

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Center of
Experimental & Applied Cutaneous Physiology, der Medizinischen Fakultät Charité
– Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Messung der Effekte carotinoidfreier Nahrungsergänzungsmittel auf die
radikalfangenden Eigenschaften der menschlichen Haut mittels
Elektronenspinresonanz-Spektroskopie und Resonanz Raman-
Spektroskopie; vergleichende Untersuchung von Vitamin C und einem
Aroniabeerenpräparat**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Anna-Christina Lauer

aus Bielefeld

Datum der Promotion: 30.05.2015

Inhaltsverzeichnis

1. Abstrakt	3
2. Einleitung	6
3. Methodik	8
3.1. Resonanz Raman Spektroskopie	8
3.2. Elektronenspinresonanz-Spektroskopie.....	9
3.3. Nahrungsergänzungsmittel	10
3.3.1. Aronia	10
3.3.2. Vitamin C.....	10
3.4. RadicalProtectionFactor	10
3.5. Fragebogen	10
4. Ergebnisse	12
4.1. Resonanz Raman-Spektroskopie	12
4.1.1. Einfluss persönlicher Faktoren auf die Carotinoide in der Haut	12
4.2. Elektronenspinresonanz-Spektroskopie	13
4.2.1. Veränderungen der antioxidativen Kapazität der Haut nach	13
vierwöchiger Einnahme der carotinoidfreien Nahrungsergänzungsmittel Aronia und Vitamin C.....	13
4.2.2. Dosisabhängigkeit (Vitamin C Pulver 1 und 2)	13
4.2.3. Kinetik (Vitamin C Pulver 1)	13
4.3. Studienprotokoll	13
4.4. Fragebogen	14
5. Diskussion	15
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen	21
Paper 1	23
Paper 2	30
Paper 3	38
Lebenslauf	47
Publikationsliste	48
Eidesstattliche Versicherung	49
Danksagung	50

1. Abstrakt

Einleitung: Antioxidantien verhindern oxidative Gewebeschäden durch freie Radikale. Um ausreichend Antioxidantien bereitzustellen, müssen diese mit der Nahrung zugeführt werden. In dieser Studie wurden die Auswirkungen der Einnahme natürlicher und synthetischer Nahrungsergänzungsmittel auf die radikalfangenden Eigenschaften der Haut untersucht.

Zugleich sollte die Anwendbarkeit der Elektronenspinresonanz-Spektroskopie als in-vivo Methode zu diesem Zweck überprüft werden. Ein bereits evaluiertes Messinstrument ist die Resonanz Raman Spektroskopie.

Methoden: Im Rahmen klinischer Studien (inklusive der folgenden Studie) sowie in einer öffentlichen Freiwilligen-Aktion wurden bei 151 Personen die Carotinoidkonzentrationen der Haut mittels Raman Spektroskopie gemessen und persönliche Daten erhoben und statistisch ausgewertet.

In einer klinischen Studie erhielten 44 gesunde Probanden von 20 bis 57 Jahren (Mittelwert (MW) 32J.) zwei Mal täglich für 28 Tage ein Nahrungsergänzungsmittel. Je 11 Probanden erhielten Placebo (Dextrosepulver), niedrigdosiertes Vitamin C-Pulver (125mg Vitamin C in Dextrose /Tag), Aronia-Pulver (800mg Aronia mit 40mg Vitamin C/ Tag), oder hochdosiertes Vitamin C-Pulver (225mg Vitamin C in Dextrose/ Tag). Das Aronia-Pulver und das niedrigdosierte Vitamin C Pulver wiesen die gleiche radikalfangende Kapazität auf. Diese wurde mit einer definierten Menge eines Testradikals in vitro geprüft und wird als RadicalProtectionFactor (RPF) beschrieben.

Die zweite Vitamin C Probe besitzt einen 1.8-fach höheren RPF. Mittels Resonanz Raman Spektroskopie und Elektronenspinresonanz-Spektroskopie wurden die Carotinoidkonzentrationen und die radikalfangenden Eigenschaften der Haut zu Beginn und nach 28 Tagen ermittelt. 9 Probanden der niedrig-dosierten Vitamin C Gruppe wurden zusätzlich nach 14 Tagen gemessen. Alle Probanden erhielten zu allen Terminen einen Fragebogen, in dem Ernährungs- und Lebensgewohnheiten erfragt wurden.

Ergebnisse: Durch alimentäre Substitution mit Vitamin C und dem Aronia-Misch-Produkt steigen die radikalfangenden Eigenschaften der Haut signifikant zum Vorniveau um 22% bzw. 23%. In der hochdosierten Vitamin C Gruppe ist ein signifikanter Anstieg um 37% zu verzeichnen. Innerhalb der Vitamin C Gruppe ist der Effekt der Substitution bereits nach 14 Tagen in voller Höhe messbar. Die Carotinoidkonzentrationen stiegen unter der Supplementation mit carotinoidfreien Antioxidantien nicht signifikant. Die

Carotinoidkonzentrationen sind abhängig von Geschlecht, Alter und Rauchen. Frauen, Nichtraucher und Probanden unter 40 Jahren zeigen höhere Carotinoidwerte.

Schlussfolgerung: Mit Hilfe der ESR-Spektroskopie konnte gezeigt werden, dass sowohl ein natürliches Mischpräparat, als auch reines synthetisches Vitamin C die radikalfangenden Eigenschaften der Haut in gleicher Weise erhöhen. Der RPF ist ein gutes Maß zur Evaluation der antioxidativen Potenz eines Präparates. Signifikante Erhöhungen der Carotinoidkonzentrationen nach Einnahme carotinoidfreier Antioxidantien konnten in dieser vierwöchigen Studie nicht nachgewiesen werden. Langzeiteffekte können aufgrund der kurzen Studiendauer nicht beurteilt werden.

