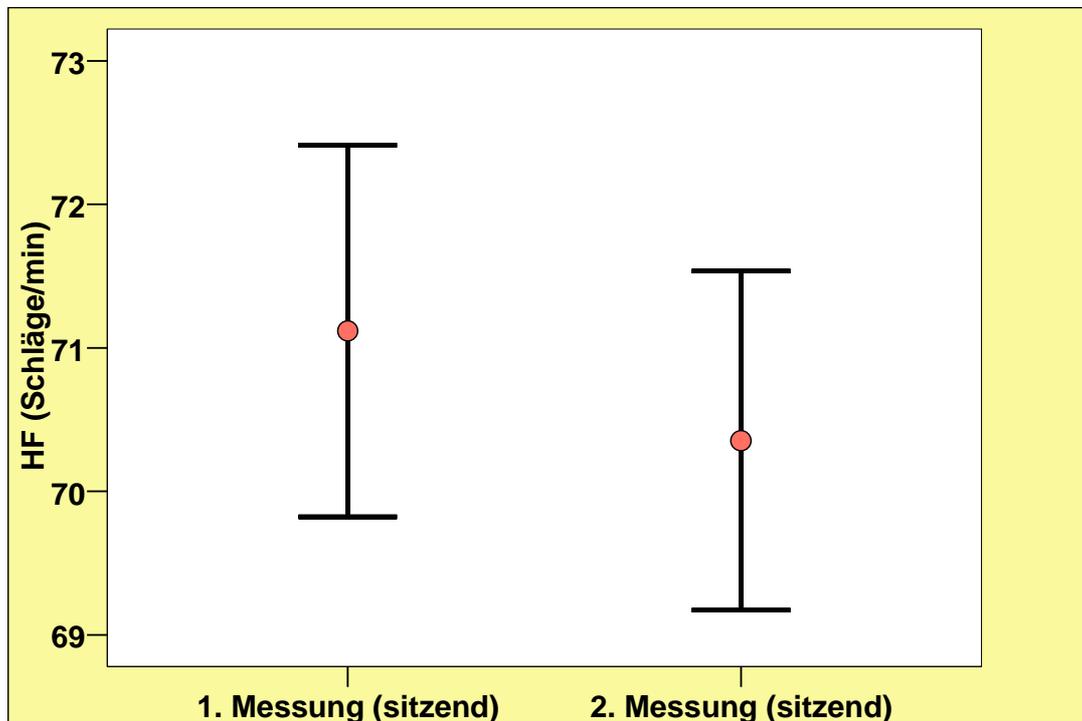


Abb. 5.2.3.a Herzfrequenz (sitzend) bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.2.3.a Herzfrequenz (sitzend) bei 1. und 2. Untersuchung

	1. Herzfrequenz (sitzend) [Schläge/min]	2. Herzfrequenz (sitzend) [Schläge/min]
n=34		
Mittelwert±SD	71±8	70±7
Standardfehler des Mittelwertes	1,3	1,2
Median	71,50	72,50
Minimum	58	54
Maximum	86	82
Perzentile		
25	65,50	65,75
50	71,50	72,50
75	76,50	74,00

Die Herzfrequenz im Sitzen betrug vor der Therapie im Mittel  $71 \pm 8$  Schläge/min und war bei der Zweiterhebung ohne wesentliche Unterschiede ( $71 \pm 8$  vs.  $70 \pm 7$  Schläge/min; t-Test für gepaarte Stichproben,  $p=0,585$ ).

## stehend

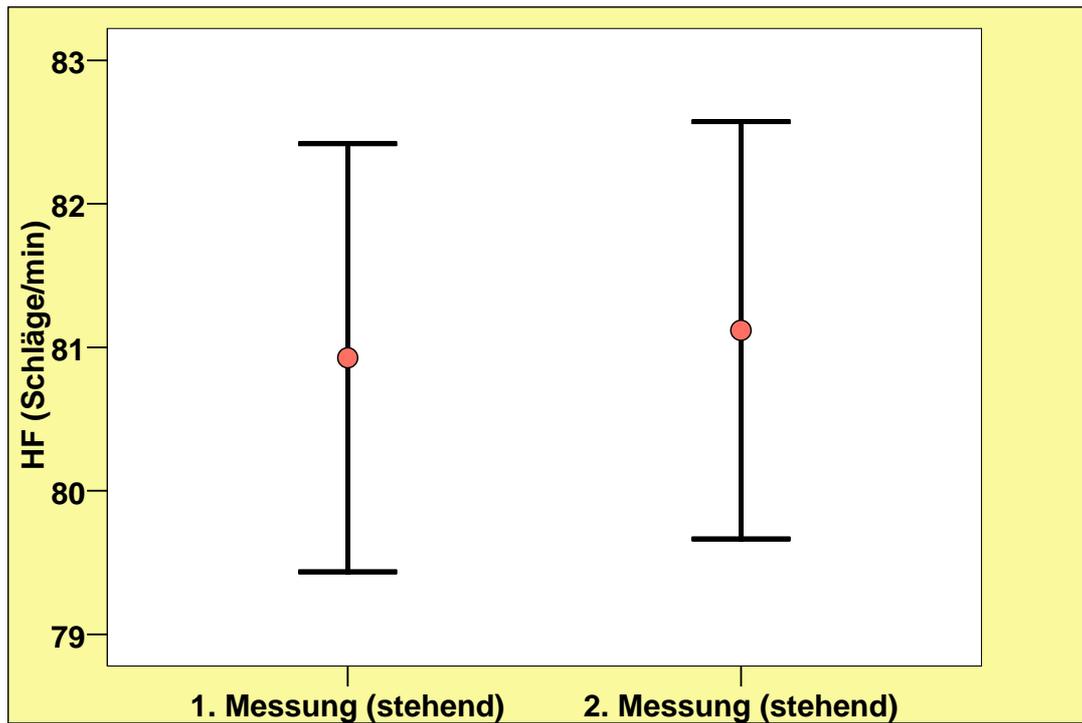


Abb. 5.2.3.b Herzfrequenz (stehend) bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.2.3.b Herzfrequenz (stehend) bei 1. und 2. Untersuchung

	1. Herzfrequenz (stehend) [Schläge/min]	2. Herzfrequenz (stehend) [Schläge/min]
n=34		
Mittelwert	81±9	81±8
Standardfehler des Mittelwertes	1,5	1,5
Median	81	83
Minimum	66	62
Maximum	98	94
Perzentile		
25	74	76
50	81	83
75	88	88

Im Stehen war die Herzfrequenz im Mittel 10 Schläge/min höher als im Sitzen, wobei sich zwischen der 1. und 2. Untersuchung keine signifikanten Unterschiede nachweisen ließen (81±9 vs. 81±8; t-Test für gepaarte Stichproben, p=0,916).

## liegend

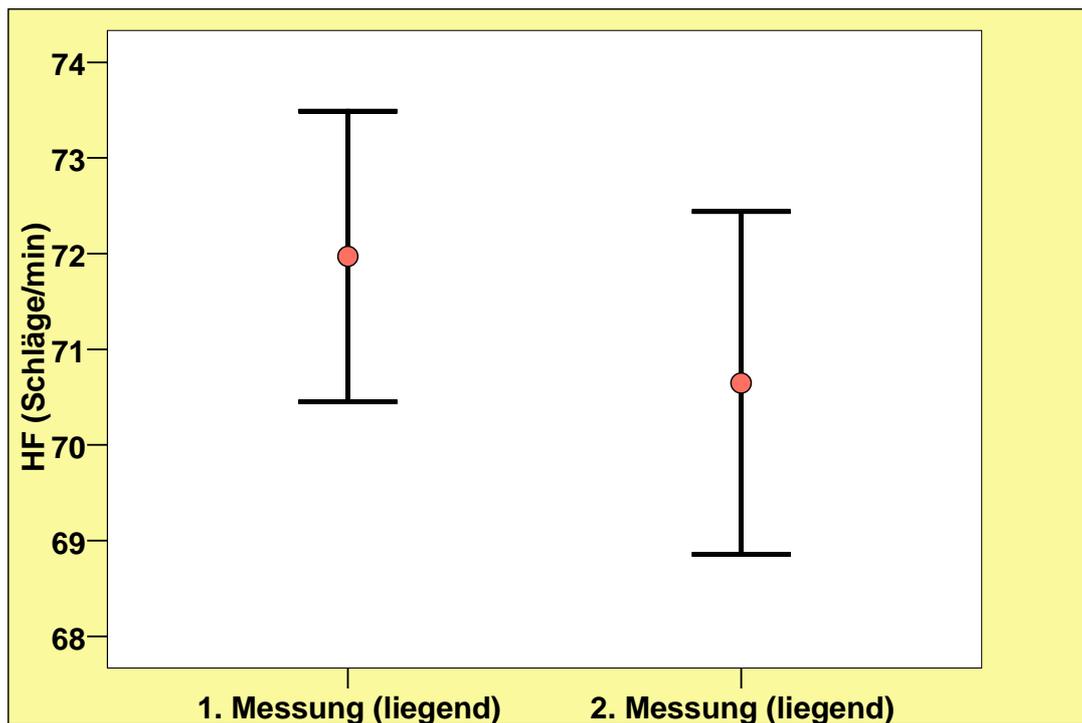


Abb. 5.2.3.c Herzfrequenz (liegend) bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.2.3.c Herzfrequenz (liegend) bei 1. und 2. Untersuchung

		1. Herzfrequenz (liegend) [Schläge/min]	2. Herzfrequenz (liegend) [Schläge/min]
N=34			
Mittelwert±SD		72±9	71±10
Standardfehler des Mittelwertes		1,5	1,8
Median		74	71
Minimum		53	52
Maximum		87	89
Perzentile	25	65	61
	50	74	71
	75	79	80

Im Liegen betrug die mittlere Herzfrequenz bei der Erstuntersuchung  $72 \pm 9$  Schläge/min, wobei bei der Nachuntersuchung mit  $71 \pm 10$  Schläge/min die mittlere Herzfrequenz ohne signifikante Unterschiede war (t-Test für gepaarte Stichproben,  $p=0,49$ ).

## 5.3 Ergometrie bei 1. und 2. Untersuchung

### 5.3.1 Belastungsphase

#### Systolischer Blutdruck

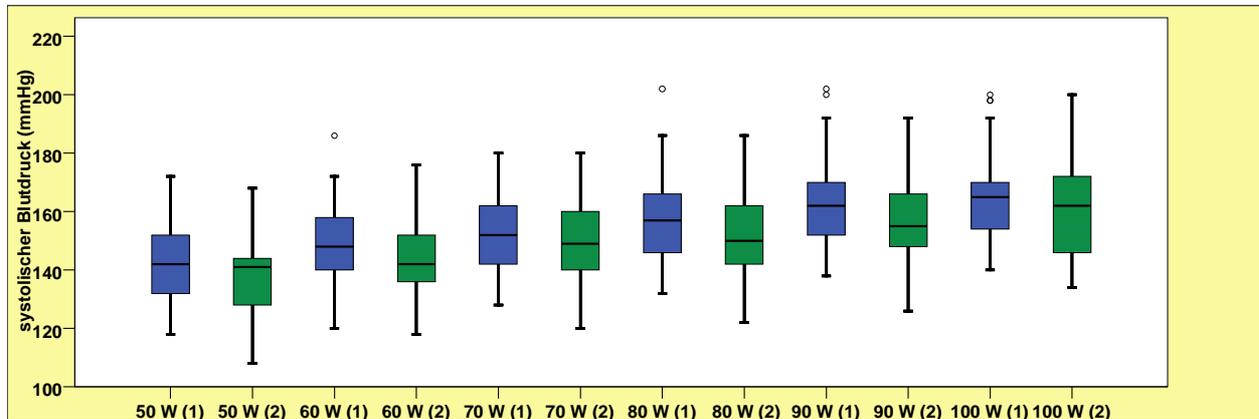


Abb. 5.3.1.a Systolischer Blutdruck unter Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.3.1.a Systolischer Blutdruck unter Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Messung [mmHg]	2. Messung [mmHg]	p (Wilcoxon-Test)
50 Watt (MW±SD; Median)	143±13; 142	139±13; 141	<b>0,081</b>
60 Watt (MW±SD; Median)	149±14; 148	144±14; 142	<b>0,008</b>
70 Watt (MW±SD; Median)	152±13; 152	149±16; 149	<b>0,074</b>
80 Watt (MW±SD; Median)	158±15; 157	152±17; 150	<b>0,012</b>
90 Watt (MW±SD; Median)	163±16; 162	156±17; 155	<b>&lt;0,001</b>
100 Watt (MW±SD; Median)	167±17; 165	162±18; 162	<b>0,001</b>

Es erfolgte bei allen Teilnehmern eine ergometrische Belastung von 50 – 100 Watt. Hierbei kam es bei der ersten Untersuchung zu einem kontinuierlichen Anstieg des systolischen Blutdrucks von im Mittel 143±13 (Median 142) mmHg bei 50 Watt auf 167±17 (Median 165) mmHg bei 100 Watt.

Bei der zweiten Untersuchung wurde ebenfalls ein kontinuierlicher Anstieg des systolischen Blutdrucks von 139±13 (Median 141) mmHg bei 50 Watt auf 162±18 (Median 162) mmHg bei 100 Watt nachgewiesen. Hierbei waren, wie der Abb. 5.3.1.a zu entnehmen ist, die mittleren und medianen Blutdruckwerte durchgehend niedriger als vor der Phase der Schokoladeneinnahme. Die mittlere Differenz betrug dabei bei 50 Watt bereits 4 mmHg und erreichte einen maximalen Wert bei 90 Watt, wo die mittlere Differenz mit 7 mmHg berechnet wurde.

Bei den statistischen Vergleichen wurden, wie in Tab. 5.3.1.a aufgeführt, zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten überwiegend signifikante Unterschiede berechnet, wobei die höchste Signifikanz bei 90 Watt erreicht wurde (163±16 vs. 156±17 mmHg; Wilcoxon-Test, p<0,001).

## Diastolischer Blutdruck

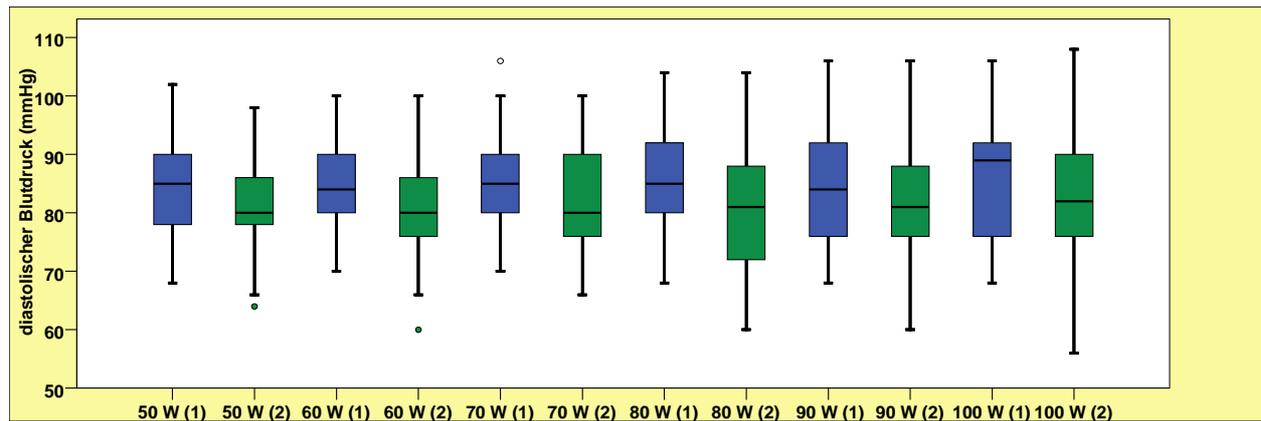


Abb. 5.3.1.b Diastolischer Blutdruck unter Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.3.1.b Diastolischer Blutdruck unter Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Messung [mmHg]	2. Messung [mmHg]	p (Wilcoxon-Test)
50 Watt (MW±SD; Median)	84± 9; 85	81± 9; 80	<b>0,004</b>
60 Watt (MW±SD; Median)	84± 8; 84	81± 9; 80	<b>0,007</b>
70 Watt (MW±SD; Median)	85± 9; 85	82±10; 80	<b>0,003</b>
80 Watt (MW±SD; Median)	85± 9; 85	82±11; 81	<b>0,005</b>
90 Watt (MW±SD; Median)	85±10; 84	83±10; 81	<b>0,101</b>
100 Watt (MW±SD; Median)	87±10; 89	83±11; 82	<b>0,011</b>

Hinsichtlich des diastolischen Blutdrucks wurde bei der ersten ergometrischen Untersuchung ein moderater Anstieg von 84±9 (Median 85) mmHg bei 50 Watt auf 87±10 (Median 89) mmHg bei 100 Watt dokumentiert.

Bei der zweiten Untersuchung zeigte sich ebenfalls ein geringer Anstieg des mittleren diastolischen Blutdrucks von 81±9 (Median 80) mmHg bei 50 Watt auf 83±11 (Median 82) mmHg bei 100 Watt.

Beim Vergleich der diastolischen Blutdruckwerte zu den beiden Untersuchungszeitpunkten zeigten sich durchgehend niedrigere diastolische Blutdruckwerte nach der Schokoladeneinnahme (Abb. + Tab. 5.3.1b). Die Differenz

betrug je nach Belastungsstufe zwischen 2-4 mmHg und war bis auf die 90 Watt-Belastungsstufe signifikant, wie der Tabelle 5.3.1b zu entnehmen ist.

