

Aus dem Institut für Transfusionsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Parameter des oxidativen Stresses bei Blutspendern

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von
Jessica Schelle
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. H. Kieseewetter
 2. Prof. Dr. G. Pindur
 3. Prof. Dr. I. Roots

Datum der Promotion: 20.11.2009

Meiner Großmutter

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Bedeutung des oxidativen Stresses.....	6
1.2	Oxidantien.....	7
1.2.1	Freie Radikale	7
1.2.2	Lipidhydroperoxide	9
1.2.3	Oxidatives Potential.....	9
1.3	Antioxidantien	10
1.3.1	Allgemeines	10
1.3.2	Vitamine.....	11
1.3.2.1	Vitamin A.....	12
1.3.2.2	Vitamin E.....	13
1.3.3	Zink.....	15
1.3.4	Selen	16
1.3.5	Antioxidative Kapazität	17
1.4	Oxidativer Stress bei Blutspendern.....	17
1.5	Oxidativer Stress bei Rauchern	18
1.6	Oxidativer Stress bei Einnahme von oralen Antikonzeptiva.....	19
2	Fragestellung der Arbeit	21
3	Material und Methoden	22
3.1	Rekrutierung der Probanden und Probengewinnung.....	22
3.2	Messung von Vitamin A und Vitamin E	24
3.3	Messung von Zink.....	24
3.4	Messung von Selen	24
3.5	Messung der antioxidativen Kapazität	25
3.6	Messung der Lipidhydroperoxide	26
3.7	Messung der reaktiven Sauerstoffmetabolite	26
3.8	Kleines Blutbild	27
3.9	Eisenstatus	28
3.10	Statistische Methoden.....	29
4	Ergebnisse	30
4.1	Demographische Daten der Studienpopulation	30
4.2	Blutbild der Blutspender.....	33
4.3	Eisenstatus der Blutspender	34
4.4	Parameter des oxidativen Stresses bei Blutspendern.....	35

4.5	Oxidativer Status in Abhängigkeit vom Rauchverhalten	38
4.6	Oxidativer Status in Abhängigkeit von oraler Antikonzeption	40
4.7	Kombination von Rauchen und oraler Antikonzeption	41
5	Diskussion	43
5.1	Oxidativer Status bei Blutspendern.....	43
5.2	Oxidativer Status in Abhängigkeit vom Alter	45
5.3	Oxidativer Status in Abhängigkeit vom Geschlecht.....	45
5.4	Oxidativer Status in Abhängigkeit vom Rauchverhalten	46
5.4.1	Vitamin A und Vitamin E	46
5.4.2	Zink und Selen.....	47
5.4.3	Antioxidative Kapazität	48
5.4.4	Lipidhydroperoxide	48
5.4.5	Reaktive Sauerstoffmetabolite.....	49
5.5	Oxidativer Status in Abhängigkeit von oraler Antikonzeption	49
5.6	Kombination von Rauchen und oraler Antikonzeption	50
5.7	Schlussfolgerung	52
6	Zusammenfassung	53
7	Literaturverzeichnis	55
8	Abkürzungsverzeichnis	70
9	Danksagung	71
10	Erklärung an Eides Statt	72
11	Lebenslauf	73

1 Einleitung

1.1 Bedeutung des oxidativen Stresses

Die Entstehung hochreaktionsfähiger chemischer Strukturen (z.B. freie Radikale) durch metabolische Prozesse ist ein allgemeines biologisches Phänomen. Diese Strukturen haben ein großes Schädigungspotential in Bezug auf biologische Systeme und spielen eine wichtige Rolle bei der Pathogenese verschiedener Erkrankungen.

Oxidativer Stress ist definiert als die Verschiebung des Gleichgewichts zwischen den freien Radikalen (reactive oxygen species, ROS) und Antioxidantien zugunsten der freien Radikale (Sies, 91; Sies, 93). Als Ursache des oxidativen Stresses wird eine vermehrte Belastung durch freie Radikale z.B. durch Entzündungsreaktionen, Umweltgifte, Rauchen, Medikamenteneinnahme (z.B. orale Antikonzeptiva) oder eine Verminderung der Antioxidantien (z.B. durch Ernährungsfehler) diskutiert (Junod, 89).

Geringfügige Auslenkungen des oxidativen Stresses bezeichnet man als „physiologischen“ oxidativer Stress. Erst wenn der menschliche Organismus nicht mehr in der Lage ist die freien Radikale zu eliminieren kommt es zu erhöhtem oxidativem Stress.

Um den schädlichen Effekt der ROS auf die biologischen Moleküle, insbesondere DNA, Lipide und Proteine zu vermindern, verfügt der menschliche Körper über ein gut organisiertes antioxidatives System. Antioxidantien wirken einer Gewebsschädigung durch ROS entgegen.

ROS haben eine Bedeutung in der Pathophysiologie von Erkrankungen. Es konnte gezeigt werden, dass erhöhter oxidativer Stress eine wesentliche Rolle bei der Entwicklung von Krebs und Herz-Kreislauf-Erkrankungen spielen kann. Auch ein Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und Immunschwäche, Gehirnfunktionsstörungen, Katarakt, Geburtsdefekten, Asthma bronchiale, COPD, rheumatoider Arthritis und entzündlichen Darmerkrankungen wird berichtet (Ames et al., 93; Halliwell et al., 92; Halliwell, 94). Die Entstehung der Atherosklerose durch erhöhten oxidativen Stress ist wissenschaftlich bisher am Besten untersucht. Wasserstoffperoxid und Hydroxylradikale oxidieren low density lipoprotein (LDL), welches von Makrophagen aufgenommen wird, die dabei zu Schaumzellen werden und die Bildung von atherosklerotischen Gefäßplaques einleiten. Studien weisen auf einen antioxidativen Effekt von Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, Zink, Selen und Flavonoiden aus der Nahrung hin (Diplock, 91). Ein inverser Zusam-

menhang zwischen der Einnahme von antioxidativen Vitaminen und Spurenelementen und dem Erkrankungsrisiko für Krebs, kardiovaskulären und infektiösen Krankheiten wurde in einigen Studien gefunden (Block et al., 92; Byers und Perry, 92; Marchioli, 99; Kohlmeier und Hastings, 95; Meydani et al., 95). Andere Studien kommen zu kontroversen Ergebnissen hinsichtlich der Wirksamkeit von Antioxidantien aus der Nahrung (Blot et al., 93; Halliwell, 00; Hennekens et al., 96; Omenn et al., 96; The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group, 94). So war Vitamin E in der CHAOS-Studie protektiv gegen Herz- und Gefäßerkrankungen, nicht aber in der GISSI-Studie (Stephens et al., 96; GISSI, 99).

Dieser Widerspruch kann durch zwei Gründe erklärt werden. Zum einen ist der protektive Effekt der Nahrung nicht äquivalent dem protektiven Effekt der Antioxidantien in der Nahrung. Zum anderen gibt es immer noch Schwierigkeiten bei der Bestimmung der antioxidativen Kapazität und des oxidativen Stresses in vivo sowie bei der klinischen Interpretation von gemessenen Parametern.

An der in der Regel relativ gesunden Population der Blutspender lassen sich antioxidative Effekte pharmakologischer Interventionen ohne Störeinflüsse durch krankheitsbedingte Veränderungen gut untersuchen. Bisher sind an Blutspendern nur wenige Studien zu oxidativem Stress durchgeführt worden. Einige Studien haben den möglicherweise protektiven Effekt des Blutspendens selbst auf das antioxidative Potential untersucht und kamen zu unterschiedliche Ergebnissen (siehe Kapitel 1.4). Auch der Einfluss von Parametern wie Alter, Geschlecht und Lebensgewohnheiten auf den oxidativen Stress sind jeweils in einzelnen Studien untersucht worden, allerdings kaum bei Blutspendern. Referenzbereiche für Parameter des oxidativen Stresses sind für Blutspender bisher nicht definiert.

1.2 Oxidantien

1.2.1 Freie Radikale

Ein freies Radikal ist jedes Atom oder Molekül, welches in der Lage ist unabhängig zu existieren und ein oder mehrere ungepaarte Elektronen besitzt. Ein ungepaartes Elektron ist ein Elektron, das ein Atom- oder Molekülorbital allein belegt.

Es gibt drei prinzipielle Möglichkeiten der Entstehung von freien Radikalen:

1. Der Verlust eines Elektrons von einem Nichtradikal, es entsteht ein Radikal-Kation.

2. Die Aufnahme eines Elektrons durch ein Nichtradikal, es entsteht ein Radikal-Anion.
3. Die homolytische Aufspaltung einer kovalenten Bindung, die sogenannten Radiolyse, es entstehen ungeladene Radikale.

Bei der Entstehung des oxidativen Stresses spielen freie Radikale eine entscheidende Rolle. Die freien Radikale des Sauerstoffs und seiner Verbindungen werden zusammen mit nicht radikalischen, aber sehr reaktiven Sauerstoffverbindungen als reaktive Sauerstoffspezies (ROS) zusammengefasst.

Einen Überblick über die wichtigsten ROS und ihre Halbwertszeiten gibt Tabelle 1.

Tabelle 1: Wichtige reaktive Sauerstoffspezies, (Sies, 93).

Spezies	Name	Halbwertszeit
$\bullet\text{O}_2^-$	Superoxidanionradikal	(enzymatischer Abbau)
H_2O_2	Wasserstoffperoxid	(enzymatischer Abbau)
$\bullet\text{OH}$	Hydroxylradikal	10^{-9} s
$\bullet\text{RO}$	Alkoxyradikal	10^{-6} s
$\bullet\text{ROO}$	Alkyldioxyradikal	7 s
ROOH	Alkylhydroperoxid	-
O_3	Ozon	-
$^1\bullet\text{O}_2$	Singulett-Sauerstoff	10^{-5} s
$\bullet\text{NO}$	Nitritoxidradikal	1^{-10} s

Verschiedene physikalische, chemische und physiologische Reaktionen, aerobe Stoffwechselprozesse, Abwehrmechanismen und exogene Noxen führen zur Bildung von ROS im Organismus. Auch viele Enzymsysteme generieren bei physiologischen Vorgängen ROS.

Die Fentonreaktion ist die Hauptquelle für die Entstehung von ROS in der Zelle. Sie wurde Ende des 19. Jahrhunderts von H.J.H. Fenton entdeckt. Es handelt sich um eine durch Eisensalze katalysierte Oxidation organischer Substanzen mit Wasserstoffperoxid. Fenton-ähnliche Reaktionen können auch unter Beteiligungen anderer Metallkomplexe stattfinden. Bis heute ist weder die eigentliche reaktive Spezies noch der Mechanismus eindeutig geklärt. Bisherige Ergebnisse gehen von der Bildung von Metall-H₂O₂-Addukten aus, die weitere Reaktionen ermöglichen.

Die ROS unterteilen sich in langlebige und kurzlebige ROS. Langlebige sind $\bullet\text{O}_2^-$ und H_2O_2 , welche die Zelle nicht nur am Entstehungsort schädigen können, sondern in andere Zellen diffundieren und dort aggressivere Radikale wie $\bullet\text{OH}^-$ bilden, die dann wichtige Zellstrukturen wie die DNA oxidieren können (Sanders et al., 99; Halliwell und Gutteridge, 90). Die kurzlebigen ROS verursachen lokale Schäden. Zwar werden 80% der Sauerstoffradikale durch die intramitochondriale Superoxiddismutase und andere Antioxidantien abgefangen, der Rest gelangt jedoch ins Zytosol der Zelle und kann dort weitreichende Schäden für den Organismus verursachen.

Freie Radikale sind jedoch nicht nur schädliche Stoffwechselprodukte. Sie dienen auch der Immunabwehr, denn Leukozyten und Makrophagen machen sich ihre bakterizide Wirkung zunutze. Sie produzieren freie Radikale und zerstören damit Bakterien und andere Fremdstoffe. Außerdem spielen freie Radikale vermutlich über die Vermittlung der Apoptose eine Rolle in der körpereigenen Tumorsuppression.

1.2.2 Lipidhydroperoxide

Die oxidative Veränderung der Lipide erfolgt durch den Mechanismus der Lipidperoxidation. Die Lipidperoxidation ist eine Kettenreaktion, die bei erhöhtem oxidativem Stress an ungesättigten Fettsäuren stattfindet (Halliwell und Gutteridge, 90). ROS greifen die ungesättigten Fettsäuren an und spalten ein Wasserstoffatom ab. Durch die Abspaltung kommt es zur Entstehung eines Peroxylradikals. Die Peroxylradikale sind sehr reaktionsfreudig, können die Zelle und ihre Membran schwer schädigen und bis zur Apoptose der Zelle führen. Die Übertragung von Wasserstoff führt zum Lipidhydroperoxid und Regeneration der ungesättigten Fettsäure. Die Lipidhydroperoxide sind keine Radikale, sie helfen aber bei der Aufrechterhaltung der Kettenreaktion, indem sie die Bildung der Peroxylradikale fördern. Nun kann der Kreislauf erneut beginnen und wird nur durch ein Antioxidans wie die Glutathionperoxidase unterbrochen, die das Peroxylradikal zum zellunschädlichen Hydroperoxid umwandeln kann.

Daher sind die Lipidhydroperoxide (LPO) ein geeigneter Marker für das Vorhandensein freier Radikale und oxidativen Stresses. Bei erhöhtem oxidativen Stress ist mit einem Anstieg der LPO zu rechnen.

1.2.3 Oxidatives Potential

Die Messung des gesamten oxidativen Potentials im Plasma ist ein ungelöstes Problem. Eine neuerer globaler Parameter des oxidativen Stresses ist die photometrische

Messung der reaktiven Sauerstoffmetaboliten (ROM, reactive oxygen metabolites) im Blut (Giovannangelo und Carlo, 01; Cesarone et al., 99). Unter den ROM sind verschiedene freie Radikale zusammengefasst, die durch die gerade Zahl der Elektronen in der äußeren Orbitale charakterisiert sind. Sie bilden Derivate im Plasma und in der Zelle, die hoch reaktionsfähig sind und eine effektive oxidative Kapazität besitzen.

1.3 Antioxidantien

1.3.1 Allgemeines

Antioxidantien sind Stoffe oder Verbindungen, die in vergleichsweise niedrigen Konzentrationen vorliegen und die Oxidation eines Substrates verhindern oder vermindern können, da sie direkt mit den ROS interagieren können (Sies, 93; Gille und Joenje, 92). Dadurch kommt es zu einer deutlichen Abnahme des toxischen Effekts im menschlichem Körper und so zu einer verminderten Schädigung des Organismus.

Die gesamte antioxidative Kapazität setzt sich aus einer Vielzahl von Stoffen zusammen (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Wichtige Antioxidantien in biologischen Systemen, (Sies, 93).

System	Beispiele
Nicht enzymatisch	Vitamin A, C und E, Ubichinon, Urat, Bilirubin, Glutathion, Selen, Zink, Kupfer, Transferrin, Plasmaproteine (Albumin, Coeruloplasmin etc.)
Enzymatisch (direkt)	Superoxiddismutasen, Katalase, Glutathionperoxidasen
Enzymatisch (indirekt)	Konjugationsenzyme (Glutathion-S-Transferase etc.) NADPH-Oxidoreduktase, NADPH, Glutathionreduktase
Reparatursysteme	DNA-Reparatur, Turnover oxidierter Proteine

Prinzipiell kann jedes Molekül, das ohne Entstehung von Folgeradikalen von einem Sauerstoffradikal oxidiert wird, als ein Radikalfänger angesehen werden. Die antioxidative Kapazität besteht aus einem enzymatischen und einem nicht-enzymatischen Anteil. Der enzymatische Anteil besteht aus den antioxidativen Enzymen wie den Superoxiddismutasen, Katalase und Glutathionperoxidasen. Der nicht-enzymatische Teil wird von den Vitaminen A, C, E und Plasmabestandteilen wie Harnsäure, Transferrin, Ferritin, Lactoferrin, Coeruloplasmin, Steroiden, Katecholaminen u.ä. gebildet. Die funktions-

tüchtige Zelle ist mit einer Grundausstattung verschiedener antioxidativer Schutzmechanismen ausgestattet. Es ist bekannt, dass verschiedene Zelltypen bei erhöhtem oxidativem Stress mit einem Anstieg ihrer antioxidativen Enzymkapazität reagieren.

Die Wirkungsweise der Antioxidantien ist vielfältig. Die Vitamine können direkt oxidiert werden und verhindern so eine weitere Reaktion des Radikals. Die Superoxiddismutase kann Superoxidradikale in Wasserstoffperoxid umwandeln, das dann durch Katalase in Wasser und Sauerstoff umgesetzt wird. Die Harnsäure wirkt in physiologischer Konzentration im Extrazellulärraum antioxidativ gegenüber wasserlöslichen Radikalen. Bilirubin hemmt die Lipidperoxidation und ist damit als Antioxidans nahezu so effektiv wie Vitamin E. Carotinoide wirken antioxidativ, da sie selbst rasch oxidiert werden und dadurch das Gewebe vor der zellzerstörenden Wirkung oxidativer Prozesse schützen.

Die Effektivität der Antioxidantien im menschlichem Körper unterliegt vielfältigen Einflüssen. Die einzelnen Antioxidantien haben einen sehr unterschiedlichen Effektivitätsgrad und ihre Aktivität kann beispielsweise durch Entzündungsprozesse am Wirkort beeinflusst werden.

1.3.2 Vitamine

Der polnische Biochemiker Casimir Funk prägte 1912 den Begriff „Vitamin“ aus dem lateinischen für „Vita“, das Leben und „Amin“ für die stickstoffhaltige Verbindung.

Vitamine sind essentielle d.h. lebensnotwendige organische Verbindungen, die vom menschlichen Stoffwechsel selber nicht synthetisiert werden können. Sie müssen daher mit der Nahrung aufgenommen werden.

Die Aufgaben der Vitamine sind sehr vielfältig und bestehen unter anderem in der Regulierung der Verwertung von Nährstoffen sowie deren Ab- und Umbau. Aktuell sind 20 Vitamine bekannt davon sind 13 essentielle, also lebensnotwendige Vitamine. Sie sind an der Funktion des Immunsystems beteiligt und sind wichtig für den Aufbau von Zellen, Erythrozyten, Knochen und Zähnen.

Die Vitamine werden in fettlösliche, vom Körper speicherbare und wasserlösliche, nicht vom Körper speicherbare unterteilt. Fettlösliche Vitamine sind Vitamin A (Retinol), Vitamin E (Tocopherol), Vitamin D (Cholecalciferol) und Vitamin K.

Wasserlösliche Vitamine sind der B-Komplex und Vitamin C (Ascorbinsäure).

Die Resorption der fettlöslichen Vitamine erfolgt über Micellenbildung im Darm, die wasserlöslichen Vitamine werden im Dünndarm über Transporter oder Rezeptoren in den Körper aufgenommen.

1.3.2.1 Vitamin A

Der Begriff „Vitamin A“ umschreibt jedes Retinoid, das eine biologische Aktivität aufweist, die qualitativ der von Retinol entspricht (Sporn und Roberts, 85; Blomhoff et al., 92). Drei Retinoide stellen die wichtigsten Vertreter der natürlich vorkommenden Retinoide dar (siehe Abb. 1). Die Struktur dieser Moleküle lässt sich generell in drei Abschnitte einteilen: einen hydrophoben β -Ionenring, eine konjugierte Tetraen-Seitenkette und eine polare Endgruppe. Retinylester stellen die Hauptform des über die Nahrung aufgenommene Vitamin A dar.