Abstract

Introduction: *The antioxidative defense system of the skin prevents cell damage induced by free radicals. Dietary intake of antioxidants is important for the maintenance of this defense system. This study focusses on the effect of dietary supplementation on the radical scavenging activity in the human skin. The Electron Paramagnetic Resonance spectroscopy is evaluated as an in-vivo measurement method. The Raman resonance spectroscopy is a valid method.*

Methods: *In clinical studies (including the following study) and at a public exhibition 151 volunteers were measured with Raman spectroscopy and answered a cross-sectional survey. A statistical analysis was performed.*

In a clinical study 44 healthy volunteers aged between 20 and 57 years were administered with a dietary supplement for 28 days twice daily. Each group consisted of 11 volunteers; placebo (dextrose powder), low dose vitamin C (125mg Vitamin C/day), Aronia 800mg Aronia and 40mg vitamin C/day) or high dose vitamin C (225mg vitamin C/day). The Aronia supplement and the low dose vitamin C supplement had shown the same radical scavenging activity in a pre-clinical in-vitro investigation. The radical scavenging activity was tested with a defined amount of a test radical. The resulting parameter is called the Radical Protection Factor (RPF). In this investigation the high dose vitamin C supplement is 1.8 times more effective.

At baseline and after 28 days of oral supplementation measurements were performed using Raman spectroscopy and Electron Paramagnetic Resonance spectroscopy. Nine volunteers of the low dose vitamin C group were additionally measured after 14 days. All volunteers took part in a survey at the time of the measurements.

Results: After 28 days of oral supplementation with vitamin C and the Aronia supplement the radical scavenging activity of the skin measured by Electron Paramagnetic Resonance spectroscopy had increased significantly by 22% and 23%, respectively. The high dose vitamin C group showed a significant median increase by 37%. Within the low dose vitamin C group the effect is already seen after 14 days of supplementation. There was no significant enhancement of the carotenoid levels. In the cross-sectional investigations the amount of carotenoids in human skin showed to be dependent on gender, age and smoking habits. Women, non-smokers and volunteers below 40 years of age show higher carotenoid concentrations.

Conclusion: Using the EPR spectroscopy it could be shown that both the natural Aronia/vitamin C mixture and the pure synthetic vitamin C supplement equally enhanced the radical scavenging activity of the skin. In this study the RPF showed to be suitable parameter of radical scavenging activity in-vitro. A significant enhancement of carotenoid levels was not observed. The study period had been too short to determine long-term effects.

2. Einleitung

Die Haut ist täglich Stressoren ausgesetzt, die zu einer vermehrten Radikalbildung in der Haut führen. Freie Radikale entstehen endogen, zum Beispiel in der Atmungskette, oder durch exogene Einflüsse wie UV-Strahlung in der Haut [1, 2]. Sie können zu vermehrter Hautalterung [3] und zur Entstehung von Tumoren der Haut führen [4]. Um einer schädlichen Wirkung von Radikalen entgegenzuwirken, verfügt die Haut über ein antioxidatives System, welches Radikale neutralisieren kann. Dieses System basiert auf dem Zusammenspiel enzymatischer und nicht enzymatischer Faktoren, zu denen auch Vitamine wie das Vitamin C und Flavonoide gehören. Unser Körper ist darauf angewiesen, bestimmte antioxidative Substanzen, wie Vitamin C und Carotinoide, über die Nahrung aufzunehmen [5]. Eine herausragende Rolle spielen dabei Obst und Gemüse, da hier hohe Konzentrationen von Carotinoiden, Vitamin C und weiteren Pflanzenstoffen wie Polyphenolen enthalten sind. Die physiologischen Wirkungen dieser Antioxidantien sind vielfältig und nicht für alle Substanzen gut untersucht. Vitamin C interagiert u.a. mit zytosolischem Glutathion und ist an der Regeneration von membrangebundenem Vitamin E beteiligt [6]. Die Bioverfügbarkeit von Vitamin C ist hoch [5], die Aufnahme in die Korneozyten erfolgt über einen natriumabhängigen Transport [7]. Die Haut exprimiert zwei Isoformen dieses Natrium-abhängigen Transporters, was mit einem gesteigerten Bedarf zusammenhängen könnte [8]. Neben der Haut, haben weitere Organe, wie etwa das Gehirn einen besonders hohen Gehalt an Vitamin C [9].

Carotinoide sind lipophil und können nach oraler Aufnahme vermehrt im Blutplasma nachgewiesen werden [10]. Der Transport in die Haut erfolgt über das Blut und das Talgdrüsensekret. Es wurde außerdem die Distribution über die Schweißdrüsen der Haut beschrieben [11, 12]. Sie schützen unter anderem vor Lipidperoxidation und können durch Lichtabsorption und Reaktion mit Singulett-Sauerstoff Gewebe vor DNA-Schäden schützen [13].

Polyphenole, wie Flavonoide und Anthocyane, aus Pflanzen sind hochpotente Antioxidantien. Die Bioverfügbarkeit in der menschlichen Haut nach oraler Aufnahme wird kontrovers diskutiert. In klinischen Studien konnte die Aufnahme von Flavonoiden aus Saft in das Blut nachgewiesen werden [14]. In einzelnen klinischen Studien konnten antioxidative Effekte in der Haut gezeigt werden, so reduzierte sich durch Flavonoideinnahme die Induzierbarkeit von Erythemen durch UV Bestrahlung [15].

Die folgende Arbeit befasst sich mit den Auswirkungen der Ernährung auf die radikalfangenden Eigenschaften der Haut im Rahmen einer randomisierten klinischen Studie. Dabei kommen zwei Messmethoden zum Einsatz: Die Resonanz Raman-Spektroskopie und die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie.

Die Resonanz Raman-Spektroskopie ist geeignet, Carotinoide, darunter β -Carotin und Lycopin direkt nachzuweisen [16]. Andere Antioxidantien, wie Vitamin C oder Flavonoide, können mit dieser Methode nicht nachgewiesen werden. Die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie dagegen kann keine konkreten Antioxidantien nachweisen, sofern diese keine paramagnetischen Eigenschaften besitzen und in höherer Konzentration in der Haut vorliegen. Die Methode weist aber spezifisch Radikale nach, welche durch die Antioxidantien in der Haut reduziert werden. Daher kann indirekt durch den messbaren Abbau der Radikale die radikalfangende Eigenschaft der Haut gemessen werden [17].

