

Aus dem Institut für Experimentelle und Klinische
Pharmakologie und Toxikologie
des Zentrums für Experimentelle Medizin
des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. Thomas Eschenhagen

**Beobachtungsstudie zum Einfluss
verschiedener Fast Food Menüs auf
kardiovaskuläre Risikoparameter**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg vorgelegt von

Kaike Janna Schorsch

aus Leer

Hamburg 2010

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 22.11.2010

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. med. R. Böger

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter: Prof. Dr. med. F.-U. Beil

Prüfungsausschuss, 3. Gutachter: Prof. Dr. med. S. Baldus

1. Arbeitshypothese und Fragestellung	3
2. Einleitung	4
2.1. Ernährung und Koronare Herzkrankheit.....	4
2.2. Endothelabhängige Vasodilatation der Arteria brachialis.....	7
2.3. Asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA)	9
2.4. Thrombozytenaggregation	10
2.5. 8-Isoprostaglandin F _{2α}	12
3. Material und Methoden	14
3.1. Studiendesign	14
3.2. Probanden	14
3.2.1. Ein- und Ausschlusskriterien.....	14
3.2.2. Risiken	14
3.3. Fast-Food-Menüs.....	15
3.4. Studienablauf	16
3.5. Probengewinnung und Aufbewahrung	17
3.6. Analysenmethoden	17
3.6.1. Die Messung der Endothelfunktion der Arteria brachialis.....	17
3.6.2. Auswertung der Daten zur Endothelfunktion.....	19
3.6.3. Bestimmung der Thrombozytenaggregation	22
3.6.4. Bestimmung von ADMA, SDMA und L-Arginin im Plasma.....	23
3.6.5. Bestimmung von 8-Isoprostaglandin F _{2α} im Urin	26
3.6.6. Laborparameter	27
3.7. Statistik	28
4. Ergebnisse	30
4.1. Demographische Variablen.....	30
4.2. Endothelfunktion	30
4.3. Thrombozytenaggregation	32
4.4. Oxidativer Stress.....	33
4.5. Serumlipide	34
4.6. Entzündungszellen.....	35
4.7. Glucose und hochsensitives CRP	37
4.8. Hämodynamische Parameter.....	37
4.9. Korrelationsanalyse.....	38
5. Diskussion	39

6. Zusammenfassung	47
7. Literaturverzeichnis	48
8. Danksagung	55
9. Lebenslauf	56
10. Anhang	57
10.1. Verbrauchsmaterial/Geräte	57
10.2. Computerprogramme	58
10.3. Chemikalien	58
10.4. Abkürzungen.....	59
10.5. Veröffentlichte wissenschaftliche Arbeit.....	59

1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Der Konsum von Schnellgerichten hat in den letzten Jahrzehnten drastisch zugenommen. Mit der Annahme, übermäßiger Fast Food Konsum wirke sich negativ auf die Gesundheit bzw. vornehmlich auf das kardiovaskuläre Risikoprofil aus, werden in zunehmenden Maße gesündere Alternativen angeboten. So wurden in den vergangenen Jahren von vielen Fast Food Ketten vegetarische Gerichte und vitaminreichere Produkte wie Salate und Fruchtgetränke angeboten.

Es liegen bisher jedoch keine Daten darüber vor, ob diese als gesünder angepriesenen Alternativen sich tatsächlich positiver auf das kardiovaskuläre System auswirken. Aus diesem Grund wählten wir drei verschiedene Menüs der weltweit am weitesten verbreiteten Fast Food Kette „McDonalds“ aus und untersuchten ihre Wirkung auf Endothelfunktion, Thrombozytenaggregation und weitere kardiovaskuläre Risikoparameter. Im Mittelpunkt der „Hamburger Burger Studie“ standen folgende Fragestellungen:

- Bestehen Unterschiede in den akuten Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System nach Einnahme eines Fast Food Menüs mit einem gewöhnlichen Fleisch- bzw. vegetarischen Burger?
- Hat die zusätzliche Einnahme von vitaminreichen Nahrungsmitteln Einfluss auf die kardiovaskulären Risikofaktoren?