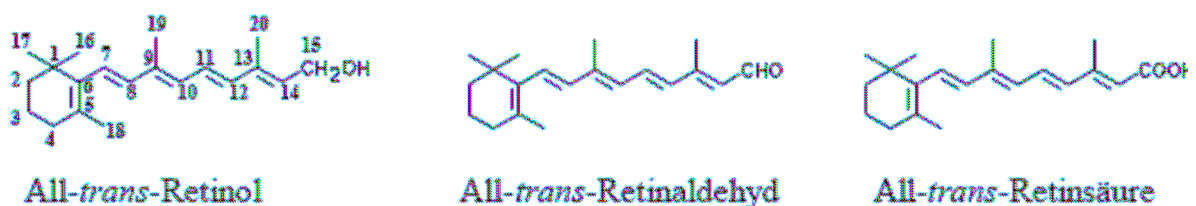


Abb. 1: Vertreter des Vitamin A.

Zur intestinalen Resorption im Darm wird Vitamin A hydrolysiert. Da Retinoide eine sehr geringe Löslichkeit haben, müssen sie in wässriger Umgebung an Proteine gebunden sein. Im Blutkreislauf übernehmen diese Aufgaben Albumin oder Retinol-bindendes Protein. Die Retinylester werden hingegen in Chylomikronen verpackt und anschließend in die intestinale Lymphe und den allgemeinen Blutkreislauf abgegeben. Die Kupferschen Sternzellen der Leber sind der Hauptspeicherort für Vitamin A (>90%) im Serum finden sich nur 1%. (Olson, 84).

Vitamin A ist essentiell für die Genexpression, Immunfunktion sowie für die Oogenese, Spermatogenese, embryonale Entwicklung, Proliferation und Differenzierung von Zellen, Stabilisierung der Zellmembran, Hämatopoese, Knochenbildung, Apoptose und den Sehvorgang. Auch bei der Suppression von Tumorwachstum und Apoptoseinduktion spielt Vitamin A eine Rolle (Boehm et al., 95).

Ein Mangel an Vitamin A kann zu Nachtblindheit führen. Weiterhin führt der Mangel an Vitamin A zu Verhornungsstörungen der Haut und Schleimhäute.

Vitamin A ist ein wichtiger Vertreter der Antioxidantien im menschlichen Körper. Vitamin A ist in der Lage ROS zu neutralisieren indem es diese an seinen β -Ionenring anlagert, und so die Lipidperoxidation oder DNA-Strangbrüche verhindert (Shaish et al., 95). Vitamin A steigert auch die Lymphozytenproliferation, die Aktivität von Cytochromoxida-

se und Peroxidase, wodurch ebenfalls ROS neutralisiert werden können (Chew und Park, 04). Der vermehrte Verbrauch von Vitamin A kann ein Indikator für erhöhten oxidativen Stress sein.

1.3.2.2 Vitamin E

Vitamin E wurde 1922 von Evans und Bishop entdeckt. 1938 erfolgte die Strukturaufklärung und die erste chemische Synthese. Vitamin E ist ein Sammelbegriff für eine Gruppe fettlöslicher Substanzen mit antioxidativen und nicht-antioxidativen Eigenschaften. Es gibt acht verschiedenen Vertreter, vier Tocopherole (abgeleitet von den altgriechischen Wörtern: τόκος/tókos „Geburt“ und φέρειν/phérein „tragen“, „bringen“) und vier Tocotrienole, alle von Pflanzen synthetisiert. Die Tocopherole sind qualitativ und physiologisch wichtiger als Tocotrienole. α -Tocopherol ist der wichtigste Vertreter von Vitamin E im Serum und macht ungefähr 90% aus. Nur ca. 10% des Vitamin E besteht aus γ -Tocopherol. Bei Messungen von Vitamin E werden α - und γ -Tocopherol meist zusammengefasst.

Vitamin E besteht aus einem Chromanring, der eine unterschiedliche Anzahl an Methylgruppen und die für die antioxidative Wirkung unentbehrliche Hydroxylgruppe trägt. Weiterhin enthalten sie eine für die Lokalisation in der Biomembran essentielle lipophile Seitenkette aus drei Isoprenmolekülen. In Abhängigkeit von der Methylierung unterscheidet man die α -, β -, γ -Form (siehe Abb. 2).

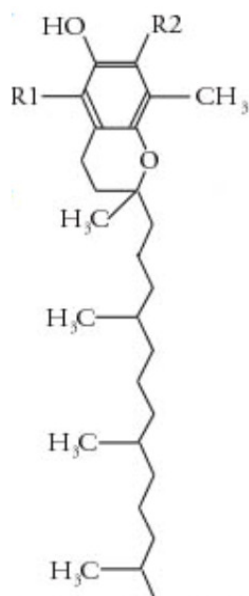


Abb. 2: Grundstruktur des Tocopherols (Vitamin E).

Vitamin E ist Bestandteil aller Membranen tierischer Zellen, wird jedoch nur von photosynthetisch aktiven Organismen wie Pflanzen und Cyanobakterien selbst gebildet. Für den Menschen ist es essentiell. Vitamin E kann als lipidlösliches Vitamin in der Leber und im Fettgewebe gespeichert werden, aus diesem Grunde sind Mangelercheinungen in unserer Wohlstandsgesellschaft sehr selten. Bei Erkrankungen der Fettaufnahme im Darm kann es zu folgenden Mangelercheinungen kommen: trockene Haut, Konzentrationsstörungen, Müdigkeit und Reizbarkeit.

Vitamin E ist das wichtigste Antioxidans im lipophilen Milieu der Biomembranen (Burton und Traber, 90). Vitamin E kann direkt mit ROS bzw. Lipidperoxyradikalen reagieren (Sies und Stahl, 95) und vermag so die Initiierung einer Lipidperoxidation oder die Oxidation von ungesättigten Fettsäuren in der Biomembran, von Lipoproteinen und von Depotfetten zu verhindern. Vitamin E stoppt radikalische Kettenreaktion in der Biomembran, indem es ein Wasserstoffatom seiner phenolischen Hydroxylgruppe an das Peroxylradikal übergibt und dadurch selbst zum Vitamin E-Radikal wird (siehe Abb. 3).

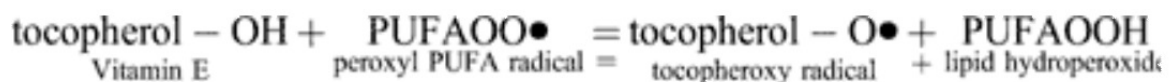
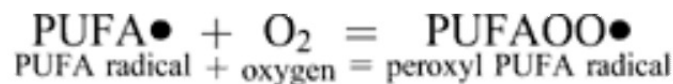
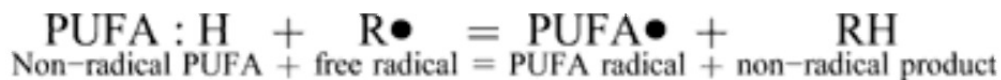


Abb. 3: Wirkungsweise von Vitamin E im Rahmen der Peroxidation.

PUFA, Polyunsaturated fatty acid.

Wenn Vitamin E Wasserstoff abgibt, wird es selbst zum freien Radikal. Das Vitamin E-Radikal ist jedoch relativ reaktionsträge und kann keine PUFA (polyunsaturated fatty acid, mehrfach ungesättigte Fettsäuren) zerstören, da das unpaare Elektron des Sauerstoffatoms in die aromatische Ringstruktur delokalisiert. Das entstandene Vitamin E-Radikal wird dann unter Bildung eines Vitamin C-Radikals reduziert. Das Vitamin C-Radikal wird mit Hilfe von Glutathionreduktase regeneriert. Die PUFAOOH kann durch die Phospholipase A2 aus der Phospholipidstruktur von Membranen freigesetzt und dann durch die selenabhängige Glutathionperoxidase abgebaut werden.

Bei erhöhtem oxidativem Stress ist durch den erhöhten Verbrauch eine erniedrigte Vitamin E-Serumkonzentration zu erwarten.

1.3.3 Zink

Zink (Zn, Ordnungszahl 30) kommt in der Natur nicht in elementarer Form vor. Zink ist ein essentielles Spurenelement und als Kofaktor an zahlreichen Enzymen und Zinkfinger-Proteinen beteiligt (Schwabe und Rhodes, 91). Der menschliche Körper enthält 2-4 g Zink. Die höchsten Konzentrationen finden sich in Erythrozyten, Augen, Haut, Haaren, Prostata und Leber. Zink ist am Zellwachstum, der Zelldifferenzierung, dem Knochenstoffwechsel, der Bildung von Schilddrüsenhormonen und der Wundheilung beteiligt. Auch für die zelluläre und humorale Immunantwort und die T-Zelldifferenzierung ist es von Bedeutung (Rink und Gabriel, 01). Es tritt auch als Akut-Phase-Protein bei Entzündungsreaktionen in Erscheinung (Liuzzi et al., 05).

Zink spielt eine Rolle für die Protektion von Zellmembranen und bei der Neutralisation von ROS (Szebeni et al., 88). Der Einfluss von Zink auf den oxidativen Stress erfolgt über verschiedene Mechanismen.

1. Indirekte Wirkung: Zink induziert die Synthese von Metallothioninen. Durch Bindung von Zink an Metallothionine bildet sich Zink-Thiolat, welches antioxidative Eigenschaften besitzt (Rostan et al., 02)
2. Direkte Wirkung: Zink ist in der Lage in der Fentonreaktion (siehe Kapitel 1.2.1) die reaktiven Metalle wie Eisen und Kupfer aus ihren Bindungen zu verdrängen und so die Entstehung von freien Radikalen zu unterbinden.

Auch ist Zink als Bestandteil an über 300 Enzymen wie z.B. der Superoxiddismutase beteiligt, und wirkt an vielen metabolischen und enzymatischen Prozessen mit (Marklund, 82; Prasad und Kucuk, 02). Zink dient als Katalysator für Enzyme, die für die DNA-Replikation, Gen-Transkription, RNA- und Protein-Synthese verantwortlich sind (Vallee und Falchuk, 93; Coleman, 92). Tierexperimentell kann Zink oxidativen Stress reduzieren (Yu et al., 06).

Ein chronischer Zinkmangel führt zu einer geringeren Toleranz gegenüber oxidativem Stress (Bray und Bettger, 90). Chronischer Zinkmangel könnte zu einer Erhöhung des Risikos für Krebs oder kardiovaskuläre Erkrankungen führen (Kok et al., 88; Prasad und Kucuk, 02).

Bei erhöhtem oxidativen Stress ist eine erniedrigte Zinkserumkonzentration zu erwarten.

1.3.4 Selen

Selen (Se, Ordnungszahl 34) wurde bereits im 13. Jahrhundert von Marco Polo erwähnt. Entdeckt wurde das seltene Halbmetall schließlich im Jahr 1817 von dem schwedischen Chemiker Berzelius und von diesem nach der griechischen Mondgöttin Selene benannt. Über ein Jahrhundert lang galt Selen als ausschließlich toxische Substanz. Anfang der 1970er Jahre wiesen Flohe und Rotruck die antioxidativen Eigenschaften von Selen als wesentlichen Bestandteil der Glutathionperoxidase nach.

Die Speicherung von Selen erfolgt in Form von Selenmethioninen insbesondere in der Leber. Viele Enzyme im menschlichem Körper sind selenhaltig oder haben Selencystein im aktiven Zentrum. Das gebundene Selen reagiert als Redoxsystem und hat vielfältige Funktionen zu erfüllen. Die Familie der Selenenzyme beinhaltet die Glutathionperoxidase, die Thioredoxinreduktase und die Iodthyroinin Deiodinase.

Selen ist unerlässlich für die Schilddrüsenfunktion, das Immunsystem und als Vermittler bei Entzündungsreaktionen (Beckett und Arthur, 05). Selenmangel kann u.a. zu Myositis, Myokarditis (Morbus Keshan), Osteoarthropathie (Morbus Kashin-Beck), Pseudoalbuminismus und Makrozytose führen.

Selenenzyme kontrollieren Zellteilung und Apoptose. Es gibt zahlreiche Hinweise auf eine antikanzerogene Wirkung von Selen (Schrauzer, 00). In klinischen Studien zeigt sich ein Zusammenhang zwischen niedrigen Selenserumkonzentrationen und erhöhtem Krebsrisiko (Salonen et al., 85).

Der wesentliche antioxidative Effekt von Selen wird durch die Glutathionperoxidase vermittelt, welche die schädigende Wirkung von Radikalen wie Hydrogenperoxid reduzieren kann. Extrazellulär kann Selen selbst als Antioxidans wirken. Die Thioredoxinreduktase ist ein Selen bindendes Enzym mit antioxidativer Wirkung. Es reduziert die Nukleotide der DNA und hilft so bei der Kontrolle des oxidativen Stresses.

Einige Studien zeigten eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität bei Selenmangel (Helmersson et al., 05). Diese Wirkung könnte über die Funktion der Glutathionperoxidase erklärt werden, die durch Verhinderung der Oxidation von Lipiden und die Verhinderung der Thrombozytenaggregation zu Vermeidung von Herz-Kreislauf-erkrankungen führen könnte. Helmersson postulierte 2005, dass Selen ein geeigneter Indikator für oxidativen Stress und inflammatorische Prozesse sei (Helmersson et al., 05).

1.3.5 Antioxidative Kapazität

Genauso wie die Messung des oxidativen Potentials ist auch die Messung der antioxidativen Kapazität im Plasma nicht trivial. Eine zuverlässige Methode zur Messung der integralen antioxidativen Kapazität des Plasmas wäre hilfreich, um über einen globalen Marker des antioxidativen Systems zu verfügen. Die Entwicklung einer solchen Methode ist allerdings schwierig, da das antioxidative System aus einer Vielzahl von Komponenten besteht, die sich auch noch gegenseitig beeinflussen. Verschiedene Methoden zur Bestimmung der gesamten antioxidativen Kapazität in Serum oder Plasma sind bereits entwickelt worden. (Cao et al., 93; Ghiselli et al., 94; Glazer, 90; Miller et al., 93). Wegen des großen Aufwands der Bestimmung aller Einzelkomponenten und wegen des Zusammenwirkens der verschiedenen antioxidativen Substanzen ist bis jetzt kein Goldstandard bekannt (Cao und Prior, 98). Eine vielversprechende Methode zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität wasserlöslicher Substanzen (ACW) ist die photochemische Generation freier Radikale und ihr chemiluminometrischer Nachweis (Popov und Lewin, 94; Popov und Lewin, 99). Bei erhöhtem oxidativem Stress ist mit einem Abfall der ACW zu rechnen.

1.4 Oxidativer Stress bei Blutspendern

Die Blutspende ist definiert als die freiwillige Abgabe einer gewissen Menge Blutes, in der Regel ca. 0,5L. Das Blut wird anschließend untersucht, aufbereitet und dann transfundiert. Die häufigste Art der Spende ist die Vollblutspende, bei der aus einer Vene Blut entnommen, konserviert und in verschiedene Blutprodukte aufgetrennt in der Blutbank gelagert wird. Des Weiteren können Eigenblutspenden, Blutplasmaspenden oder Thrombozytenspender erfolgen.

Bis jetzt sind nur wenige Studien durchgeführt worden, in denen die Wirkung der Blutspende auf den oxidativen Stress und die antioxidative Kapazität untersucht wurden (Salonen et al., 98; van Jaarsveld und Pool, 02; Pincemail et al., 00). Eine Reduktion des oxidativen Stresses durch die Blutspende wird postuliert.

In einigen Studien konnte nachgewiesen werden, dass ein erhöhter Eisenspeicher im menschlichem Körper die Bildung von Radikalen fördert und den oxidativen Stress steigert, was wiederum zu einem erhöhten Risiko für die Entstehung von Herzerkrankungen beitragen kann (Halliwell und Gutteridge, 86; Salonen et al., 94). Sullivan et al. konnten zeigen, dass eine Korrelation zwischen einem abnorm erhöhten Eisenspeicher

und der Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit besteht. Dieser Zusammenhang wird auch als Biron-Hypothese bezeichnet (Sullivan, 81; Salonen et al., 92). In einer Studie von Salonen et al. konnte bei wiederholter Blutspende ein Abfall der Ferritinkonzentration im Serum und eine verminderte Oxidationsfähigkeit von Serumlipoproteinen und damit eine Reduktion des oxidativen Stresses nachgewiesen werden (Salonen et al., 95). Eine weitere Studie ergab, dass regelmäßige Blutspende zu Eisenreduktion führt und eine positive Korrelation zwischen der Blutspendefrequenz und einem erniedrigtem kardiovaskulären Risiko besteht (Zheng et al., 05).

Salonen et al. konnten zeigen, dass sich bei Blutspendern das Risiko an einem akutem Herzinfarkt zu erkranken um 88% reduziert (Salonen et al., 98).

Allerdings stellte eine andere Studie eine steigende Inzidenz für kardiovaskuläre Ereignisse bei regelmäßigen Blutspendern fest (Meyers et al., 97). Ascherio et al. fanden keinen Zusammenhang zwischen regelmäßiger Blutspende und der Inzidenz von Myokardinfarkten (Ascherio et al., 01).

Der aussagekräftigste Marker für den Eisenspeicher sind das Ferritin und der lösliche Transferrin-Rezeptor im Plasma. Die Serumferritin Konzentration korreliert direkt mit dem Speichereisen des retikulären Systems. In der Literatur gilt die Bestimmung des Ferritin als sensitivste Methode zur Erfassung des Eisenmangels (Burns et al., 90).

Blutspender sind eine geeignete gesunde Population für Interventionsstudien mit potentiell antioxidativ wirkenden Substanzen. Für geplante Interventionsstudien zur Beeinflussung des oxidativen Stresses soll in der vorliegenden Arbeit der oxidative Status von Blutspendern deskriptiv analysiert werden. Insbesondere soll untersucht werden ob Blutspender bezüglich des oxidativen Status eine homogene Gruppe darstellen oder ob Subgruppen aufgrund ihrer Charakteristika gesondert betrachtet oder ausgeschlossen werden sollten.

1.5 Oxidativer Stress bei Rauchern

Zigarettenrauch enthält ein Gemisch aus über 4000 Substanzen, welche in der Lage sind Interaktionen mit den biologischen Systemen des Menschen einzugehen (Cross et al., 99; Quinlan et al., 02). Bei einem Zigarettenzug inhaliert ein Raucher über 1000 freie Radikale und weitere Oxidantien (Pryor und Stone, 93). Rauchen führt über die Zufuhr von freien Radikalen und weiteren Oxidationsprodukten zu einer Verschiebung des oxidativ-antioxidativen Gleichgewichtes, so dass oxidativer Stress resultiert (Kode

et al., 06; Alberg, 02). Die Gasphase des Zigarettenrauches enthält z.B. NO welches mit Superoxid zu Peroxynitrit reagieren kann und so zum erhöhten oxidativen Stress beiträgt (Bruno und Traber, 06). Die ROS lösen im broncho-pulmonalen System lokale Entzündungsreaktionen aus, wodurch sich wiederum Radikale regenerieren können. Über den Blutkreislauf können Schädigungen an anderen Orten verursacht werden.