Während die Resonanz Raman-Spektroskopie in der in vivo Messung sehr erprobt ist, gilt dies nicht für die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie. Ein Teil dieser Arbeit war es also nachzuweisen, dass Veränderungen der Hautphysiologie mit dem Elektronenspinresonanz-Spektrometer ausreichend genau und reproduzierbar messbar sind. Durch den Vergleich der beiden Methoden lassen sich Rückschlüsse auf das wechselseitige Zusammenwirken von Carotinoiden und anderen Antioxidantien in der Haut ziehen.

Um eine standardisierte Einnahme von Antioxidantien zu vereinfachen, wurden zwei verschiedene Nahrungsergänzungsmittel in Pulverform verwendet – ein synthetisches Präparat aus einem Vitamin C/ Dextrose-Gemisch und ein hauptsächlich natürliches Präparat, welches aus den Schalen der Aroniabeere hergestellt wird, mit einem Anteil Vitamin C zur Haltbarkeitsmachung. Die Studie fand Placebo-kontrolliert (reines Dextrose-Pulver) statt. Alle Studienpräparate wurden in Wasser aufgelöst und getrunken.

3. Methodik

3.1. Resonanz Raman Spektroskopie

Eine nicht-invasive Messung der Carotinoidkonzentration der Haut ist mithilfe der Resonanz Raman-Spektroskopie möglich.

Das Grundprinzip der Resonanz Raman Spektroskopie basiert auf dem Raman-Effekt, welcher in den 1920er Jahren vom indischen Physiker Sir Chandrasekhara Venkata Raman experimentell nachgewiesen wurde. Dieser Effekt beschreibt, dass monochromatisches Licht, welches auf ein Molekül trifft, in verschiedene Spektrallinien gestreut wird. Ein Teil des Streulichts verändert seinen Energiezustand nicht und hat die gleiche Frequenz wie die Lichtquelle, dieses Streulicht wird als Rayleigh-Streuung bezeichnet. Ein anderer Teil des Streulichts ändert seinen Energiezustand und weist dann eine andere Frequenz als die Lichtquelle auf. Diese Spektrallinien werden Raman-Linien genannt. Die Intensität der Raman-Linien ist eher gering und hängt von der Intensität der Lichtquelle, der applizierten Wellenlängen, der Konzentration der Probensubstanz und den spezifischen Streueigenschaften der Probe ab. Die generierten Spektren sind spezifisch für bestimmte Substanzen, wodurch eine Konzentrationsmessung in gemischten Proben erst möglich wird.

Der hier verwendete Messaufbau der resonanten Raman Spektroskopie wurde von Darwin et al. in zahlreichen Studien zur Messung der β -Carotin und Lycopin Konzentrationen der Haut angewandt [18-20]. In diesem Aufbau wird im Absorptionsmaximum der Carotinoide angeregt, sodass eine sehr hohe Empfindlichkeit erreicht wird.

Dabei wird ein Argon Laser mit einer Wellenlänge von 488nm und 514.5nm eingesetzt. Das Laserlicht wird auf eine Hautstelle fokussiert. Das Streulicht wird durch eine Linse gesammelt und über ein Faserkabel in einen Spektrographen geleitet, welcher mit einer CCD Kamera und dem Laptop verbunden ist. Die Ergebnisse werden aus drei Messungen gemittelt und in unskalierten Einheiten wiedergegeben [19].

Bei einer Wellenlänge von 488nm reagieren alle Carotinoide, wodurch hier eine Gesamtkonzentration ermittelt wird. Bei 514.5nm reagiert vor allem das Lycopin. Zieht man die Konzentration von Lycopin von der Gesamtkonzentration ab, erhält man näherungsweise das häufigste Carotinoid der Haut, das β -Carotin.

Im Rahmen von klinischen Studien und einer Freiwilligenaktion auf einer Berliner Ausstellung wurden insgesamt 151 Personen mit dem Raman Spektrometer an der Haut der Handinnenfläche gemessen.

3.2. Elektronenspinresonanz-Spektroskopie

Bei der Elektronenspinresonanz-Spektroskopie werden paramagnetische Stoffe, eingesetzt. Dazu zählen Stoffe mit einem ungepaarten Elektron, wie beispielsweise Radikale. Die Grundlage der Elektronenspinresonanz -Spektroskopie ist die Eigenschaft paramagnetischer Stoffe sich in einem Magnetfeld in diskrete Energieniveaus aufzuspalten (auch bekannt als Zeemann-Effekt). Der Übergang der verschiedenen Zustände ineinander kann durch Anlage einer senkrecht zum Magnetfeld angelegten Mikrowellenstrahlung verursacht werden. Elektromagnetische Strahlung, deren Energie der Aufspaltung der Energiezustände entspricht, regt die Moleküle an, den höher energetischen Zustand einzunehmen. Danach kehren die Moleküle in den niedrig energetischen Zustand zurück. Dieses Prinzip wurde 1945 erstmals von E. K. Zavoisky beschrieben.

Die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie ist keine direkte Nachweismethode für Antioxidantien in der Haut, da diese keine paramagnetischen Eigenschaften besitzen. Der Nachweis kann also nur indirekt über die Messung einer Radikalmenge erfolgen. Für diesen Zweck eignen sich stabile Radikale.

Für die Anwendung auf der Haut wird in dieser Arbeit das semi-stabile Radikal 2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy (TEMPO) verwendet. In vivo Untersuchungen konnten zeigen, dass TEMPO in der Haut hauptsächlich in ein verträgliches Hydroxylamin, umgesetzt wird [21].

In diesem Versuchsaufbau wurde eine festgelegte Radikalmenge auf die Haut aufgetragen und der Abbau der Radikale über die Zeit gemessen. Der Radikalabbau kann durch eine einfache exponentielle Gleichung beschrieben werden. Die Ratenkonstante (k-Wert) wird als Maß der antioxidativen Kapazität der Haut aufgefasst. In dieser Arbeit wurde ein L-Band Spektrometer verwendet, LBM MT 03 (Magnettech, Berlin, Germany). Bei diesem Spektrometer kann ein Arm unterhalb der Messspule platziert werden, wodurch die in vivo Messungen erst möglich sind. Die Messungen wurden an der ungebräunten Haut der Unterarme an zwei bis maximal vier Messpositionen durchgeführt. Die Radikallösung wurde auf die Haut über ein Filterpapier aufgetragen und für 10 Minuten inkubiert. Danach erfolgte eine 20-minütige Messung im ESR-Spektrometer. War die Abweichung der ermittelten exponentiellen Funktionen größer als 20% wurde eine weitere Messung durchgeführt. Die Gesamtdauer einer Messung (Doppelmessung) beträgt ca. 1.5 Stunden.