Als Zielparameter der „Hamburger Burger Studie“ wählten wir die Folgenden:

- Endothelfunktion
- Thrombozytenaggregation
- ADMA/ L-Arginin
- 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$
- Laborparameter: u. a. hoch-sensitives CRP, Cholesterin, Triglyceride, Glucose, Leukozyten

2. Einleitung

2.1. Ernährung und Koronare Herzkrankheit

Die kardiovaskulären Erkrankungen sind Schätzungen zufolge weltweit die führende Ursache für Todesfälle. Im Jahr 2004 wurde die Interheart-Studie veröffentlicht (Yusuf et al. 2004). Hierbei handelt es sich um eine in 52 Ländern durchgeführte Fall-Kontrollstudie, die rund 15.000 Patienten mit Koronarer Herzkrankheit (KHK) und eine gleiche Anzahl von Kontrollen beobachtete. Zusammenfassend konnte anhand dieser Studie gezeigt werden, dass weltweit die folgenden neun Risikofaktoren für mehr als 90% aller Myokardinfarkte verantwortlich sind:

- Rauchen
- Arterielle Hypertonie
- Diabetes mellitus
- Adipositas
- Ernährungsmuster
- geringe physische Aktivität
- übermäßiger Alkoholkonsum
- Störungen des Lipidstoffwechsels
- psychosoziale Faktoren

Gleichzeitig wurden drei weitere Faktoren untersucht, die sich als protektiv gegenüber Myokardinfarkten erwiesen:

- täglicher Verzehr von Obst und Gemüse
- regelmäßige körperliche Ertüchtigung
- moderater Alkoholkonsum

Die Daten dieser Studie untermauern bisherige Untersuchungen wie z. B. die Lyon Heart Study (de Lorgeril et al. 1999) oder die Nurses Health Study (Oh et al. 2005), die bereits zeigten, dass die Lebensgewohnheiten bezüglich der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen von großer Bedeutung sind.

Die Bedeutsamkeit der Lebensgewohnheiten, die innerhalb der Interheart-Studie untersucht wurden, wird in der folgenden Darstellung noch deutlicher: Der regelmäßige Verzehr von Obst und Gemüse ging mit einer Reduktion des relativen Risikos für kardiovaskuläre Ereignisse um 30% einher. In Kombination mit körperlicher Aktivität und einem Verzicht auf das Rauchen kann eine ausgewogene

Ernährung das relative Infarktisiko sogar um etwa 80% reduzieren (Yusuf et al. 2004). Bei der Beurteilung dieser Studien ist allerdings zu beachten, dass die Bedeutung der Ernährung nur schwer isoliert und unabhängig von anderen Einflussgrößen wie Bewegung und Risikoverhalten erfasst werden kann.

In der vorliegenden „Hamburger Burger Studie“ wurde der akute Einfluss von Ernährung auf spezielle und zum Teil sehr neue kardiovaskuläre Risikofaktoren untersucht. Um weltweit repräsentative Mahlzeiten zu verwenden, wählten wir drei Menüs der Fast Food Kette „McDonalds“, die wir bezüglich kardiovaskulärer Risikofaktoren im postprandialen Verlauf beobachteten. Aus diesem Grunde soll im Folgenden der aktuelle Wissenstand über den Verzehr von Fast Food und seinen Konsequenzen dargestellt werden.

In diesem Zusammenhang stellt sich zunächst die Frage nach einer geeigneten Definition des Begriffes „Fast Food“. Vom Duden wird es als „in bestimmten Schnellgaststätten angebotene schnell und leicht verzehrbare kleinere Gerichte“ definiert (Duden 1997). Das United States Department of Agriculture beschreibt Fast Food als „food purchased in self-service or eating places without wait service“. Zahlreiche Arbeiten beschäftigen sich mit dem möglichen Einfluss der Ernährung auf das kardiovaskuläre Risiko. In jüngster Zeit steht insbesondere der regelmäßige Konsum von Fast Food Gerichten im Verdacht, das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen zu erhöhen (Pereira et al. 2005). Jedoch ist es mit Sicherheit nicht korrekt, diese Gerichte pauschal als unausgewogen und ungesund zu klassifizieren, da es heutzutage eine große Vielfalt von Angeboten gibt.