## Herzfrequenz

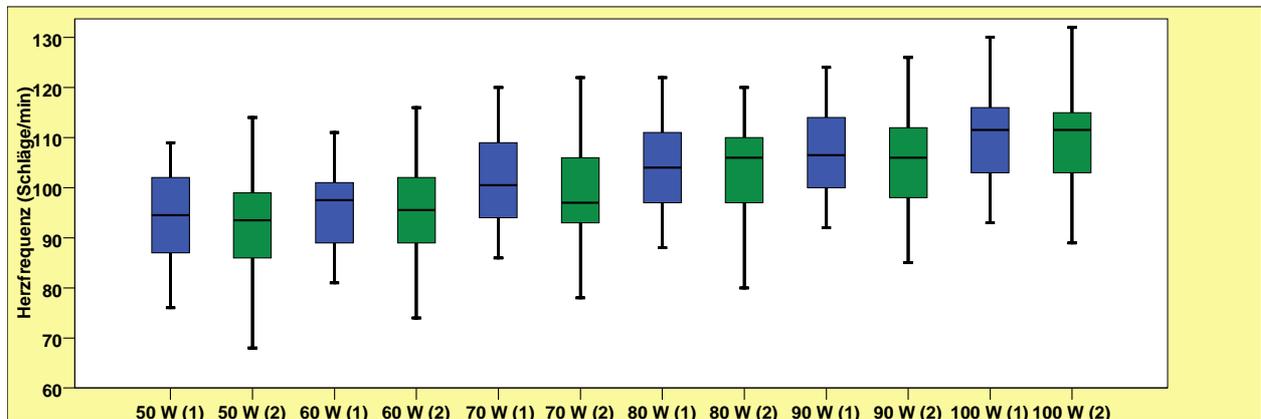


Abb. 5.3.1.c Herzfrequenz unter Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.3.1.c Herzfrequenz unter Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Messung [Schläge/min]	2. Messung [Schläge/min]	p (Wilcoxon-Test)
50 Watt (MW±SD; Median)	94±11; 95	92± 9; 94	<b>0,313</b>
60 Watt (MW±SD; Median)	96± 9; 98	95± 9; 96	<b>0,431</b>
70 Watt (MW±SD; Median)	102± 9; 101	99± 9; 97	<b>0,133</b>
80 Watt (MW±SD; Median)	104± 9; 104	103± 9; 106	<b>0,773</b>
90 Watt (MW±SD; Median)	107± 9; 107	103±18; 106	<b>0,329</b>
100 Watt (MW±SD; Median)	111± 9; 112	110±10; 112	<b>0,869</b>

Unter ergometrischer Belastung wurde bei beiden Untersuchungen ein stetiger Anstieg der Herzfrequenz auf maximal 111±9 (Median 112) Schläge pro Minute bei der Erstuntersuchung bzw. 110±10 (Median 112) Schläge pro Minute bei der Zweituntersuchung gemessen.

Beim Vergleich zwischen den beiden Untersuchungen ließen sich allenfalls geringe Unterschiede nachweisen, wobei bei der Zweituntersuchung diskret niedrigere Herzfrequenzen auftraten. In den statistischen Tests wurden jedoch hinsichtlich der geringen Unterschiede keine Signifikanzen berechnet (Tab. 5.3.1.c), so dass sich kein Anhalt für einen Einfluss der Testsubstanz auf die Herzfrequenz ergibt.

## 5.3.2 Nachbelastungsphase

### Systolischer Blutdruck

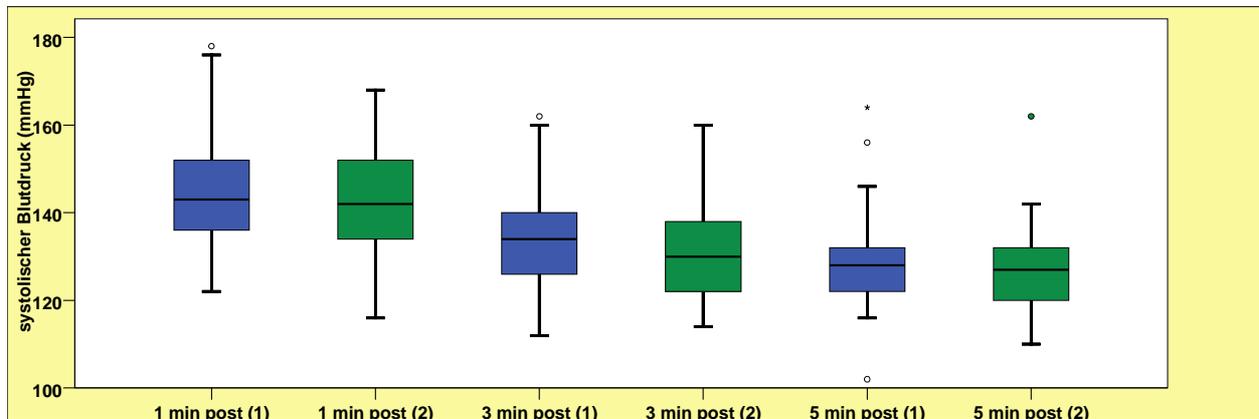


Abb. 5.3.2.a Systolischer Blutdruck nach Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.3.2.a Systolischer Blutdruck nach Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Messung [mmHg]	2. Messung [mmHg]	p (Wilcoxon-Test)
nach 1min (MW±SD; Median)	146±14; 143	142±13; 142	<b>0,037</b>
nach 3min (MW±SD; Median)	135±12; 134	132±12; 130	<b>0,024</b>
nach 5min (MW±SD; Median)	128±11; 128	127±11; 127	<b>0,610</b>

Die bereits in Kap. 5.3.1 beschriebenen Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten bezüglich der systolischen Blutdruckwerte ließen sich auch in der Nachbelastungsphase nachweisen:

Bei der 1. Untersuchung betrug der mittlere systolische Blutdruck  $146 \pm 14$  (Median 143) mmHg und fiel auf  $128 \pm 11$  (Median 128) mmHg nach 5 min ab. Im Vergleich hierzu waren bei der 2. Untersuchung die mittleren systolischen Blutdruckwerte nach 1 und 3 min durchschnittlich 3 mmHg niedriger, wobei innerhalb der ersten 3 min signifikante Unterschiede bestanden (Tab. 5.3.2.a).

## Diastolischer Blutdruck

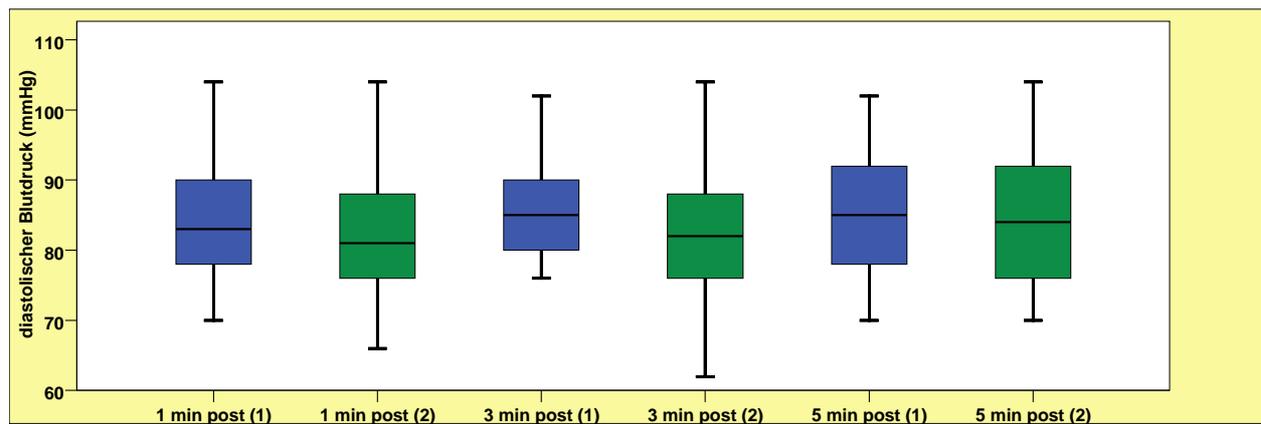


Abb. 5.3.2.b Diastolischer Blutdruck nach Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.3.2.b Diastolischer Blutdruck nach Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Messung [mmHg]	2. Messung [mmHg]	p (Wilcoxon-Test)
nach 1min (MW±SD; Median)	84±8; 83	82±9; 81	<b>0,133</b>
nach 3min (MW±SD; Median)	86±8; 85	83±9; 82	<b>0,003</b>
nach 5min (MW±SD; Median)	85±9; 85	84±9; 84	<b>0,127</b>

Der diastolische Blutdruck zeigte in der Nachbelastungsphase, wie bereits in der Belastungsphase beschrieben, Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten:

Während der mittlere diastolische Blutdruck bei der ersten Untersuchung nach 1 min 84±8 (Median 83) mmHg betrug und nach 5 min auf 85±9 (Median 85) mmHg diskret anstieg, waren die diastolischen Blutdruckwerte bei der Zweituntersuchung im Mittel 1 – 3 mmHg niedriger. Im Wilcoxon-Test konnte hinsichtlich dieser Unterschiede in der Nachbelastungsphase nach 3 min ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden (86±8 vs. 83±9 mmHg; p=0,003), während in den andern Vergleichen lediglich ein nicht-signifikanter Trend berechnet wurde (Tab. 5.3.2.b).

## Herzfrequenz

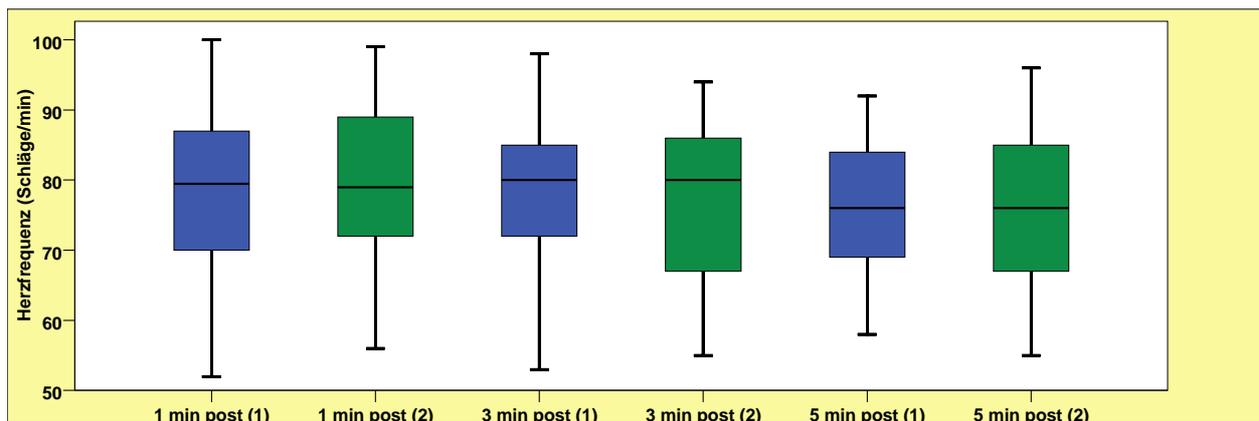


Abb. 5.3.2.c Herzfrequenz nach Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.3.2.c Herzfrequenz nach Belastung bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Messung [Schläge/min]	2. Messung [Schläge/min]	p (Wilcoxon-Test)
nach 1min (MW±SD; Median)	78±12; 80	79±12; 79	<b>0,674</b>
nach 3min (MW±SD; Median)	78±11; 80	77±11; 80	<b>0,663</b>
nach 5min (MW±SD; Median)	77±10; 76	75±11; 76	<b>0,449</b>

Die Herzfrequenz fiel bei der ersten Untersuchung in der Nachbelastungsphase auf  $78 \pm 12$  Schläge/min nach 1 min ab und war nach 5 min mit  $77 \pm 10$  Schläge/min ohne wesentlichen Unterschied.

Im Vergleich hierzu war die Herzfrequenz bei der zweiten Untersuchung nach 1 min mit  $79 \pm 12$  Schläge/min unwesentlich verändert, fiel jedoch innerhalb der ersten 5 min nach Belastung etwas stärker ab als bei der Erstuntersuchung, wobei sich diesbezüglich kein signifikanter Unterschied feststellen ließ (s. Tabelle 5.3.2.c).

## 5.4 Laborparameter bei 1. und 2. Untersuchung

### 5.4.1 Blutbild

#### Leukozyten

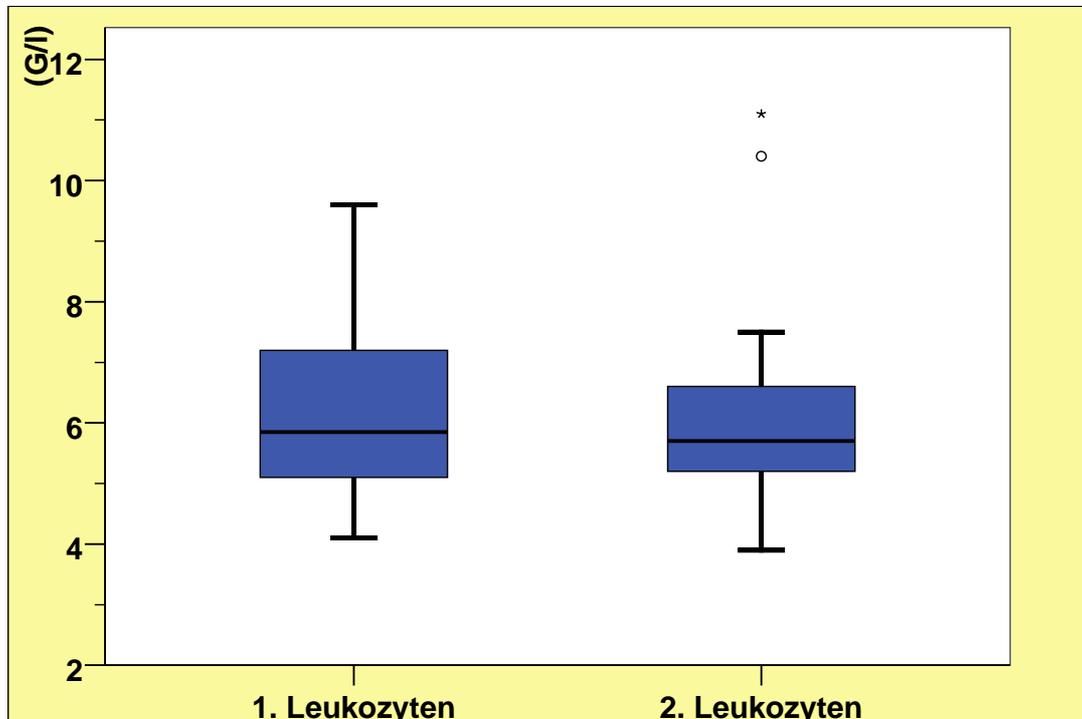


Abb. 5.4.1.a Leukozyten bei 1. und 2. Untersuchung

Abb. 5.4.1.a Leukozyten bei 1. und 2. Untersuchung

n=34		1. Leukozyten [G/l]	2. Leukozyten [G/l]
Mittelwert±SD		6,2±1,3	6,1±1,5
Median		5,9	5,7
Minimum		4,1	3,9
Maximum		9,6	11,1
Perzentile	25	5,1	5,2
	50	5,9	5,7
	75	7,2	6,6

Bei der 1. Untersuchung wurde im Mittel eine Leukozytenzahl von  $6,2 \pm 1,3$  G/l nachgewiesen, die sich im Verlauf nur geringfügig und nicht signifikant auf  $6,1 \pm 1,5$  G/l änderte (Wilcoxon-Test;  $p=0,821$ ). Es ergibt sich somit kein Anhalt für einen signifikanten Einfluss der Schokoladeneinnahme auf die Leukozyten.

## Hämoglobin

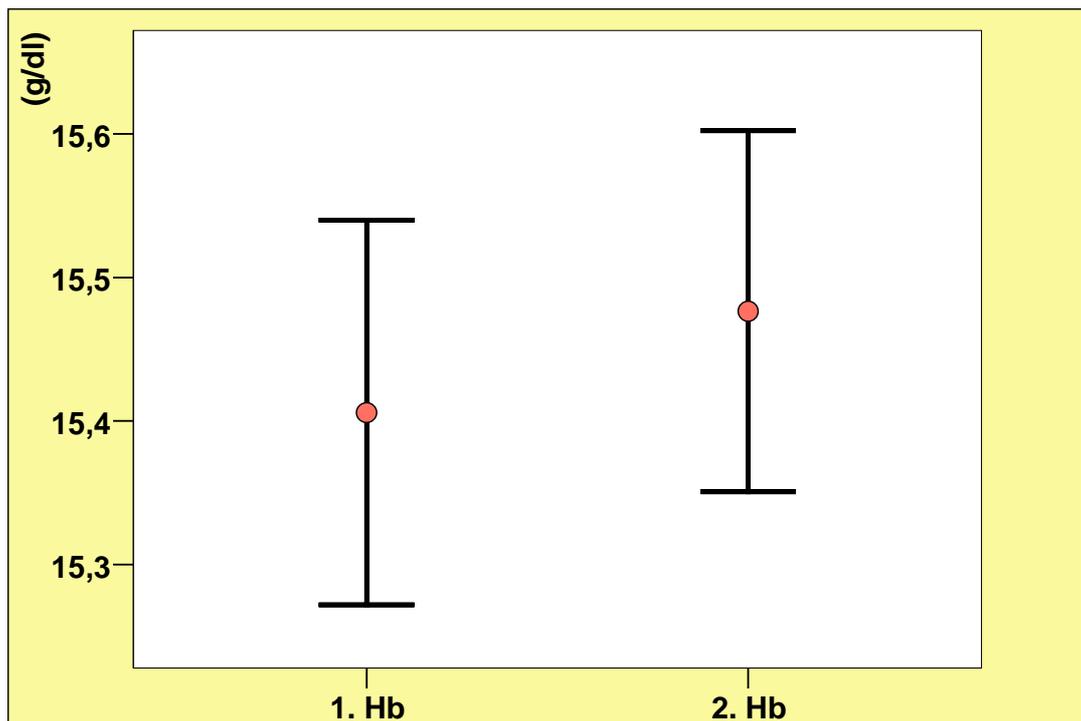


Abb. 5.4.1.b Hb bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.1.b Hb bei 1. und 2. Untersuchung

n=34		1. Hb [g/dl]	2. Hb [g/dl]
Mittelwert±SD		15,4±0,8	15,5±0,7
Standardfehler des Mittelwertes		0,13	0,13
Median		15,3	15,6
Minimum		13,2	13,4
Maximum		17,2	16,9
Perzentile	25	15,0	14,9
	50	15,3	15,6
	75	16,0	15,9

Bei den Probanden wurden im Mittel bei der 1. Erhebung normale Hämoglobinwerte von  $15,4 \pm 0,8$  g/dl gemessen. Der minimale Hb betrug hierbei 13,2 g/dl, das Maximum 17,2 g/dl, wobei  $\frac{1}{4}$  der Messwerte den oberen Referenzbereich von 16 g/dl überschritten.

Beim Follow-up wurden im Vergleich zur Erstuntersuchung annähernd gleiche Hb-Werte ohne statistisch signifikante Unterschiede erhoben: Der mittlere Hb lag bei  $15,5 \pm 0,7$  g/dl mit einer Spanne zwischen 13,4 g/l – 16,9 g/dl (t-Test für gepaarte Stichproben;  $p=0,346$ ).