Raucher haben geringere Konzentrationen von Antioxidantien im Blut. Einerseits kommt es durch die Induktion von oxidativem Stress zu einem erhöhten Verbrauch von Antioxidantien, andererseits scheinen die Raucher durch ihre Lebensgewohnheiten weniger Antioxidantien über die Nahrung aufzunehmen (Subar et al., 90; Ortega et al., 94).

Rauchen beeinflusst über die Induktion von Entzündungsreaktion den Eisenstatus im menschlichem Körper (Beisel, 76). Über die Entstehung einer Hypoxämie beim Rauchen kommt es zu einem Hämoglobinanstieg und einem Abfall des Eisenspeichers (Das, 85).

Es ist bekannt das der Selenspiegel bei Rauchern durch folgende Faktoren beeinflusst werden kann:

1. Verminderte Bioaktivität von Selen durch Cadmium aus Zigaretten.
2. Abhängigkeit der Selenkonzentration von inflammatorischen Mediatoren bei Entzündungen (Sher et al., 99).

Die Auswirkungen des Rauchens auf Parameter des oxidativen Stresses bei Blutspendern sind bisher kaum untersucht worden.

1.6 Oxidativer Stress bei Einnahme von oralen Antikonzeptiva

Orale Antikonzeptiva (OK) sind meist Kombinationspräparate aus Östrogen- und Östradiolderivaten. Sie können sowohl anti- als auch pro-oxidative Wirkungen haben (Gomez-Zubeldia et al., 02; Nathan und Chaudhuri, 98). Es ist anzunehmen, dass sowohl die Kombination der Inhaltsstoffe der OK als auch der weibliche Zyklus an der Entstehung von oxidativem Stress bei Frauen beteiligt ist (Yeung und Chan, 75).

Östrogenen werden protektive Wirkungen auf das Herz-Kreislaufsystem zugeschrieben. Andererseits ist klinisch ein gesteigertes Risiko für das Auftreten von Thrombosen und Herzinfarkten unter Therapie mit OK beobachtet worden. Die Studienlage zum Zusammenhang zwischen OK und einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Mammakarzinomen ist kontrovers.

OK können die Aktivität des antioxidativen Systems vermindern und so die Lipidperoxidation und die Thrombozytenaktivität steigern (Ciavatti und Renaud, 91).

Der Einfluss von OK auf Parameter des oxidativen Stresses wurde in verschiedenen Studien untersucht. Allerdings gibt es bisher kaum Untersuchungen an Blutspenderinnen.

Viele Studien zeigen, dass Rauchen zu erhöhtem oxidativem Stress führt. Nur wenige Studien beschäftigten sich mit der Frage, ob es zu einer Addition des oxidativen Stresses bei rauchenden Frauen unter Einnahme von OK kommt. Studien an Blutspenderinnen unter oraler Antikonception und unter Berücksichtigung des Rauchverhaltens sind bisher nicht durchgeführt worden.

2 Fragestellung der Arbeit

Es ist von grundlegendem wissenschaftlichen Interesse unter standardisierten Bedingungen Daten über das oxidative und antioxidative Potential verschiedener Personengruppen zu erheben.

Oxidativer Stress ist definiert als die Verschiebung des Gleichgewichts zwischen reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und Antioxidantien zugunsten der ROS. Ein Zusammenhang zwischen erhöhtem oxidativem Stress und verschiedenen Erkrankungen wird angenommen.

Blutspender sind eine relativ gesunde, über klare Einschlusskriterien definierte Personengruppe, die regelmäßig in Blutspendeeinrichtungen vorstellig wird um dort Blut abgenommen zu bekommen. Dieses steht potentiell auch für Analysezwecke zur Verfügung. Blutspender stellen damit eine für Interventionsstudien gut geeignete Population dar. Für geplante Interventionsstudien zur Beeinflussung des oxidativen Stresses soll in der vorliegenden Arbeit der oxidative Status von Blutspendern deskriptiv analysiert werden. Insbesondere soll untersucht werden ob Blutspender bezüglich des oxidativen Status eine homogene Gruppe darstellen oder ob Subgruppen aufgrund ihrer Charakteristika gesondert betrachtet oder ausgeschlossen werden sollten.

In bisherigen Studien wurde oxidativer Stress meist über einige wenige Parameter definiert. Ziel dieser Studie ist es den oxidativen/antioxidativen Status einer großen Anzahl von Blutspendern über eine Vielzahl verschiedener Parameter zu beschreiben. Wir wählten für diese Untersuchung folgende Parameter: Vitamin A, Vitamin E, Zink, Selen, die antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen (ACW), Lipidhydroperoxide (LPO) und reaktive Sauerstoffmetaboliten (ROM, reactive oxygen metabolites).

Die Messung der ROM erfolgte mit einem neuem Gerät (FORM, Photometer CR2000, Catellani Group, Italien). Dieses Verfahren ist nach Angaben des Herstellers in der Lage in wenigen Minuten die freien Radikale im Blut zu messen und somit einen globalen Parameter des oxidativen Stresses zu liefern. Untersucht wurde ferner ob ROM mit anderen Parameter des oxidativen Stresses korrelieren.

Von Interesse waren Auswirkungen des Geschlechts und der Lebensgewohnheiten (Rauchen, orale Antikonzeption) auf Parameter des oxidativen Stresses. Ferner sollten Korrelationen zwischen Parametern des oxidativen Stresses und dem Alter bzw. Body Mass Index untersucht werden.

3 Material und Methoden

3.1 Rekrutierung der Probanden und Probengewinnung

Die Studie wurde nach den Prinzipien der Deklaration von Helsinki/Hongkong (1989) und den GCP-Richtlinien durchgeführt.

Der Prüfplan wurde vor Studienbeginn durch die Ethik-Kommission der Charite positiv begutachtet (Votum vom 07.09.2000).

Ziel der Studie war die Bestimmung des oxidativen Status bei Blutspendern.

Alle Blutspender, die im Zeitraum der Probandenrekrutierung in der Blutspendeeinrichtung des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité Campus Mitte Blut spendeten, wurden um Teilnahme an der Studie gebeten.

Einschlusskriterien waren die Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (2000) und eine schriftliche Einverständniserklärung.

Ausschlusskriterien waren die Einnahme von lipidsenkenden Medikamenten oder Multivitaminpräparaten.

Es wurden konsekutiv 488 Blutspender, davon 281 Männer und 207 Frauen, in die Studie eingeschlossen.

Die Blutproben wurden den Spendern aus der Kubitalvene ohne Stauung in sitzender Körperhaltung standardisiert entnommen. Zur Entnahme wurden sterile Einmalröhrchen mit EDTA sowie Serumröhrchen der Fa. Sarstedt verwendet. Die Blutproben wurden spätestens 30 Minuten nach der Blutentnahme für 15 Minuten bei 2000g zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand in Eppendorfgefäße abpipettiert und bis zu den weiteren Untersuchungen bei -80°C gelagert.

Die Blutbildbestimmung erfolgte innerhalb einer Stunde.

Die Messung der ROM erfolgte aus Kapillarblut. Zur Gewinnung von Kapillarblut wurde nach Desinfektion die rechte Zeigefingerbeere mit einer Lanzette punktiert und nach dem Abtupfen des ersten Bluttröpfens 20 μl Blut in eine Glaskapillare abgefüllt. Die Analyse der ROM erfolgte sofort nach der Gewinnung der Kapillarblutprobe.

Bei allen Probanden wurden folgende Parameter aus den Blutproben bestimmt:

Oxidativer Status:

- Vitamin A
- Vitamin E
- Zink
- Selen
- Antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen (ACW)
- Lipidhydroperoxide (LPO)
- Reaktive Sauerstoffmetabolite (ROM)

Kleines Blutbild:

- Hämoglobin
- Hämatokrit
- Erythrozytenzahl
- MCV
- Leukozytenzahl
- Thrombozytenzahl

Eisenstatus:

- Ferritin
- Transferrin
- Löslicher Transferrinrezeptor

3.2 Messung von Vitamin A und Vitamin E

Zur Bestimmung von Vitamin A (Retinol) und Vitamin E (α -Tocopherol) wurde die HPLC-Methode nach Weinmann mit geringer Modifizierung verwendet (Weinmann et al., 99).

200 μ l Serum werden mit einem internem Standard (Retinolacetat und Tocopherolacetat) und n-Hexan zur Extraktion versetzt. Nach guter Durchmischung und Zentrifugation wird ein Aliquot reiner Hexanphase abpipettiert, abgeblasen und der Überstand in die mobile Phase aufgenommen. Danach werden 10 μ l der Probe mit einem automatischen Probengeber (System 200, Perkin Elmer, USA) auf eine V18 Säule injiziert und mit Methanol und Wasser (97,5:2,5) ohne Gradient in 15 min aufgetrennt. Der Nachweis erfolgt mit UV- und Fluoreszenzdetektion.

Referenzbereiche für gesunde Nichtblutspender:

Vitamin A: 1,05-2,08 mmol/l, Vitamin E: 12-46 mmol/l.

3.3 Messung von Zink

Die Bestimmung erfolgte über Atomabsorptionsspektrometrie mit dem Analysegerät AAS 5FL (Analytik Jena AG, Deutschland).

100 μ l Serum werden mit 1 ml 0,1 n Salzsäure mittels Vortexmixer kräftig vermischt und einem Autosampler zugeführt. Die Erzeugung der für die Absorption notwendigen Strahlung erfolgt in einer Hohlkathodenlampe, in der angrenzende Atome ihr Linienspektrum aussenden. Die Messung der Konzentration erfolgt nach Atomisierung des zu bestimmenden Elementes durch die Flammentechnik, bei einer für das Element spezifischen Wellenlänge. Die Bestimmung der Zink-Konzentration durch die Atomabsorption beruht auf der Proportionalität von Konzentration des zu untersuchenden Elements zu absorbierter Strahlung nach Atomisierung der Probe (Lambert Beersches Gesetz).

Referenzbereich für gesunde Nichtblutspender: 9,18-18,36 μ mol/l.

3.4 Messung von Selen

Die Bestimmung erfolgte über Atomabsorptionsspektrometrie mit Graphitrohrtechnik mit dem Analysegerät Spektra 400 plus (Varian GmbH, Deutschland).

200 μ l Serum werden mit einer Lösung aus L-Ascorbinsäure, Triton X100 und DB100 Antischaummittel verdünnt. Nach Mischung mit dem Vortexmixer wird die Probe für

1 min bei 1000 U/min zentrifugiert und in den Autosampler überführt. Die Erzeugung der für die Absorption notwendigen Strahlung erfolgt in einer Hohlkathodenlampe, in der angrenzende Atome ihr Linienspektrum aussenden. Die Messung der Konzentration erfolgt nach Atomisierung des zu bestimmenden Elementes durch die Graphitrohrtechnik, bei einer für das Element spezifischen Wellenlänge. Die Bestimmung der Selenkonzentration durch die Atomabsorption beruht auf der Proportionalität von Konzentration des zu untersuchenden Elements zu absorbierter Strahlung nach Atomisierung der Probe (Lambert Beersches Gesetz).

Referenzbereich für gesunde Blutspender: 0,94-1,77 $\mu\text{mol/l}$.

3.5 Messung der antioxidativen Kapazität

Für die Messung der integralen antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen des Plasmas (ACW) wurde das Verfahren der Firma Analytik Jena AG (Deutschland) verwendet. Die Methode wurde von Popov et al. detailliert beschrieben (Popov und Lewin, 99). Die ausgewählte Methode fasst die Kapazität fast aller wasserlöslichen Komponenten des antioxidativen Systems im Plasma zusammen (Popov und Lewin, 94). Sie misst die antioxidative Kapazität der Harnsäure, deren Anteil 60% aller wasserlöslichen Antioxidantien ausmacht. Zum jetzigen Zeitpunkt sind für diese Methode kein Referenzbereiche definiert. Es sind nur vereinzelte Arbeiten über ACW erschienen, in denen allerdings andere Messmethoden verwendet wurden.

Die integrale antioxidative Kapazität des Plasmas wurde mit dem ACW-Kit auf dem PHOTOCHEM-Luminometer nach Anleitung des Herstellers gemessen. Das Prinzip basiert auf der Kombination einer photochemischen Generation freier Radikale und ihrem chemoluminometrischen Nachweis. Durch optische Anregung eines Photosensibilisators werden verschiedene reaktive Sauerstoffformen gebildet, die von den Antioxidantien im Plasma gebunden und neutralisiert werden. Durch Messung der lag-Phase des Sauerstoffverbrauchs wird die antioxidative Kapazität des Plasmas im Vergleich zu Ascorbinsäure bestimmt. Die Ergebnisse werden in mmol/l ASE (Ascorbinsäure Äquivalenzen) angegeben.

Referenzbereich für gesunde Nichtblutspender: nicht bekannt.

3.6 Messung der Lipidhydroperoxide

Die Konzentration der Lipidhydroperoxide (LPO) im Plasma wurde mittels K-Assay, LPO-CC-Kit (Kamiya Biomedical, USA) untersucht. Die Methode wurde von Tateishi et al. detailliert beschrieben (Tateishi et al., 87).

In der Anwesenheit von Hämoglobin werden die Lipidhydroperoxide zu Hydroxylderivaten reduziert. Das Chromogen wird in einer äquimolaren Reaktion oxidativ in Methylenblau umgewandelt. Das Methylenblau wird bei 675 nm photometrisch gemessen. Als Standard wurde Cumenhydroperoxid (50 mmol/ml) verwendet.

Referenzbereich für gesunde Nichtblutspender: 4,85-10,41 nmol/l.

3.7 Messung der reaktiven Sauerstoffmetabolite

Die Messung der reaktiven Sauerstoffmetabolite (ROM) erfolgte mit einer neuen Meßmethode. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit der ROM sind sie messtechnisch bis jetzt schwer zugänglich gewesen. Der FORM-Test ist nach Angaben des Herstellers erstmals in der Lage ROM in kürzester Zeit in einer biologischen Probe zu bestimmen.

FORM (Photometer CR2000, Catellani Group, Italien) ist ein System für die photometrische Bestimmung der ROM-Konzentration im Kapillarblut. Die Bestimmung basiert auf der Vermutung, dass die Konzentration der organischen Hydroperoxide proportional der Konzentration der freien Radikale ist. Bei dieser Methode wird die Produktion einer stabilen Farbverbindung bei saurem pH (4,8) bei 505 nm gemessen. Diese Farbverbindung entsteht durch eine quantitative Reaktion der ROM im Serum und den Ionen der Übergangsmetalle (Fe^{2+} , Fe^{3+}) mit dem Chromogen. Bei pH 4,8 werden von den Serumproteinen Ionen der Übergangsmetalle freigesetzt. In der Anwesenheit dieser Ionen werden die organischen Hydroperoxide in Peroxyl- und Alkoxyradikale umgewandelt (Fentonreaktion). Letztere reagieren mit dem Chromogen (Phenylendiamin) und können titriert werden. Die Methode bestimmt im wesentlichen die Konzentration der Alkoxyradikale und Peroxydradikale (Giovannangelo und Carlo, 01; Da Vela und Casini, 95).

20 µl Kapillarblut aus der Fingerbeere werden in eine Glaskapillare aufgesogen. Die Kapillare wird sofort in eine Eppendorfküvette gelegt, die mit 1 ml einer sauren (pH 4,8) Pufferlösung gefüllt ist. Die Küvette wird verschlossen und vorsichtig geschüttelt, bis die Farbe der Kapillare der Farbe der Pufferlösung entspricht. Hierbei reagieren die in der Probe enthaltenen Bestandteile nach der Fentonreaktion. Die Mischung wird in eine Meßküvette überführt und mit 10 µl einer phenolischen Farbverbindung (N,N-Diethyl-

Paraphenylendiamin), dem Chromogen, versetzt und vermischt. Die Farbverbindung entsteht durch eine quantitative Reaktion der ROM im Serum und den Ionen der Übergangsmetalle (Fe^{2+} , Fe^{3+}) mit dem Chromogen. Die Probe wird eine Minute zentrifugiert und bei 38°C inkubiert. Nun wird die optische Dichte bei 505 nm mit Hilfe eines Spektroskops gemessen. Eine zweite Messung erfolgt nach einer Minute. Die Differenz (Delta A) wird bestimmt und mit einem Korrekturfaktor K (9000) multipliziert.

Die Berechnung erfolgt durch das Gerät nach folgender Formel: $\text{Delta A} \times \text{K} = \text{U.Carr.}$

Die Messeinheit wird nach dem Entwickler der Methode Mauro Carratelli in U.Carr. (Carratelli Units) angegeben, wobei eine U.Carr. 0,024 mmol $\text{H}_2\text{O}_2/\text{l}$ entspricht.

Der Hersteller ermittelte an 5000 Probanden Referenzbereiche für gesunde Nichtblutspender. Raucher und Frauen unter oraler Kontrazeption wiesen erhöhte Werte auf.

Normal (75% der Probanden)	<301	U.Carr.
Geringer oxidativer Stress	301-320	U.Carr.
Mäßiger oxidativer Stress	321-360	U.Carr.
Starker oxidativer Stress	361-400	U.Carr.
Sehr starker oxidativer Stress	>400	U.Carr.

3.8 Kleines Blutbild

Die Bestimmung des Blutbilds erfolgte vollautomatisch mit dem Abott Cell-Dyn 3500 (Abbott Diagnostics, Deutschland). Der Cell-Dyn 3500 ist ein Mehrkanalgerät, das sowohl mit Laser-Lichtstreuung als auch mit Impedanztechnik arbeitet.

Zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration wird das Blut hämolysiert und das entstandene Hämoglobin in das stabile Cyanmethämoglobin überführt. Die Konzentration des Cyanmethämoglobins wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 546 nm bestimmt. Bei der Cyanmethämoglobinbestimmung werden alle Hämoglobinformen die im Blut vorkommen können (Desoxyhämoglobin, Oxyhämoglobin, Carboxyhämoglobin, Methämoglobin) in das gleiche Reaktionsprodukt überführt. Die Methode ist daher vom jeweiligen Anteil der genannten Hämoglobine unabhängig und liefert die Gesamthämoglobinkonzentration.

Die Anzahl der Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten wird durch Impedanzmessungen ermittelt. Wenn durch die Messöffnung ein elektrischer Strom und ein Partikelstrom fließen, erhöht sich der elektrische Widerstand beim Durchtritt von Blutzellen, da diese Nichtleiter sind. Die Widerstandsänderung löst einen messbaren elektrischen Im-

puls aus. Die Anzahl der Impulse entspricht der Anzahl der Zellen, welche die Messöffnung passiert haben. Die Amplitude des Impulses ist abhängig vom Partikelvolumen. Weiterhin wird die Leukozytenzahl im optischen Kanal (Laser) bestimmt. Wenn die Zellen mit dem Laserstrahl in Wechselwirkung treten, streuen sie das Laserlicht in alle Raumwinkel. Dabei verhalten sich die einzelnen Zellklassen in Bezug auf die Streulicht-Intensität in einzelnen Winkelbereichen unterschiedlich.