3.3. Nahrungsergänzungsmittel

Für die Supplementation wurden zwei antioxidative Nahrungsergänzungsmittel eingesetzt. Beide Mittel wurden in Pulverform verabreicht, da das Supplement, Aronia energy (Privatinstitut Galenus, Berlin, Deutschland), in dieser Form produziert wird.

3.3.1. Aronia

Das Extrakt Aronia energy wird aus den Schalen der Aroniabeere gewonnen. Ein weiterer Inhaltsstoff ist Topinambur. Dieses Knollengewächs enthält Inulin, ein Fructooligosaccharid, welches u.a. als Geschmacksstoff oder Stärkeersatz in der Herstellung einiger Lebensmittel verwandt wird. Der Anteil der Aroniabeere im Endprodukt liegt bei über 70%. Darüber hinaus enthält Aronia energy Calciumascorbat zur Stabilisierung des Pulvers mit 5mg Calciumascorbat/g Pulver.

3.3.2. Vitamin C

Die Vitamin C Pulver entsprechen einer Dextrose/ Calciumascorbat-Mischung. Bei Pulver 1 beträgt das Verhältnis 8,3mg Calciumascorbat/g Pulver. Pulver 2 beinhaltet 14,9mg Calciumascorbat/g Pulver und besitzt somit eine 1,8 fach höhere Vitamin C-Konzentration als Pulver 2.

3.4. Radical Protection Factor

Um zwei unterschiedliche Pulver miteinander vergleichen zu können, in diesem Fall das Aronia Pulver und das Vitamin C Pulver 1, wurde der Radical Protection Factor (RPF) beider Pulver aufeinander abgestimmt.

Der Radical Protection Factor wird durch die Reaktion der Testsubstanz mit dem Testradikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ermittelt und wird in der Einheit $3600 \cdot 10^{14}$ (neutralisierte Radikale) / mg (Testsubstanz) angegeben. Aronia energy hat einen RPF von 3600. Das Vitamin C Pulver 1 wurde an diesen RPF unter Berücksichtigung der Dichteunterschiede der Pulver angepasst.

Das Vitamin C Pulver 2 hat eine um den Faktor 1.8 höhere radikalfangende Potenz.

3.5. Fragebogen

Alle Probanden beantworteten zu beiden Messterminen einen Fragebogen, indem Ernährung und Genussmittelkonsum, sowie Hauttyp und Sonnenexposition, Benutzung von Pflegeprodukten, persönlicher und privater Stress, Stimmung, Sport und Neigung zu

Erkältungskrankheiten oder gastrointestinalen Infekten erfragt wurden. Darüber hinaus wurden die Probanden am zweiten Termin zu besonderen Vorkommnissen oder Veränderungen in ihrem Leben befragt. Die Ergebnisse des Fragebogens dienten der Analyse und des Vergleichs der Basalwerte in den Raman und ESR Messungen in Bezug auf die Ernährungs- und Lebensgewohnheiten der Probanden. Es sollte zudem sichergestellt werden, dass es keine relevanten Änderungen der Lebensweise der Probanden gegeben hatte.

4. Ergebnisse

4.1. Resonanz Raman-Spektroskopie

4.1.1. Einfluss persönlicher Faktoren auf die Carotinoide in der Haut

Die Untersuchungen an einer Probandengruppe von 151 gesunden Personen haben gezeigt, dass Frauen und Nicht-Raucher signifikant höhere Gesamtcarotinoidwerte haben. So haben Männer im Mittel 13.7% niedrigere Gesamtcarotinoidwerte als Frauen. Ebenso haben Raucher (R) signifikant geringere Gesamtcarotinoidwerte (MW 20.6%) und im Speziellen Lycopinwerte (MW 31.3%) als Nichtraucher. In der Gruppe der >40-jährigen Teilnehmer fand sich eine um 16.4% geringere Lycopinkonzentration im Vergleich zu den <40-Jährigen.

Der Mittelwert der Gesamtcarotinoide lag bei 5.36 (10^{-4} a.u.) und bei 1.30 (10^{-4} a.u.) für das Lycopin. Unter allen Probanden gab es eine eindeutig positive Korrelation der Lycopinwerte mit den Gesamtcarotinoidwerten. Eine Korrelation der Gesamtcarotinoidwerte zum Alter hingegen konnte in dieser Untersuchung nicht bestätigt werden.

In Bezug auf den BMI gab es einen Trend zu höheren Carotinoidwerten für Personen mit einem BMI-Wert von unter 30 kg/m².

4.1.2. Einfluss von carotinoidfreien Nahrungsergänzungsmitteln auf die Carotinoide der Haut

Nach vierwöchiger Einnahme der carotinoidfreien Antioxidantien Aronia und Vitamin C konnte kein signifikanter Unterschied der Gesamt-Carotinoid- oder Lycopinkonzentrationen vor und nach Einnahme im Vergleich zur Placebogruppe festgestellt werden.

4.2. Elektronenspinresonanz-Spektroskopie

4.2.1. Veränderungen der antioxidativen Kapazität der Haut nach vierwöchiger Einnahme der carotinoidfreien Nahrungsergänzungsmittel Aronia und Vitamin C

Die Ergebnisse nach 28 Tagen Supplementation zeigen, dass sowohl Vitamin C, als auch Aronia das antioxidative Potential der Haut in vergleichbarer Weise erhöhen.

Das Vitamin C Pulver 1 und das Aronia Pulver (jeweils äquivalenter RPF) zeigen beide eine Erhöhung des Radikalabbaus in der Haut um über 20%. Statistisch ergibt sich kein Unterschied in der Wirksamkeit beider Nahrungsergänzungsmittel.

Probanden, die das Vitamin C Pulver 2 mit einem, um den Faktor 1,8 höheren RPF als das Aroniapulver/ Vitamin C Pulver 1 eingenommen haben, zeigen einen Anstieg der radikalfangenden Eigenschaften der Haut um 37%.