## Hämatokrit

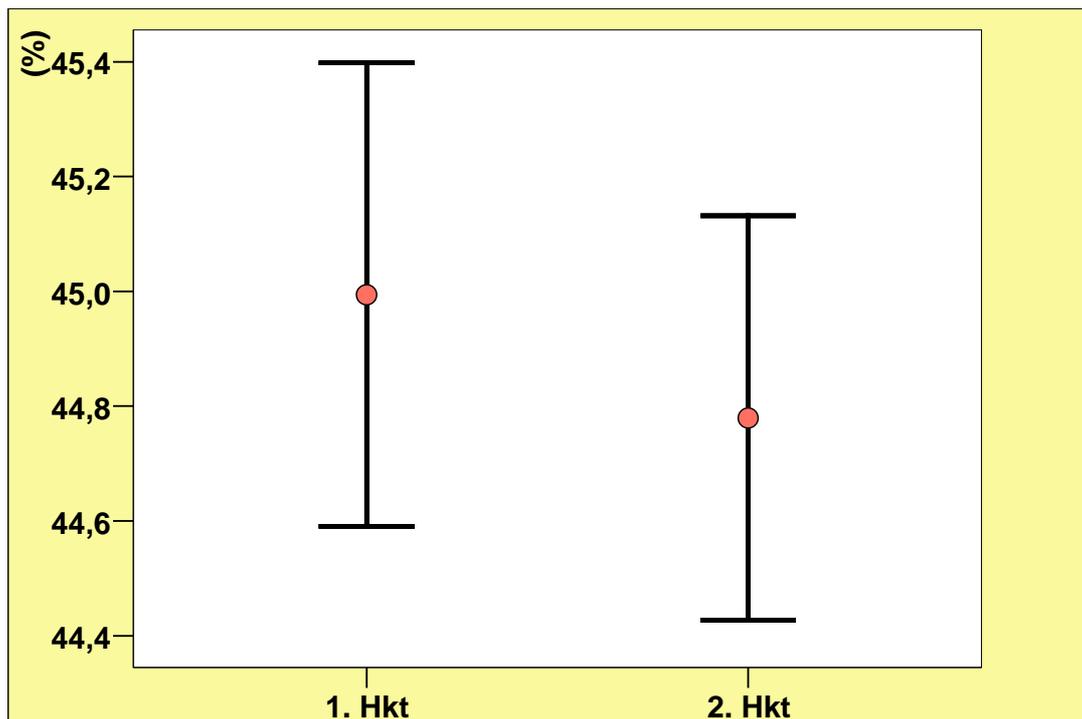


Abb. 5.4.1.c Hämatokrit bei 1. und 2. Untersuchung

Tabb. 5.4.1.c Hämatokrit bei 1. und 2. Untersuchung

n=34		1. Hkt [%]	2. Hkt [%]
Mittelwert±SD		45,0±2,4	44,8±2,1
Standardfehler des Mittelwertes		0,40	0,35
Median		45,4	44,8
Minimum		39,3	40,7
Maximum		51,1	48,6
Perzentile	25	43,2	43,9
	50	45,4	44,8
	75	46,5	46,1

Die Einnahme der Schokolade hatte keinen signifikanten Einfluss auf den Hämatokrit während des Beobachtungszeitraums: Während der Hkt initial mit  $45,0 \pm 2,4$  (%) gemessen wurde, wich der Hkt bei der Nachuntersuchung mit  $44,8 \pm 2,1$  (%) nur gering vom Ausgangswert ab (t-Test für gepaarte Stichproben;  $p=0,457$ ).

## MCV

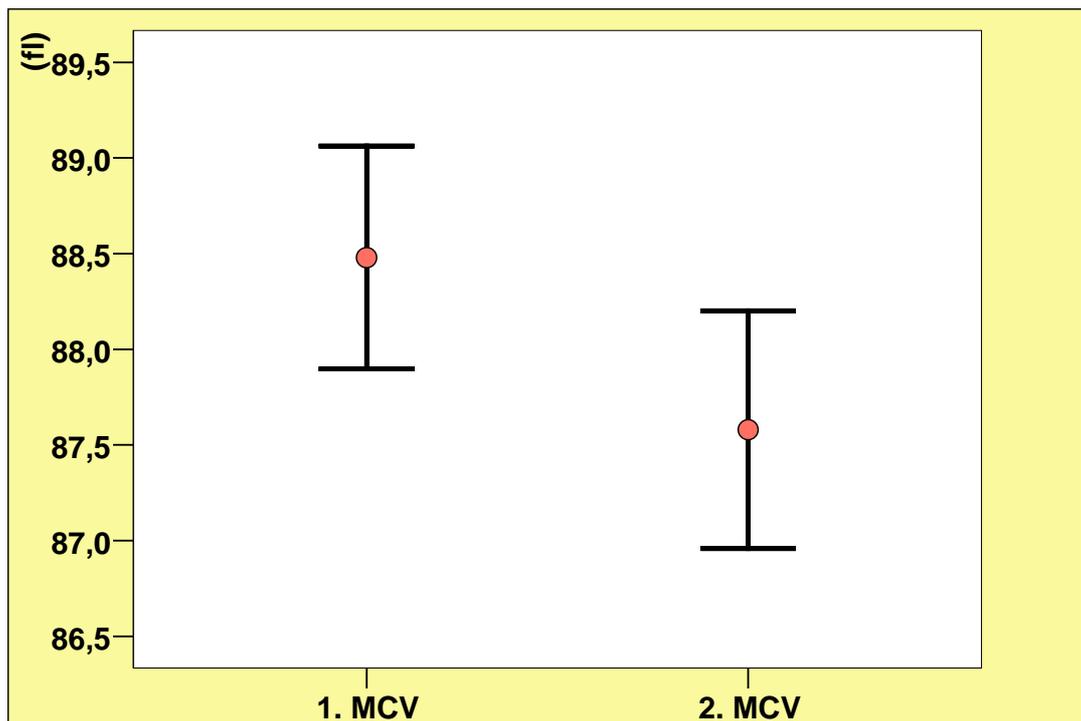


Abb. 5.4.1.d MCV bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.1.d MCV bei 1. und 2. Untersuchung

n=34		1. MCV [fl]	2. MCV [fl]
Mittelwert±SD		88,5±3,4	87,6±3,6
Standardfehler des Mittelwertes		0,6	0,6
Median		88,7	87,4
Minimum		80,5	78,8
Maximum		94,4	94,0
Perzentile	25	85,8	85,9
	50	88,7	87,4
	75	91,7	90,4

Das MCV lag bei der Ersterhebung zwischen 80,5 – 94,4 fl bei einem Mittelwert von 88,5±3,4 fl, wobei die obere Grenze des Referenzbereichs von 94 fl lediglich von einem Probanden überschritten wurde. Im Verlauf konnte ein signifikanter Abfall des MCV auf 87,6±3,6 fl registriert werden, wobei alle Messungen im Referenzbereich lagen (t-Test für gepaarte Stichproben, p=0,008).

## Thrombozyten

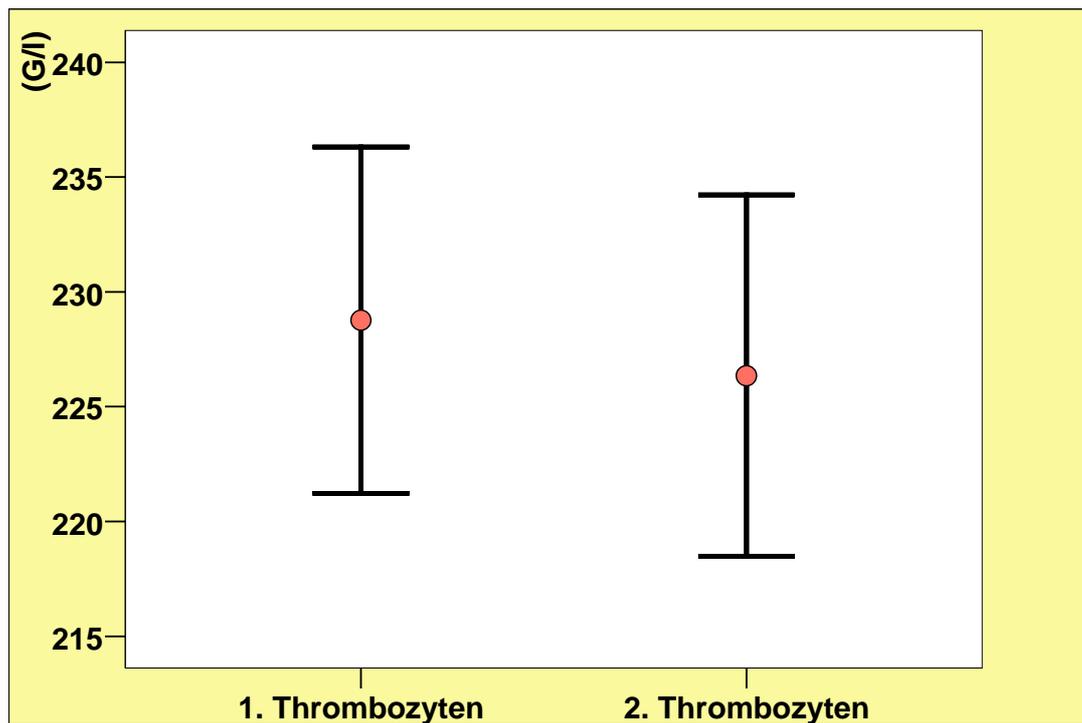


Abb. 5.4.1.e Thrombozyten bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.1.e Thrombozyten bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Thrombozyten [G/l]	2. Thrombozyten [G/l]
Mittelwert±SD	229±44	226±46
Standardfehler des Mittelwertes	7,544	7,872
Median	226,50	227,00
Minimum	153	159
Maximum	346	353
Perzentile		
25	198	187
50	227	227
75	249	252

Bei den Thrombozyten fiel eine weite Spanne auf, die bei der 1. Messung von 153 – 346 G/l und bei der 2. Messung von 159 – 353 G/l reichte. Der Mittelwert betrug bei der 1. Messung 229±44 G/l und war bei der 2. Messung mit 226±46 G/l ohne signifikanten Unterschied dazu (t-Test für gepaarte Stichproben; p=0,498).

## Mittleres Plättchenvolumen (MPV)

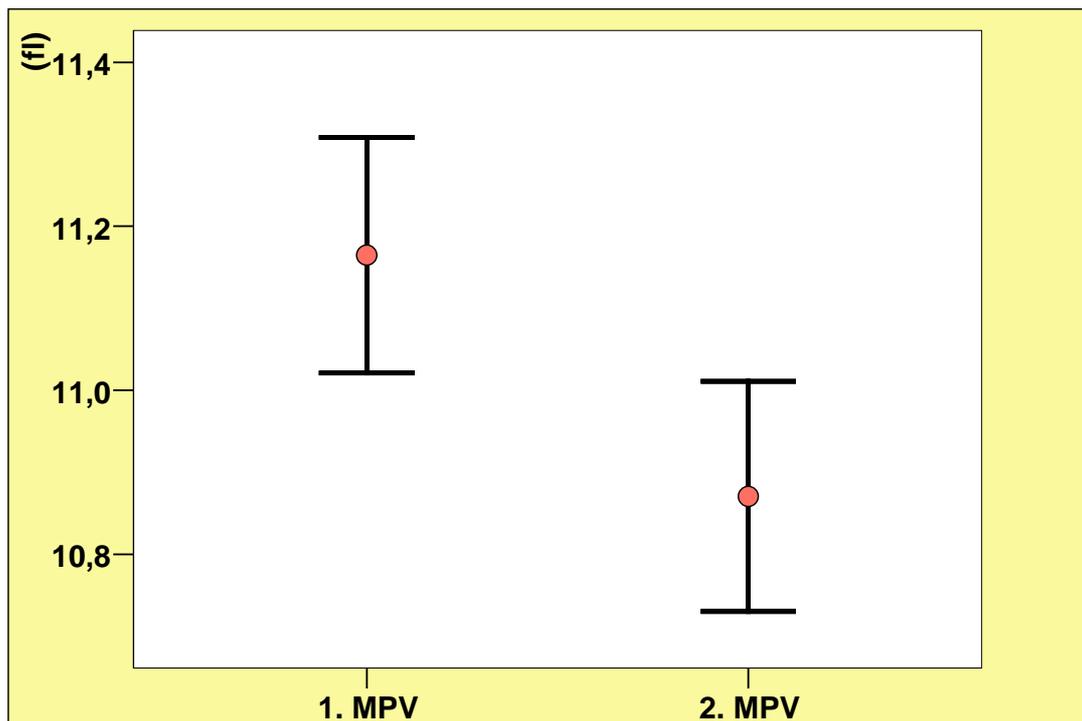


Abb. 5.4.1.f MPV bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.1.f MPV bei 1. und 2. Untersuchung

n=34		1. MPV [fl]	2. MPV [fl]
Mittelwert±SD		11,2±0,8	10,9±0,8
Standardfehler des Mittelwertes		0,14	0,14
Median		11,2	10,9
Minimum		9,5	9,4
Maximum		13,1	13,0
Perzentile	25	10,7	10,4
	50	11,2	10,9
	75	11,7	11,4

Das MPV war bei der ersten Untersuchung mit  $11,2 \pm 0,8$  fl deutlich oberhalb des Referenzbereichs von 10,4 fl, was einen Anhalt für eine ausgeprägte Thrombozytenaktivität gibt. Bei der weiteren Analyse fiel auf, dass bereits die 25. Perzentile bei 10,7 fl lag, so dass die deutliche Mehrheit der Probanden einen aktivierten Thrombozytenstatus aufwies.

Im Verlauf konnte ein signifikanter Abfall des MPV auf  $10,9 \pm 0,8$  fl beobachtet werden, wobei hinsichtlich dieser Veränderung eine hohe statistische Signifikanz berechnet wurde (t-Test für gepaarte Stichproben,  $p=0,002$ ).

## 5.4.2 Lipidstatus

### Cholesterin

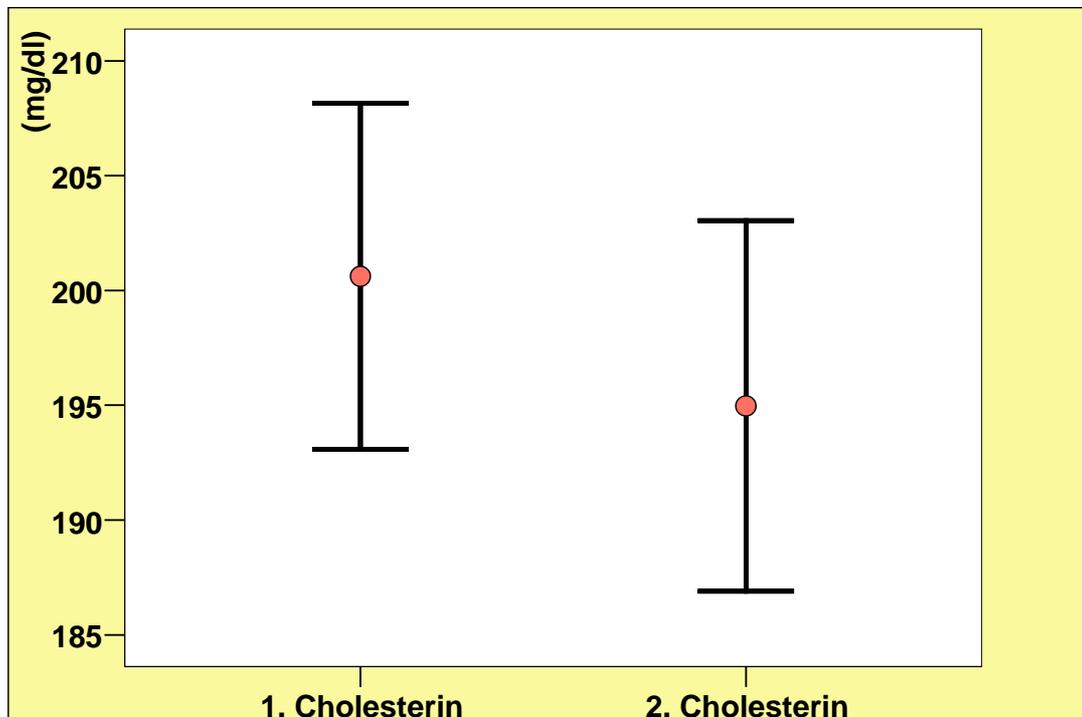


Abb. 5.4.2.a Cholesterin bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.2.a Cholesterin bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Cholesterin [mg/dl]	2. Cholesterin [mg/dl]
Mittelwert±SD	200±44	195±47
Standardfehler des Mittelwertes	7,5	8,1
Median	198	197
Minimum	133	119
Maximum	288	310
Perzentile		
25	168	156
50	198	197
75	236	229

Die Probanden zeigten große Unterschiede hinsichtlich des Gesamtcholesterins, das initial im Mittel  $200 \pm 44$  mg/dl betrug, wobei Einzelwerte zwischen 133 – 288 mg/dl gemessen wurden.

Im Verlauf kam es unter der Einnahme von Schokolade zu einem diskreten Abfall auf  $195 \pm 47$  mg/dl, wobei diesbezüglich ein Trend, jedoch keine statistische Signifikanz ermittelt werden konnte (t-Test bei gepaarten Stichproben,  $p=0,107$ ). Bei Betrachtung der Einzelverläufe lässt sich eine Zunahme der Spanne beschreiben, die bei der Zweitmessung von 119 – 310 mg/dl reichte.