Es gibt insbesondere große Unterschiede im Energiegehalt der Mahlzeiten. So werden z.B. Hamburger entweder mit Salat oder klassisch mit Pommes Frites serviert. Eine ähnlich ungleiche Energieverteilung ist auch bei der Kombination von Süssgetränk und Schnellgericht auffällig: Ein halber Liter Zitronenlimonade liefert ca. 200 Kalorien; wird jedoch ein Mineralwasser gewählt, so erhöht sich die Kalorienzufuhr nicht. Diverse Untersuchungen zeigen dennoch, dass die meisten Konsumenten von Schnellgerichten ein unausgewogenes Ernährungsprofil aufweisen: Die Nahrung ist insgesamt energiereicher und beinhaltet größere Mengen an Cholesterin und gesättigten Fettsäuren, wohingegen die Einnahme von Ballaststoffen und Vitaminen geringer ausfällt (Bowman et al. 2004/1; Guthrie et al. 2002; Paeratkul et al. 2003).

In den letzten Jahrzehnten hat der Konsum des so genannten Fast Food in den westlichen Ländern drastisch zugenommen. Vorreiter-Nationen sind England, Japan, Deutschland und allen voran die Vereinigten Staaten. Der prozentuale Anteil von Fast Food am täglichen Energiebedarf der US-amerikanischen Gesamtbevölkerung

stieg von 2% im Jahr 1970 auf 10% im Jahr 1995 (Guthrie et al. 2002). US-amerikanische Jugendliche zwischen 12 und 18 Jahren deckten 1996 fast 20% ihres täglichen Energiebedarfes mit Fastfood; 1977 waren es noch 6,5% (Nielsen et al. 2002). Heutzutage isst in den USA rund ein Drittel aller Kinder täglich Fast Food (Bowman et al. 2004).

Parallel zum ansteigenden Konsum von Schnellgerichten nahm in den letzten Jahrzehnten auch der Anteil der übergewichtigen Menschen zu. 1960 waren bereits 16% aller US Bürger übergewichtig (BMI > 30); im Jahr 2000 hatte sich der Anteil mit 31% fast verdoppelt. Für US amerikanische Kinder ist dieser Trend noch deutlicher: 1963 waren 4,2% der sechs- bis elfjährigen Kinder übergewichtig (BMI > 95ige Percentile des entsprechenden Alters); im Jahr 2000 hatte sich der Anteil der übergewichtigen Kinder mit 15,8% sogar verdreifacht.

Verschiedene Studien beweisen, dass der regelmäßige Außerhauskonsum bzw. der regelmäßige Konsum von Schnellgerichten mit gesundheitlichen Risikofaktoren, wie z.B. Adipositas und Diabetes mellitus Typ II, im Zusammenhang steht. So zeigten Pereira et al. (2005), dass eine durchaus starke Assoziation zwischen Fast Food Konsum und Gewichtszunahme bzw. Insulinresistenz besteht. Die Studie erbrachte den Nachweis, dass regelmäßiger Fast Food Konsum über einem Zeitraum von 15 Jahren durchschnittlich zu einer Gewichtszunahme von 4,5 kg und einer signifikanten Erhöhung der Insulinresistenz führte. Daraus resultiert eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Diabetes mellitus Typ II und Adipositas, zwei der wichtigsten Risikofaktoren der Arteriosklerose. Des Weiteren zeigten Bowman et al. (2004/2), dass eine positive Korrelation zwischen regelmäßigem Konsum von Schnellgerichten und Adipositas besteht. Sie begründeten ihre Beobachtung mit der hohen Energiedichte und der Armut an Vitaminen und Spurenelementen.