Die Vorwärtsstreuung dient vorrangig zur Messung der Zellgröße. Mit Hilfe der Seitwärtsstreuung werden Informationen über die Zelloberfläche und den inneren Aufbau der Zellen gesammelt. Die von den Zellen ausgehenden optischen Signale werden gemessen und in elektrische Impulse umgewandelt, die im Computer gespeichert und ausgewertet werden können. Die Bestimmung der Leukozytenzahl mit Hilfe zweier Methoden ermöglicht eine interne Qualitätskontrolle.

Referenzbereiche für gesunde Nichtblutspender:

Hämoglobin: Männer 8,7-10,9 mmol/l, Frauen 7,6-9,5 mmol/l.

Hämatokrit: Männer 0,36-0,48 l/l, Frauen 0,35-0,45 l/l.

Erythrozytenzahl: Männer $4,5-5,9 \cdot 10^{12}/l$, Frauen $4,1-5,1 \cdot 10^{12}/l$.

MCV: 80-96 fl.

Leukozytenzahl: $4,4-11,3 \cdot 10^9/l$.

Thrombozytenzahl: $150-450 \cdot 10^9/l$.

3.9 Eisenstatus

Die Bestimmung der Parameter des Eisenstatus erfolgte vollautomatisch mit dem BN-ProSec Nephelometer (DADE Behring, USA).

Die Messung erfolgt durch einen latex-verstärkten immunonephelometrischen Assay. Mit Antikörpern gegen humanes Ferritin, Transferrin bzw. löslichen Transferrinrezeptor (sTfR) beladene Polystyrol-Partikel werden bei Mischung mit antigenhaltigen Proben agglutiniert. Die Intensität des Streulichts im Nephelometer ist vom Antigengehalt der Probe abhängig, so dass durch den Vergleich mit Verdünnungen eines Standards der Ferritin-, Transferrin- bzw. sTfR-Gehalt der Probe ermittelt werden kann.

Referenzbereiche für gesunde Nichtblutspender:

Ferritin: Männer: 22-322 µg/l, Frauen: 10-291 µg/l.

Transferrin: 2,0-3,6 g/l.

Löslicher Transferrinrezeptor (sTfR): 0,83-1,76 mg/l.

3.10 Statistische Methoden

Die Daten wurden mit dem Programm SPSS Version 11.5 analysiert. Die gemessenen und errechneten Werte sind als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) dargestellt. Bivariate Korrelationen wurden durch Korrelationsanalyse berechnet und eine Korrelationsmatrix für Alter, BMI und alle gemessenen Parameter des oxidativen Status erstellt. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson ist jeweils angegeben.

Zum Vergleich von zwei Gruppen wurde der ungepaarte t-Test verwendet. Zum Vergleich mehrerer Gruppen wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Wo angegeben wurde p in einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) für die Kovariaten Alter, BMI, Rauchverhalten und Einnahme oraler Antikonzeptiva adjustiert.

P-Werte $<0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen.

4 Ergebnisse

4.1 Demographische Daten der Studienpopulation

In Tabelle 3 sind die demographischen Daten der Studienpopulation dargestellt.

Die Studienpopulation weist ein mittleres Alter von 32 Jahren auf, 78% der Blutspender sind jünger als 40 Jahre, 90% sind jünger als 50 Jahre. Ca. 90% der Probanden haben einen systolischen Blutdruck unter 140 mmHg und einen diastolischen Blutdruck unter 90 mmHg.

Auch die anderen demographischen Parameter weisen die typischen Werte für Blutspender aus der Umgebung des Prüfzentrums auf.

Tabelle 3: Demographische Daten der Studienpopulation.
N=488. SD: Standardabweichung.

	Mittelwert	SD	Minimum	Maximum
Alter (Jahre)	32	11,7	18	65
Größe (cm)	175,4	9,3	148	204
Gewicht (kg)	74,2	14,2	50	120
Systolischer Blutdruck (mmHg)	123,4	13,7	90	160
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	80,4	8,6	60	100
Herzfrequenz (sek ⁻¹)	76,4	10,3	56	110
Body Mass Index (kg/m ²)	24,1	3,9	16,5	43,5

Die demographischen Daten der Studienpopulation aufgeteilt nach Geschlechtern sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Demographische Daten der Studienpopulation, unterteilt nach Geschlechtern.
SD: Standardabweichung.

Geschlecht		Mittelwert	SD	Minimum	Maximum
M	Alter (Jahre)	32,8	11,4	18	65
N = 281	Größe (cm)	180,6	7,4	162	204
	Gewicht (kg)	80,2	12,2	50	120
	Systolischer Blutdruck (mmHg)	126,6	13,2	90	160
	Diastolischer Blutdruck (mmHg)	81,8	8,0	60	100
	Herzfrequenz (Sek ⁻¹)	76,7	10,6	56	110
	Body Mass Index (kg/m ²)	24,6	3,3	17	35,9
	W	Alter (Jahre)	30,9	12,0	18
N = 207	Größe (cm)	168,3	6,4	148	185
	Gewicht (kg)	66,2	12,6	50	120
	Systolischer Blutdruck (mmHg)	119	13,1	95	160
	Diastolischer Blutdruck (mmHg)	78,4	8,9	60	100
	Herzfrequenz (Sek ⁻¹)	75,9	9,8	56	100
	Body Mass Index (kg/m ²)	23,4	4,4	16,5	43,5

Die Altersverteilung der Studienpopulation getrennt nach Geschlechtern ist graphisch in Abb. 4 dargestellt.

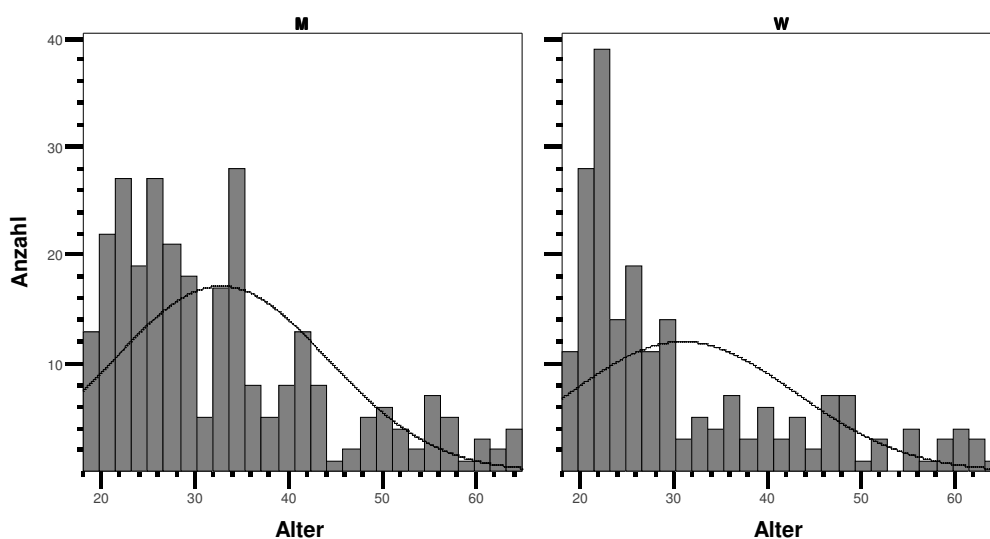


Abb. 4: Altersverteilung beider Geschlechter der Studienpopulation mit Verteilungskurve. Alter in Jahren. M: Männer (n=281); W: Frauen (n=207).

Tabelle 5 gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Lebensgewohnheiten der Studienpopulation.

In die Gruppe der Frauen mit oraler Antikonzepktion sind alle Frauen eingeschlossen, die eine orale Antikonzepktion einnehmen, unabhängig von ihrem Wirkstoff.

Da die Zahl der ehemaligen Raucher relativ klein ist wurden die Nieraucher und ehemaligen Raucher für die Auswertung in eine gemeinsame Gruppe von "Nichtrauchern" zusammengefasst. In der Studienpopulation befinden sich prozentual mehr männliche als weibliche Raucher.

Tabelle 5: Lebensgewohnheiten der Studienpopulation.

M: Männer (n=281); W: Frauen (n=207).

Geschlecht		N	%
M	Raucher	143	50,9
	Nichtraucher	138	49,1
W	Raucher	Orale Antikonzepktiva	33 15,9
		Keine oralen Antikonzepktiva	40 19,3
	Nichtraucher	Orale Antikonzepktiva	65 31,4
		Keine oralen Antikonzepktiva	69 33,3

4.2 Blutbild der Blutspender

In Tabelle 6 ist das Blutbild der Blutspender aufgeteilt nach Geschlechtern dargestellt. Wie von den Referenzbereichen her zu erwarten haben die Frauen in Bezug auf Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozyten signifikant niedrigere Werte als die Männer. Bei den Thrombozyten zeigten dagegen die Frauen signifikant erhöhte Werte im Vergleich zu den männlichen Probanden.

Die Werte lagen trotz der Blutspenden weitgehend im Referenzbereich.

Tabelle 6: Blutbild der Studienpopulation unterteilt nach Geschlechtern.

Vergleich der Geschlechter im ungepaarten t-Test.

M: Männer (n=281); W: Frauen (n=207); SD: Standardabweichung.

	Geschlecht	Mittelwert	SD	5. Perzentile	95. Perzentile	Referenz	p
Hämoglobin (mmol/l)	M	9,14	0,62	8,10	10,1	8,7-10,9	<0,001
	W	8,03	0,52	7,19	8,96	7,6-9,5	
Hämatokrit (l/l)	M	0,42	0,03	0,38	0,47	0,36-0,48	<0,001
	W	0,38	0,02	0,34	0,42	0,35-0,45	
Erythrozyten ($10^{12}/l$)	M	4,78	0,33	4,23	5,32	4,5-5,9	<0,001
	W	4,27	0,29	3,78	4,73	4,1-5,1	
MCV (fl)	M	89,0	4,43	81,9	96,8	80-96	0,641
	W	88,8	4,47	80,1	96,1	80-96	
Leukozyten ($10^9/l$)	M	5,66	1,94	3,40	9,30	4,4-11,3	0,801
	W	5,61	1,67	3,49	8,56	4,4-11,3	
Thrombozyten ($10^9/l$)	M	257	58,9	181	352	150-450	<0,001
	W	277	54,4	194	375	150-450	

4.3 Eisenstatus der Blutspender

In Tabelle 7 ist der Eisenstatus der Studienpopulation aufgeteilt nach Geschlechtern dargestellt.

Entsprechend den geschlechtsspezifischen Referenzbereichen ergibt sich bei Frauen ein signifikant niedrigerer Wert für Ferritin im Vergleich zu den männlichen Probanden.

Auch der lösliche Transferrin-Rezeptor (sTfR) ist bei den Frauen signifikant erniedrigt.

Bei Betrachtung der 5. und 95. Perzentile fällt auf, dass erwartungsgemäß die Ferritinplasmakonzentrationen beider Geschlechter über die gesamte Verteilung der Werte betrachtet eher unter dem Referenzbereich für Nicht-Blutspender liegen. Dies ist für Transferrin und sTfR nicht der Fall.

Tabelle 7: Eisenstatus der Studienpopulation unterteilt nach Geschlechtern.

Vergleich der Geschlechter im ungepaarten t-Test.

M: Männer (n=281); W: Frauen (n=207); SD: Standardabweichung; sTfR: löslicher Transferrinrezeptor.

	Geschlecht	Mittelwert	SD	5. Perzentile	95. Perzentile	Referenz	p
Ferritin (µg/l)	M	46,7	39,4	6,91	128	22-322	<0,001
	W	27,1	26,3	4,47	70,3	10-291	
Transferrin (g/l)	M	2,38	0,45	1,73	3,20	2,0-3,6	0,229
	W	2,44	0,60	1,56	3,37		
sTfR (mg/l)	M	1,23	0,34	0,79	1,88	0.83-1,76	0,016
	W	1,16	0,32	0,73	1,74		

4.4 Parameter des oxidativen Stresses bei Blutspendern

In Tabelle 8 sind die in der Studienpopulation gemessenen Parameter des oxidativen Stresses dargestellt.

Vitamin A liegt bei den untersuchten Blutspendern deutlich über dem Referenzbereich. Dies ist bei Vitamin E nicht der Fall.

Knapp die Hälfte (46,8%) der Probanden weisen eine erniedrigte Selenkonzentration auf. Der Mittelwert von LPO liegt unter dem Referenzbereich. ROM als neuartiger Marker für oxidativen Stress zeigte sich grenzwertig erhöht.

Tabelle 8: Parameter des oxidativen Status bei Blutspendern.

ACW: antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen; LPO: Lipidhydroperoxid; ROM: reaktive Sauerstoffmetaboliten; U.Carr.: Units Carratelli.

	Mittelwert	SD	5. Perzentile	95. Perzentile	Referenz
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	3,85	1,15	2,10	5,75	1,05-2,08
Vitamin E ($\mu\text{mol/l}$)	29,4	9,02	16,4	45,2	12-46
Zink ($\mu\text{mol/l}$)	13,8	2,09	10,3	17,1	9,18-18,36
Selen ($\mu\text{mol/l}$)	0,97	0,20	0,70	1,30	0,94-1,77
ACW ($\mu\text{mol/l}$)	1,36	0,66	0,62	2,53	nicht bekannt
LPO (nmol/ml)	3,37	3,39	0,10	7,72	4,85-10,41
ROM (U.Carr.)	300	95	182	503	<300

In Tabelle 9 sind die bivariaten Korrelationen zwischen Alter, BMI und den gemessenen Parametern des oxidativen Status für die gesamte Studienpopulation dargestellt.

Eine deutliche Korrelation besteht zwischen Vitamin A, Vitamin E und Selen. Die Korrelation zwischen Vitamin A und Vitamin E ist in Abb. 5 graphisch dargestellt.

Sowohl Vitamin E als auch Selen zeigen eine Altersabhängigkeit.

Zink korreliert positiv mit Selen und ACW.

Als Globalmaß der antioxidativen Kapazität ist ACW invers mit ROM als Globalmaß des oxidativen Potentials korreliert.

Tabelle 9: Korrelationsmatrix für Alter, BMI und die gemessenen Parametern des oxidativen Status. In der Matrix ist Pearsons Korrelationskoeffizient für bivariate Korrelationen zwischen allen Paaren angegeben. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

BMI: body mass index; ACW: antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen; LPO: Lipidhydroperoxid; ROM: reaktive Sauerstoffmetaboliten.

	Alter	BMI	Vitamin A	Vitamin E	Zink	Selen	ACW	LPO
BMI	0,34****							
Vitamin A	0,05	-0,06						
Vitamin E	0,32****	0,16***	0,39****					
Zink	0,01	0,11*	-0,10*	-0,10*				
Selen	0,20****	0,10*	0,18****	0,30****	0,12**			
ACW	0,04	0,11*	-0,03	0,08	0,17***	-0,01		
LPO	-0,07	0,10*	-0,14**	0,00	0,03	-0,01	0,12*	
ROM	-0,02	0,00	0,08	0,05	-0,10***	0,08	-0,13**	-0,05

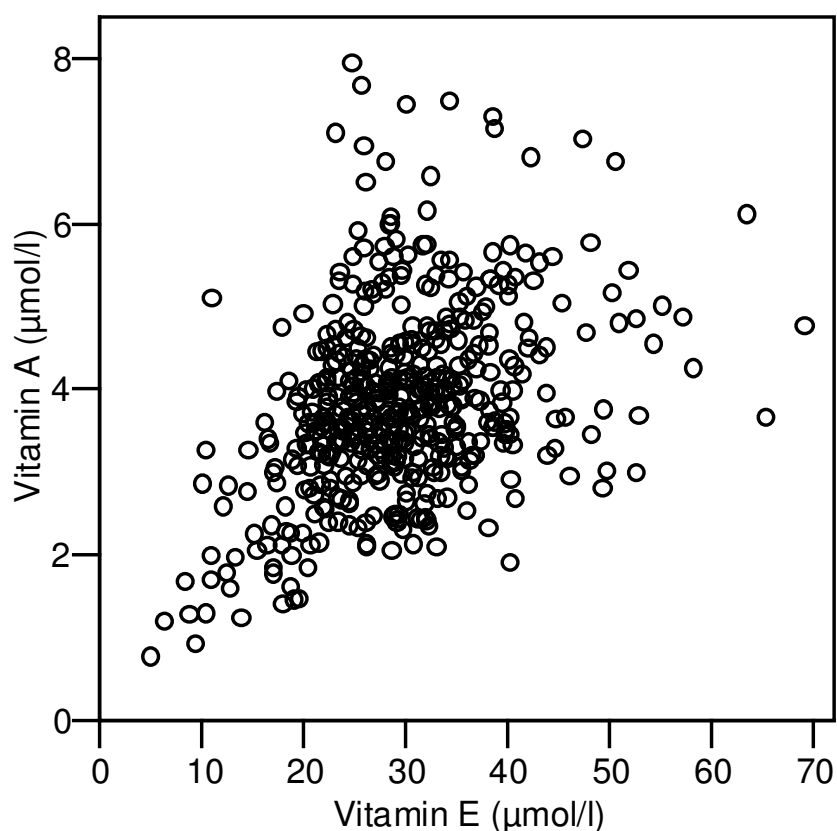


Abb. 5: Scatter-Plot für die Serumkonzentration von Vitamin A und Vitamin E. Pearsons Korrelationskoeffizient: 0,39, $p < 0,0001$, $R^2 = 0,152$.

In Tabelle 10 sind die Parameter des oxidativen Status nach Geschlechtern getrennt dargestellt.

Vitamin A liegt bei beiden Geschlechtern deutlich über dem Referenzbereich. Frauen zeigen signifikant höhere Werte als die männlichen Probanden. Nach Korrektur des p-Wertes (adjustiertes p) für Alter, Body Mass Index und Rauchverhalten lässt sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern mehr nachweisen. Für Zink, ACW, LPO und ROM ergaben sich nach Adjustierung signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern.

Tabelle 10: Parameter des oxidativen Status im Vergleich zwischen den Geschlechtern.

Vergleich der Geschlechter im ungepaarten t-Test. P wurde in einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) für die Kovariaten Alter, Body Mass Index und Rauchverhalten adjustiert. M: Männer (n=281); W: Frauen (n=207); ACW: antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen; LPO: Lipidhydroperoxid; ROM: reaktive Sauerstoffmetaboliten; U.Carr.: Units Carratelli.

	Geschlecht	Mittelwert	SD	5. Perzentile	95. Perzentile	Referenz	p	adjustiertes p
Vitamin A (µmol/l)	M	3,76	1,08	2,08	5,59	1,05-2,08	0,038	0,076
	W	3,98	1,22	2,08	6,42			
Vitamin E (µmol/l)	M	29,9	9,70	16,0	48,3	12-46	0,130	0,336
	W	28,7	7,97	16,5	42,4			
Zink (µmol/l)	M	14,1	2,05	10,6	17,3	9,18-18,36	<0.001	0,002
	W	13,4	2,08	9,80	17,0			
Selen (µmol/l)	M	0,96	0,20	0,70	1,29	0,94-1,77	0,161	0,284
	W	0,98	0,20	0,69	1,34			
ACW (µmol/l)	M	1,60	0,69	0,80	2,96	nicht bekannt	<0.001	<0.001
	W	1,04	0,44	0,52	2,00			
LPO (nmol/ml)	M	3,90	4,01	0,10	10,8	4,85-10,41	<0.001	<0.001
	W	2,67	2,18	0,10	6,42			
ROM (U.Carr.)	M	258	59	168	370	<300	<0.001	<0.001
	W	358	105	215	554			

4.5 Oxidativer Status in Abhängigkeit vom Rauchverhalten

In Tabelle 11 sind die Parameter des oxidativen Stresses in Abhängigkeit vom Rauchverhalten dargestellt.