4.2.2. Dosisabhängigkeit (Vitamin C Pulver 1 und 2)

Die oben genannten Ergebnisse zeigen, dass Probanden, die das stärker dosierte Vitamin C Präparat eingenommen haben, nach vier Wochen höhere Ratenkonstanten aufweisen als Probanden aus der niedrig dosierten Vitamin C Gruppe. Die Mediane beider Gruppen weichen um den Faktor 1,7 voneinander ab. Dies entspricht etwa dem Verdünnungsfaktor der Proben von 1,8. Dieser Unterschied ist aber nicht signifikant (Vergleich der Ratenkonstanten der Vitamin C Gruppen 1 und 2 nach 4 Wochen, Mann-Whitney Test $p=0,243$).

4.2.3. Kinetik (Vitamin C Pulver 1)

Für die Vitamin-Supplementation konnte gezeigt werden, dass der Einfluss auf die radikalfangenden Eigenschaften der Haut bereits nach zweiwöchiger Einnahme in voller Höhe messbar ist, so findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem Anstieg der radikalfangenden Eigenschaften der Haut nach 14 und nach 28 Tagen (Vergleich der Ratenkonstanten eines Teils der Vitamin C Gruppe 1 ($n=9$) nach 2 und nach 4 Wochen, Wilcoxon Test $p=0,953$).

4.3. Studienprotokoll

Alle 44 Studienteilnehmer dieser Arbeit beendeten die Studie regelrecht und gaben an, die Präparate regelmäßig eingenommen zu haben. Alle Pulverdosen wurden zum

Studienende zurückgegeben und gewogen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Teilnehmer im Mittel 70% (44 - 100%) des Doseninhalts verbraucht haben. Daraus ergeben sich Einnahmen von 100mg Vitamin C pro Tag in der niedrigdosierten Vitamin C Gruppe, 180mg Vitamin C pro Tag in der hochdosierten Vitamin C Gruppe, sowie in der Aroniagruppe eine Einnahme von 40mg Vitamin C pro Tag über das Aronia-Produkt.

4.4. Fragebogen

Über die Ernährungsangaben in den Fragebögen erfolgte eine Schätzung der mittleren Vitamin C Einnahme der Probanden. Diese beträgt im Mittel 76mg/ Tag (78mg für Frauen, 69mg für Männer). Diesbezüglich wurde festgestellt, dass die eingenommenen Mengen nahe oder unterhalb der empfohlenen Tagesdosen sowohl der amerikanischen als auch der deutschen Gesellschaft für Ernährung liegen (US Food an Nutrition Board 75mg/d für Frauen, 90mg/d für Männer, Deutsche Gesellschaft für Ernährung 100mg/d für Erwachsene¹).

Die zusätzliche Einnahme über die Studiendauer betrug etwa 100mg bzw. 180mg Vitamin C pro Tag in den Vitamin C Gruppen. Damit erhöht sich die Einnahme der Probanden auf im Mittel 176 bzw. 256mg Vitamin C pro Tag. Die Einnahme des Aroniapulvers entspricht etwa der Einnahme zweier Gläser Aroniabeeren pro Tag.

Unterteilt man alle Probanden in zwei Gruppen, je mit hohem und mit niedrigem Gemüsekonsum, zeigen Probanden mit einem höheren Gemüsekonsum um 26% höhere Gesamtcarotinoidwerte an der Handfläche zu Beginn der Studie. Dieses Ergebnis ist aber nicht signifikant. Probanden mit höherem Obstkonsum zeigen keine höheren Carotinoidwerte.

¹ US Food and Nutrition Board 2012 (aufgerufen 12. Februar, 2012, http://www.iom.edu/w/media/Files/Activity%20Files/Nutrition/DRI/DRI_Vitamins.pdf)
Deutsche Gesellschaft für Ernährung 2008 (aufgerufen 12. Februar, 2012, <http://www.dge.de/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=4&page=11>)

5. Diskussion

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Veränderungen der radikalfangenden Eigenschaften der Haut durch Einfluss antioxidativer Substanzen mittels ESR-Spektroskopie gemessen werden können. Zuvor konnten Haag et al. in einer Studie mit 17 Probanden bereits zeigen, dass reproduzierbare Messungen an sonnengeschützten Hautarealen mit der ESR-Spektroskopie möglich sind [17].

Die Methode erweitert das Spektrum nicht-invasiver Messverfahren, im Speziellen die Resonanz Raman-Spektroskopie. Dadurch können nicht nur Carotinoide, sondern auch carotinoidfreie Substanzen ohne invasive Diagnostik in der Haut untersucht werden.

In dieser Studie wurde ein rein synthetisches Monopräparat und ein Mischpräparat, welches einen hohen Obst- und Gemüsekonsum simulieren sollte, miteinander verglichen.

Das Aroniapräparat enthält insbesondere phenolische Komponenten aus der Aroniabeerenschale, Inulin sowie zusätzlich hinzugefügtes Vitamin C als Konservierungsmittel. Die Tatsache, dass die Aronia und die niedrigdosierte Vitamin C Gruppe einen vergleichbaren Anstieg der radikalfangenden Eigenschaften der Haut zeigen, deutet darauf hin, dass sich nicht nur Vitamin C, sondern auch die phenolischen Antioxidantien, wie sie in Aronia enthalten sind, in der Haut anreichern.

Für gesunde Erwachsene wurde ein Sättigungseffekt der oralen Vitamin C Aufnahme beschrieben. Die maximal verfügbare Einzeldosis liegt bei etwa 200mg [22]. Vor diesem Hintergrund ist die tägliche Einnahme von im Mittel 100mg beziehungsweise 180mg in zwei Einzeldosen täglich, ebenso wie die Einnahme von zwei Handvoll Aroniabeeren und 40mg Vitamin C in 2 Einzeldosen täglich, als moderat anzusehen.

Dies zeigt sich auch daran, dass der Effekt der Nahrungsergänzung auf die radikalfangenden Eigenschaften der Haut in der höherdosierten Vitamin C Gruppe deutlich steigerbar ist, wenn auch nicht signifikant.