In verschiedenen Studien wurde diskutiert, ob die oben beschriebenen chronischen Folgen von übermäßigem Fast Food Konsum sich akut bereits als Verschlechterung der Endothelfunktion und Zunahme des oxidativen Stresses äußern: Beispielsweise zeigten Williams et al. (1999), dass sich die Endothelfunktion nach Zufuhr eines Fast Food Menüs, das in gebrauchtem Fett zubereitet wurde, verschlechterte. Sowohl die Arbeitsgruppe um Vogel als auch die Arbeitsgruppe um Gaenzer stellten nach der Einnahme eines fettreichen Menüs die Abnahme der endothelabhängigen Vasodilatation fest (Vogel et al. 1996; Gaenzer et al. 2001). Vogel et al. (1996) berichten eine negative Korrelation zwischen Abnahme der Endothelfunktion und dem Anstieg der LDL-Cholesterin-Konzentration, wohingegen Gaenzer et al. (2001)

die Abnahme der endothelabhängigen Vasodilatation mit dem postprandialen Anstieg der Triglycerid-Konzentration erklärt.

Plotnick et al. (1997) zeigten, dass es nach Einnahme eines fettreichen Menüs zu einer akuten Verschlechterung der Endothelfunktion kam. Diese Abnahme der Endothelfunktion konnte durch die zusätzliche Gabe von Antioxidantien (Vitamin C und E) verhindert werden. Im Jahr 2003 beobachtete die Arbeitsgruppe um Plotnick in einer weiteren Studie, dass die tägliche Einnahme von Frucht- oder Gemüsesäften die Verschlechterung der Endothelfunktion und Zunahme der Nitrat/Nitrit-Konzentration im Plasma nach einem fettreichen Menü verhindern kann (Plotnick et al. 2003).

Fard et al. (2000) zeigten, dass es bei Diabetes Typ II Patienten nach Einnahme einer fettreichen Mahlzeit zu einem Anstieg der Plasma-Konzentration von ADMA und einer Abnahme der Endothelfunktion kommt. Bae et al. (2001) kamen zu der Annahme, der postprandiale Anstieg der Triglyceride verschlechtere die endotheliale Funktion durch einen Anstieg des oxidativen Stresses. Westphal et al. (2005) zeigten, dass die endotheliale Dysfunktion durch postprandialen Anstieg der Lipide verursacht wird und mittels zusätzlicher Gabe von der Aminosäure L-Arginin verhindert werden kann.

Sowohl die endotheliale Dysfunktion als auch eine Erhöhung des oxidativen Stresses werden heutzutage als Risikofaktoren für die Entwicklung der Arteriosklerose betrachtet. Folglich kann übermäßiger Fast Food Konsum ebenfalls als Risikofaktor für die Entstehung von Arteriosklerose und somit der koronaren Herzkrankheit angesehen werden.

2.2. Endothelabhängige Vasodilatation der Arteria brachialis

Haupttrisikofaktoren für die Entstehung der koronaren Herzkrankheit (KHK) sind Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Adipositas und Nikotinabusus. Die genannten Risikofaktoren verursachen in den Gefäßen die Entstehung von Arteriosklerose, an deren Anfang die Dysfunktion des Gefäßendothels steht. Seit einigen Jahren ist bekannt, dass das Endothel nicht nur die innere Auskleidung der Blutgefäße ist, sondern auch regulatorische Funktionen wie ein endokrines Organ übernimmt. Einer der wichtigsten und bekanntesten Mediatoren, der von der Endothelzelle freigesetzt wird, ist Stickstoffmonoxid (NO).

NO wurde im Jahr 1980 von Furchgott als „Endothelium-Derived Relaxing Factor“ entdeckt (Furchgott et al. 1980). Dieser Begriff beschreibt seine vasodilatierende

Wirkung. In den folgenden Jahren wurden weitere NO-vermittelte Wirkungen bekannt. Heutzutage wird NO bereits als antiarteriosklerotische Substanz dargestellt, da es sowohl die Thrombozytenaggregation und die Adhäsion von Mono- und Leukozyten als auch die Proliferation glatter Muskelzellen hemmt. Des Weiteren besitzt NO antioxidative Wirkungen, die sich in der Hemmung der LDL-Oxidation und Hemmung der Superoxidradikalbildung zeigen (Böger et al. 2003).