Wie bereits in den vorherigen Tabellen dargestellt liegen die Vitamin A-Konzentrationen sowohl bei Rauchern als auch bei Nichtrauchern über dem Referenzbereich. Bei Rauchern fanden sich signifikant niedrigere Vitamin A-Werte im Sinne eines erhöhten oxidativen Stresses. Für Vitamin E konnte dies nicht gezeigt werden. Allerdings zeigen sich hochsignifikant verminderte Selen-Konzentrationen bei Rauchern, die ebenfalls im Sinne eines erhöhten oxidativen Stresses interpretiert werden können.

Entgegen der Angaben des Test-Herstellers haben Raucher unserer Studienpopulation niedrigere ROM-Werte als Nichtraucher.

Tabelle 11: Parameter des oxidativen Status in Abhängigkeit vom Rauchverhalten.

Vergleich der Gruppen im ungepaarten t-Test. P wurde in einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) für die Kovariaten Alter und Body Mass Index adjustiert. Nichtraucher n=272, Raucher n=216. ACW: antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen; LPO: Lipidhydroperoxid; ROM: reaktive Sauerstoffmetaboliten; U.Carr.: Units Carratelli.

		Mittelwert	SD	5. Perzentile	95. Perzentile	Referenz	p	adjustiertes p
Vitamin A (µmol/l)	Nichtraucher	3,96	1,12	2,12	5,76	1,05-2,08	0,023	0,023
	Raucher	3,72	1,17	2,00	5,77			
Vitamin E (µmol/l)	Nichtraucher	30,0	9,02	17,0	47,1	12-46	0,123	0,167
	Raucher	28,7	8,98	14,8	45,0			
Zink (µmol/l)	Nichtraucher	13,7	2,03	10,1	17,2	9,18-18,36	0,632	0,756
	Raucher	13,8	2,17	10,4	17,2			
Selen (µmol/l)	Nichtraucher	1,01	0,21	0,72	1,34	0,94-1,77	<0,001	<0,001
	Raucher	0,92	0,18	0,69	1,20			
ACW (µmol/l)	Nichtraucher	1,34	0,63	0,59	2,48	nicht bekannt	0,325	0,477
	Raucher	1,40	0,68	0,63	2,57			
LPO (nmol/ml)	Nichtraucher	3,17	2,62	0,10	7,43	4,85-10,41	0,161	0,255
	Raucher	3,62	4,18	0,10	8,10			
ROM (U.Carr.)	Nichtraucher	308	104	182	527	<300	0,032	0,037
	Raucher	289	82	179	428			

Die Auswirkungen des Rauchverhaltens auf die Parameter des oxidativen Status sind in Tabelle 12 und Tabelle 13 getrennt nach Geschlechtern dargestellt.

Bei den männliche Rauchern bestätigt sich der Befund erniedrigter Vitamin A und Selen-Serumkonzentrationen im Vergleich zu den Nichtrauchern.

Während die ROM-Werte in der Gesamtpopulation bei Rauchern niedriger sind, sind sie bei männlichen Rauchern signifikant erhöht.

Tabelle 12: Parameter des oxidativen Status bei Männern in Abhängigkeit vom Rauchverhalten. Vergleich der Gruppen im ungepaarten t-Test. P wurde in einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) für die Kovariaten Alter und Body Mass Index adjustiert. Nichtraucher n=138, Raucher n=143.

ACW: antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen; LPO: Lipidhydroperoxid; ROM: reaktive Sauerstoffmetaboliten; U.Carr.: Units Carratelli.

		Mittelwert	SD	5. Perzentile	95. Perzentile	Referenz	p	adjustiertes p
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	Nichtraucher	3,92	1,07	1,97	5,61	1,05-2,08	0,012	0,008
	Raucher	3,59	1,06	2,10	5,48			
Vitamin E ($\mu\text{mol/l}$)	Nichtraucher	30,9	9,76	15,9	49,4	12-46	0,108	0,095
	Raucher	29,0	9,59	14,9	45,7			
Zink ($\mu\text{mol/l}$)	Nichtraucher	14,2	2,00	10,6	17,4	9,18-18,36	0,523	0,384
	Raucher	14,0	2,10	10,7	17,1			
Selen ($\mu\text{mol/l}$)	Nichtraucher	1,01	0,20	0,72	1,30	0,94-1,77	<0,001	<0,001
	Raucher	0,91	0,19	0,65	1,20			
ACW ($\mu\text{mol/l}$)	Nichtraucher	1,63	0,66	0,83	3,02	nicht bekannt	0,603	0,521
	Raucher	1,58	0,71	0,79	2,98			
LPO (nmol/ml)	Nichtraucher	3,61	2,76	0,10	8,88	4,85-10,41	0,238	0,358
	Raucher	4,20	4,94	0,10	12,8			
ROM (U.Carr.)	Nichtraucher	246	53,6	158	341	<300	<0,001	<0,001
	Raucher	269	62,0	175	378			

Im Gegensatz zu den Rauchern kommt es bei den Raucherinnen nicht zu einer Verminderung der Vitamin A-Konzentration. Wie bei den Rauchern ist die Selenkonzentration auch bei Raucherinnen signifikant vermindert. Im Gegensatz zu den Männern ist bei rauchenden Frauen eine signifikanter Abfall der ROM festzustellen.

Tabelle 13: Parameter des oxidativen Status bei Frauen in Abhängigkeit vom Rauchverhalten. Vergleich der Gruppen im ungepaarten t-Test. P wurde in einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) für die Kovariaten Alter, Body Mass Index und die Einnahme von oralen Antikonzeptiva adjustiert. Nichtraucher n=134, Raucher n=73.

ACW: antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen; LPO: Lipidhydroperoxid; ROM: reaktive Sauerstoffmetaboliten; U.Carr.: Units Carratelli.

		Mittelwert	SD	5. Perzentile	95. Perzentile	Referenz	p	adjustiertes p
Vitamin A (µmol/l)	Nichtraucher	3,99	1,17	2,26	6,25	1,05-2,08	0,811	0,855
	Raucher	3,95	1,32	1,73	6,72			
Vitamin E (µmol/l)	Nichtraucher	29,0	8,11	17,8	43,6	12-46	0,428	0,871
	Raucher	28,1	7,72	13,3	40,6			
Zink (µmol/l)	Nichtraucher	13,3	1,98	9,44	16,8	9,18-18,36	0,509	0,488
	Raucher	13,5	2,27	10,2	18,3			
Selen (µmol/l)	Nichtraucher	1,01	0,21	0,69	1,46	0,94-1,77	0,005	0,035
	Raucher	0,93	0,15	0,70	1,23			
ACW (µmol/l)	Nichtraucher	1,03	0,42	0,52	1,95	nicht bekannt	0,624	0,741
	Raucher	1,06	0,47	0,48	2,10			
LPO (nmol/ml)	Nichtraucher	2,73	2,39	0,10	6,64	4,85-10,41	0,621	0,505
	Raucher	2,56	1,77	0,10	6,32			
ROM (U.Carr.)	Nichtraucher	375	104	226	554	<300	0,003	0,001
	Raucher	328	101	186	548			

4.6 Oxidativer Status in Abhängigkeit von oraler Antikonzeption

Die Gesamtpopulation der Frauen beträgt 207, davon nehmen 98 Frauen eine orale Antikonzeption ein.

Frauen unter oraler Antikonzeption weisen ein signifikant geringeres Alter auf als Frauen ohne orale Antikonzeption (25 vs. 36 Jahre, $p < 0,001$).

Die Auswirkungen der oralen Antikonzeption auf die Parameter des oxidativen Stresses sind in Tabelle 14 dargestellt.

Nach Adjustierung für die Kovariaten Alter, Body Mass Index und Rauchverhalten zeigen sich erhöhte Konzentrationen von Vitamin A und ROM bei Frauen unter Einnahme von oralen Antikonzeptiva.

Tabelle 14: Parameter des oxidativen Status bei Frauen in Abhängigkeit von oraler Antikonzeption (OK: nein n=109, ja n=98). Vergleich der Gruppen im ungepaarten t-Test. P wurde in einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) für die Kovariaten Alter, Body Mass Index und Rauchverhalten adjustiert.

ACW: antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen; LPO: Lipidhydroperoxid; ROM: reaktive Sauerstoffmetaboliten; U.Carr.: Units Carratelli.

	OK	Mittelwert	SD	5. Perzentile	95. Perzentile	Referenz	p	adjustiertes p
Vitamin A (µmol/l)	nein	3,66	1,09	1,62	5,69	1,05-2,08	<0,001	<0,001
	ja	4,34	1,27	2,59	7,05			
Vitamin E (µmol/l)	nein	29,4	8,68	15,9	45,4	12-46	0,180	0,219
	ja	27,9	7,06	16,4	40,7			
Zink (µmol/l)	nein	13,6	1,99	10,9	17,2	9,18-18,36	0,072	0,159
	ja	13,1	2,16	9,18	16,8			
Selen (µmol/l)	nein	0,98	0,19	0,71	1,31	0,94-1,77	0,752	0,070
	ja	0,99	0,20	0,69	1,38			
ACW (µmol/l)	nein	1,02	0,41	0,55	2,01	nicht bekannt	0,552	0,411
	ja	1,06	0,47	0,48	2,01			
LPO (nmol/ml)	nein	2,54	2,14	0,10	6,94	4,85-10,41	0,394	0,831
	ja	2,81	2,24	0,10	6,33			
ROM (U.Carr.)	nein	309	68,1	209	434	<300	<0,001	<0,001
	ja	416	111	230	593			

4.7 Kombination von Rauchen und oraler Antikonzeption

Die Auswirkungen des Rauchens, der Einnahme oraler Antikonzeptiva (OK) sowie die Auswirkung der Kombination beider Faktoren auf die Parameter des oxidativen Status sind in Tabelle 15 dargestellt. Signifikante Unterschiede ergeben sich für Vitamin A, Selen und ROM. Die Ergebnisse entsprechen im wesentlichen den Befunden in Tabelle 13 und Tabelle 14.

Die Einnahme oraler Antikonzeptiva (nicht jedoch das Rauchen) führt zu erhöhten Vitamin A-Serumkonzentrationen ($p < 0,01$, OK vs. Kontrolle). Ein zusätzlicher Effekt des Rauchens kann nicht nachgewiesen werden ($p = 0,42$, Rauchen+OK vs. OK).

Das Rauchen (nicht jedoch die Einnahme von OK) führt zu verminderten Selenserumkonzentrationen ($p < 0,05$, Rauchen vs. Kontrolle). Ein zusätzlicher Effekt der OK kann nicht nachgewiesen werden ($p = 0,81$, Rauchen+OK vs. Rauchen).

Während bei den Raucherinnen ROM vermindert sind ($p < 0,05$, Rauchen vs. Kontrolle) sind die ROM bei Einnahme von OK hochsignifikant erhöht ($p < 0,001$, OK vs. Kontrolle). Die Kombination von Rauchen und Einnahme von OK führt zu einem Mischeffekt, wobei offensichtlich der Effekt der Einnahme von OK überwiegt. In der Kombinationsgruppe sind die ROM weiter signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht ($p < 0,01$).

Tabelle 15: Parameter des oxidativen Status bei Frauen in Abhängigkeit vom Rauchverhalten und oraler Antikonzepktion. Die Daten sind als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben. Vergleich der Gruppen in einer Varianzanalyse (ANOVA).

OK: orale Antikonzepktion; ACW: antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen; LPO: Lipidhydroperoxid; ROM: reaktive Sauerstoffmetaboliten; U.Carr.: Units Carratelli.

	Rauchen + OK	Rauchen	OK	Kontrolle	p
N	33	40	65	69	
Vitamin A ($\mu\text{mol/l}$)	4,48 \pm 1,3	3,53 \pm 1,2	4,27 \pm 1,2	3,73 \pm 1,0	<0,001
Vitamin E ($\mu\text{mol/l}$)	28,5 \pm 7,9	27,8 \pm 7,7	27,6 \pm 6,7	30,4 \pm 9,2	0,19
Zink ($\mu\text{mol/l}$)	13,5 \pm 2,5	13,5 \pm 2,1	12,9 \pm 1,9	13,7 \pm 2,0	0,19
Selen ($\mu\text{mol/l}$)	0,94 \pm 0,2	0,93 \pm 0,1	1,01 \pm 0,2	1,01 \pm 0,2	0,049
ACW ($\mu\text{mol/l}$)	1,06 \pm 0,5	1,06 \pm 0,4	1,06 \pm 0,4	0,99 \pm 0,4	0,85
LPO (nmol/ml)	2,43 \pm 1,6	2,67 \pm 1,9	3,01 \pm 2,5	2,47 \pm 2,3	0,49
ROM (U.Carr.)	380 \pm 122	286 \pm 52	436 \pm 101	322 \pm 73	<0,001

5 Diskussion

5.1 Oxidativer Status bei Blutspendern

Bislang sind nur wenige Untersuchungen zum Thema des oxidativen Stresses und der antioxidativen Kapazität an Blutspendern durchgeführt worden. Als Vorbereitung für geplante Interventionsstudien zur Beeinflussung des oxidativen Stresses bei Blutspendern sollte in der vorliegenden Arbeit der oxidative Status von Blutspendern deskriptiv analysiert werden. Insbesondere sollte untersucht werden ob Blutspender bezüglich des oxidativen Status eine homogene Gruppe darstellen oder ob Subgruppen aufgrund ihrer Charakteristika gesondert betrachtet oder ausgeschlossen werden sollten.

In bisherigen Studien wurde oxidativer Stress meist über einige wenige Parameter definiert. Ziel dieser Studie war es den oxidativen/antioxidativen Status einer großen Anzahl von Blutspendern über eine Vielzahl verschiedener Parameter zu beschreiben. Es wurden folgende Parameter bestimmt: Vitamin A, Vitamin E, Zink, Selen, die antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen (ACW), Lipidhydroperoxide (LPO) und reaktive Sauerstoffmetaboliten (ROM, reactive oxygen metabolites).

Analysiert werden sollten Auswirkungen insbesondere des Geschlechts und der Lebensgewohnheiten (Rauchen, orale Antikonzeption) auf die genannten Parameter.

Die Blutspender der vorliegenden Studie zeigen im Serum deutlich erhöhte Vitamin A-Konzentrationen, etwas verminderte Selenkonzentrationen und deutlich verminderte LPO-Konzentrationen im Vergleich zu den bekannten Referenzbereichen der gesunden Normalbevölkerung. Die Vitamin E und Zinkkonzentrationen sowie die ROM der untersuchten Blutspender unterscheiden sich nicht wesentlich von der Normalbevölkerung.

Eine Studie ermittelte an 123 belgischen Blutspendern (94 Männer, 29 Frauen, 25% Raucher, 29-64 Jahre) erstmalig Referenzbereiche für Blutspender. Diese liegen für Vitamin A bei 1,5-3,62 $\mu\text{mol/l}$ (vs. 1,05-2,08 $\mu\text{mol/l}$ für die Normalbevölkerung), für Vitamin E bei 17,0-46,5 $\mu\text{mol/l}$ (vs. 12-46 $\mu\text{mol/l}$) und für Selen bei 0,66-1,26 $\mu\text{mol/l}$ (vs. 0,94-1,77 $\mu\text{mol/l}$) (Pincemail et al., 00). Die vorliegende Studie kommt zu ähnlichen Ergebnissen. Die Vitamin A-Konzentrationen der Blutspender liegen allerdings noch über denen der belgischen Studie, die Vitamin E-Konzentrationen liegen ebenfalls im Refe-

renzbereich der Normalbevölkerung und die Selenkonzentrationen sind in ähnlicher Weise vermindert wie anhand der 5. und 95. Perzentile in Tabelle 8 zu erkennen ist.

Einschränkend ist anzumerken, dass die im Ergebnisteil jeweils in den Tabellen angegebenen Referenzbereiche als Vergleichswerte für die Daten dieser Studie nur eingeschränkt verwertbar sind, da sie an anderen Populationen mit z.T. anderen Methoden gewonnen wurden.

Ebenfalls in Übereinstimmung mit den Daten der vorliegenden Studie ergab eine weitere Arbeit an 23 Blutspendern Hinweise auf eine Erhöhung der Vitamin A-Serumkonzentrationen bei Blutspendern, während die Vitamin E-Konzentrationen von der Blutspende unbeeinflusst blieben (van Jaarsveld und Pool, 02). Weitere, insbesondere größere Arbeiten zu Parametern des oxidativen Stresses bei Blutspendern sind bisher nicht verfügbar.

Gey hat Schwellenwerte für bestimmte Antioxidantien berechnet, die als protektiv für das Herzinfarkt- Krebsrisiko betrachtet werden können (Gey, 95). Dieser liegt für Vitamin A bei 2,2 $\mu\text{mol/l}$ und wird von 93,5% der in der vorliegenden Studie untersuchten Blutspender überschritten. Salonen et al. konnten zeigen, dass sich bei Blutspendern das Risiko an einem akutem Herzinfarkt zu erkranken reduziert (Salonen et al., 98). Die erhöhten Vitamin A-Konzentrationen und verminderten LPO-Konzentrationen bei Blutspendern könnten an der postulierten protektiven Wirkung der Blutspende beteiligt sein. Eine deutliche Verminderung der Ferritinkonzentration bzw. der Eisenspeicher durch die Blutspende konnte in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden. Dies steht im Gegensatz zu anderen Studien, die eine Reduktion der Eisenspeicher beschreiben und diese als protektiven Faktor in Bezug auf das kardiovaskuläre Risiko diskutieren (Salonen et al., 95; Zheng et al., 05; Milman et al., 00). Möglicherweise sind die unterschiedlichen Ergebnisse auf die Blutspendefrequenz, unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten oder eine Eisensubstitution zurückzuführen. Eine definitive Aussage zu nur geringen Änderungen der Parameter des Eisenstoffwechsels durch die Blutspende ist allerdings wegen einer fehlenden Kontrollgruppe nicht möglich.

In der Korrelationsanalyse zeigt sich, dass die einzelnen Parameter des oxidativen bzw. antioxidativen Status nur teilweise miteinander korrelieren. Der Begriff des oxidativen Stresses beinhaltet offensichtlich unterschiedliche, nicht unbedingt miteinander verbundene Komponenten, sodass unterschiedliche Formen des oxidativen Stresses möglich sind.

Aus der Korrelationsanalyse ergibt sich eine hochsignifikante Korrelation zwischen den antioxidativ wirkenden Parametern Vitamin A, Vitamin E und Selen. Das eigentlich als Globalmarker der Kapazität aller wasserlöslichen Komponenten des antioxidativen Systems angesehene Parameter ACW korreliert dagegen nur mit der Zinkkonzentration.