Die Problematik der Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Probenpulver wurde über die Angleichung des Radical Protection Factors gelöst. Die Aronia Gruppe und die niedrigdosierte Vitamin C Gruppe besitzen den gleichen RPF bezogen auf die Streudichte der Pulverpräparate und zeigten in der Studie ebenfalls keinen Unterschied in der Wirksamkeit auf die radikalfangenden Eigenschaften der Haut. Der RPF ist daher ein hilfreiches Instrument zur Standardisierung vergleichender Studien mit der ESR-Spektroskopie.

In den Raman Messungen konnte keine Stabilisierung der Carotinoidkonzentrationen der Haut durch die Nahrungsergänzungsmittel gemessen werden. In anderen Studien zeigten sich nach 8 Wochen messbare Erhöhungen der Carotinoidkonzentrationen nach topischer Applikation von carotinoidfreien Antioxidantien, u.a. auch Vitamin C [18]. Es konnte zudem gezeigt werden, dass auch die systemische Applikation carotinoidfreier Antioxidantien die messbaren Carotinoidkonzentrationen in der Haut erhöhen [18].

In einer jüngeren Studie konnte mittels ESR- Spektroskopie eine Reduktion der infrarotlichtinduzierten Radikalbildung in-vivo nach vierwöchiger Anwendung einer Vitamin E- haltigen Lotion gezeigt werden [23].

Grundsätzlich ist zu überlegen, ob der Effekt der Supplementation von dem Bedarf an Antioxidantien und damit von persönlichen Faktoren und der Lebensweise abhängig ist. Die Umfrageergebnisse haben gezeigt, dass die meisten, insbesondere die männlichen Teilnehmer, über die übliche Ernährung weniger Vitamin C als von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung empfohlen, zu sich genommen haben. In dieser Studie ergaben sich keine Hinweise auf eine Abhängigkeit des Effekts von der vorausgehenden Ernährungssituation, ebenso wie das Rauchverhalten oder das Geschlecht. Hier sind die kleinen Fallzahlen zu berücksichtigen. Eine genauere Untersuchung des Einflusses von Rauchen und weiteren Lebensumständen wie etwa Stress und körperliche Aktivität ist nachfolgenden Studien überlassen.

Der in dieser Studie verwendete ESR Marker TEMPO hat in in-vitro Untersuchungen eine hohe Affinität zu Vitamin C und Glutathion [24]. Für Carotinoide hat TEMPO in-vitro dagegen eine geringe Affinität. Daraus lässt sich eine geringe Sensitivität der ESR Messung für Carotinoide ableiten. Die Messung der Carotinoidkonzentrationen könnte daher in dem hier angewandten Untersuchungsaufbau eher indirekt, über gegenseitige Stabilisierung der Antioxidantien, erfolgen. In einer jüngeren Studie konnte nach Einnahme eines carotinoidreichen Nahrungsergänzungsmittels aus Grünkohl eine Steigerung der radikalfangenden Eigenschaften mittels ESR Spektroskopie unter Verwendung von TEMPO gezeigt werden, während in Voruntersuchungen das Reinprodukt in-vitro nicht mit TEMPO reagiert hatte [25].

Die Tatsache, dass mit der ESR-Spektroskopie anders als bei der Resonanz Raman-Spektroskopie keine spezifischen Substanzen, sondern das Zusammenwirken verschiedener Substanzen in der Haut untersucht wird, ist zugleich die Stärke und die Schwäche der Methode. Mit der ESR Methode lässt sich nicht differenzieren, welche

Substanzen genau mit dem ESR Marker reagieren. Grundsätzlich ist auch eine Reaktion von TEMPO mit kurzlebigen Radikalen denkbar.

Andere ESR Marker als TEMPO können für andere Fragestellungen eingesetzt werden. Das stabilere Radikal 3-Carboxy-2,2,5,5-tetramethylpyrrolidine-1-oxyl (PCA) ist aufgrund seiner langen Halbwertszeit in der Haut nicht geeignet um die spontanen Redox-Mechanismen der Haut zu ermitteln. Er ermöglicht aber die Messung des Einflusses zusätzlicher Stressoren wie etwa UV oder Infrarotstrahlung [20]. Für die Evaluation der radikalfangenden Eigenschaften der Haut in vivo werden sich in Zukunft viele Einsatzmöglichkeiten für die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie mit und ohne Resonanz Raman-Spektroskopie ergeben.

Literaturverzeichnis

1. Cerutti, P.A., *Prooxidant states and tumor promotion*. Science, 1985. **227**(4685): p. 375-81.
2. Shindo, Y., E. Witt, and L. Packer, *Antioxidant defense mechanisms in murine epidermis and dermis and their responses to ultraviolet light*. J Invest Dermatol, 1993. **100**(3): p. 260-5.
3. Zussman, J., J. Ahdout, and J. Kim, *Vitamins and photoaging: Do scientific data support their use?* J Am Acad Dermatol, 2010. **63**(3): p. 507-525.
4. Sander, C.S., H. Chang, F. Hamm, P. Elsner, and J.J. Thiele, *Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis*. International Journal of Dermatology, 2004. **43**(5): p. 326-335.
5. Richelle, M., M. Sabatier, H. Steiling, and G. Williamson, *Skin bioavailability of dietary vitamin E, carotenoids, polyphenols, vitamin C, zinc and selenium*. Br J Nutr, 2006. **96**(2): p. 227-38.
6. Chen, L., J.Y. Hu, and S.Q. Wang, *The role of antioxidants in photoprotection: A critical review*. J Am Acad Dermatol, 2012. **67**(5): p. 1013-1024.
7. Liang, W.J., D. Johnson, and S.M. Jarvis, *Vitamin C transport systems of mammalian cells*. Mol Membr Biol, 2001. **18**(1): p. 87-95.
8. Rajan, D.P., W. Huang, B. Dutta, L.D. Devoe, F.H. Leibach, V. Ganapathy, and P.D. Prasad, *Human placental sodium-dependent vitamin C transporter (SVCT2): molecular cloning and transport function*. Biochem Biophys Res Commun, 1999. **262**(3): p. 762-8.
9. Agus, D.B., S.S. Gambhir, W.M. Pardridge, C. Spielholz, J. Baselga, J.C. Vera, and D.W. Golde, *Vitamin C crosses the blood-brain barrier in the oxidized form through the glucose transporters*. J Clin Invest, 1997. **100**(11): p. 2842-8.
10. Granado-Lorencio, F., C. Herrero-Barbudo, I. Blanco-Navarro, B. Perez-Sacristan, and B. Olmedilla-Alonso, *Bioavailability of carotenoids and alpha-tocopherol from fruit juices in the presence of absorption modifiers: in vitro and in vivo assessment*. Br J Nutr, 2009. **101**(4): p. 576-82.
11. Thiele, J.J., S.U. Weber, and L. Packer, *Sebaceous gland secretion is a major physiologic route of vitamin E delivery to skin*. Journal of Investigative Dermatology, 1999. **113**(6): p. 1006-1010.