## HDL und LDL

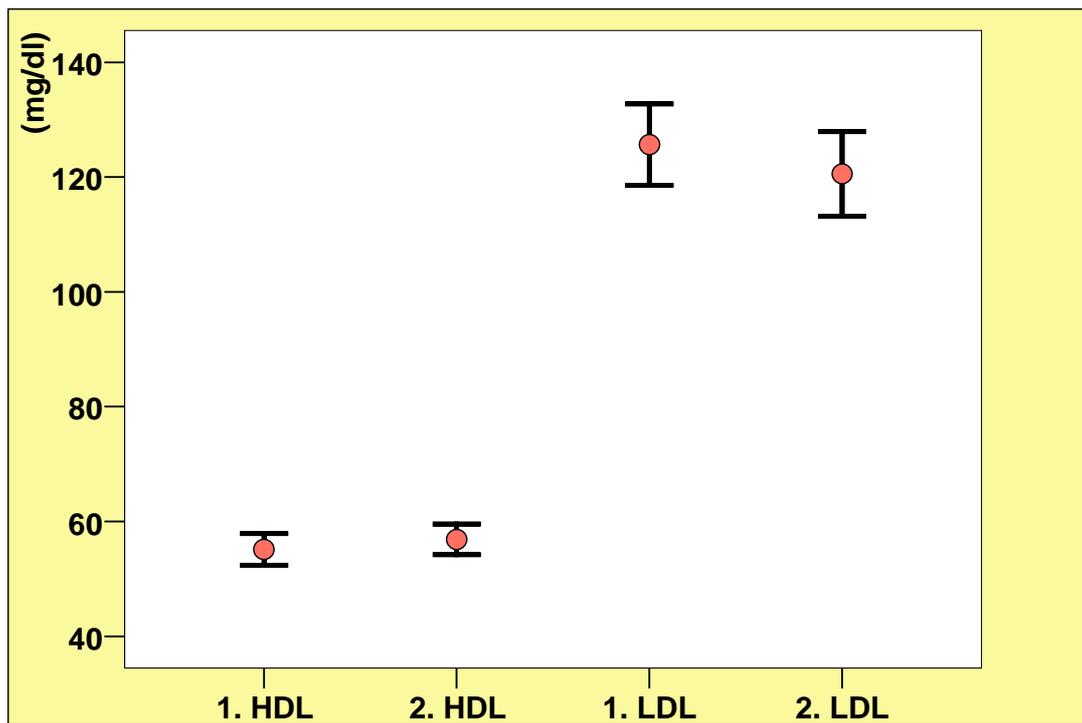


Abb. 5.4.2.b HDL und LDL bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.2.b HDL und LDL bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. HDL [mg/dl]	2. HDL [mg/dl]	1. LDL [mg/dl]	2. LDL [mg/dl]
Mittelwert±SD	55±16	57±16	126±41	121±43
Standardfehler des Mittelwertes	2,8	2,7	7,1	7,4
Median	56	57	118	113
Minimum	29	32	61	54
Maximum	98	94	211	224
Perzentile				
25	41	46	97	86
50	56	57	118	113
75	66	67	153	152

Das HDL des Studienkollektivs wies bei der Erstuntersuchung einen Mittelwert von  $55 \pm 16$  mg/dl auf, wobei eine große Varianz der Messwerte gesehen wurde und HDL-Werte zwischen 29 - 98 mg/dl auftraten.

Bei der Zweitmessung betrug der Mittelwert des Gesamtkollektivs  $57 \pm 16$  mg/dl bei Einzelergebnissen von 32 – 94 mg/dl. Bezüglich der moderaten HDL-Erhöhung konnte keine Signifikanz ermittelt werden (t-Test bei gepaarten Stichproben,  $p=0,181$ ).

Das LDL wies sehr unterschiedliche Konzentrationen auf, die zwischen 61 – 211 mg/dl lagen, so dass das Maximum ca. 3,5-fach höher war als das Minimum. Beim Follow-up

wurde im Mittel ein tendenziell niedrigeres LDL gemessen, wobei hierfür zwar ein Trend, jedoch keine statistische Signifikanz berechnet wurde ( $126 \pm 41$  mg/dl vs.  $121 \pm 43$  mg/dl; t-Test für gepaarte Stichproben,  $p=0,087$ ).

### Triglyceride

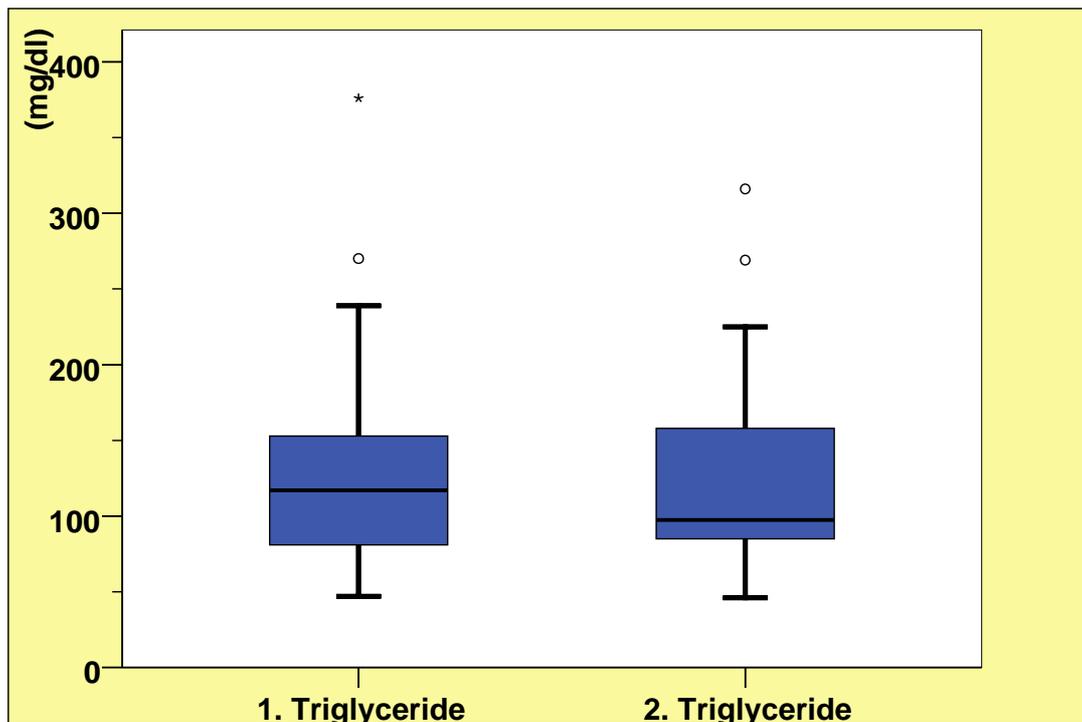


Abb. 5.4.2.c Triglyceride bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.2.c Triglyceride bei 1. und 2. Untersuchung

n=34		1. Triglyceride [mg/dl]	2. Triglyceride [mg/dl]
Mittelwert $\pm$ SD		$130 \pm 71$	$121 \pm 63$
Median		117	98
Minimum		47	46
Maximum		376	316
Perzentile	25	79	85
	50	117	98
	75	154	160

Vor Beginn der Studie wurde eine mittlere Triglyceridkonzentration von  $130 \pm 71$  mg/dl gemessen. Hierbei wurde der Referenzbereich, der zwischen 70 – 150 mg/dl lag, von 22% der Probanden unter- bzw. von 27% der Probanden überschritten.

Im Verlauf wurde ein Absinken der Triglyceridkonzentration auf im Mittel  $121 \pm 63$  mg/dl beobachtet, wobei ebenfalls ein Rückgang der maximalen Triglyceridkonzentration von

initial 376 mg/dl auf 316 mg/dl gesichert werden konnte. Im Wilcoxon-Test wurde hinsichtlich des beschriebenen Verlaufs ein Trend, jedoch keine statistische Signifikanz berechnet ( $p=0,194$ ).

### 5.4.3 Glucosestoffwechsel

#### Serumglucose

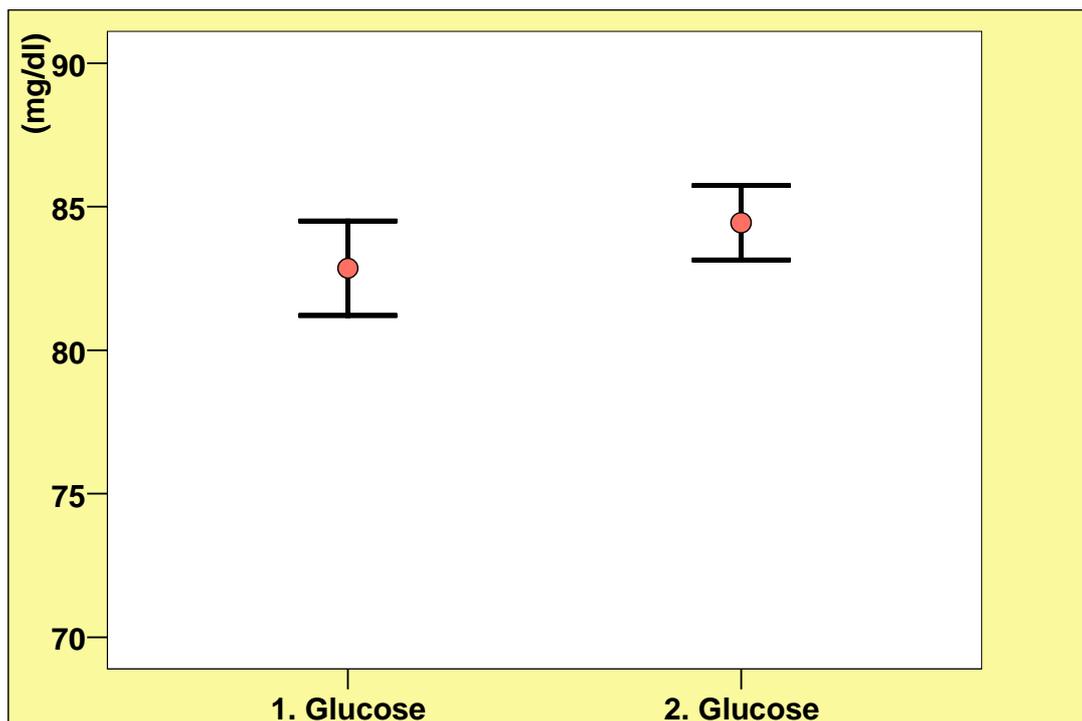


Abb. 5.4.3.a Glucose bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.3.a Glucose bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Glucose	2. Glucose
Mittelwert±SD	83±10	84±8
Standardfehler des Mittelwertes	1,6	1,3
Median	83	84
Minimum	58	65
Maximum	102	101
Perzentile		
25	77	80
50	83	84
75	89	90

Die Serumglucose der Probanden wurde zwischen 58 – 102 mg/dl gemessen, was Anhalt für einen unauffälligen Glucosestoffwechsel ist. Im Verlauf wurde keine wesentliche Änderung des Blutzuckers festgestellt (83±10 vs. 84±8 mg/dl; t-Test für gepaarte Stichproben,  $p=0,29$ ).

## HBA1c

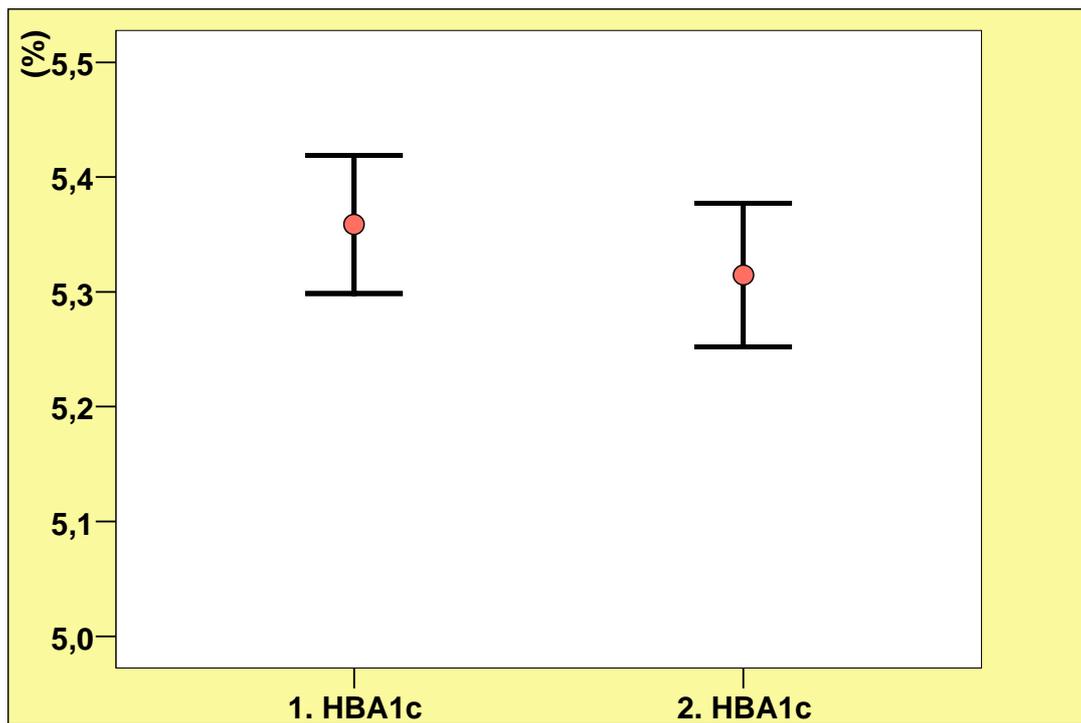


Abb. 5.4.3.b HBA1c bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.3.b HBA1c bei 1. und 2. Untersuchung

n=34		1. HBA1c [%]	2. HBA1c [%]
Mittelwert±SD		5,4±0,4	5,3±0,4
Standardfehler des Mittelwertes		0,06	0,06
Median		5,3	5,3
Minimum		4,6	4,6
Maximum		6,0	6,0
Perzentile	25	5,1	5,1
	50	5,3	5,3
	75	5,7	5,6

Weder vor noch nach Schokoladeneinnahme wurden pathologische HBA1c-Werte gemessen. Insgesamt ergab sich bei HBA1c-Werten zwischen jeweils 4,6 - 6,0 mg/dl kein Hinweis auf eine Veränderung des Glucosestoffwechsels (5,4±0,4 vs. 5,3±0,4 mg/dl; t-Test bei gepaarten Stichproben, p=0,246).

## 5.4.4 Harnsäure

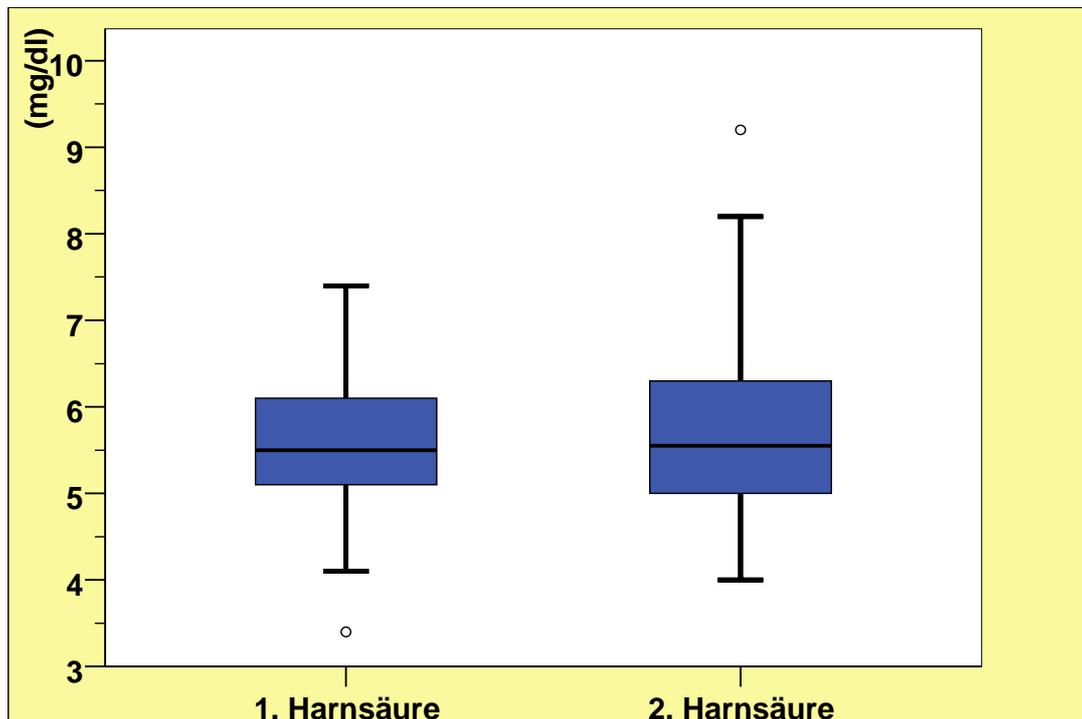


Abb. 5.4.4.a Harnsäure bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.4.a Harnsäure bei 1. und 2. Untersuchung

n=34		1. Harnsäure [mg/dl]	2. Harnsäure [mg/dl]
Mittelwert±SD		5,6±0,9	5,7±1,1
Median		5,5	5,6
Minimum		3,4	4,0
Maximum		7,4	9,2
Perzentile	25	5,1	5,0
	50	5,5	5,6
	75	6,1	6,3

Die Harnsäure betrug bei der Erstuntersuchung im Mittel  $5,6 \pm 0,9$  mg/dl und war beim Follow-up mit  $5,7 \pm 1,1$  mg/dl unwesentlich verändert, so dass im Wilcoxon-Test kein signifikanter Unterschied berechnet wurde ( $p=0,666$ ). Bei genauerer Analyse der Lagemaße fällt auf, dass auch die berechneten Quartile annähernd gleich waren, so dass sich insgesamt kein Anhalt für einen Einfluss der Untersuchung auf den Harnsäurestatus ergibt.

## 5.4.5 Retentionswerte

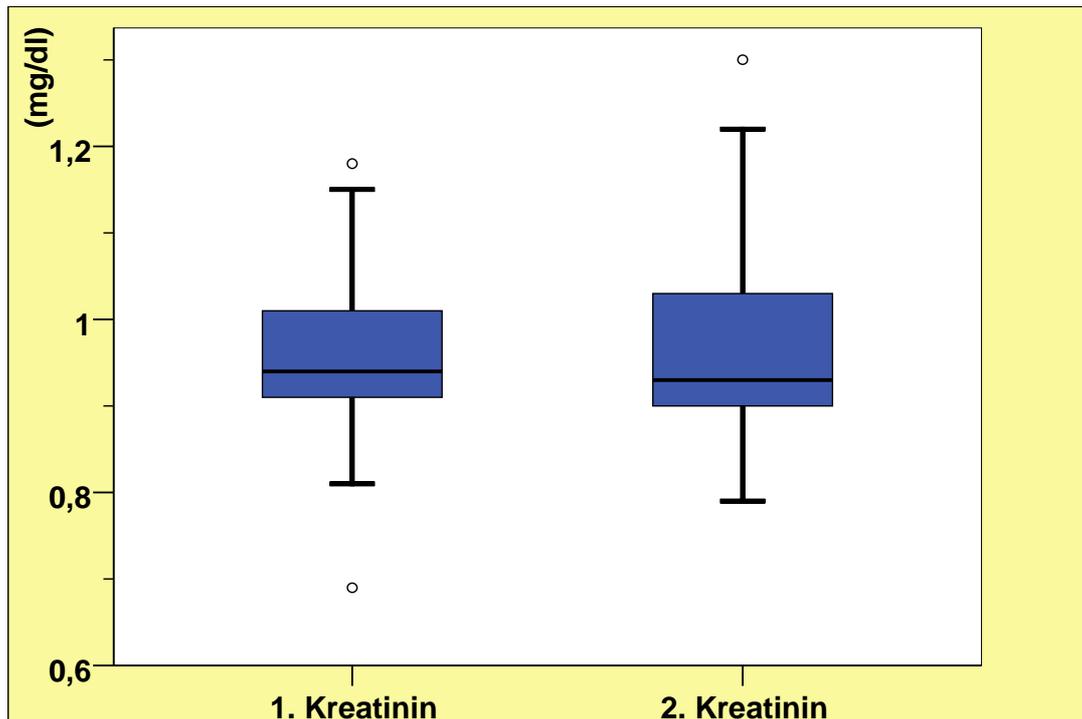


Abb. 5.4.5.a Retentionswerte bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.5.a Retentionswerte bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Kreatinin [mg/dl]	2. Kreatinin [mg/dl]	1. Harnstoff [mg/dl]	2. Harnstoff [mg/dl]
Mittelwert±SD	1,0±0,1	1,0±0,1	34±8	30±7
Standardfehler des Mittelwertes	0,02	0,02	1,3	1,2
Median	0,9	0,9	33	30
Minimum	0,7	0,8	22	21
Maximum	1,2	1,3	53	47
Perzentile				
25	0,9	0,9	29	24
50	0,9	0,9	33	30
75	1,0	1,0	37	35

Das Kreatinin wurde bei beiden Messungen mit jeweils  $1,0 \pm 0,1$  mg/dl bestimmt und war somit ohne Unterschied (Wilcoxon-Test,  $p=0,305$ ). Im Gegensatz hierzu fiel die Messung des Harnstoffs bei der Zweituntersuchung im Mittel niedriger aus, wobei sich bezüglich dieses eher moderaten Unterschiedes eine statistische Signifikanz ermitteln ließ ( $34 \pm 8$  vs.  $30 \pm 7$  mg/dl; t-Test bei gepaarten Stichproben,  $p=0,004$ ).