Das antioxidative System könnte nach dieser Analyse in zwei Bereiche eingeteilt werden:

- Vitamin A, Vitamin E, Selen
- Zink, ACW

Über die funktionelle Einheit innerhalb dieser Bereiche kann an dieser Stelle keine Aussage gemacht werden.

Der Gegensatz zwischen den Oxidantien und Antioxidantien kommt in der hochsignifikanten inversen Korrelation der beiden Globalmarker ROM und ACW zum Ausdruck.

5.2 Oxidativer Status in Abhängigkeit vom Alter

Studien über die Abhängigkeit des oxidativen Status vom Alter sind bei Blutspendern bisher nicht durchgeführt worden.

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich wie bei Nicht-Blutspendern vorbeschrieben eine positive Korrelation zwischen Vitamin E und Alter (Herbeth et al., 88; Chen et al., 77). Dies widerspricht allerdings einer ebenfalls älteren Studie, die einen Abfall der Vitamin E-Konzentration im Alter feststellte (Vatassery et al., 83).

Zwei Studien, in denen über eine positive Korrelation zwischen dem Alter und der Selenkonzentration berichtet wird, können durch die vorliegende Studie bestätigt werden (Benes et al., 05; Lopes et al., 04).

Eine beschriebene Korrelation zwischen Zink und dem Alter lässt sich in der vorliegenden Studie nicht feststellen (Hotz et al., 03; Benes et al., 05).

5.3 Oxidativer Status in Abhängigkeit vom Geschlecht

Nur wenige Studien beschäftigten sich bisher mit Geschlechtsunterschieden von Parametern des oxidativen Stresses.

In der vorliegenden Studie lässt sich für die Vitamin A- und Vitamin E-Serumkonzentrationen keine Geschlechtsabhängigkeit nachweisen.

Mehrere Studien an Nicht-Blutspendern konnten bei Männern höhere Vitamin A-Serumkonzentrationen als bei Frauen feststellen (Faure et al., 06; Palli et al., 99; Lindblad et al., 98; Aoki et al., 87). Im Rahmen der bei Blutspendern insgesamt höheren Vitamin A-Konzentrationen ist dieser Unterschied offensichtlich nicht mehr nachweisbar. Die Vitamin E-Werte unseres Spenderkollektivs sind vergleichbar mit Werten gesunder Nicht-Blutspender in anderen europäischen Ländern (Winklhofer-Roob et al., 97; Palli et al., 99).

Frauen haben in der vorliegenden Studie im Vergleich zu den männlichen Blutspendern signifikant niedrigere Zinkserumkonzentrationen, wie bereits in anderen Arbeiten für Blutspender und Nicht-Blutspender beschrieben (Galan et al., 05; Lopes et al., 04; Hotz et al., 03; Benes et al., 05). Eine positive Korrelation von Zink und dem BMI bei Frauen ist ebenfalls beschrieben worden (Benes et al., 05).

Die Selenkonzentration zeigte in der vorliegenden Arbeit keinen Unterschied zwischen den Geschlechtern. Lopes et al. konnte dagegen an 183 Blutspendern erhöhte Selen Serumwerte bei Männern feststellen (Lopes et al., 04).

Sowohl die Zinkkonzentration als auch die ACW sind bei den männlichen Blutspendern erhöht, während ROM bei den männlichen Blutspendern signifikant erniedrigt sind. Insgesamt scheinen die männlichen Blutspender damit ein günstigeres antioxidatives Profil zu besitzen. Im Gegensatz dazu haben allerdings die weiblichen Blutspender signifikant geringere LPO-Plasmakonzentrationen.

5.4 Oxidativer Status in Abhängigkeit vom Rauchverhalten

Der Einfluss des Rauchens auf die verschiedenen Parameter des oxidativen Stresses ist seit längerem von wissenschaftlichem Interesse.

5.4.1 Vitamin A und Vitamin E

Bruno et al. beschrieben einen erhöhten Vitamin- und Antioxidantienverbrauch bei Rauchern. Es konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Vitamin E bei Rauchern zu einer Reduktion der Lipidoxidation führt. Es wird postuliert, dass Raucher einen höheren Vitaminbedarf als Nichtraucher haben (Bruno und Traber, 05).

In der vorliegenden Studie finden sich bei männlichen rauchenden Blutspendern signifikant niedrigere Vitamin A-Serumkonzentrationen im Sinne eines erhöhten oxidativen Stresses.

Die INTERMAP-Studie zeigte bei Rauchern eine erniedrigte Aufnahme von Retinol sowohl bei Männern als auch bei Frauen (Dyer et al., 03; Marangon et al., 98). Ein deutlicher Abfall der Vitamin A-Serumkonzentration bei Rauchern konnte bereits in verschiedenen Studien nachgewiesen werden (Bruno und Traber, 05; Davis, 98; Miwa und Fujita, 06).

Eine Supplementation von Vitamin A hatte sich klinisch allerdings nicht als protektiv, sondern in Bezug auf die Inzidenz von Bronchialkarzinomen sogar als schädlich erwiesen (Omenn et al., 96; The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group, 94).

Warum es bei rauchenden Blutspenderinnen nicht zu einem Abfall der Vitamin A-Serumkonzentration kommt bleibt unklar.

Wie auch in der vorliegenden Studie zeigte sich in mehreren Studien (auch bei Blutspendern) eine unveränderte Vitamin E-Serumkonzentration bei Rauchern (van Jaarsveld und Pool, 02; Kelly, 02). Andere Studien wiesen dagegen einen Abfall der Vitamin E-Serumkonzentration bei Rauchern nach (Bruno und Traber, 05; Miwa und Fujita, 06). In unserer Studie zeigten sich für Raucher lediglich leicht erniedrigte Vitamin E-Serumkonzentrationen, die jedoch weit vom Signifikanzniveau entfernt waren.

Epidemiologische Studien gehen davon aus dass Raucher generell weniger Früchte und Gemüse konsumieren und dadurch unabhängig vom Zigarettenkonsum einen niedrigeren Vitaminstatus haben (Dallongeville et al., 98; Alberg, 02).

5.4.2 Zink und Selen

Ein Einfluss des Rauchens auf die Zinkserumkonzentration besteht nach unseren Ergebnissen weder bei männlichen noch bei weiblichen Blutspendern.

Dies entspricht den Ergebnissen von Studien an Blutspendern und Nicht-Blutspendern (Benes et al., 05; Kocyigit et al., 01). Nur bei sehr starken Rauchern konnte eine verminderte Zinkserumkonzentration festgestellt werden (Northrop-Clewes und Thurnham, 07).

Sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Blutspendern kann in der vorliegenden Studie ein Abfall der Selenserumkonzentration bei Rauchern festgestellt werden. Dies entspricht den Ergebnissen von Studien an Blutspendern (Benes et al., 05; Pincemail et al., 00) und Nicht-Blutspendern (Northrop-Clewes und Thurnham, 07; Galan et al., 05; Kocyigit et al., 01).

Es ist davon auszugehen, dass verschiedene Faktoren die Selenkonzentration bei Rauchern beeinflussen. Rauchen könnte durch den erhöhten oxidativen Stress über eine Aktivierung von selenabhängigen Enzymen zu einem erhöhtem Verbrauch von Selen und damit zu einer niedrigeren Selenkonzentration führen. Auch eine verminderte Zufuhr über die Nahrung bei erhöhtem Verbrauch wird diskutiert. Die Tatsache, dass Deutschland sich in einem Selenmangelgebiet befindet könnte den Selenmangel bei den Rauchern verstärken. Dies könnte auch eine Erklärung dafür sein, dass 46,8% der Studienteilnehmer einen Wert unter dem Referenzbereich für Nichtblutspender aufwiesen. Eine weitere mögliche Erklärung für erniedrigtes Selen bei Rauchern ist die Annahme, dass durch den Zigarettenrauch Cadmium in den Körper gelangt, das zur Destabilisierung von Selen führt.

5.4.3 Antioxidative Kapazität

Die antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen (ACW) ist bisher kaum als Parameter des oxidativen Stresses in Studien herangezogen worden. In der Literatur ist bisher kein Referenzbereich für ACW beschrieben.

Eine Studie beschreibt eine erniedrigte antioxidative Kapazität bei Rauchern, allerdings wurde eine andere Meßmethode verwendet (Lesgards et al., 02).

Eine weitere Studie konnte zeigen, dass ACW bei jungen Nichtrauchern höher ist als bei älteren Rauchern (Goraca und Skibska, 05). Die vorliegende Studie findet keine Abnahme der ACW bei Rauchern.

5.4.4 Lipidhydroperoxide

Die vorliegende Studie untersuchte erstmals Lipidhydroperoxide (LPO) an rauchenden Blut Spendern. Ein Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern kann nicht festgestellt werden.

Ein Anstieg der LPO ist ein Hinweis auf erhöhten oxidativen Stress, da fetthaltige Strukturen, wie Zellmembranen besonders empfindlich auf oxidativen Stress reagieren und bei Rauchern zu einer gesteigerten Lipidoxidation führen können (Kelly, 02). Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen konnten verschiedene Studien entsprechend dieser Vorstellung bei Nicht-Blut Spendern einen Anstieg der Lipidperoxidation im Plasma von Rauchern feststellen (Rumley et al., 04; Lim et al., 01; Block et al., 02). Gründe für die diskrepanten Befunde könnten neben der Blutspende an sich auch andere verwendete Meßmethoden sein.

5.4.5 Reaktive Sauerstoffmetabolite

Entgegen der theoretischen Erwartung zeigen die Raucher in der Studienpopulation signifikant niedrigere ROM-Werte als die Nichtraucher. Bei Aufteilung der Daten nach Geschlechtern zeigt sich ein gegensätzliches Verhalten bei Männern und Frauen. Während die Raucher signifikant erhöhte ROM-Werte aufweisen haben die Raucherinnen signifikant verminderte ROM-Werte im Blut.

Eine schlüssige Erklärung für diesen Befund fällt schwer. Einerseits besteht eine methodische Unsicherheit, da die Messmethode relativ neu ist und bisher nur an kleineren Kollektiven validiert wurde, sodass bisher nicht bekannte Interaktionen mit unbekanntem Faktoren möglich erscheinen. Andererseits wäre auch eine unterschiedliche Auswirkung des Rauchens auf den weiblichen Organismus denkbar. Diese Hypothese wird dadurch gestützt, dass in unserer Studienpopulation auch der Abfall des antioxidativ wirkenden Vitamin A nur bei männlichen Rauchern nachgewiesen werden konnte.

5.5 Oxidativer Status in Abhängigkeit von oraler Antikonzeption

Es ist bekannt dass Östrogene sowohl eine prooxidative als auch eine antioxidative Wirkung haben können. Diese unterschiedlichen Wirkungen sind möglicherweise konzentrationsabhängig. Es gibt Hinweise darauf, dass Östrogenmetabolite am ehesten für die prooxidative Wirkung verantwortlich sind (Nathan und Chaudhuri, 98; Gomez-Zubeldia et al., 02).

Nach Adjustierung für die Kovariaten Alter, Body Mass Index und Rauchverhalten zeigen sich erhöhte Konzentrationen von Vitamin A und ROM bei Frauen unter Einnahme von oralen Antikonzeptiva (OK). Die Konzentrationen von Vitamin E, Zink, Selen, ACW und LPO waren unter Einnahme von OK nicht signifikant verändert.

Mehrere Studien beschrieben bereits einen Anstieg des Retinols unter Einnahme von OK (Hronek und Poljakova, 04; Mooij et al., 91; Palan et al., 89). Es wird vermutet, dass die Einnahme von OK einen Abfall des Retinolbindungsprotein induziert und dadurch zum Anstieg von Retinol im Serum führt (Vahlquist et al., 79). Ein Einfluss der OK auf den Vitaminhaushalt könnte auch durch eine veränderte Aufnahme aus der Nahrung bedingt sein (Webb, 80).

Zur Frage ob die Einnahme von OK einen Einfluss auf die Vitamin E-Konzentration hat gibt es für Nicht-Blutspender unterschiedliche Angaben in der Literatur. Wie in der vorliegenden Studie wurden gleichbleibende Konzentrationen beschrieben (Gueguen et al.,

05; Wen et al., 97; Jagadeesan und Prema, 80). Dagegen berichten zwei Arbeiten von einem Abfall des Vitamin E unter der Einnahme von OK (Palan et al., 06; Hronek und Poljakova, 04).

In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen beschreiben verschiedene Studien unveränderte Zink- und Selenkonzentrationen unter Einnahme von OK (Benes et al., 05; Hotz et al., 03; Bednarek-Tupikowska et al., 06).

Auch eine unveränderte LPO-Konzentration unter Einnahme von OK wurde bereits beschrieben (Rumley et al., 04). An postmenopausalen Frauen konnte ein Abfall des LPO unter Hormonersatztherapie festgestellt werden (Bednarek-Tupikowska et al., 06). Postmenopausale Frauen waren jedoch in unsere Studie kaum eingeschlossen.

Die einzige in der vorliegenden Studie nachgewiesene Auswirkung der OK, die als Ausdruck eines erhöhten oxidativen Stresses interpretiert werden kann sind die hochsignifikant erhöhten ROM-Werte.

Orale Antikonzeptiva enthalten Östrogene und Östrogen derivative. Wie bereits erwähnt verfügen Östradiole und Östradiolstrukturen sowohl über anti- als auch prooxidative Wirkungen (Nathan und Chaudhuri, 98; Gomez-Zubeldia et al., 02). Die Hauptzwischenprodukte sind die Katecholöstrogene. Diese stellen in Anwesenheit von redoxaktiven metallischen Ionen Oxidantien dar (Nathan und Chaudhuri, 98; Hiraku et al., 01). Diese könnten eine mögliche Erklärung für erhöhte ROM-Werte unter Einnahme von OK sein.

Einschränkend ist anzumerken, dass die Frauen der Studienpopulation unterschiedliche OK einnahmen und daher die Effekte der einzelnen Komponenten nicht analysiert werden können.

5.6 Kombination von Rauchen und oraler Antikonzeption

Für viele Erkrankungen besteht für Frauen die gleichzeitig OK einnehmen und Rauchen ein erhöhtes Risiko.

Dies gilt insbesondere für Herz-Kreislauf-erkrankungen wie Hypertonus, Herzinfarkt, zerebrale Thrombembolien aber auch für das Zervixkarzinom (French et al., 02; Davis, 99; Lidegaard, 99; Lindstrom et al., 00).

Aufgrund dieser Erkenntnisse ist die Frage nach einer Potenzierung des oxidativen Stresses bei Frauen unter OK und gleichzeitigem Nikotinabusus von Interesse. Studien, die diese Fragestellung diskutieren, gibt es bisher nicht an Blutspendern.

Die Einnahme von OK führt in der Studienpopulation zu erhöhten Vitamin A-Serumkonzentrationen. Ein zusätzlicher Effekt des Rauchens oder eine Potenzierung des Effekts kann allerdings nicht nachgewiesen werden.

Biesalski et al. konnten ebenfalls einen Anstieg von Vitamin A unter OK feststellen und im Gegensatz zu unseren Ergebnissen einen weiteren Anstieg in der Kombination mit Rauchen. Die Vitamin E-Serumkonzentrationen änderte sich wie auch in der vorliegenden Studie nicht (Biesalski et al., 86). Eine andere Studie konnte dagegen keinerlei Auswirkung von OK und Rauchen auf Vitamin A und Vitamin E im Serum feststellen (Palan et al., 89).

Rauchen führt in der vorliegenden Studie zu verminderten Selenserumkonzentrationen. Ein zusätzlicher Effekt der OK kann nicht nachgewiesen werden. Der Effekt von OK und Rauchen in Kombination auf die Konzentration von Selen, Zink, ACW, LPO und ROM im Blut ist bisher nicht untersucht worden.

Während bei den Raucherinnen ROM im Serum vermindert sind, sind die ROM bei Einnahme von OK hochsignifikant erhöht. Die Kombination von Rauchen und Einnahme von OK führt zu einem Mischeffekt, wobei offensichtlich der Effekt der Einnahme von OK überwiegt. Es ist nicht bekannt ob die OK bzw. ihre Metabolite eine Interferenz für den Test darstellen.

Insgesamt können für die gemessenen Parameter keine additiven Effekte einer gleichzeitigen Einnahme von OK und Rauchen in Bezug auf oxidativen Stress festgestellt werden.

5.7 Schlussfolgerung

Mit dieser Studie werden erstmals Referenzbereiche für eine Vielzahl von Parametern des oxidativen Status für Blutspender beiderlei Geschlechts zur Verfügung gestellt. Die Blutspender verfügen insgesamt über eine relativ gute antioxidative Kapazität (Vitamin A, LPO), gleichzeitig sind einige Parameter nicht ausreichend für eine optimale antioxidative Protektion (Selen). Eine Supplementierung mit antioxidative Substanzen bei einzelnen Gruppen z.B. Selen bei Blutspendern und insbesondere bei Rauchern ist prüfenswert. Der Einfluss von Kofaktoren wie Alter, BMI, Geschlecht, Rauchen und die Einnahme von oralen Antikonzeptiva muss bei der Auswertung berücksichtigt werden. Es können keine additiven Effekte einer gleichzeitigen Einnahme von oralen Antikonzeptiva und Rauchen in Bezug auf oxidativen Stress festgestellt werden. Die relativ neue FORM-Methode zur Bestimmung von ROM sollte vor der klinischen Anwendung zunächst weiter evaluiert werden, da sich die Ergebnisse zum Teil stark von den anderen Parametern des oxidativen Stresses unterscheiden.

6 Zusammenfassung

Oxidativer Stress ist definiert als die Verschiebung des Gleichgewichts zwischen reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und Antioxidantien zugunsten der ROS. Ein Zusammenhang zwischen erhöhtem oxidativem Stress und verschiedenen Erkrankungen wird angenommen. Die Frage ob Interventionen zur Senkung des oxidativen Stresses das Mortalitätsrisiko senken ist Gegenstand der Forschung.

Blutspender stellen eine für Interventionsstudien gut geeignete Population dar. Als Vorbereitung für geplante Interventionsstudien zur Beeinflussung des oxidativen Stresses wurde der oxidative/antioxidative Status von 488 konsekutiven Blutspendern (57,6% Männer, 44,3% Raucher, mittleres Alter $32 \pm 11,7$ Jahre) aus der Blutspendeeinrichtung des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité Campus Mitte deskriptiv analysiert. Es wurden die Konzentrationen folgender Parameter in Blutproben bestimmt: Vitamin A, Vitamin E, Zink, Selen, die antioxidativen Kapazität wasserlöslicher Substanzen (ACW), Lipidhydroperoxide (LPO) und reaktive Sauerstoffmetaboliten (ROM, reactive oxygen metabolites).

Vitamin A liegt bei den untersuchten Blutspendern deutlich über dem Referenzbereich, während Selen und LPO im Vergleich zu Nicht-Blutspendern vermindert sind.

Sowohl Zink als auch ACW sind bei den männlichen im Vergleich zu den weiblichen Blutspendern erhöht, während ROM bei den männlichen Blutspendern signifikant erniedrigt ist. Insgesamt scheinen die männlichen Blutspender damit ein günstigeres antioxidatives Profil zu besitzen. Im Gegensatz dazu haben allerdings die weiblichen Blutspender signifikant geringere LPO-Konzentrationen.