Die Physiologie der flussinduzierten Vasodilatation soll im Folgenden kurz dargestellt werden: Wie bereits oben erwähnt, ist das Gefäßendothel ein zentrales regulatorisches Organ des Herzkreislaufsystems. Es besitzt die Eigenschaft, auf physikalische und chemische Stimuli zu reagieren, was es wiederum zur Selbstregulation und zur Anpassung an äußere Umstände befähigt. So kommt es während erhöhten Flussgeschwindigkeiten des Blutes zur Dilatation des Gefäßlumens, welche durch erhöhte Scherkräfte zwischen Blutfluss und Endothel erklärt wird. Das beschriebene Phänomen wird als flussinduzierte Vasodilatation (flow-mediated vasodilation = FMD) bezeichnet, welche überwiegend durch den Mediator NO hervorgerufen wird. Der Weg von der erhöhten Scherkraft am Endothel bis hin zur durch NO vermittelten Vasodilatation ist sehr komplex und noch nicht vollständig verstanden. Es wird angenommen, dass durch eine Zunahme der Scherkräfte Calcium-abhängige Kaliumkanäle der Endothelzelle geöffnet werden, wodurch es zur Hyperpolarisation dieser Zelle kommt. Dieser Vorgang verursacht wiederum den erhöhten Einstrom von Calcium in die Endothelzelle. Intrazellulär führt das Calcium zur Aktivierung der endothelialen NO-Synthase (eNOS), welche aus L-Arginin NO synthetisiert. Hält dieser Stimulus zur NO-Bildung über einen längeren Zeitraum an, so resultiert zusätzlich eine erhöhte Expression der eNOS (Coretti et al. 2002).

In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass die endotheliale Dysfunktion, gemessen als Endothel-abhängige Vasodilatation der Arteria brachialis, am Anfang des Pathomechanismus der Arteriosklerose steht. Anderson et al. (1995) konnten beispielsweise nachweisen, dass eine Therapie zur Senkung der Cholesterin-Konzentrationen eine Verbesserung der Endothelfunktion zur Folge hatte. Modena et al. (2002) zeigten, dass auch die antihypertensive Therapie positive Effekte auf die endotheliale Funktion hatte. Des Weiteren konnte in zahlreichen prospektiven Studien nachgewiesen werden, dass die endotheliale Dysfunktion mit einer erhöhten Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen im Zusammenhang steht. Als Beispiel soll an dieser Stelle die Untersuchung der Arbeitsgruppe von Schächinger (2000) angeführt werden: Sie zeigten, dass die endotheliale Dysfunktion der Koronararterien mit einer erhöhten Rate kardiovaskulärer Ereignisse assoziiert ist.

In der „Hamburger Burger Studie“ sollte untersucht werden, ob sich die Endothelfunktion nach der Einnahme der drei ausgewählten Fast Food Menüs verändert bzw. ob Unterschiede im postprandialen Verlauf der einzelnen Menüs bestehen. Dazu wählten wir die Methode der „Flussinduzierten Messung der Vasodilatation“ mittels Duplex-Sonographie, für die Konsensusempfehlungen des American College of Cardiology vorlagen (Coretti et al. 2002).

2.3. Asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA)

Im vorangegangenen Abschnitt wurden die wichtigsten bzw. am längsten bekannten kardiovaskulären Risikofaktoren bereits erwähnt. In den vergangenen Jahren wurden weitere Parameter identifiziert, deren Anwesenheit mit einer erhöhten Inzidenz von Herzkreislauferkrankungen assoziiert ist. So wurde auch Asymmetrisches Dimethylarginin, kurz ADMA, als einer der neu entdeckten kardiovaskulären Risikofaktoren postuliert. ADMA gilt als Hemmstoff der NO-Synthase. Im Jahr 1992 beobachtete die Arbeitsgruppe um Vallance die Hemmung der NO-Synthese durch Methylarginine, die Analoge der Aminosäure L-Arginin darstellen. Zu den Substanzen dieser Gruppe gehören u. a. ADMA, SDMA (symmetrisches Dimethylarginin), und L-NMMA (Mono-Methylarginin), wobei SDMA die NO-Produktion sehr viel schwächer hemmt. ADMA und die anderen Vertreter der Dimethylarginine entstehen im Rahmen der posttranslationalen Modifikation von Proteinen und werden bei der Proteolyse methylierter Proteine freigesetzt. Die Elimination erfolgt entweder durch metabolischen Abbau oder durch renale Exkretion. An dem metabolischen Abbau ist das Enzym Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) beteiligt, welches ADMA zu L-Citrullin und Dimethylamin hydrolysiert. ADMA wird zu 85% über DDAH eliminiert, wohingegen SDMA überwiegend unverändert renal ausgeschieden wird (Böger et al. 2003).