## 5.4.6 Leberwerte

### γ-GT

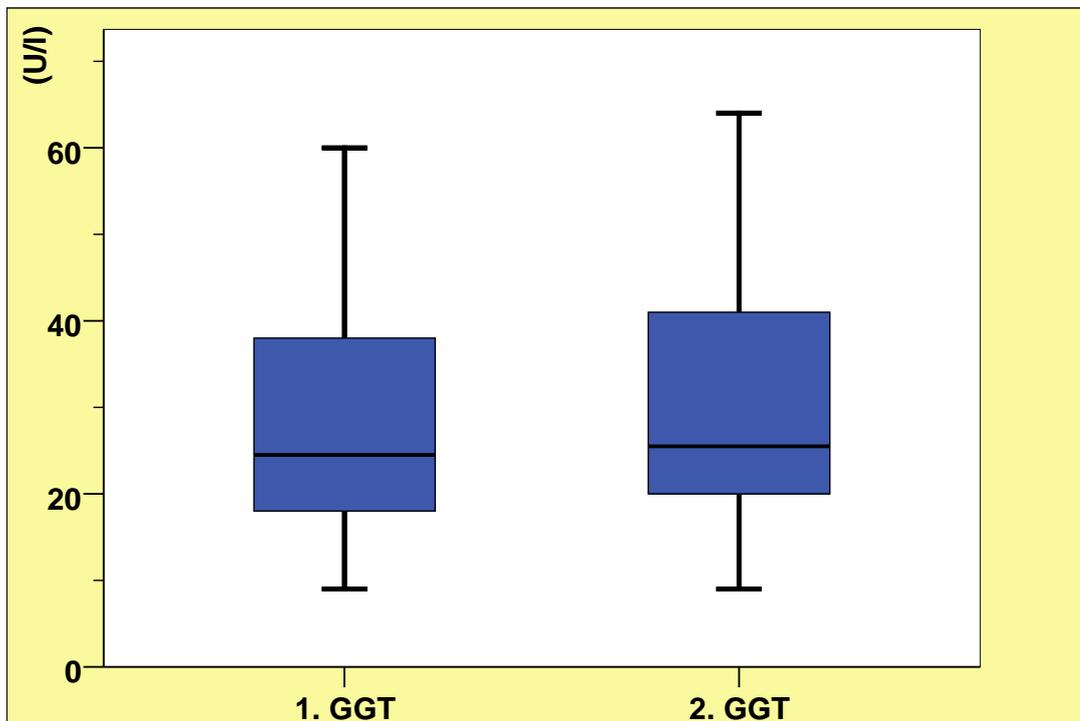


Abb. 5.4.6.a Leberwerte bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.6.a Leberwerte bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. GGT [U/l]	2. GGT [U/l]
Mittelwert±SD	29±15	33±21
Standardfehler des Mittelwertes	2,5	3,6
Median	25	26
Minimum	9	9
Maximum	60	99
Perzentile		
25	18	20
50	25	26
75	39	41

Hinsichtlich der  $\gamma$ -GT konnte im Verlauf ein mäßiger, jedoch signifikanter Anstieg von initial  $29 \pm 15$  auf  $33 \pm 21$  U/l bei der Zweituntersuchung beobachtet werden (Wilcoxon-Test,  $p=0,023$ ). Auch bei Betrachtung der Quartile fielen die moderat höheren Werte bei der Zweituntersuchung auf, was einen möglichen Anhalt für einen Einfluss der Testsubstanz auf die Cholestaseparameter gibt.

## Bilirubin

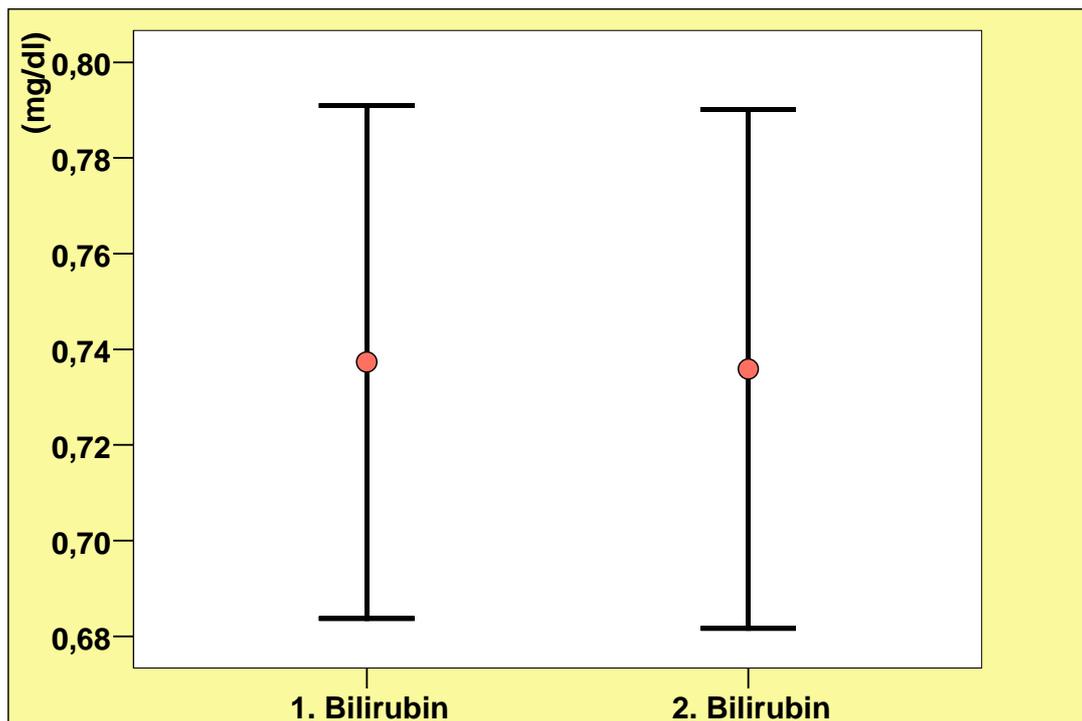


Abb. 5.4.6.b Bilirubin bei 1. und 2. Untersuchung

Tab. 5.4.6.b Bilirubin bei 1. und 2. Untersuchung

n=34	1. Bilirubin [mg/dl]	2. Bilirubin [mg/dl]
Mittelwert±SD	0,74±0,31	0,74±0,32
Standardfehler des Mittelwertes	0,05	0,05
Median	0,72	0,68
Minimum	0,3	0,3
Maximum	1,7	1,6
Perzentile		
25	0,52	0,47
50	0,72	0,68
75	0,90	0,93

Wie in Abb. und Tab. 5.4.6.b ersichtlich, waren die mittleren Bilirubinkonzentrationen zu den beiden Untersuchungszeitpunkten annähernd identisch ( $0,74 \pm 0,31$  vs.  $0,74 \pm 0,32$  mg/dl; t-Test bei gepaarten Stichproben,  $p=0,967$ ). Auch die minimalen und maximalen Werte sowie die Perzentile waren ohne bedeutsame Unterschiede, so dass sich kein Hinweis für einen bedeutsamen Effekt der Schokolade auf die Bilirubinkonzentration zeigte.

## **6. Diskussion**

### **6.1 Einfluss von Flavonoiden auf den Blutdruck**

#### **6.1.1 in Ruhe**

In den meisten Studien über den möglichen Zusammenhang zwischen Schokoladenkonsum und Blutdruckverhalten wird ganz überwiegend eine Senkung des Blutdrucks angegeben, die bezüglich des systolischen<sup>5, 17, 23, 30, 36, 38, 52-54, 64, 115, 116</sup> und des diastolischen Blutdrucks<sup>17, 23, 25, 38, 52, 54, 64, 116</sup> nachgewiesen wurde. Das Ausmaß der systolischen Blutdrucksenkung lag dabei um ca. 3<sup>17, 38</sup> – 4<sup>52</sup> - 6 mmHg<sup>5, 35, 53, 64</sup> und bezüglich des diastolischen Blutdrucks ca. 2<sup>17, 25</sup> - 3<sup>38</sup> – 4<sup>52</sup> mmHg. Die therapeutischen Effekte wurden sowohl bei gesunden Probanden<sup>5, 31, 34, 38, 39, 53, 112</sup> als auch bei Patienten mit arterieller Hypertonie nachgewiesen<sup>30, 52, 54, 115</sup>. Von der Senkung des Blutdrucks nach Schokoladeneinnahme profitierten besonders hypertensive Patienten<sup>36</sup>. Nur wenige Autoren fanden keinen Zusammenhang zwischen einer Schokoladeneinnahme und dem Blutdruck<sup>11, 34, 86</sup>.

Ursächlich für die Blutdrucksenkung durch Schokoladenkonsum wird eine Vasodilatation durch die im Kakao enthaltenen Flavonoide diskutiert. Vasodilatierende Eigenschaften konnten zum einen in den Arteriolen mit konsekutiv verbesserter Flussmessung im peripheren Stromgebiet<sup>40</sup> als auch bei der koronaren Durchblutung<sup>41, 112</sup> belegt werden. Die im Kakao enthaltenen Flavonoide unterstützen die Bildung von Stickstoffmonoxid und verbessern auf diese Weise die Endothelfunktion. Fisher et al. stellten dabei fest, dass die NO-abhängigen Effekte bei älteren Patienten deutlicher ausgeprägt sind, so dass hier die Flavonoidwirkung möglicherweise stärker ist<sup>39</sup>.

In der Grundlagenforschung ergaben sich erste Hinweise in Tierversuchen, dass die vasodilatative Wirkung der Flavonoide durch Hemmung der Aktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE) bedingt sein könnte<sup>2</sup>. Weiterhin wurde die Hypothese geäußert, dass Flavonoide Einflüsse auf das autonome Nervensystem haben<sup>3</sup>.

In der vorliegenden Studie konnte bei den Messungen der systolischen Blutdruckwerte im Sitzen kein signifikanter Abfall dokumentiert werden- es ist sogar zu einen Anstieg von 4 mmHg gekommen, während der diastolische Blutdruck annähernd gleich blieb. Im Stehen konnten ebenfalls keine relevanten Unterschiede der systolischen bzw. diastolischen Blutdruckwerte im Vergleich vor vs. nach Einnahme beobachtet werden.

Die im Liegen gemessenen systolischen und diastolischen Blutdruckwerte zeigten dagegen im Verlauf im Mittel um 3 mmHg signifikant niedrigere Werte.

### **6.1.2 bei Belastung**

Es gibt bisher keine Studie, die den Einfluss von Schokoladenkonsum auf den Blutdruck unter ergometrischer Belastung untersucht hat.

In der vorliegenden Studie waren die mittleren und medianen systolischen Blutdruckwerte bei der ergometrischen Untersuchung nach der Phase der standardisierten Schokoladeneinnahme durchgehend niedriger als davor. Die mittlere Differenz betrug dabei bei 50 Watt bereits 4 mmHg und erreichte mit 7 mmHg einen maximalen Wert bei 90 Watt. Bei den statistischen Vergleichen wurden hierfür überwiegend signifikante Unterschiede berechnet, wobei die höchste Signifikanz bei 90 Watt festgestellt wurde.

Beim Vergleich der diastolischen Blutdruckwerte zeigten sich bei der Ergometrie nach der Phase der Schokoladeneinnahme durchgehend niedrigere diastolische Blutdruckwerte als davor. Die Differenz betrug je nach Belastungsstufe zwischen 2-4 mmHg und war bis auf die 90 Watt-Belastungsstufe signifikant.

In der Bewertung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, dass bei den Messungen unter ergometrischer Belastung weniger „Ausreißer“ aufgetreten sind als bei den Ruhemessungen. Während die fehlenden Signifikanzen hinsichtlich der Blutdruckwerte im Sitzen oder Stehen einen Anhalt für die Variabilität von Blutdruckmessungen in Ruhe ergeben haben, zeigten sich die Blutdruckwerte in den Belastungsuntersuchungen stabil. Diese Ergebnisse sind dadurch zu erklären, dass mit zunehmender Belastung situativ bedingte und emotionale Komponenten an Bedeutung verlieren, während gerade in ungewohnten Situationen wie bei Arztbesuchen oder bei einer Studienteilnahme unabsehbare Einflüsse auftreten können<sup>78</sup>. In der aktuellen Studie wurden für die Blutdruckwerte, die bei mittleren Belastungsstufen gemessen wurden, nach der Phase des Schokoladenkonsums im Vergleich zu den Ausgangswerten die höchsten Differenzen berechnet. Dies ist in Übereinstimmung mit anderen Erfahrungen zu sehen, die bei Belastungen zwischen 50 – 100 Watt den höchsten und validesten diagnostischen Wert beschrieben haben<sup>76</sup>.

Das Phänomen von Fehlmessungen von Ruheblutdruckwerten aufgrund von Variabilitäten ist bereits in anderen Studien beschrieben worden <sup>107</sup>. Durch die Blutdruckmessungen bei Belastung können auch überschießende Blutdruckanstiege bzw. ein verzögertes Absinken der Blutdruckwerte in der Postbelastungsphase erfasst werden, wodurch sich die diagnostischen Möglichkeiten verbessern <sup>44</sup>.

Insgesamt erlauben die Blutdruckwerte unter dynamischer Belastung in der vorliegenden Studie eine umfassendere Beurteilung der Blutdruckregulation als die Blutdruckwerte in Ruhe.

Ein weiterer Aspekt ist, dass durch die dynamische Belastungsuntersuchung der myokardiale O<sub>2</sub>-Verbrauch beurteilt werden kann. Hierbei dient als Maß für den myokardialen O<sub>2</sub>-Verbrauch das Produkt aus systolischem Blutdruck und der Herzfrequenz, das eine zuverlässige, indirekte Bestimmungsmethode des myokardialen O<sub>2</sub>-Verbrauchs darstellt <sup>50, 56, 69</sup>. Dieses Produkt ist insbesondere bei Belastungsspitzen, die durch die hypertensive Blutdruckregulation entstehen, deutlich erhöht und ist ein sensibler Marker zur Identifizierung einer arteriellen Hypertonie.

Zusammenfassend lässt sich zum Einfluss der Flavonoide, speziell der Flavanole, auf den Blutdruck in Ruhe und bei Belastung festhalten, dass in der vorliegenden Studie eine Senkung des systolischen und diastolischen Blutdrucks im Liegen und unter ergometrischen Bedingungen nach Schokoladeneinnahme nachweisbar war. Die Differenz des systolischen und des diastolischen Blutdrucks betrug im Liegen jeweils 3mmHg und war somit im Vergleich zu anderen Studienergebnissen eher gering. In der Bewertung einer möglichen Flavanoltherapie ist von einer signifikanten, jedoch mäßigen antihypertensiven Wirkung auszugehen. Zur endgültigen Bewertung der Flavanolwirkung auf die Blutdruckregulation ist jedoch eine Studie mit größerem Kollektiv zu fordern.

Da die meisten Studien normotensive Patienten untersuchten, wird das antihypertensive Potential möglicherweise unterschätzt, so dass noch größere Fallzahlen mit Patienten mit unkontrollierter arterieller Hypertonie untersucht werden sollten. Auch bei diesen Studien sollten bei jedem Probanden ergometrische Untersuchungen erfolgen, um genauere Aussagen über hypertensive Blutdruckregulationen treffen zu können und um die beschriebenen Messungenauigkeiten durch Blutdruckvariabilitäten in Ruhe auszuschalten.

## **6.2 Einfluss von Flavonoiden auf die Herzfrequenz**

Bezüglich des Einflusses von Flavonoiden auf die Herzfrequenz gibt es unterschiedliche Befunde: Während teilweise kein Einfluss von Flavonoiden auf die HF gesehen wurde<sup>11, 43</sup>, ist in einem gesunden Kollektiv ohne kardiale Erkrankungen ein Anstieg der Herzfrequenz innerhalb von 6 Wochen beschrieben worden<sup>24</sup>. Da hier keine Änderung der Lebensweise erfolgte (z.B. Änderung der körperlichen Belastung), wäre der Anstieg durch die Schokoladeneinnahme erklärbar. In einem Tierversuch mit Ratten konnte dagegen innerhalb von 6 Monaten ein Absinken der HF nach Kakao-Gabe beobachtet werden<sup>3, 24</sup>.

In der vorliegenden Studie betrug die HF in Ruhe  $71 \pm 8$  Schläge/ min vor und  $70 \pm 7$  Schläge/min nach Schokoladeneinnahme, so dass kein Einfluss auf die Herzfrequenz erkennbar war ( $p=0,585$ ).

Wie in Abb. 5.3.1.c veranschaulicht, stieg unter Belastung vor und nach Therapie im Mittel in beiden Gruppen die HF von ca. 92 bis 110/min an, wobei es zu keinen Zeitpunkten statistisch signifikante Unterschiede gab (Tab. 5.3.1.c). In der Nachbelastungsphase waren die HF in beiden Gruppen ebenfalls annähernd identisch (Abb. 5.3.2.c).

Bei der Interpretation der unterschiedlichen Ergebnisse muss darauf hingewiesen werden, dass in dieser Studie alle HF-Messungen zweifach durchgeführt und gemittelt wurden, so dass hier genaue Werte vorliegen. Die Messungen – auch während der Ergometrie – waren weitgehend artefaktfrei, so dass es keinen Anhalt für Fehlmessungen gibt. Insgesamt gesehen ist nicht von einer relevanten Beeinflussung der HF durch Flavonoide auszugehen.