12. Lademann, J., P.J. Caspers, A. van der Pol, H. Richter, A. Patzelt, L. Zastrow, M. Darvin, W. Sterry, and J.W. Fluhr, *In vivo Raman spectroscopy detects increased epidermal antioxidative potential with topically applied carotenoids*. Laser Physics Letters, 2009. **6**(1): p. 76-79.
13. Stahl, W. and H. Sies, *beta-Carotene and other carotenoids in protection from sunlight*. American Journal of Clinical Nutrition, 2012. **96**(5): p. 1179s-1184s.
14. Manach, C., C. Morand, A. Gil-Izquierdo, C. Bouteloup-Demange, and C. Remesy, *Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and naringin after the ingestion of two doses of orange juice*. Eur J Clin Nutr, 2003. **57**(2): p. 235-42.
15. Neukam, K., W. Stahl, H. Tronnier, H. Sies, and U. Heinrich, *Consumption of flavanol-rich cocoa acutely increases microcirculation in human skin*. Eur J Nutr, 2007. **46**(1): p. 53-6.
16. Hata, T.R., T.A. Scholz, I.V. Ermakov, R.W. McClane, F. Khachik, W. Gellermann, and L.K. Pershing, *Non-invasive Raman spectroscopic detection of carotenoids in human skin*. Journal of Investigative Dermatology, 2000. **115**(3): p. 441-448.
17. Haag, S.F., B. Taskoparan, M.E. Darvin, N. Groth, J. Lademann, W. Sterry, and M.C. Meinke, *Determination of the antioxidative capacity of the skin in vivo using resonance Raman and electron paramagnetic resonance spectroscopy*. Experimental Dermatology, 2011. **20**(6): p. 483-487.
18. Darvin, M.E., J.W. Fluhr, S. Schanzer, H. Richter, A. Patzelt, M.C. Meinke, L. Zastrow, K. Golz, O. Doucet, W. Sterry, and J. Lademann, *Dermal carotenoid level and kinetics after topical and systemic administration of antioxidants: enrichment strategies in a controlled in vivo study*. J Dermatol Sci, 2011. **64**(1): p. 53-8.
19. Darvin, M.E., I. Gersonde, S. Ey, N.N. Brandt, H. Albrecht, S.A. Gonchukov, W. Sterry, and J. Lademann, *Noninvasive detection of beta-carotene and lycopene in human skin using Raman spectroscopy*. Laser Physics, 2004. **14**(2): p. 231-233.
20. Darvin, M.E., S. Haag, M. Meinke, L. Zastrow, W. Sterry, and J. Lademann, *Radical production by infrared A irradiation in human tissue*. Skin Pharmacol Physiol, 2010. **23**(1): p. 40-6.

21. Fuchs, J., N. Groth, and T. Herrling, *Cutaneous tolerance to nitroxide free radicals in human skin*. Free Radic Biol Med, 1998. **24**(4): p. 643-8.
22. Levine, M., C. Conry, Cantilena, Y.H. Wang, R.W. Welch, P.W. Washko, K.R. Dhariwal, J.B. Park, A. Lazarev, J.F. Graumlich, J. King, and L.R. Cantilena, *Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: Evidence for a recommended dietary allowance*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996. **93**(8): p. 3704-3709.
23. Arndt, S., S.F. Haag, A. Kleemann, J. Lademann, and M.C. Meinke, *Radical protection in the visible and infrared by a hyperforin-rich cream--in vivo versus ex vivo methods*. Exp Dermatol, 2013. **22**(5): p. 354-7.
24. Herrling, T., J. Fuchs, J. Rehberg, and N. Groth, *UV-induced free radicals in the skin detected by ESR spectroscopy and imaging using nitroxides*. Free Radic Biol Med, 2003. **35**(1): p. 59-67.
25. Meinke, M.C., A. Friedrich, K. Tscherch, S.F. Haag, M.E. Darvin, H. Vollert, N. Groth, J. Lademann, and S. Rohn, *Influence of dietary carotenoids on radical scavenging capacity of the skin and skin lipids*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2013. **84**(2): p. 365-373.

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Anna-Christina Lauer hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

Meinke, M.C., A. Lauer, B. Taskoparan, I. Gersonde, J. Lademann, M. E. Darvin, Influence on the Carotenoid Levels of Skin Arising from Age, Gender, Body Mass Index in Smoking/Non-Smoking Individuals. Free Radicals and Antioxidants, 2011.

1(2): p. 15-20.

Mitwirkung bei der Erhebung der Primärdaten (Durchführung der Resonanz Raman Messungen 30%), Mitwirkung bei der statistischen Auswertung und Verfassung des Manuskriptes. (15%)

Publikation 2:

Meinke, M.C., A.-C. Lauer, S.F. Haag, M. E. Darvin, N. Groth, J. Lademann, Cutaneous radical scavenging effects of orally administered antioxidants measured by electron paramagnetic resonance spectroscopy. e-SPEN Journal, 2012. 7(4):

p. e160-e166.

Mitgestaltung des Versuchsaufbaus (40%), Erhebung der Primärdaten (selbstständige Durchführung der Resonanz Raman Messungen und ESR Messungen 90%, Erstellung der Umfragebögen und Erhebung der Umfragedaten 100%), statistische Auswertung 90%, Verfassung des Manuskriptes (50%)

Publikation 3:

Lauer, A.C., N. Groth, S.F. Haag, M. E. Darvin, J. Lademann, M.C. Meinke, Dose-Dependent Vitamin C Uptake and Radical Scavenging Activity in Human Skin Measured with in vivo Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. Skin

Pharmacol Physiol, 2013. 26(3): p. 147-154.