Männliche rauchende Blutspendern zeigen signifikant niedrigere Vitamin A-Werte. Raucher beider Geschlechter haben verminderte Selenkonzentrationen. Entgegen der theoretischen Erwartungen haben Raucher signifikant niedrigere ROM-Werte als die Nicht-raucher. Bei Aufteilung der Daten nach Geschlechtern zeigt sich ein gegensätzliches Verhalten bei Männern und Frauen. Während ROM bei Rauchern erhöht sind, sind sie bei Raucherinnen vermindert.

Frauen unter Einnahme von oralen Antikonzeptiva haben erhöhte Konzentrationen von Vitamin A und ROM. Es können keine additiven Effekte einer gleichzeitigen Einnahme von oralen Antikonzeptiva und Rauchen in Bezug auf oxidativen Stress festgestellt werden.

In der Korrelationsanalyse zeigt sich, dass die einzelnen Parameter des oxidativen bzw. antioxidativen Status nur teilweise miteinander korrelieren. Der Begriff des oxidativen Stresses beinhaltet offensichtlich unterschiedliche, nicht unbedingt miteinander verbundene Komponenten. Eine deutliche Korrelation besteht zwischen Vitamin A, Vitamin E und Selen. Zink korreliert positiv mit Selen und ACW. Als Globalmaß der antioxidativen Kapazität ist ACW invers mit ROM als Globalmaß des oxidativen Potentials korreliert. Mit dieser Studie werden erstmals Referenzbereiche für eine Vielzahl von Parametern des oxidativen Status für Blutspender beiderlei Geschlechts zur Verfügung gestellt. Die Blutspender verfügen insgesamt über eine relativ gute antioxidative Kapazität (Vitamin A, LPO), gleichzeitig sind einige Parameter nicht ausreichend für eine optimale antioxidative Protektion (Selen). Eine Supplementierung mit antioxidative Substanzen bei einzelnen Gruppen z.B. Selen bei Blutspendern und insbesondere bei Rauchern ist prüfenswert. Der Einfluss von Kofaktoren wie Alter, BMI, Geschlecht, Rauchen und die Einnahme von oralen Antikonzeptiva muss bei der Auswertung berücksichtigt werden. Die relativ neue FORM-Methode zur Bestimmung von ROM sollte vor der klinischen Anwendung zunächst weiter evaluiert werden, da sich die Ergebnisse zum Teil stark von den anderen Parametern des oxidativen Stresses unterscheiden.

7 Literaturverzeichnis

Alberg, A. (2002): The influence of cigarette smoking on circulating concentrations of antioxidant micronutrients, *Toxicology* (Band 180), Nr. 2, Seite 121-137. URL: PM:12324189

Ames, B. N.; Shigenaga, M. K. und Hagen, T. M. (1993): Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* (Band 90), Nr. 17, Seite 7915-7922. URL: PM:8367443

Aoki, K.; Ito, Y.; Sasaki, R.; Ohtani, M.; Hamajima, N. und Asano, A. (1987): Smoking, alcohol drinking and serum carotenoids levels, *Jpn.J.Cancer Res.* (Band 78), Nr. 10, Seite 1049-1056. URL: PM:3119536

Ascherio, A.; Rimm, E. B.; Giovannucci, E.; Willett, W. C. und Stampfer, M. J. (2001): Blood donations and risk of coronary heart disease in men, *Circulation* (Band 103), Nr. 1, Seite 52-57. URL: PM:11136685

Beckett, G. J. und Arthur, J. R. (2005): Selenium and endocrine systems, *J.Endocrinol.* (Band 184), Nr. 3, Seite 455-465. URL: PM:15749805

Bednarek-Tupikowska, G.; Tworowska, U.; Jedrychowska, I.; Radomska, B.; Tupikowski, K.; Bidzinska-Speichert, B. und Milewicz, A. (2006): Effects of oestradiol and oestrogen on erythrocyte antioxidative enzyme system activity in postmenopausal women, *Clin.Endocrinol.(Oxf)* (Band 64), Nr. 4, Seite 463-468. URL: PM:16584521

Beisel, W. R. (1976): Trace element in infectious processes, *Med.Clin.North Am.* (Band 60), Nr. 4, Seite 831-849. URL: PM:775222

Benes, B.; Spevackova, V.; Smid, J.; Batariova, A.; Cejchanova, M. und Zitkova, L. (2005): Effects of age, BMI, smoking and contraception on levels of Cu, Se and Zn in the blood of the population in the Czech Republic, *Cent.Eur.J.Public Health* (Band 13), Nr. 4, Seite 202-207. URL: PM:16419386

Biesalski, H.; Greiff, H.; Brodda, K.; Hafner, G. und Bassler, K. H. (1986): Rapid determination of vitamin A (retinol) and vitamin E (alpha-tocopherol) in human serum by iso-

cratic adsorption HPLC, *Int.J.Vitam.Nutr.Res.* (Band 56), Nr. 4, Seite 319-327. URL: PM:3804606

Block, G.; Dietrich, M.; Norkus, E. P.; Morrow, J. D.; Hudes, M.; Caan, B. und Packer, L. (2002): Factors associated with oxidative stress in human populations, *Am.J.Epidemiol.* (Band 156), Nr. 3, Seite 274-285. URL: PM:12142263

Block, G.; Patterson, B. und Subar, A. (1992): Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence, *Nutr.Cancer* (Band 18), Nr. 1, Seite 1-29. URL: PM:1408943

Blomhoff, H. K.; Smeland, E. B.; Erikstein, B.; Rasmussen, A. M.; Skrede, B.; Skjonsberg, C. und Blomhoff, R. (1992): Vitamin A is a key regulator for cell growth, cytokine production, and differentiation in normal B cells, *J.Biol.Chem.* (Band 267), Nr. 33, Seite 23988-23992. URL: PM:1429735

Blot, W. J.; Li, J. Y.; Taylor, P. R.; Guo, W.; Dawsey, S.; Wang, G. Q.; Yang, C. S.; Zheng, S. F.; Gail, M. und Li, G. Y. (1993): Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population, *J.Natl.Cancer Inst.* (Band 85), Nr. 18, Seite 1483-1492. URL: PM:8360931

Boehm, M. F.; Zhang, L.; Zhi, L.; McClurg, M. R.; Berger, E.; Wagoner, M.; Mais, D. E.; Suto, C. M.; Davies, J. A. und Heyman, R. A. (1995): Design and synthesis of potent retinoid X receptor selective ligands that induce apoptosis in leukemia cells, *J.Med.Chem.* (Band 38), Nr. 16, Seite 3146-3155. URL: PM:7636877

Bray, T. M. und Bettger, W. J. (1990): The physiological role of zinc as an antioxidant, *Free Radic.Biol.Med.* (Band 8), Nr. 3, Seite 281-291. URL: PM:2187766

Bruno, R. S. und Traber, M. G. (2005): Cigarette smoke alters human vitamin E requirements, *J.Nutr.* (Band 135), Nr. 4, Seite 671-674. URL: PM:15795416

Bruno, R. S. und Traber, M. G. (2006): Vitamin E biokinetics, oxidative stress and cigarette smoking, *Pathophysiology.* (Band 13), Nr. 3, Seite 143-149. URL: PM:16814530

Burns, E. R.; Goldberg, S. N.; Lawrence, C. und Wenz, B. (1990): Clinical utility of serum tests for iron deficiency in hospitalized patients, *Am.J.Clin.Pathol.* (Band 93), Nr. 2, Seite 240-245. URL: PM:2242107

Burton, G. W. und Traber, M. G. (1990): Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability, *Annu.Rev.Nutr.* (Band 10), Seite 357-382. URL: PM:2200468

Byers, T. und Perry, G. (1992): Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers, *Annu.Rev.Nutr.* (Band 12), Seite 139-159. URL: PM:1503801

Cao, G.; Alessio, H. M. und Cutler, R. G. (1993): Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants, *Free Radic.Biol.Med.* (Band 14), Nr. 3, Seite 303-311. URL: PM:8458588

Cao, G. und Prior, R. L. (1998): Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum, *Clin.Chem.* (Band 44), Nr. 6 Pt 1, Seite 1309-1315. URL: PM:9625058

Cesarone, M. R.; Belcaro, G.; Carratelli, M.; Cornelli, U.; De Sanctis, M. T.; Incandela, L.; Barsotti, A.; Terranova, R. und Nicolaidis, A. (1999): A simple test to monitor oxidative stress, *Int.Angiol.* (Band 18), Nr. 2, Seite 127-130. URL: PM:10424368

Chen, L. H.; Hsu, S. J.; Huang, C. und Chen, J. S. (1977): Vitamin E status of Chinese population in Taiwan, *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 30), Nr. 5, Seite 728-735. URL: PM:857643

Chew, B. P. und Park, J. S. (2004): Carotenoid action on the immune response, *J.Nutr.* (Band 134), Nr. 1, Seite 257S-261S. URL: PM:14704330

Ciavatti, M. und Renaud, S. (1991): Oxidative status and oral contraceptive. Its relevance to platelet abnormalities and cardiovascular risk, *Free Radic.Biol.Med.* (Band 10), Nr. 5, Seite 325-338. URL: PM:1855673

Coleman, J. E. (1992): Zinc proteins: enzymes, storage proteins, transcription factors, and replication proteins, *Annu.Rev.Biochem.* (Band 61), Seite 897-946. URL: PM:1497326

- Cross, C. E.; Traber, M.; Eiserich, J. und van, der, V (1999): Micronutrient antioxidants and smoking, *Br.Med.Bull.* (Band 55), Nr. 3, Seite 691-704. URL: PM:10746357
- Da Vela, G und Casini, M. (1995): Dalla ricerca teorica alla pratica quotidiana: i radicali liberi in alcune situazioni patologiche, utilità, limiti e prospettive., *Etruria Medica*, Seite 2-2.
- Dallongeville, J.; Marecaux, N.; Fruchart, J. C. und Amouyel, P. (1998): Cigarette smoking is associated with unhealthy patterns of nutrient intake: a meta-analysis, *J.Nutr.* (Band 128), Nr. 9, Seite 1450-1457. URL: PM:9732304
- Das, I. (1985): Raised C-reactive protein levels in serum from smokers, *Clin.Chim.Acta* (Band 153), Nr. 1, Seite 9-13. URL: PM:2416495
- Davis, C. (1998): Smoking cessation interventions improved the 12-month smoking cessation rate among patients undergoing non-cardiac surgery, *Evid.Based.Cardiovasc.Med.* (Band 2), Nr. 1, Seite 19. URL: PM:16379783
- Davis, M. C. (1999): Oral contraceptive use and hemodynamic, lipid, and fibrinogen responses to smoking and stress in women, *Health Psychol.* (Band 18), Nr. 2, Seite 122-130. URL: PM:10194047
- Diplock, A. T. (1991): Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview, *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 53), Nr. 1 Suppl, Seite 189S-193S. URL: PM:1985386
- Dyer, A. R.; Elliott, P.; Stamler, J.; Chan, Q.; Ueshima, H. und Zhou, B. F. (2003): Dietary intake in male and female smokers, ex-smokers, and never smokers: the INTERMAP study, *J.Hum.Hypertens.* (Band 17), Nr. 9, Seite 641-654. URL: PM:13679954
- Faure, H.; Preziosi, P.; Roussel, A. M.; Bertrais, S.; Galan, P.; Hercberg, S. und Favier, A. (2006): Factors influencing blood concentration of retinol, alpha-tocopherol, vitamin C, and beta-carotene in the French participants of the SU.VI.MAX trial, *Eur.J.Clin.Nutr.* (Band 60), Nr. 6, Seite 706-717. URL: PM:16391586
- French, D. P.; Gayton, E. L.; Burton, J.; Thorogood, M. und Marteau, T. M. (2002): Measuring perceptions of synergistic circulatory disease risk due to smoking and the

oral contraceptive pill, *Risk Anal.* (Band 22), Nr. 6, Seite 1139-1151. URL: PM:12530784

Galan, P.; Viteri, F. E.; Bertrais, S.; Czernichow, S.; Faure, H.; Arnaud, J.; Ruffieux, D.; Chenal, S.; Arnault, N.; Favier, A.; Roussel, A. M. und Hercberg, S. (2005): Serum concentrations of beta-carotene, vitamins C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population, *Eur.J.Clin.Nutr.* (Band 59), Nr. 10, Seite 1181-1190. URL: PM:16034362

Gey, K. F. (1995): Cardiovascular disease and vitamins. Concurrent correction of 'suboptimal' plasma antioxidant levels may, as important part of 'optimal' nutrition, help to prevent early stages of cardiovascular disease and cancer, respectively, *Bibl.Nutr.Dieta*, Nr. 52, Seite 75-91. URL: PM:8779654

Ghiselli, A.; Serafini, M. und Ferro-Luzzi, A. (1994): New approaches for measuring plasma or serum antioxidant capacity: a methodological note, *Free Radic.Biol.Med.* (Band 16), Nr. 1, Seite 135-137. URL: PM:8299989

Gille, J. J. und Joenje, H. (1992): Cell culture models for oxidative stress: superoxide and hydrogen peroxide versus normobaric hyperoxia, *Mutat.Res.* (Band 275), Nr. 3-6, Seite 405-414. URL: PM:1383781

Giovannangelo, O. und Carlo, C. (2001): Oxidative status of plasma and muscle in rabbits supplemented with dietary vitamin E., *J.Nutr.Biochem.* (Band 12), Seite 138-143.

GISSI (1999): Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico, *Lancet* (Band 354), Nr. 9177, Seite 447-455. URL: PM:10465168

Glazer, A. N. (1990): Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species, *Methods Enzymol.* (Band 186), Seite 161-168. URL: PM:2233292

Gomez-Zubeldia, M. A.; Corrales, S.; Arbues, J.; Nogales, A. G. und Millan, J. C. (2002): Influence of estradiol and gestagens on oxidative stress in the rat uterus, *Gynecol.Oncol.* (Band 86), Nr. 3, Seite 250-258. URL: PM:12217744

Goraca, A. und Skibska, B. (2005): Plasma antioxidant status in healthy smoking and non-smoking men, Bratisl.Lek.Listy (Band 106), Nr. 10, Seite 301-306. URL: PM:16541609

Gueguen, S.; Leroy, P.; Gueguen, R.; Siest, G.; Visvikis, S. und Herbeth, B. (2005): Genetic and environmental contributions to serum retinol and alpha-tocopherol concentrations: the Stanislas Family Study, Am.J.Clin.Nutr. (Band 81), Nr. 5, Seite 1034-1044. URL: PM:15883426

Halliwell, B. (1994): Free radicals and antioxidants: a personal view, Nutr.Rev. (Band 52), Nr. 8 Pt 1, Seite 253-265. URL: PM:7970288

Halliwell, B. (2000): The antioxidant paradox, Lancet (Band 355), Nr. 9210, Seite 1179-1180. URL: PM:10791396

Halliwell, B. und Gutteridge, J. M. (1986): Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts, Arch.Biochem.Biophys. (Band 246), Nr. 2, Seite 501-514. URL: PM:3010861

Halliwell, B. und Gutteridge, J. M. (1990): The antioxidants of human extracellular fluids, Arch.Biochem.Biophys. (Band 280), Nr. 1, Seite 1-8. URL: PM:2191627

Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. und Cross, C. E. (1992): Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?, J.Lab Clin.Med. (Band 119), Nr. 6, Seite 598-620. URL: PM:1593209

Helmerson, J.; Arnlov, J.; Vessby, B.; Larsson, A.; Alfthan, G. und Basu, S. (2005): Serum selenium predicts levels of F2-isoprostanes and prostaglandin F2alpha in a 27 year follow-up study of Swedish men, Free Radic.Res. (Band 39), Nr. 7, Seite 763-770. URL: PM:16036356

Hennekens, C. H.; Buring, J. E.; Manson, J. E.; Stampfer, M.; Rosner, B.; Cook, N. R.; Belanger, C.; LaMotte, F.; Gaziano, J. M.; Ridker, P. M.; Willett, W. und Peto, R. (1996): Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease, N.Engl.J.Med. (Band 334), Nr. 18, Seite 1145-1149. URL: PM:8602179

Herbeth, B.; Didelot-Barthelemy, L.; Le Devehat, C. und Lemoine, A. (1988): [Plasma retinol, carotenoids and tocopherols: biological variations between 18 and 45 years of age], *Ann.Nutr.Metab* (Band 32), Nr. 5-6, Seite 297-304. URL: PM:3254686

Hiraku, Y.; Yamashita, N.; Nishiguchi, M. und Kawanishi, S. (2001): Catechol estrogens induce oxidative DNA damage and estradiol enhances cell proliferation, *Int.J.Cancer* (Band 92), Nr. 3, Seite 333-337. URL: PM:11291067

Hotz, C.; Peerson, J. M. und Brown, K. H. (2003): Suggested lower cutoffs of serum zinc concentrations for assessing zinc status: reanalysis of the second National Health and Nutrition Examination Survey data (1976-1980), *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 78), Nr. 4, Seite 756-764. URL: PM:14522734

Hronek, M. und Poljakova, G. (2004): [Effect of hormonal contraception on levels of vitamins in the body], *Ceska.Gynekol.* (Band 69), Nr. 5, Seite 397-401. URL: PM:15587897

Jagadeesan, V. und Prema, K. (1980): Plasma tocopherol and lipid levels in pregnancy and oral contraceptive users, *Br.J.Obstet.Gynaecol.* (Band 87), Nr. 10, Seite 903-907. URL: PM:7426489

Junod, A. F. (1989): Oxygen free radicals and lungs, *Intensive Care Med.* (Band 15 Suppl 1), Seite S21-S23. URL: PM:2723243

Kelly, G. S. (2002): The interaction of cigarette smoking and antioxidants. Part 2: alpha-tocopherol, *Altern.Med.Rev.* (Band 7), Nr. 6, Seite 500-511. URL: PM:12495374

Kocyigit, A.; Erel, O. und Gur, S. (2001): Effects of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper and iron concentrations and related antioxidative enzyme activities, *Clin.Biochem.* (Band 34), Nr. 8, Seite 629-633. URL: PM:11849622

Kode, A.; Yang, S. R. und Rahman, I. (2006): Differential effects of cigarette smoke on oxidative stress and proinflammatory cytokine release in primary human airway epithelial cells and in a variety of transformed alveolar epithelial cells, *Respir.Res.* (Band 7), Seite 132. URL: PM:17062156