## **6.3 Einfluss von Schokolade auf Gewicht und BMI**

Aufgrund des hohen Kaloriengehaltes ist eine Assoziation zwischen Schokoladenkonsum und Körpergewicht bekannt. So wurde in einer Erhebung von Huus et al. mit 21700 Kindern nachgewiesen, dass ein überdurchschnittlicher Schokoladenkonsum mit Übergewicht einhergeht<sup>65</sup>. Bei der Interpretation des Studienergebnisses ist zu bedenken,

dass es sich in der Regel beim "Naschen" um die süßere helle Schokolade handelt. Der übermäßige Verzehr von zuckerhaltigen Nahrungsmitteln ist Ausdruck pathologischer Verhaltensmuster und geht in der Regel nicht nur mit der Bevorzugung von Süßigkeiten einher, sondern ist meist auch mit einer allgemein hyperkalorischen Ernährung verbunden. Insgesamt geht ein vermehrter Schokoladenkonsum mit diversen psychopathologischen Eigenschaften einher und kann Ausdruck multipler Verhaltensauffälligkeiten sein <sup>18</sup>. Die weit verbreitete Einschätzung, "Schokolade macht dick", ist demnach nicht unkritisch auf die kontrollierte Einnahme der dunklen - und somit bitteren - Schokolade übertragbar.

Daher wird erklärlich, dass in den Studien mit gezielter Einnahme von dunkler Schokolade weder in Tierversuchen noch bei klinischer Anwendung bei Probanden bzw. Patienten eine Gewichtszunahme aufgetreten ist <sup>34, 88, 98, 115, 123</sup>. In einem Tierversuch wurde sogar eine Gewichtsreduktion durch Kakao beschrieben <sup>83</sup>.

In der aktuellen Studie blieb das Gewicht im Beobachtungszeitraum unverändert: Während des Beobachtungszeitraumes betrug der BMI im Mittel  $24,6 \pm 3,2$  vor bzw.  $24,6 \pm 3,3$  nach der Testphase, so dass sich kein Anhalt für eine signifikante Veränderung des Körpergewichtes ergab (Wilcoxon-Test:  $p=0,228$ ).

Bei der Interpretation des Ergebnisses muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Studiendauer in aller Regel zwischen 2 Wochen - maximal 6 Monate <sup>98</sup> betrug, so dass sich langsam entwickelnde Gewichtsveränderungen möglicherweise den Erhebungen entzogen haben könnten. Um eine definitive Aussage bezüglich des Gewichtsverhaltens treffen zu können, sollten Langzeitstudien initiiert werden.

## **6.4 Einfluss von Flavonoiden auf Laborparameter**

### **6.4.1 Blutbild**

#### **Leukozyten**

In den bisher durchgeführten Studien gibt es nur wenige Berichte über die Leukozyten bzw. deren Aktivität. Dabei konnten eine in-vitro- und eine in-vivo-Studie einen Anhalt für eine Hemmung der Leukozytenaktivität nach Flavonoideinnahme erbringen<sup>60</sup>.

In der bei uns durchgeführten Studie wurden bei der Erstuntersuchung im Mittel eine Leukozytenzahl von  $6,2 \pm 1,3$  G/l und bei der Nachuntersuchung von  $6,1 \pm 1,5$  G/l nachgewiesen ( $p=0,821$ ), so dass dieses Ergebnis keinen Hinweis für einen Einfluss der Schokolade auf die Leukozyten gibt. Ein direkter Vergleich zu anderen Studien ist schlecht möglich, da dort Aktivitätsbestimmungen durchgeführt wurden.

Insgesamt gesehen erscheint eine Leukozytenbestimmung zur Verlaufsbewertung nach Flavonoideinnahme über einen so kurzen Zeitraum offensichtlich wenig sinnvoll.

#### **Hämoglobin und Hämatokrit**

Lediglich in einer Studie wurde der Verlauf des Hämoglobins während der Einnahme von dunkler Schokolade beschrieben, wobei sich hier kein Effekt auf den Hb nachweisen ließ<sup>24</sup>.

In unserer Erhebung waren die beiden Hb-Werte vor und nach Therapie annähernd gleich ( $15,4 \pm 0,8$  vs.  $15,5 \pm 0,7$  g/dl;  $p=0,346$ ). Hinsichtlich des Hämatokrits ließen sich ebenfalls keine relevanten Unterschiede erheben ( $45,0 \pm 2,4$  % vs.  $44,8 \pm 2,1$  %;  $p=0,457$ ).

Zusammenfassend gibt es somit keinen Anhalt für einen Effekt von Flavonoiden auf Hämoglobin und Hämatokrit.

#### **MCV**

Das mittlere corpuskuläre Volumen (MCV) ist bei megaloblastären Anämien erhöht. Dies kann durch Schädigung der Erythropoese oder insbesondere einen Mangel an Vitamin B12 und Folsäure bedingt sein. Letzteres wird gehäuft durch die ethanolinduzierte

Resorptionshemmung im Jejunum ausgelöst. Ein erhöhtes MCV ist – insbesondere in Kombination mit einer erhöhten  $\gamma$ -GT und einem erniedrigtem Harnstoff – ein Zeichen für chronischen Alkoholismus<sup>122</sup>. Die Probanden dieser Studie wiesen weder anamnestisch noch durch die Laborkonstellationen Zeichen eines Alkoholismus auf.

In der vorliegenden Erhebung betrug das MCV initial  $88,5 \pm 3,4$  fl und bei der Nachuntersuchung  $87,6 \pm 3,6$  fl, wobei der Unterschied statistisch signifikant war ( $p=0,008$ ).

Es gibt noch keine Beschreibung des MCV nach regelmäßiger Schokoladeneinnahme, so dass ein Vergleich nicht möglich ist. Als mögliche Ursachen für die MCV-Verkleinerung wäre eine Beeinflussung des Vitamin B12 oder Folsäurehaushaltes durch Flavanole zu diskutieren, wobei es bisher noch keine Daten zu diesem Thema gibt.

Letztendlich bleibt die Ursache der Verringerung des MCV ungeklärt, so dass weitere Studien mit Messungen von Vitamin B12 und Folsäure erfolgen sollten, um mögliche Einflüsse und die zugrunde liegenden Mechanismen aufzuzeigen.

## **Thrombozyten**

Der Einfluss von Flavonoiden auf die Thrombozytenfunktion ist gut untersucht. In zahlreichen Studien wurde eine Hemmung der Thrombozytenaktivierung und Thrombozytenaggregation beschrieben<sup>15, 41, 60, 66, 87, 93, 96, 97</sup>, wobei diese Zusammenhänge nur von wenigen Autoren negativ bewertet wurden<sup>113</sup>. Anzumerken ist jedoch, dass in die Studie von Singh et al. lediglich 16 Probanden eingeschlossen wurden, so dass die statistische Power hier gering ist.

In den Studien wurden zur Messung der Thrombozytenaktivität unterschiedliche Biomarker verwendet: Während in einigen Studien P-Selectin (CD62) und CD63 als Marker gemessen wurden, verwendeten andere Autoren die ADP-induzierte Aggregation, die Collagen-induzierte Aggregation oder 11-Dehydro Thromboxan B2 (Tx-M) als Indikator der Thrombozytenaktivität. Alle Verfahren basieren auf dem Nachweis der Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Thrombozytenoberfläche und werden mittels Durchflusszytometrie gemessen. Dieses Verfahren gilt prinzipiell als sehr zuverlässig und valide, benötigt jedoch einen hohen Zeit- und Kostenaufwand. Ein optimaler Parameter

sollte demnach validen Aufschluss über den Aktivitätszustand des Thrombozyten geben können und gleichzeitig im klinischen Alltag besser zu untersuchen sein.

In der vorliegenden Studie wurde daher das MPV (mittlere Plättchenvolumen) bestimmt. Das MPV gibt Anhalt für den Aktivitätszustand des Thrombozyten: Überschreitet die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration einen Schwellenwert, beantwortet der Thrombozyt dies mit einer Formveränderung, die durch Pseudopodien gebildet werden<sup>49</sup>. Im elektronenmikroskopischen Bereich lässt sich bei diesem Prozess eine Anreicherung von Mikrotubuli in den Pseudopodien erkennen. Gleichzeitig polymerisiert G-Aktin und bildet F-Aktin-Filamente, die mit weiteren membranständigen Proteinen wie dem Aktin-Bindungsprotein assoziiert sind. Die Formveränderung bewirkt eine Zunahme der Thrombozytenoberfläche, die eine vermehrte Interaktion mit plasmatischen Reaktionen ermöglicht. Ein weiterer Mechanismus ist eine vermehrte Expression von GPIIb-IIIa-Rezeptoren, die entscheidend an der Thrombozytenadhäsion und -aggregation beteiligt sind<sup>49, 77</sup>.

In einer Studie von Schultheiss et al. erfolgte ein Nachweis einer Korrelation zwischen dem MPV und CD63, einem Oberflächenrezeptor des Thrombozyten, so dass der Rückschluss einer Thrombozytenaktivierung bei vergrößertem MPV gerechtfertigt ist<sup>108</sup>.

In vielen klinischen Studien in den 80er und 90er Jahren ist - vor Etablierung der Durchflusszytometrie - das MPV als sensitiver und valider Parameter zur Bewertung der Thrombozytenaktivität angesehen worden<sup>12</sup>. Dabei wurde maßgeblich von Martin et al. der Zusammenhang zwischen einem vergrößertem MPV und Myokardinfarkten bzw. schlechter Prognose nach Myokardinfarkten belegt<sup>81</sup>. In weiteren Studien wurde ein Zusammenhang zwischen dem MPV und instabiler AP<sup>82, 92</sup>, Myokardinfarkten<sup>37, 58, 89</sup> und der arteriellen Hypertonie<sup>89</sup> hergestellt, während die Prävalenz der KHK mit dem MPV in keiner Assoziation zu stehen scheint und das MPV somit eher ein Biomarker für akute myokardiale Ereignisse, aber weniger für die Atherogenese selbst zu sein scheint<sup>33</sup>.

In der aktuellen Studie zeigte sich ein signifikant niedrigeres MPV nach der Einnahme von dunkler Schokolade ( $11,2 \pm 0,8$  fl vs.  $10,9 \pm 0,8$  fl; t-Test für gepaarte Stichproben,  $p=0,002$ ). Dies ist zu interpretieren als Verminderung der Thrombozytenaktivität, so dass theoretisch eine geringere Inzidenz von akuten myokardialen Ereignissen zu erwarten wäre. Um diese These zu bestätigen, wäre aufgrund der geringen

Verkleinerung des MPV eine Stichprobengröße aus mehreren Tausend Probanden und eine Beobachtung über mehrere Jahre erforderlich, so dass diesbezüglich in absehbarer Zukunft keine Klärung erwartet werden kann. Heptinstall et al. sowie Rein et al. verglichen die Flavanol-Wirkung prinzipiell mit der von Acetylsalicylsäure, was die protektive Wirkung auf Thrombozyten am besten veranschaulicht<sup>60, 97</sup>. In einer weiteren Studie wurde ein ähnliches Ergebnis gefunden, wobei jedoch der thrombozytenhemmende Effekt im Vergleich zu dem der Acetylsalicylsäure als milder beschrieben wurde<sup>90</sup>.

Als weitgehend konstant werden einheitlich die Thrombozytenzahlen unter Schokoladenkonsum beschrieben<sup>15, 60, 66, 87, 93, 96, 97, 113</sup>. Auch in dieser Studie gab es keine bedeutsamen Veränderungen der Thrombozytenzahlen nach Schokoladenkonsum (229±44 G/l vs. 226±46 G/l; t-Test für gepaarte Stichproben; p=0,498). Insgesamt gesehen gibt es keinen Anhalt für eine relevante Beeinflussung der Thrombozytenzahl durch Flavanole.

## **6.4.2 Lipidstatus**

In der Literatur wird ganz überwiegend ein positiver Effekt der Flavanole auf den Lipidstatus beschrieben. Bezüglich des Gesamtcholesterins wurde in vielen Studien eine Reduzierung des Gesamtcholesterinspiegels beschrieben<sup>5, 27, 52, 104</sup>, während Erlund et al.<sup>36</sup> keine Veränderung des Gesamtcholesterinstatus bemerkten. Bei der Analyse der Cholesterinsubfraktionen wurde einheitlich ein niedrigerer LDL-Cholesterinspiegel durch Flavanole beobachtet<sup>9, 27, 54, 94, 104, 112</sup>. Die Differenz wurde in Größenordnungen von 5%<sup>5</sup>, 6%<sup>27, 94</sup>, bzw. 9%<sup>10</sup> gemessen, was einem Absinken des LDL-Cholesterins von ca. 10mg/dl – 15 mg/dl entspricht. Der positive Einfluss der Flavanole auf das LDL ist bei Gesunden und bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie bzw. bei Patienten mit arterieller Hypertonie nachgewiesen, so dass ein günstiger Effekt bei primär- und sekundärprophylaktischer Therapie anzunehmen ist<sup>112</sup>. Als Mechanismus für die LDL-Senkung wird eine Hemmung der LDL-Oxidation vermutet<sup>9, 10, 23, 104</sup>.

Der Verlauf des HDL wird nicht einheitlich bewertet: Während einige Autoren das HDL unverändert nach Flavanolverabreichung sahen<sup>27, 94</sup>, wurde in anderen Publikationen ein Anstieg des HDL konstatiert<sup>9, 10, 36</sup>. Der Anstieg betrug um 5%<sup>36</sup> – 24%<sup>10</sup>.

Während in der Mehrzahl der Studien keine signifikanten Änderungen der Triglyceridkonzentration nach Kakao-Einnahme festgestellt wurden<sup>27, 36, 94</sup>, bemerkten Shiina et al. eine Senkung des Triglyceridspiegels<sup>112</sup>.

In einer zusammenfassenden Bewertung beschreiben die meisten Autoren zumindest in einigen Laborparametern des Lipidstatus eine Verbesserung, so dass insgesamt gesehen der Kakao einen günstigen Effekt auf die Lipide zu haben scheint.

In der vorliegenden Studie wurde initial ein Gesamtcholesterin von  $200 \pm 44$  mg/dl erhoben, wobei dieser Wert für ein gesundes Kollektiv mit einem mittleren Alter von 40 Jahren recht hoch ist. Die Spanne bewegte sich zwischen 133-288 mg/dl, so dass insgesamt eine sehr heterogene Verteilung vorlag. Auch beim LDL und beim HDL war diese Heterogenität erkennbar: Das LDL betrug initial  $126 \pm 41$  mg/dl bei einer Spanne zwischen 61-211 mg/dl. Das HDL ( $55 \pm 16$  mg/dl) wies eine Spanne zwischen 29-98 mg/dl auf. Im Verlauf ließen sich bei allen 3 Parametern diskrete, nicht signifikante Veränderungen nachweisen: Das Gesamtcholesterin sank im Mittel um 2,5% auf  $195 \pm 47$  mg/dl ( $p=0,107$ ) und das LDL im Mittel um ca. 4% auf  $121 \pm 43$  mg/dl ( $p=0,087$ ). Das HDL stieg im Mittel um 2 mg/dl auf  $57 \pm 16$  mg/dl ( $p=0,181$ ).

Die Triglyceride wurden initial mit  $130 \pm 71$  mg/dl bestimmt und fielen auf  $121 \pm 63$  mg/dl ab, wobei bezüglich dieser Änderung ein Trend nachgewiesen werden konnte ( $p=0,194$ ).

Bei der Interpretation dieser Ergebnisse fällt auf, dass diese prinzipiell ähnliche Befunde wie die aufgeführten Studien ergaben – lediglich das Ausmaß der Verbesserung des Lipidstatus war geringer als vorherbeschrieben. Die aktuelle Studie fand beim Lipidstatus keine Signifikanzen, jedoch zum Teil deutliche Trends. In diesem Zusammenhang ist auch die begrenzte Fallzahl aller aufgeführten Studien zu bedenken: bei einer Patientenzahl  $<100$  führen Schwankungen von nur wenigen Verläufen zu falsch positiven oder negativen Resultaten. Die nachgewiesenen Veränderungen des Gesamtcholesterins bei einigen Patienten wären möglicherweise durch geänderte Ernährungseinflüsse oder Non-Compliance der Einnahme erklärbar.

Insgesamt gesehen ergeben sich somit Hinweise für eine günstige Beeinflussung des Lipidstatus durch Flavanole, wobei eine abschließende Beurteilung des Ausmaßes des Effektes aufgrund der begrenzten Fallzahlen der Studien nicht möglich ist.

In etlichen Studien wird aufgrund der beschriebenen Verbesserung des Cholesterins von einer kardioprotektiven Wirkung des Kakaos gesprochen, wobei eine Senkung des KHK-Risikos<sup>27, 36, 104</sup> postuliert wird. In Anbetracht der begrenzten Fallzahlen der aufgeführten Studien und der hier gemessenen eher diskreten Änderungen des Lipidstatus erscheint noch keine Allgemeingültigkeit der Befunde gegeben. Bevor eine Empfehlung zur Kakaoeinnahme aus primär- oder sekundärprophylaktischer Indikation bei HLP oder zur Prävention der KHK gegeben werden kann, sollte eine Re-Evaluierung mit einer größeren Probandenzahl erfolgen.

### **6.4.3 Glucosestoffwechsel**

Einige Autoren haben einen positiven Einfluss von Flavonoiden auf den Glucosestoffwechsel beschrieben. Dabei wurde teilweise eine Verbesserung der Insulinsensitivität<sup>53, 54</sup> dokumentiert, während in anderen Studien kein therapeutischer Effekt auf die Blutglucosekonzentration<sup>115</sup> bzw. die Insulinsensitivität festgestellt werden konnte<sup>86</sup>. Eine signifikante Verschlechterung des Blutzuckers ist bisher noch nicht beschrieben worden.

In der vorliegenden Studie wurden durchgehend Probanden ohne Diabetes mellitus eingeschlossen, so dass erwartungsgemäß die Serumglucose mit initial 58 – 102 mg/dl bei allen Teilnehmern im Referenzbereich lag. Auch nach der Therapiephase waren alle Werte der Serumglucose unauffällig, wobei die Werte vor vs. nach der Einnahmephase annähernd identisch waren (83±10 mg/dl vs. 84±8 mg/dl; p=0,29). Die HBA1c-Werte waren ebenfalls vor und nach der Therapiephase im Referenzbereich und zeigten keine bedeutsamen Veränderungen durch den Schokoladenkonsum (5,4±0,4% vs. 5,3±0,4%; p=0,246).