Mitgestaltung des Versuchsaufbaus (50%), Erhebung der Primärdaten (selbstständige Durchführung der Resonanz Raman Messungen und ESR Messungen 90%, Erstellung

der Umfragebögen und Erhebung der Umfragedaten 100%), statistische Auswertung 90%, Verfassung der Manuskriptes (80%).

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Paper 1

Influence on the Carotenoid Levels of Skin Arising from Age, Gender, Body Mass Index in Smoking/Non-Smoking Individuals

M.C. Meinke¹, A. Lauer¹, B. Taskoparan¹, I. Gersonde², J. Lademann¹, M. E. Darwin¹

¹Center of Experimental Applied Cutaneous Physiology, Department of Dermatology and Allergology, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Germany.

²Laser- und Medizin-Technologie Berlin Germany

<http://dx.doi.org/10.5530/ax.2011.2.4>

Paper 2

Cutaneous radical scavenging effects of orally administered antioxidants measured by electron paramagnetic resonance spectroscopy

Martina C. Meinke^a, Anna-Christina Lauer^a, Stefan F. Haag^a, Maxim E. Darvin^a, Norbert Groth^b, Jürgen Lademann^a

^aCharitéUniversitätsmedizin Berlin, Department of Dermatology, Venereology and Allergology, Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology (CCP)

^b Privatinstitut Galenus GmbH, Berlin D-12489, Germany

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clnme.2012.06.001>

Paper 3

Dose-Dependent Vitamin C Uptake and Radical Scavenging Activity in Human Skin Measured with in vivo Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy

Anna-Christina Lauer^aNorbert Groth^bStefan F. Haag^aMaxim E. Darwin^a
Jürgen Lademann^a Martina C. Meinke^a

^a Department of Dermatology, Venereology and Allergology, Charité –
Universitätsmedizin Berlin, and

^b Privatinstitut Galenus GmbH, Berlin , Germany

<http://dx.doi.org/10.1159/000350833>

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

Publikationsliste

Publikation 1:

Meinke, M.C., A. Lauer, B. Taskoparan, I. Gersonde, J. Lademann, M. E. Darvin, Influence on the Carotenoid Levels of Skin Arising from Age, Gender, Body Mass Index in Smoking/Non-Smoking Individuals. *Free Radicals and Antioxidants*, 2011. 1(2): p. 15-20. (5-Jahres-Impactfaktor: 0,00)

Publikation 2:

Meinke, M.C., A.-C. Lauer, S.F. Haag, M. E. Darvin, N. Groth, J. Lademann, Cutaneous radical scavenging effects of orally administered antioxidants measured by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *e-SPEN Journal*, 2012. 7(4): p. e160-e166. (5-Jahres-Impactfaktor: 0,00)

Publikation3:

Lauer, A.C., N. Groth, S.F. Haag, M.E. Darvin, J. Lademann, and M.C. Meinke, Radical Scavenging Capacity in Human Skin before and after Vitamin C Uptake: An In Vivo Feasibility Study Using Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of Investigative Dermatology*, 2013. 133(4): p. 1102-1104. (5-Jahres-Impactfaktor: 6,113)

Publikation 4:

Lauer, A.C., N. Groth, S.F. Haag, M. E. Darvin, J. Lademann, M.C. Meinke, Dose-Dependent Vitamin C Uptake and Radical Scavenging Activity in Human Skin Measured with in vivo Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Skin Pharmacol Physiol*, 2013. 26(3): p. 147-154. (5-Jahres-Impactfaktor: 2,702)

Publikation 5:

Lauer AC., Reddemann A., Meier-Wronski CP., Bias H., Gödecke K., Arendt M., Peters H., Gross M., Needlestick and sharps injuries among medical undergraduate students. *Am J Infect Control*. 2014;42(3):235-9. (5-Jahres-Impactfaktor: 3,134)

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Anna-Christina Lauer, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Messung der Effekte carotinoidfreier Nahrungsergänzungsmittel auf die radikalfangenden Eigenschaften der menschlichen Haut mittels Elektronenspinresonanz-Spektroskopie und Resonanz Raman-Spektroskopie; vergleichende Untersuchung von Vitamin C und einem Aroniabeerenpräparat“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

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

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

Datum

Unterschrift

Danksagung

Frau Priv.-Doz. Dr. Martina Meinke möchte ich für die Möglichkeit diese wissenschaftliche Arbeit zu erstellen und besonders für die überaus sachkundige Betreuung, für viele anregende und ermutigende Diskussionen und fortwährenden kompetenten Rat bedanken.

Mein Dank gilt auch Prof. Jürgen Lademann, der mir die Teilnahme an dem wissenschaftlichen Team ermöglicht und die erfolgreiche Durchführung der Studie unterstützt und bestärkt hat.

Herrn Dr. Maxim Darvin danke ich für die akribische Einführung in die Resonanz Raman Spektroskopie, sowie für zahlreiche Problemlösungen und Beistand in technischen Fragen.

Herrn Dr. Stefan Haag möchte ich für die Einführung und Unterstützung bei den Elektronenspinresonanz-Messungen danken. Darüber hinaus war die professionelle Unterstützung bei der Aufarbeitung der wissenschaftlichen Daten im Rahmen der Auswertung und für die Publikationen von unschätzbarem Wert.

Ein großer Dank gilt auch Frau Berrin Taskoparan, die mir ihr Wissen und Ihre Erfahrungen weitergegeben und mit Ihrer wissenschaftlichen Arbeit zur Elektronenspinresonanz-Spektroskopie in in-vivo Untersuchungen eine Grundlage meiner Arbeit geschaffen hat.

Ein ganz besonderer Dank gilt auch Herrn Dipl.-Ing. Norbert Groth für die Bereitstellung der Nahrungsergänzungsmittel und die Angleichung der Probenpulver durch den Radical Protection Factor. Ohne diesen Beitrag wäre die vorliegende Arbeit nicht in dieser Form möglich gewesen.

Ich möchte mich auch bei allen Mitarbeitern/-innen und Mitdoktoranden/-innen der Forschungsgruppe bedanken, die konstruktive Ideen und Kritik beigetragen haben.