- Kohlmeier, L. und Hastings, S. B. (1995): Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention, *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 62), Nr. 6 Suppl, Seite 1370S-1376S. URL: PM:7495233
- Kok, F. J.; Van Duijn, C. M.; Hofman, A.; Van der Voet, G. B.; De Wolff, F. A.; Paays, C. H. und Valkenburg, H. A. (1988): Serum copper and zinc and the risk of death from cancer and cardiovascular disease, *Am.J.Epidemiol.* (Band 128), Nr. 2, Seite 352-359. URL: PM:3394701
- Lesgards, J. F.; Durand, P.; Lassarre, M.; Stocker, P.; Lesgards, G.; Lanteaume, A.; Prost, M. und Lehucher-Michel, M. P. (2002): Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects, *Environ.Health Perspect.* (Band 110), Nr. 5, Seite 479-486. URL: PM:12003751
- Lidegaard, O. (1999): Smoking and use of oral contraceptives: impact on thrombotic diseases, *Am.J.Obstet.Gynecol.* (Band 180), Nr. 6 Pt 2, Seite S357-S363. URL: PM:10368521
- Lim, P. S.; Wang, N. P.; Lu, T. C.; Wang, T. H.; Hsu, W. M.; Chan, E. C.; Hung, W. R.; Yang, C. C.; Kuo, I. F. und Wei, Y. H. (2001): Evidence for alterations in circulating low-molecular-weight antioxidants and increased lipid peroxidation in smokers on hemodialysis, *Nephron* (Band 88), Nr. 2, Seite 127-133. URL: PM:11399914
- Lindblad, B. S.; Patel, M.; Hamadeh, M.; Helmy, N.; Ahmad, I.; Dawodu, A. und Zaman, S. (1998): Age and sex are important factors in determining normal retinol levels, *J.Trop.Pediatr.* (Band 44), Nr. 2, Seite 96-99. URL: PM:9604598
- Lindstrom, A.; Backstrom, T.; Hellberg, D.; Tribukait, B.; Strang, P. und Stendahl, U. (2000): Correlations between serum progesterone and smoking, and the growth fraction of cervical squamous cell carcinoma, *Anticancer Res.* (Band 20), Nr. 5C, Seite 3637-3640. URL: PM:11268431
- Liuzzi, J. P.; Lichten, L. A.; Rivera, S.; Blanchard, R. K.; Aydemir, T. B.; Knutson, M. D.; Ganz, T. und Cousins, R. J. (2005): Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* (Band 102), Nr. 19, Seite 6843-6848. URL: PM:15863613

- Lopes, P. A.; Santos, M. C.; Vicente, L.; Rodrigues, M. O.; Pavao, M. L.; Neve, J. und Viegas-Crespo, A. M. (2004): Trace element status (Se, Cu, Zn) in healthy Portuguese subjects of Lisbon population: a reference study, *Biol.Trace Elem.Res.* (Band 101), Nr. 1, Seite 1-17. URL: PM:15516699
- Marangon, K.; Herbeth, B.; Lecomte, E.; Paul-Dauphin, A.; Grolier, P.; Chancerelle, Y.; Artur, Y. und Siest, G. (1998): Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men, *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 67), Nr. 2, Seite 231-239. URL: PM:9459370
- Marchioli, R. (1999): [Results of GISSI Prevenzione: diet, drugs, and cardiovascular risk. Researchers of GISSI Prevenzione], *Cardiologia* (Band 44 Suppl 1), Nr. Pt 2, Seite 745-746. URL: PM:12503535
- Marklund, S. L. (1982): Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* (Band 79), Nr. 24, Seite 7634-7638. URL: PM:6961438
- Meydani, S. N.; Wu, D.; Santos, M. S. und Hayek, M. G. (1995): Antioxidants and immune response in aged persons: overview of present evidence, *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 62), Nr. 6 Suppl, Seite 1462S-1476S. URL: PM:7495247
- Meyers, D. G.; Strickland, D.; Maloley, P. A.; Seburg, J. K.; Wilson, J. E. und McManus, B. F. (1997): Possible association of a reduction in cardiovascular events with blood donation, *Heart* (Band 78), Nr. 2, Seite 188-193. URL: PM:9326996
- Miller, N. J.; Rice-Evans, C.; Davies, M. J.; Gopinathan, V. und Milner, A. (1993): A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, *Clin.Sci.(Lond)* (Band 84), Nr. 4, Seite 407-412. URL: PM:8482045
- Milman, N.; Byg, K. E. und Ovesen, L. (2000): Iron status in Danes 1994. II: Prevalence of iron deficiency and iron overload in 1319 Danish women aged 40-70 years. Influence of blood donation, alcohol intake and iron supplementation, *Ann.Hematol.* (Band 79), Nr. 11, Seite 612-621. URL: PM:11131920

Miwa, K. und Fujita, M. (2006): [Sex difference in effects of smoking on serum vitamin E concentrations in a young population], *J.Cardiol.* (Band 48), Nr. 4, Seite 201-207. URL: PM:17066623

Mooij, P. N.; Thomas, C. M.; Doesburg, W. H. und Eskes, T. K. (1991): Multivitamin supplementation in oral contraceptive users, *Contraception* (Band 44), Nr. 3, Seite 277-288. URL: PM:1764944

Nathan, L. und Chaudhuri, G. (1998): Antioxidant and prooxidant actions of estrogens: potential physiological and clinical implications, *Semin.Reprod.Endocrinol.* (Band 16), Nr. 4, Seite 309-314. URL: PM:10101811

Northrop-Clewes, C. A. und Thurnham, D. I. (2007): Monitoring micronutrients in cigarette smokers, *Clin.Chim.Acta* (Band 377), Nr. 1-2, Seite 14-38. URL: PM:17045981

Olson, J. A. (1984): Serum levels of vitamin A and carotenoids as reflectors of nutritional status, *J.Natl.Cancer Inst.* (Band 73), Nr. 6, Seite 1439-1444. URL: PM:6439934

Omenn, G. S.; Goodman, G. E.; Thornquist, M. D.; Balmes, J.; Cullen, M. R.; Glass, A.; Keogh, J. P.; Meyskens, F. L.; Valanis, B.; Williams, J. H.; Barnhart, S. und Hammar, S. (1996): Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease, *N.Engl.J.Med.* (Band 334), Nr. 18, Seite 1150-1155. URL: PM:8602180

Ortega, R. M.; Lopez-Sobaler, A. M.; Gonzalez-Gross, M. M.; Redondo, R. M.; Marzana, I.; Zamora, M. J. und Andres, P. (1994): Influence of smoking on folate intake and blood folate concentrations in a group of elderly Spanish men, *J.Am.Coll.Nutr.* (Band 13), Nr. 1, Seite 68-72. URL: PM:8157858

Palan, P. R.; Magneson, A. T.; Castillo, M.; Dunne, J. und Mikhail, M. S. (2006): Effects of menstrual cycle and oral contraceptive use on serum levels of lipid-soluble antioxidants, *Am.J.Obstet.Gynecol.* (Band 194), Nr. 5, Seite e35-e38. URL: PM:16647895

Palan, P. R.; Romney, S. L.; Vermund, S. H.; Mikhail, M. G. und Basu, J. (1989): Effects of smoking and oral contraception on plasma beta-carotene levels in healthy women, *Am.J.Obstet.Gynecol.* (Band 161), Nr. 4, Seite 881-885. URL: PM:2801833

Palli, D.; Decarli, A.; Russo, A.; Cipriani, F.; Giacosa, A.; Amadori, D.; Salkeld, R.; Salvini, S. und Buiatti, E. (1999): Plasma levels of antioxidant vitamins and cholesterol in a large population sample in central-northern Italy, *Eur.J.Nutr.* (Band 38), Nr. 2, Seite 90-98. URL: PM:10352948

Pincemail, J.; Siquet, J.; Chapelle, J. P.; Cheramy-Bien, J. P.; Paulissen, G.; Chantillon, A. M.; Christiaens, G.; Gielen, J.; Limet, R. und Defraigne, J. O. (2000): [Determination of plasma concentrations of antioxidants, antibodies against oxidized LDL, and homocysteine in a population sample from Liege], *Ann.Biol.Clin.(Paris)* (Band 58), Nr. 2, Seite 177-185. URL: PM:10760704

Popov, I. und Lewin, G. (1999): Antioxidative homeostasis: characterization by means of chemiluminescent technique, *Methods Enzymol.* (Band 300), Seite 437-456. URL: PM:9919545

Popov, I. N. und Lewin, G. (1994): Photochemiluminescent detection of antiradical activity: II. Testing of nonenzymic water-soluble antioxidants, *Free Radic.Biol.Med.* (Band 17), Nr. 3, Seite 267-271. URL: PM:7982631

Prasad, A. S. und Kucuk, O. (2002): Zinc in cancer prevention, *Cancer Metastasis Rev.* (Band 21), Nr. 3-4, Seite 291-295. URL: PM:12549767

Pryor, W. A. und Stone, K. (1993): Oxidants in cigarette smoke. Radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite, *Ann.N.Y.Acad.Sci.* (Band 686), Seite 12-27. URL: PM:8512242

Quinlan, G. J.; Evans, T. W. und Gutteridge, J. M. (2002): Iron and the redox status of the lungs, *Free Radic.Biol.Med.* (Band 33), Nr. 10, Seite 1306-1313. URL: PM:12419462

Rink, L. und Gabriel, P. (2001): Extracellular and immunological actions of zinc, *Bio-metals* (Band 14), Nr. 3-4, Seite 367-383. URL: PM:11831466

Rostan, E. F.; DeBuys, H. V.; Madey, D. L. und Pinnell, S. R. (2002): Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin, *Int.J.Dermatol.* (Band 41), Nr. 9, Seite 606-611. URL: PM:12358835

Rumley, A. G.; Woodward, M.; Rumley, A.; Rumley, J. und Lowe, G. D. (2004): Plasma lipid peroxides: relationships to cardiovascular risk factors and prevalent cardiovascular disease, *QJM*. (Band 97), Nr. 12, Seite 809-816. URL: PM:15569813

Salonen, J. T.; Korpela, H.; Nyyssonen, K.; Porkkala, E.; Tuomainen, T. P.; Belcher, J. D.; Jacobs, D. R., Jr. und Salonen, R. (1995): Lowering of body iron stores by blood letting and oxidation resistance of serum lipoproteins: a randomized cross-over trial in male smokers, *J.Intern.Med.* (Band 237), Nr. 2, Seite 161-168. URL: PM:7852918

Salonen, J. T.; Nyyssonen, K.; Korpela, H.; Tuomilehto, J.; Seppanen, R. und Salonen, R. (1992): High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men, *Circulation* (Band 86), Nr. 3, Seite 803-811. URL: PM:1516192

Salonen, J. T.; Nyyssonen, K. und Salonen, R. (1994): Body iron stores and the risk of coronary heart disease, *N.Engl.J.Med.* (Band 331), Nr. 17, Seite 1159. URL: PM:7935647

Salonen, J. T.; Salonen, R.; Lappetelainen, R.; Maenpaa, P. H.; Alfthan, G. und Puska, P. (1985): Risk of cancer in relation to serum concentrations of selenium and vitamins A and E: matched case-control analysis of prospective data, *Br.Med.J.(Clin.Res.Ed)* (Band 290), Nr. 6466, Seite 417-420. URL: PM:3918611

Salonen, J. T.; Tuomainen, T. P.; Salonen, R.; Lakka, T. A. und Nyyssonen, K. (1998): Donation of blood is associated with reduced risk of myocardial infarction. The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study, *Am.J.Epidemiol.* (Band 148), Nr. 5, Seite 445-451. URL: PM:9737556

Sanders, K. A.; Huecksteadt, T.; Xu, P.; Sturrock, A. B. und Hoidal, J. R. (1999): Regulation of oxidant production in acute lung injury, *Chest* (Band 116), Nr. 1 Suppl, Seite 56S-61S. URL: PM:10424593

Schrauzer, G. N. (2000): Anticarcinogenic effects of selenium, *Cell Mol.Life Sci.* (Band 57), Nr. 13-14, Seite 1864-1873. URL: PM:11215513

Schwabe, J. W. und Rhodes, D. (1991): Beyond zinc fingers: steroid hormone receptors have a novel structural motif for DNA recognition, *Trends Biochem.Sci.* (Band 16), Nr. 8, Seite 291-296. URL: PM:1957350

Shaish, A.; Daugherty, A.; O'Sullivan, F.; Schonfeld, G. und Heinecke, J. W. (1995): Beta-carotene inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits, *J.Clin.Invest* (Band 96), Nr. 4, Seite 2075-2082. URL: PM:7560102

Sher, M. E.; Bank, S.; Greenberg, R.; Sardinha, T. C.; Weissman, S.; Bailey, B.; Gilliland, R. und Wexner, S. D. (1999): The influence of cigarette smoking on cytokine levels in patients with inflammatory bowel disease, *Inflamm.Bowel.Dis.* (Band 5), Nr. 2, Seite 73-78. URL: PM:10338374

Sies, H. (1991): Oxidative stress: from basic research to clinical application, *Am.J.Med.* (Band 91), Nr. 3C, Seite 31S-38S. URL: PM:1928209

Sies, H. (1993): Strategies of antioxidant defense, *Eur.J.Biochem.* (Band 215), Nr. 2, Seite 213-219. URL: PM:7688300

Sies, H. und Stahl, W. (1995): Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants, *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 62), Nr. 6 Suppl, Seite 1315S-1321S. URL: PM:7495226

Sporn, M. B. und Roberts, A. B. (1985): What is a retinoid?, *Ciba Found.Symp.* (Band 113), Seite 1-5. URL: PM:3896696

Stephens, N. G.; Parsons, A.; Schofield, P. M.; Kelly, F.; Cheeseman, K. und Mitchinson, M. J. (1996): Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS), *Lancet* (Band 347), Nr. 9004, Seite 781-786. URL: PM:8622332

Subar, A. F.; Harlan, L. C. und Mattson, M. E. (1990): Food and nutrient intake differences between smokers and non-smokers in the US, *Am.J.Public Health* (Band 80), Nr. 11, Seite 1323-1329. URL: PM:2240298

Sullivan, J. L. (1981): Iron and the sex difference in heart disease risk, *Lancet* (Band 1), Nr. 8233, Seite 1293-1294. URL: PM:6112609

Szebeni, J.; Eskelson, C. D. und Chvapil, M. (1988): The effect of zinc on iron-induced lipid peroxidation in different lipid systems including liposomes and micelles, *Physiol Chem.Phys.Med.NMR* (Band 20), Nr. 3, Seite 205-211. URL: PM:3244801

Tateishi, T.; Yoshimine, N. und Kuzuya, F. (1987): Serum lipid peroxide assayed by a new colorimetric method, *Exp.Gerontol.* (Band 22), Nr. 2, Seite 103-111. URL: PM:3622650

The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group (1994): The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group, *N.Engl.J.Med.* (Band 330), Nr. 15, Seite 1029-1035. URL: PM:8127329

Vahlquist, A.; Johnsson, A. und Nygren, K. G. (1979): Vitamin A transporting plasma proteins and female sex hormones, *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 32), Nr. 7, Seite 1433-1438. URL: PM:572133

Vallee, B. L. und Falchuk, K. H. (1993): The biochemical basis of zinc physiology, *Physiol Rev.* (Band 73), Nr. 1, Seite 79-118. URL: PM:8419966

van Jaarsveld, H. und Pool, G. F. (2002): Beneficial effects of blood donation on high density lipoprotein concentration and the oxidative potential of low density lipoprotein, *Atherosclerosis* (Band 161), Nr. 2, Seite 395-402. URL: PM:11888523

Vatassery, G. T.; Johnson, G. J. und Krezowski, A. M. (1983): Changes in vitamin E concentrations in human plasma and platelets with age, *J.Am.Coll.Nutr.* (Band 2), Nr. 4, Seite 369-375. URL: PM:6655161

Webb, J. L. (1980): Nutritional effects of oral contraceptive use: a review, *J.Reprod.Med.* (Band 25), Nr. 4, Seite 150-156. URL: PM:7001015

Weinmann, A. R.; Oliveira, M. S.; Jorge, S. M. und Martins, A. R. (1999): Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of retinol by fluorometry and of tocopherol by ultraviolet absorbance in the serum of newborns, *J.Chromatogr.B Bio-med.Sci.Appl.* (Band 729), Nr. 1-2, Seite 231-236. URL: PM:10410947

Wen, Y.; Doyle, M. C.; Harrison, R. F. und Feely, J. (1997): The effect of hormone replacement therapy on vitamin E status in postmenopausal women, *Maturitas* (Band 26), Nr. 2, Seite 121-124. URL: PM:9089561

Winklhofer-Roob, B. M.; van't Hof, M. A. und Shmerling, D. H. (1997): Reference values for plasma concentrations of vitamin E and A and carotenoids in a Swiss population from infancy to adulthood, adjusted for seasonal influences, *Clin.Chem.* (Band 43), Nr. 1, Seite 146-153. URL: PM:8990237

Yeung, D. L. und Chan, P. L. (1975): Effects of a progestogen and a sequential type oral contraceptive on plasma vitamin A, vitamin E, cholesterol and triglycerides, *Am.J.Clin.Nutr.* (Band 28), Nr. 7, Seite 686-691. URL: PM:1146718

Yu, R. A.; Xia, T.; Wang, A. G. und Chen, X. M. (2006): Effects of selenium and zinc on renal oxidative stress and apoptosis induced by fluoride in rats, *Biomed.Environ.Sci.* (Band 19), Nr. 6, Seite 439-444. URL: PM:17319268

Zheng, H.; Cable, R.; Spencer, B.; Votto, N. und Katz, S. D. (2005): Iron stores and vascular function in voluntary blood donors, *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* (Band 25), Nr. 8, Seite 1577-1583. URL: PM:15961703

8 Abkürzungsverzeichnis

ACW	Antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen
ANCOVA	<i>analysis of covariance</i> (Kovarianzanalyse)
ANOVA	<i>analysis of variance</i> (Varianzanalyse)
BMI	<i>body mass index</i>
g	Fallbeschleunigung
LPO	Lipidhydroperoxid
NO	<i>nitric oxide</i> (Stickstoffmonoxid)
OK	orale Antikonzeption
PUFA	<i>polyunsaturated fatty acid</i> (mehrfach ungesättigte Fettsäure)
ROM	<i>reactive oxygen metabolites</i> (reaktiven Sauerstoffmetaboliten)
ROS	<i>reactive oxygen species</i> (reaktive Sauerstoffspezies)
SD	<i>standard deviation</i> (Standardabweichung)
sTfR	löslicher Transferrinrezeptor
U.Carr.	Units Carratelli (entspricht 0,024 mmol H ₂ O ₂ /l)
vs.	versus

9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Lebensgefährten Dr. Thiemo Pfab, der mich stets bei dieser Arbeit unterstützte, motivierte und mich familiär entlastete. Ohne ihn wäre diese Arbeit nie zustande gekommen.

Weiterhin möchte ich meiner verstorbenen Großmutter danken, ohne die mein Medizinstudium nicht möglich gewesen wäre. Auch meiner Mutter einen großen Dank, die immer an mich geglaubt hat und mich motivierte weiter zu machen.

Ferner vielen Dank an alle Familienmitglieder, die unseren Sohn Adrian liebevoll betreut haben während ich diese Arbeit schrieb.

Auch an Markus Schell und Dr. Stefan Fricke einen besonderen Dank für die moralische und finanzielle Unterstützung während des Studiums.

Mein herzlicher Dank gebührt Herrn Dr. Grigorov für die Überlassung des Themas sowie die gute Betreuung.

Vielen Dank auch an alle Mitarbeiter der Blutspende von Prof. Kiesewetter (Charité Mitte) die mich bei dieser Arbeit unterstützten.

10 Erklärung an Eides Statt

Ich, Jessica Schelle, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Parameter des oxidativen Stresses bei Blutspendern“ 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.

11 Lebenslauf

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