Insgesamt gesehen ergibt sich daher kein Anhalt für eine Verschlechterung des Glucosestoffwechsels durch den Konsum von dunkler Schokolade, wobei hier einschränkend erwähnt werden muss, dass der Einfluss von Schokolade auf den Glucosestoffwechsel bei schwerem Diabetes mellitus bisher nicht untersucht wurde. Die Hypothese, dass sich der Glucosestoffwechsel, bzw. die Insulinsensitivität durch Schokolade verbessern könnte, lässt sich durch diese Studie nicht stützen. Im Fokus des Interesses steht primär die Blutdrucksenkung, so dass der Nachweis einer stabilen

Glucosestoffwechsellage bereits als positiv zu werten ist. Bei der Intention einer Senkung des Blutzuckers sollte primär auf etablierte Methoden zurückgegriffen werden.

Zur Beantwortung der Frage, wie sich dunkle Schokolade auf den Stoffwechsel von Diabetikern auswirkt, ist eine weitere Studie, mit Diabetikern, erforderlich.

#### **6.4.4 Harnsäure**

In der Literatur ist zweimal eine Harnsäurebestimmung nach einer standardisierten Schokoladeneinnahme beschrieben worden, wobei in beiden Studien keine Veränderung des Harnsäurespiegels messbar war<sup>57, 93</sup>. Die Ergebnisse finden sich in der vorliegenden Erhebung bestätigt, in der die Harnsäurewerte annähernd unverändert blieben ( $5,6 \pm 0,9$  mg/dl vor Therapie vs.  $5,7 \pm 1,1$  mg/dl nach Therapie;  $p=0,666$ ). Insgesamt gesehen gibt es keinen Anhalt für eine relevante Beeinflussung der Harnsäurekonzentration durch Schokolade.

#### **6.4.5 Retentionswerte**

Bisher gibt es keine Berichterstattung über Änderungen von Retentionswerten durch Kakao.

In der vorliegenden Studie wurden identische Kreatininwerte zu beiden Zeitpunkten dokumentiert ( $p=0,305$ ), während der Harnstoff signifikant niedriger nach der Einnahmephase war ( $30 \pm 7$  mg/dl vs.  $34 \pm 8$  mg/dl;  $p=0,004$ ). Aus klinischer Sicht ist dieser niedrigere Wert wohl unbedeutend und sollte nicht überbewertet werden, weil die Probanden ohne bekannte Nierenerkrankungen waren und die Retentionswerte im Normbereich waren. Die hier berechnete Signifikanz ist am ehesten durch einen  $\alpha$ -Fehler (Fehler der 1. Art) zu erklären, bei der zufällige Messergebnisse zu einem falsch positiven Ergebnis führen. Zum definitiven Ausschluss sollte in einer weiteren Studie noch die Kreatininclearance bestimmt werden, die die Nierenfunktion genauer widerspiegelt.

### **6.4.6 Leberwerte**

Es gibt keine Publikation über den Effekt von Flavanolen auf Leberwerte.

In der vorliegenden Studie wurde ein leichter, jedoch statistisch signifikanter Anstieg der  $\gamma$ -GT gemessen ( $29 \pm 15$  U/l vs.  $33 \pm 21$  U/l;  $p=0,023$ ). Im Gegensatz hierzu war das Bilirubin bei der Zweituntersuchung identisch zum Erstbefund ( $0,74 \pm 0,31$  mg/dl vs.  $0,74 \pm 0,32$ ;  $p=0,967$ ).

Bei der Interpretation der Veränderung der  $\gamma$ -GT muss berücksichtigt werden, dass die gemessenen Laborparameter aus klinischer Sicht keine relevante Änderung bedeuten, während rein statistisch gesehen ein Anstieg von 10% erfolgte. Möglicherweise liegt hier eine zufällig errechnete Signifikanz vor ( $\alpha$ -Fehler). Eine endgültige Bewertung des Befundes sollte also erst nach einer weiteren Erhebung in einem größeren Kollektiv erfolgen.<sup>41</sup>

## **7. Zusammenfassung**

In den Industrieländern besteht eine hohe kardiovaskuläre Mortalität. Die arterielle Hypertonie nimmt dabei als Risikofaktor eine zentrale Bedeutung ein. Für die nächsten Jahre wird eine Zunahme der Prävalenz der arteriellen Hypertonie prognostiziert, so dass eine Verbesserung der therapeutischen Optionen erfolgen muss. In diesem Zusammenhang wird auch über den Einsatz von Flavonoiden, speziell Flavanolen, diskutiert, die möglicherweise antihypertensives Potential haben. Flavanole sind insbesondere in dunkler Schokolade enthalten, der Konsum bewirkt möglicherweise eine Blutdrucksenkung.

Ziel dieser Studie war eine Evaluierung der Wirkung von Flavonoiden auf den Blutdruck und die Herzfrequenz in Ruhe und bei Belastung. Weiterhin wurde der Einfluss auf Thrombozyten, das Blutbild, den Glucosestoffwechsel, den Lipidstatus sowie auf Retentions- und Leberwerte untersucht. Zusätzlich wurde der Gewichtsverlauf unter Schokoladenkonsum beobachtet.

Es wurden 34 gesunde Männer (Alter:  $40 \pm 12$  Jahre) rekrutiert. Alle Probanden nahmen 100g/die Edelbitterschokolade über einen Zeitraum von 6 Wochen ein. Bei allen Probanden erfolgten vor Studienbeginn und nach 6 Wochen eine Anamnese, eine klinische Untersuchung, Herzfrequenz- und Blutdruckmessungen in Ruhe, Sitzen und Liegen sowie während und nach standardisierter Ergometrie und zusätzlich eine Bestimmung einer Reihe von Laborparametern.

Als Ergebnis wurden signifikante Veränderungen der systolischen und diastolischen Blutdruckwerte im Liegen von je 3 mmHg bestimmt. In der Ergometrie wurden signifikant niedrigere systolische und diastolische Blutdruckwerte gemessen, wobei die Senkungen systolisch 4-7 mmHg und diastolisch 2-4 mmHg betragen. Weitere signifikante Änderungen wurden für das MCV ( $88,5 \pm 3,4$  fl vs.  $87,6 \pm 3,6$  fl,  $p=0,008$ ), das MPV ( $11,2 \pm 0,8$  fl vs.  $10,9 \pm 0,8$  fl,  $p=0,002$ ), den Harnstoff ( $34 \pm 8$  mg/dl vs.  $30 \pm 7$  mg/dl,  $p=0,004$ ) und die  $\gamma$ -GT ( $29 \pm 15$  U/l vs.  $33 \pm 21$  U/l,  $p=0,023$ ) nachgewiesen.

Deutliche Trends wurden bezüglich der Veränderungen des Lipidstatus dokumentiert, wobei das Gesamtcholesterin von  $200 \pm 44$  mg/dl auf  $195 \pm 47$  mg/dl ( $p=0,107$ ) und das LDL von  $126 \pm 41$  mg/dl auf  $121 \pm 43$  mg/dl ( $p=0,087$ ) sanken. Das HDL betrug initial  $55 \pm 16$  mg/dl und stieg im Mittel um 2 mg/dl an ( $p=0,181$ ). Die Triglyceride wurden initial mit  $130 \pm 71$  mg/dl bestimmt und fielen auf  $121 \pm 63$  mg/dl ab ( $p=0,194$ ).

Hinsichtlich folgender Variablen konnten keine signifikanten Änderungen festgestellt werden: BMI ( $24,6 \pm 3,2$  vs.  $24,6 \pm 3,3$ ,  $p=0,228$ ), Herzfrequenz ( $71 \pm 8$  Schläge/min vs.  $70 \pm 7$  Schläge/min,  $p=0,585$ ), Leukozyten ( $6,2 \pm 1,3$  G/l vs.  $6,1 \pm 1,5$  G/l,  $p=0,821$ ), Hämoglobin ( $15,4 \pm 0,8$  g/l vs.  $15,5 \pm 0,7$  g/dl,  $p=0,346$ ), Hämatokrit ( $45,9 \pm 2,4$  % vs.  $44,8 \pm 2,1$  %,  $p=0,457$ ), Thrombozyten ( $229 \pm 44$  G/l vs.  $226 \pm 46$  G/l,  $p=0,498$ ), Glucosekonzentration im Serum ( $83 \pm 10$  mg/dl vs.  $84 \pm 8$  mg/dl,  $p=0,29$ ), HBA1c ( $5,4 \pm 0,4$  % vs.  $5,3 \pm 0,4$  %,  $p=0,246$ ), Harnsäure ( $5,6 \pm 0,9$  mg/dl vs.  $5,7 \pm 1,1$  mg/dl,  $p=0,666$ ) und Bilirubin ( $0,74 \pm 0,31$  mg/dl vs.  $0,74 \pm 0,32$  mg/dl,  $p=0,967$ ).

In einer zusammenfassenden Beurteilung unter Hinzuziehung der verfügbaren Literatur ist durch den Konsum von dunkler Schokolade eine signifikante Senkung des systolischen und diastolischen Blutdrucks teilweise in Ruhe insbesondere aber während standardisierter Belastung zu erzielen, wobei die Effekte in der vorliegenden Studie mit ca. 3 mmHg in Ruhe geringer ausfielen als in anderen Studien.

Ein weiteres Ergebnis dieser Studie ist eine signifikante Hemmung der Thrombozytenaktivität, wobei in dieser Studie als Verlaufsparmeter das mittlere Plättchenvolumen (MPV) verwendet wurde, von dem schon früher gezeigt werden konnte, dass es gut als orientierender Marker der Thrombozytenaktivität dienen kann. Das Ausmaß der Thrombozytenfunktionsänderung ist jedoch eher als gering zu bewerten, so dass die klinische Relevanz kritisch zu beurteilen ist.

Ein weiterer Aspekt der Studie, nämlich die Veränderung der Lipide, ergab einen moderat verbesserten Lipidstatus, die sich in einer Größenordnung von 2,5% für das Gesamtcholesterin und 4% für das LDL beziffern lassen, während ein Anstieg des HDL von im Mittel 2 mg/dl registriert wurde. Die Unterschiede sind im Gegensatz zu anderen Studien nicht signifikant, so dass insgesamt gesehen von einer leichten, klinisch eher unbedeutsamen Verbesserung des Lipidstatus ausgegangen werden muss.

Der hier gefundene mögliche Einfluss von Flavonoiden auf das MCV gibt Anhalt für eine Interaktion mit dem Vitamin B12- und Folsäurehaushalt, wobei dieser Zusammenhang in weiteren Studien untersucht werden müsste. Die gefundenen diskreten Veränderungen des Harnstoffs und der  $\gamma$ -GT erscheinen klinisch irrelevant und müssten in weiteren Erhebungen ebenfalls nachuntersucht werden.

Zusammenfassend sind mehrere potenziell protektive Wirkungen von Flavonoiden gefunden worden, die insgesamt in einer Blutdrucksenkung, Verbesserung des Lipidstatus und Hemmung der Thrombozytenaktivität bestehen, während Nebenwirkungen wie Gewichtszunahme und Verschlechterung des Glucosehaushaltes nicht signifikant waren. Der postulierte Effekt einer hochdosierten Einnahme von Schokolade mit Senkung der Prävalenz der KHK und Rückgang der kardiovaskulären Mortalität ist aufgrund der geringen Änderungen der beschriebenen Parameter zurückhaltend zu bewerten. Bevor allgemein eine Empfehlung eines protektiven Schokoladenkonsums gegeben werden kann, sollten Langzeitstudien mit großer Fallzahl und Erfassung von kardiovaskulären Ereignissen - insbesondere auch bei Patienten mit arterieller Hypertonie - durchgeführt werden. Hierbei sind standardisierte ergometrische Belastungen zu fordern, um genauere Blutdruckmessungen mit Erfassung von hypertensiven Blutdruckregulationen zu ermöglichen. Außerdem sollten auch Langzeitdokumentationen des Körpergewichtes und des Glucosstoffwechsels bei Diabetikern erfolgen, um langfristige Veränderungen mit daraus resultierenden Spätkomplikationen auszuschließen.

## **8. Literaturverzeichnis**

1. Measuring and improving quality of care: a report from the American Heart Association/American College of Cardiology First Scientific Forum on Assessment of Healthcare Quality in Cardiovascular Disease and Stroke. *Circulation* 2000;101(12):1483-93
2. Actis-Goretta L, Ottaviani JI, Fraga CG: Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *Journal of agricultural and food chemistry* 2006;54(1):229-34
3. Akita M, Kuwahara M, Itoh F, Nakano Y, Osakabe N, Kurosawa T, et al.: Effects of cacao liquor polyphenols on cardiovascular and autonomic nervous functions in hypercholesterolaemic rabbits. *Basic & clinical pharmacology & toxicology* 2008;103(6):581-7
4. Al Lawati NM, Patel SR, Ayas NT: Epidemiology, risk factors, and consequences of obstructive sleep apnea and short sleep duration. *Progress in cardiovascular diseases* 2009;51(4):285-93
5. Allen RR, Carson L, Kwik-Urbe C, Evans EM, Erdman JW, Jr.: Daily consumption of a dark chocolate containing flavanols and added sterol esters affects cardiovascular risk factors in a normotensive population with elevated cholesterol. *The Journal of nutrition* 2008;138(4):725-31
6. Arts IC, van de Putte B, Hollman PC: Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods. *Journal of agricultural and food chemistry* 2000;48(5):1746-51
7. Arts IC, van De Putte B, Hollman PC: Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk. *Journal of agricultural and food chemistry* 2000;48(5):1752-7
8. Assmann G, Cullen P, Schulte H: The Munster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. *European heart journal* 1998;19 Suppl A:A2-11
9. Baba S, Natsume M, Yasuda A, Nakamura Y, Tamura T, Osakabe N, et al.: Plasma LDL and HDL cholesterol and oxidized LDL concentrations are altered in normo- and hypercholesterolemic humans after intake of different levels of cocoa powder. *The Journal of nutrition* 2007;137(6):1436-41
10. Baba S, Osakabe N, Kato Y, Natsume M, Yasuda A, Kido T, et al.: Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. *The American journal of clinical nutrition* 2007;85(3):709-17
11. Balzer J, Rassaf T, Heiss C, Kleinbongard P, Lauer T, Merx M, et al.: Sustained benefits in vascular function through flavanol-containing cocoa in medicated diabetic patients a double-masked, randomized, controlled trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2008;51(22):2141-9

12. Bath PM, Butterworth RJ: Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7(2):157-61
13. Bevan A, Honour A, Stott F: Portable recorder for continuous arterial pressure measurement in men. *J Physiol* 1969;186:3-8
14. Bevan AT, Honour AJ, Stott FH: Direct arterial pressure recording in unrestricted man. *Clin Sci* 1969;36(2):329-44
15. Bordeaux B, Yanek LR, Moy TF, White LW, Becker LC, Faraday N, et al.: Casual chocolate consumption and inhibition of platelet function. *Preventive cardiology* 2007;10(4):175-80
16. Bravo L: Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews* 1998;56(11):317-33
17. Buijsse B, Feskens EJ, Kok FJ, Kromhout D: Cocoa intake, blood pressure, and cardiovascular mortality: the Zutphen Elderly Study. *Archives of internal medicine* 2006;166(4):411-7
18. Cartwright F, Stritzke WG: A multidimensional ambivalence model of chocolate craving: construct validity and associations with chocolate consumption and disordered eating. *Eating behaviors* 2008;9(1):1-12
19. Chalmers J, MacMahon S, Mancia G, Whitworth J, Beilin L, Hansson L, et al.: 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the management of hypertension. Guidelines sub-committee of the World Health Organization. *Clin Exp Hypertens* 1999;21(5-6):1009-60
20. Colquhoun A, de Mello FE, Curi R: In vivo inhibition of Walker 256 tumour carnitine palmitoyltransferase I by soya oil dietary supplementation. *Biochemistry and molecular biology international* 1998;44(1):151-6
21. Colquhoun DM: Nutraceuticals: vitamins and other nutrients in coronary heart disease. *Current opinion in lipidology* 2001;12(6):639-46
22. Cooper RS, Wolf-Maier K, Luke A, Adeyemo A, Banegas JR, Forrester T, et al.: An international comparative study of blood pressure in populations of European vs. African descent. *BMC medicine* 2005;3:2
23. Corti R, Flammer AJ, Hollenberg NK, Luscher TF: Cocoa and cardiovascular health. *Circulation* 2009;119(10):1433-41
24. Crews WD, Jr., Harrison DW, Wright JW: A double-blind, placebo-controlled, randomized trial of the effects of dark chocolate and cocoa on variables associated with neuropsychological functioning and cardiovascular health: clinical findings from a sample of healthy, cognitively intact older adults. *The American journal of clinical nutrition* 2008;87(4):872-80

25. Davison K, Coates AM, Buckley JD, Howe PR: Effect of cocoa flavanols and exercise on cardiometabolic risk factors in overweight and obese subjects. *International journal of obesity* (2005) 2008;32(8):1289-96
26. Day AJ, DuPont MS, Ridley S, Rhodes M, Rhodes MJ, Morgan MR, et al.: Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver beta-glucosidase activity. *FEBS letters* 1998;436(1):71-5
27. De Graaf J, De Sauvage Nolting PR, Van Dam M, Belsey EM, Kastelein JJ, Haydn Pritchard P, et al.: Consumption of tall oil-derived phytosterols in a chocolate matrix significantly decreases plasma total and low-density lipoprotein-cholesterol levels. *The British journal of nutrition* 2002;88(5):479-88
28. di Giuseppe R, Di Castelnuovo A, Centritto F, Zito F, De Curtis A, Costanzo S, et al.: Regular consumption of dark chocolate is associated with low serum concentrations of C-reactive protein in a healthy Italian population. *The Journal of nutrition* 2008;138(10):1939-45
29. Dillinger TL, Barriga P, Escarcega S, Jimenez M, Salazar Lowe D, Grivetti LE: Food of the gods: cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. *The Journal of nutrition* 2000;130(8S Suppl):2057S-72S
30. Ding EL, Hutfless SM, Ding X, Girotra S: Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutrition & metabolism* 2006;3:2
31. Donfrancesco C, Lo Noce C, Brignoli O, Riccardi G, Ciccarelli P, Dima F, et al.: Italian network for obesity and cardiovascular disease surveillance: a pilot project. *BMC family practice* 2008;9:53
32. Donovan JL, Crespy V, Manach C, Morand C, Besson C, Scalbert A, et al.: Catechin is metabolized by both the small intestine and liver of rats. *The Journal of nutrition* 2001;131(6):1753-7
33. Endler G, Klimesch A, Sunder-Plassmann H, Schillinger M, Exner M, Mannhalter C, et al.: Mean platelet volume is an independent risk factor for myocardial infarction but not for coronary artery disease. *British journal of haematology* 2002;117(2):399-404
34. Engler MB, Engler MM, Chen CY, Malloy MJ, Browne A, Chiu EY, et al.: Flavonoid-rich dark chocolate improves endothelial function and increases plasma epicatechin concentrations in healthy adults. *Journal of the American College of Nutrition* 2004;23(3):197-204
35. Erdman JW, Jr., Carson L, Kwik-Urbe C, Evans EM, Allen RR: Effects of cocoa flavanols on risk factors for cardiovascular disease. *Asia Pacific journal of clinical nutrition* 2008;17 Suppl 1:284-7
36. Erlund I, Koli R, Alfthan G, Marniemi J, Puukka P, Mustonen P, et al.: Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *The American journal of clinical nutrition* 2008;87(2):323-31

37. Erne P, Wardle J, Sanders K, Lewis SM, Maseri A: Mean platelet volume and size distribution and their sensitivity to agonists in patients with coronary artery disease and congestive heart failure. *Thrombosis and haemostasis* 1988;59(2):259-63
38. Faridi Z, Njike VY, Dutta S, Ali A, Katz DL: Acute dark chocolate and cocoa ingestion and endothelial function: a randomized controlled crossover trial. *The American journal of clinical nutrition* 2008;88(1):58-63
39. Fisher ND, Hollenberg NK: Aging and vascular responses to flavanol-rich cocoa. *Journal of hypertension* 2006;24(8):1575-80
40. Fisher ND, Hughes M, Gerhard-Herman M, Hollenberg NK: Flavanol-rich cocoa induces nitric-oxide-dependent vasodilation in healthy humans. *Journal of hypertension* 2003;21(12):2281-6
41. Flammer AJ, Hermann F, Sudano I, Spieker L, Hermann M, Cooper KA, et al.: Dark chocolate improves coronary vasomotion and reduces platelet reactivity. *Circulation* 2007;116(21):2376-82
42. Floras JS, Jones JV, Hassan MO, Osikowska B, Sever PS, Sleight P: Cuff and ambulatory blood pressure in subjects with essential hypertension. *Lancet* 1981;2(8238):107-9
43. Francis ST, Head K, Morris PG, Macdonald IA: The effect of flavanol-rich cocoa on the fMRI response to a cognitive task in healthy young people. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2006;47 Suppl 2:S215-20
44. Franz I: *Ergometrie bei Hochdruckkranken - diagnostische und therapeutische Konsequenzen für die Praxis*. Springer, Berlin Heidelberg New York 1982
45. Franz IW, Bartels F, Muller R: [Blood-pressure response to ergometric work in normotensive subjects, aged 20-50 years]. *Zeitschrift für Kardiologie* 1982;71(7):458-65
46. Franz IW, Lohmann FW: [Reproducibility of blood pressure measurements in hypertensives during and after ergometry]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 1982;107(37):1379-83
47. Frohlich ED: The adrenergic nervous system and hypertension state of the art. *Mayo Clinic proceedings* 1977;52(6):361-8
48. Ganten D, Stock G: Humoral and neurohormonal aspects of blood pressure regulation: focus on angiotensin. *Klinische Wochenschrift* 1978;56 Suppl 1:31-41
49. Gawaz M, Neumann FJ, Schomig A: Evaluation of platelet membrane glycoproteins in coronary artery disease : consequences for diagnosis and therapy. *Circulation* 1999;99(1):E1-E11
50. Giumetti D, Liu K, Stamler R, Schoenberger JA, Shekelle RB, Stamler J: Need to prevent and control high-normal and high blood pressure, particularly so-called "mild" hypertension: epidemiological and clinical data. *Prev Med* 1985;14(4):396-412

51. Grande F, Anderson JT, Chlouverakis C, Proja M, Keys A: Effect of dietary cholesterol on man's serum lipids. *The Journal of nutrition* 1965;87(1):52-62
52. Grassi D, Desideri G, Necozione S, Lippi C, Casale R, Properzi G, et al.: Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. *The Journal of nutrition* 2008;138(9):1671-6
53. Grassi D, Lippi C, Necozione S, Desideri G, Ferri C: Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *The American journal of clinical nutrition* 2005;81(3):611-4
54. Grassi D, Necozione S, Lippi C, Croce G, Valeri L, Pasqualetti P, et al.: Cocoa reduces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension* 2005;46(2):398-405
55. Hall C, Higgs C, Notarianni L: Home blood pressure recording in mild hypertension: value of distinguishing sustained from clinic hypertension and effect on diagnosis and treatment. *J Human Hypertens* 1990;4:501-7
56. Hansen LK, Grimm RH, Jr., Neaton JD: The relationship of white blood cell count to other cardiovascular risk factors. *Int J Epidemiol* 1990;19(4):881-8
57. Heiss C, Finis D, Kleinbongard P, Hoffmann A, Rassaf T, Kelm M, et al.: Sustained increase in flow-mediated dilation after daily intake of high-flavanol cocoa drink over 1 week. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2007;49(2):74-80
58. Hendra TJ, Oswald GA, Yudkin JS: Increased mean platelet volume after acute myocardial infarction relates to diabetes and to cardiac failure. *Diabetes research and clinical practice* 1988;5(1):63-9
59. Henke KD, Martin K: [Cost of illness studies as a basis for decision making]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 2006;49(1):19-27
60. Heptinstall S, May J, Fox S, Kwik-Urbe C, Zhao L: Cocoa flavanols and platelet and leukocyte function: recent in vitro and ex vivo studies in healthy adults. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2006;47 Suppl 2:S197-205; discussion S6-9
61. Hertog MG: Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *The Proceedings of the Nutrition Society* 1996;55(1B):385-97
62. Hollman PC, de Vries JH, van Leeuwen SD, Mengelers MJ, Katan MB: Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *The American journal of clinical nutrition* 1995;62(6):1276-82
63. Holzgreve H: [Treatment of hypertensive type 2 diabetics: too late, too little]. *Herz* 2008;33(3):191-5

64. Hooper L, Kroon PA, Rimm EB, Cohn JS, Harvey I, Le Cornu KA, et al.: Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition* 2008;88(1):38-50
65. Huus K, Brekke HK, Ludvigsson JF, Ludvigsson J: Relationship of food frequencies as reported by parents to overweight and obesity at 5 years. *Acta Paediatr* 2009;98(1):139-43
66. Innes AJ, Kennedy G, McLaren M, Bancroft AJ, Belch JJ: Dark chocolate inhibits platelet aggregation in healthy volunteers. *Platelets* 2003;14(5):325-7
67. Jalil AM, Ismail A, Pei CP, Hamid M, Kamaruddin SH: Effects of cocoa extract on glucometabolism, oxidative stress, and antioxidant enzymes in obese-diabetic (Ob-db) rats. *Journal of agricultural and food chemistry* 2008;56(17):7877-84
68. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J: Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 2005;365(9455):217-23
69. Ketelhut R, Behr U, Franz I: Der Einfluss einer Gewichtsabnahme auf den Ruhe- und Belastungsblutdruck bei Hypertonikern. *Herz Kreisl* 1989;21:74
70. Ketelhut R, Messerli FH: Hypertension: left ventricular hypertrophy, ventricular ectopy, and sudden death. *Primary care* 1991;18(3):577-92
71. Ketelhut RG: [Blood pressure measurement during ergometry]. *MMW Fortschritte der Medizin* 2006;148(37):42-4
72. Ketelhut RG: [Endurance training in hypertension is effective. Which form of sports, frequency and intensity of training? When should adjuvant chemotherapy be considered?]. *Fortschritte der Medizin* 1998;116(34):26-8, 30-2
73. Ketelhut RG, Franz IW, Scholze J: Efficacy and position of endurance training as a non-drug therapy in the treatment of arterial hypertension. *Journal of human hypertension* 1997;11(10):651-5
74. Ketelhut RG, Franz IW, Scholze J: Regular exercise as an effective approach in antihypertensive therapy. *Medicine and science in sports and exercise* 2004;36(1):4-8
75. Kostyuk VA, Kraemer T, Sies H, Schewe T: Myeloperoxidase/nitrite-mediated lipid peroxidation of low-density lipoprotein as modulated by flavonoids. *FEBS letters* 2003;537(1-3):146-50
76. Krönig B: Blutdruckvariabilität bei Hochdruckkranken. Hüthig. Heidelberg 1976
77. Kulkarni S, Dopheide SM, Yap CL, Ravanat C, Freund M, Mangin P, et al.: A revised model of platelet aggregation. *The Journal of clinical investigation* 2000;105(6):783-91
78. Littler WA: Sleep and blood pressure: further observations. *American heart journal* 1979;97(1):35-7

79. Littler WA, Honour AJ, Pugsley DJ, Sleight P: Continuous recording of direct arterial pressure in unrestricted patients-its role in the diagnosis and management of high blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1975;Suppl 2:159-62
80. Manach C, Donovan JL: Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. *Free radical research* 2004;38(8):771-85
81. Martin JF, Bath PM, Burr ML: Influence of platelet size on outcome after myocardial infarction. *Lancet* 1991;338(8780):1409-11
82. Mathur A, Robinson MS, Cotton J, Martin JF, Erusalimsky JD: Platelet reactivity in acute coronary syndromes: evidence for differences in platelet behaviour between unstable angina and myocardial infarction. *Thrombosis and haemostasis* 2001;85(6):989-94
83. Matsui N, Ito R, Nishimura E, Yoshikawa M, Kato M, Kamei M, et al.: Ingested cocoa can prevent high-fat diet-induced obesity by regulating the expression of genes for fatty acid metabolism. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)* 2005;21(5):594-601
84. Middeke M: [Epidemiology of the hypertensive heart]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 2008;133 Suppl 8:S253-6
85. Mommersteeg PM, Denollet J, Spertus JA, Pedersen SS: Health status as a risk factor in cardiovascular disease: a systematic review of current evidence. *American heart journal* 2009;157(2):208-18
86. Muniyappa R, Hall G, Kolodziej TL, Karne RJ, Crandon SK, Quon MJ: Cocoa consumption for 2 wk enhances insulin-mediated vasodilatation without improving blood pressure or insulin resistance in essential hypertension. *The American journal of clinical nutrition* 2008;88(6):1685-96
87. Murphy KJ, Chronopoulos AK, Singh I, Francis MA, Moriarty H, Pike MJ, et al.: Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *The American journal of clinical nutrition* 2003;77(6):1466-73
88. Navas-Carretero S, Sarria B, Perez-Granados AM, Schoppen S, Izquierdo-Pulido M, Vaquero MP: A comparative study of iron bioavailability from cocoa supplemented with ferric pyrophosphate or ferrous fumarate in rats. *Annals of nutrition & metabolism* 2007;51(3):204-7
89. Pabon Osuna P, Nieto Ballesteros F, Morinigo Munoz JL, Sanchez Fernandez PL, Arribas Jimenez A, Diego Dominguez M, et al.: [The effect of the mean platelet volume on the short-term prognosis of acute myocardial infarct]. *Revista espanola de cardiologia* 1998;51(10):816-22
90. Pearson DA, Holt RR, Rein D, Paglieroni T, Schmitz HH, Keen CL: Flavanols and platelet reactivity. *Clinical & developmental immunology* 2005;12(1):1-9
91. Perloff D, Sokolow M, Cowan R: The prognostic value of ambulatory blood pressures. *JAMA* 1983;249(20):2792-8

92. Pizzulli L, Yang A, Martin JF, Luderitz B: Changes in platelet size and count in unstable angina compared to stable angina or non-cardiac chest pain. *European heart journal* 1998;19(1):80-4
93. Polagruto JA, Gross HB, Kamangar F, Kosuna K, Sun B, Fujii H, et al.: Platelet reactivity in male smokers following the acute consumption of a flavanol-rich grapeseed extract. *Journal of medicinal food* 2007;10(4):725-30
94. Polagruto JA, Wang-Polagruto JF, Braun MM, Lee L, Kwik-Urbe C, Keen CL: Cocoa flavanol-enriched snack bars containing phytosterols effectively lower total and low-density lipoprotein cholesterol levels. *Journal of the American Dietetic Association* 2006;106(11):1804-13
95. Raines EW, Ross R: Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *British heart journal* 1993;69(1 Suppl):S30-7
96. Rein D, Paglieroni TG, Pearson DA, Wun T, Schmitz HH, Gosselin R, et al.: Cocoa and wine polyphenols modulate platelet activation and function. *The Journal of nutrition* 2000;130(8S Suppl):2120S-6S
97. Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Pearson DA, Schmitz HH, Gosselin R, et al.: Cocoa inhibits platelet activation and function. *The American journal of clinical nutrition* 2000;72(1):30-5
98. Ried K, Frank OR, Stocks NP: Dark chocolate or tomato extract for prehypertension: a randomised controlled trial. *BMC complementary and alternative medicine* 2009;9:22
99. Robbie L, Libby P: Inflammation and atherothrombosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2001;947:167-79; discussion 79-80
100. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362(6423):801-9
101. Rost R, Heck H, Amecke F: Klinische Wertigkeit des Blutdrucks bei der Ergometrie. In: Holzgreve H, Rost R (Hrsg.): *Aktuelles und Kontroverses aus der Hochdruckforschung*. MMV Medizin, München 1984
102. Rowlands DB, Glover DR, Ireland MA, McLeay RA, Stallard TJ, Watson RD, et al.: Assessment of left-ventricular mass and its response to antihypertensive treatment. *Lancet* 1982;1(8270):467-70
103. Rowlands DB, Glover DR, Stallard TJ, Littler WA: Control of blood pressure and reduction of echocardiographically assessed left ventricular mass with one-daily timolol. *Br J Clin Pharmacol* 1982;14(1):89-95
104. Rudkowska I, Jones PJ: Functional foods for the prevention and treatment of cardiovascular diseases: cholesterol and beyond. *Expert review of cardiovascular therapy* 2007;5(3):477-90
105. Rutenfranz J: [Possibilities and limits of cardiovascular function tests in children]. *Z Arztl Fortbild (Jena)* 1968;62(17):931-8

106. Schewe T, Kuhn H, Sies H: Flavonoids of cocoa inhibit recombinant human 5-lipoxygenase. *The Journal of nutrition* 2002;132(7):1825-9
107. Schulte W, Neus H, Noffke HU, von Eiff AW: [Problems in the classification into blood pressure groups on the basis of measurements during rest]. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 1978(84):789-92
108. Schultheiss HP, Tschoepe D, Esser J, Schwippert B, Roesen P, Nieuwenhuis HK, et al.: Large platelets continue to circulate in an activated state after myocardial infarction. *European journal of clinical investigation* 1994;24(4):243-7
109. Selmi C, Cocchi CA, Lanfredini M, Keen CL, Gershwin ME: Chocolate at heart: the anti-inflammatory impact of cocoa flavanols. *Molecular nutrition & food research* 2008;52(11):1340-8
110. Selmi C, Mao TK, Keen CL, Schmitz HH, Eric Gershwin M: The anti-inflammatory properties of cocoa flavanols. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2006;47 Suppl 2:S163-71; discussion S72-6
111. Shay NF, Banz WJ: Regulation of gene transcription by botanicals: novel regulatory mechanisms. *Annual review of nutrition* 2005;25:297-315
112. Shiina Y, Funabashi N, Lee K, Murayama T, Nakamura K, Wakatsuki Y, et al.: Acute effect of oral flavonoid-rich dark chocolate intake on coronary circulation, as compared with non-flavonoid white chocolate, by transthoracic Doppler echocardiography in healthy adults. *International journal of cardiology* 2009;131(3):424-9
113. Singh I, Quinn H, Mok M, Southgate RJ, Turner AH, Li D, et al.: The effect of exercise and training status on platelet activation: do cocoa polyphenols play a role? *Platelets* 2006;17(6):361-7
114. Spencer JP: Metabolism of tea flavonoids in the gastrointestinal tract. *The Journal of nutrition* 2003;133(10):3255S-61S
115. Taubert D, Roesen R, Lehmann C, Jung N, Schomig E: Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide: a randomized controlled trial. *Jama* 2007;298(1):49-60
116. Taubert D, Roesen R, Schomig E: Effect of cocoa and tea intake on blood pressure: a meta-analysis. *Archives of internal medicine* 2007;167(7):626-34
117. Taylor S: The circulation in hypertension. In Burley DM, Birdwood GB, Fryer JH, Taylor SH (eds): *Hypertension - its nature and treatment*. Metropolis Press, London 1975:29-34
118. Walle T, Walle UK, Halushka PV: Carbon dioxide is the major metabolite of quercetin in humans. *The Journal of nutrition* 2001;131(10):2648-52
119. WHO/ISH: Guidelines for the management of mild hypertension: memorandum from a WHO/ISH meeting. *Journal of hypertension* 1989;7:689-93

- 120.** Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C: Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free radical biology & medicine* 2004;36(7):838-49
- 121.** Wilson NV, Meyer BM: Early prediction of hypertension using exercise blood pressure. *Prev Med* 1981;10(1):62-8
- 122.** Wu A, Chanarin I, Slavin G, Levi AJ: Folate deficiency in the alcoholic--its relationship to clinical and haematological abnormalities, liver disease and folate stores. *British journal of haematology* 1975;29(3):469-78
- 123.** Yokoi K, Konomi A, Otagi M: Iron bioavailability of cocoa powder as determined by the Hb regeneration efficiency method. *The British journal of nutrition* 2009;102(2):215-20

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

## **10. Erklärung**

„Ich, Josef Vogl, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

Der Einfluss dunkler Schokolade auf das Blutdruckverhalten in Ruhe, während und nach Belastung, sowie auf einzelne für den arteriellen Gefäßzustand relevante Stoffwechselfparameter

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

## **11. Danksagung**

Für die Überlassung der Thematik und seine außerordentliche Unterstützung bedanke ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. med. Reinhard G. Ketelhut.

Darüber hinaus sei insbesondere den Probanden gedankt, dass sie sich die Zeit genommen haben, an dieser Untersuchung teilzunehmen und die Mühe der monotonen Schokoladeneinnahme ertragen haben.

Zuletzt möchte ich mich speziell bedanken bei Frau Stella Kohler, die bei der Durchführung der Untersuchungen assistierte, Frau Barbara Engert vom Institut für Medizinische Informatik der Charité Berlin und Frau Dr. med. Tanja Kottmann, die mir bei allen Fragen der statistischen Auswertung und Grafikgestaltung mit Rat und Tat zur Seite standen und natürlich bei meiner Familie und meinen Freunden, insbesondere meinen Eltern und meinem Sohn, denen ich diese Arbeit widme und ohne deren Rückhalt diese Arbeit nie zu Stande gekommen wäre.