Vallance et al. zeigten, dass ADMA die Substanz dieser Gruppe ist, die im menschlichen Plasma Konzentrationen erreicht, bei denen es zu einer Hemmung der NOS kommen kann (Vallance et al. 1992). Da kultivierte humane Endothelzellen die Fähigkeit besitzen, ADMA und SDMA zu bilden, liegt die Vermutung nahe, dass ADMA als autokriner Regulator der endothelialen NO-Synthase wirkt.

Nach der Entdeckung der Dimethylarginine untersuchten verschiedene Arbeitsgruppen die Rolle von ADMA im Prozess der Arteriosklerose. Beispielsweise zeigten experimentelle Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Cardounel, dass ADMA die endotheliale NO-Produktion in einem Konzentrationsbereich zwischen 2-15 $\mu\text{mol/l}$ hemmt (Cardounel et al. 2007). Dies ist der Bereich, der bei Patienten mit

Herzkreislauferkrankungen gemessen wird. In einer prospektiven Studie wurde beobachtet, dass Patienten mit erhöhten ADMA-Plasmakonzentrationen ein 3,9fach größeres Risiko für das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen aufwiesen (Valkonen et al. 2001).

Des Weiteren wurde der Zusammenhang zwischen den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren und erhöhten ADMA-Konzentrationen im Plasma untersucht. So wurde 2002 von Stühlinger et al. gezeigt, dass eine Assoziation zwischen dem Vorliegen einer Insulinresistenz und erhöhten ADMA-Plasmakonzentrationen besteht. In einer Untersuchung der Arbeitsgruppe um Böger, konnte beobachtet werden, dass bei Patienten mit Hypercholesterinämie ebenfalls erhöhte ADMA-Spiegel im Plasma vorlagen (Böger et al. 1998). Surdacki et al. (1999) konnten außerdem zeigen, dass Patienten mit essentieller Hypertonie signifikant erhöhte ADMA-Konzentrationen im Plasma aufwiesen. Außerdem wurden bei Patienten mit Hypertriglyceridämie ebenfalls erhöhte ADMA-Konzentrationen im Plasma gemessen (Lundmann et al. 2001). Seit einiger Zeit zählt auch die Hyperhomocysteinämie zu den Risikofaktoren für Herz-Kreislauferkrankungen (Graham et al. 1997). Stühlinger et al. konnten 2003 zeigen, dass eine erhöhte Homocystein-Konzentration ebenfalls zum Anstieg der ADMA-Konzentration führt.

Bisher liegen jedoch noch keine Daten darüber vor, inwiefern die ADMA-Plasmakonzentrationen von alltäglich konsumierten Mahlzeiten beeinflusst werden. Aus diesem Grunde sollte in der „Hamburger Burger Studie“ untersucht werden, ob und ggfs. inwiefern sich die ADMA-Konzentrationen nach Verzehr der drei unterschiedlichen Fast Food Menüs ändern.

2.4. Thrombozytenaggregation

In den vergangenen Jahrzehnten wurde dem Blutstillungs- und Gerinnungssystem aufgrund seiner zentralen Rolle in der Pathophysiologie von akuten kardiovaskulären Ereignissen besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Im Mittelpunkt des blutstillenden Systems stehen die Thrombozyten; ihre wichtigsten Aufgaben sind zum einen die Aufrechterhaltung der Homöostase der Blutgefäße und zum anderen die Blutstillung nach Gefäßverletzung. Die im Blut zirkulierenden Thrombozyten befinden sich im Ruhezustand. Erst nach Verletzung eines Gefäßes bzw. nach Ruptur einer atherosklerotischen Plaque werden sie durch Oberflächenkontakt und bestimmte Gerinnungsfaktoren in einen aktivierten Zustand überführt, der sich durch folgende Prozesse auszeichnet:

- Adhäsion an die Gefäßoberfläche
- Veränderung der Form
- Sekretion bestimmter Botenstoffe
- Thrombozytenaggregation

Die Adhäsion der Plättchen wird vor allem durch den „von-Willebrand-Faktor“ (vWF) vermittelt, der Brücken zwischen den subendothelialen Strukturen und einem spezifischen Rezeptor der Thrombozytenmembran bildet. Bei der Adhäsion an das Endothel formen sich die Plättchen um. Sie gehen in eine kugelige Form über und bilden stachelartige Fortsätze aus, was aus einer Umformung des Zytoskeletts resultiert. Unter Einwirkung von ADP, welches aus den verletzten Zellen stammt, kommt es zur reversiblen Aggregation, indem es eine Konformationsänderung des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptors der Thrombozytenmembran bewirkt. An diesen Rezeptor bindet nun Fibrin und verknüpft auf diesem Wege die Blutplättchen miteinander. Ein Botenstoff, der von den Thrombozyten synthetisiert wird, ist das Thrombin. Es liegt in der Phase der Blutstillung in zunächst geringen Mengen vor und besitzt zu diesem Zeitpunkt die Aufgabe, über eine Kaskade die Synthese von Thromboxan A₂ anzuregen. Thromboxan A₂ wiederum löst die Aggregation und Strukturauflösung weiterer Thrombozyten aus, die daraufhin weitere Inhaltsstoffe freisetzen. Das aus den Granula der Plättchen freigesetzte Thrombospondin bewirkt den Übergang in die irreversible Aggregation. Durch Anbindung dieses großen Glykoproteins werden die Fibrinogenbrücken stabilisiert. Dieser Prozess wird fortgesetzt, bis die Gefäßverletzung vollständig durch ein loses Netz von Thrombozyten verschlossen ist. Dieses wird schließlich durch die einzelnen Kaskaden des Gerinnungssystems zu einem stabilen Thrombus umgebaut (Schmidt, Thews u. Lang 2001).

Eine Überreaktion des Blutstillungs- und Gerinnungssystem wird durch folgende Faktoren begünstigt:

- postoperative Bettruhe
- arterielle und venöse Verschlusskrankheiten
- Infekte und bösartige Tumoren
- Einnahme von Ovulationshemmern
- erhöhte Glukokortikoid-Spiegel

Die beschleunigte Aggregation und Gerinnung verursachen in den Blutgefäßen eine erhöhte Neigung zur Bildung von arteriosklerotischen Plaques und Thromben, die zur Infarzierung des betroffenen Gewebeabschnittes führen kann. In zahlreichen klinischen Studien wurde die Tatsache untermauert, dass eine erhöhte Thrombozytenaggregation mit einer erhöhten Inzidenz von Herzkreislauf-

erkrankungen einhergeht. Beispielsweise zeigten Trip et al. (1990), dass eine Hyperreaktivität der Thrombozyten in vitro mit erhöhten Raten von Mortalität und kardiovaskulären Ereignissen assoziiert ist.

Ferner liegen zahlreiche Studien darüber vor, dass verschiedene Substanzen unserer Nahrung in unterschiedlichem Maße auf die Aktivität der Thrombozyten Einfluss nehmen. So konnten Keevil et al. (1999) zeigen, dass die regelmäßige Einnahme von Flavonoiden, die z.B. in Grapefruit-Saft enthalten sind, die Aggregation der Blutplättchen signifikant reduziert. Demgegenüber zeigten Nordoy et al. (1984), dass fettreiche Nahrung die Thrombozytenaggregation akut verschlechtert: Sie verzeichneten sowohl nach der Einnahme von gesättigten als auch von ungesättigten Fettsäuren eine signifikante Verschlechterung der Aggregation der Blutplättchen. Weiterhin konnten Radomski et al. (1990) zeigen, dass L-Arginin über eine vermehrte Bildung von NO in den Thrombozyten antiaggregatorische Wirkungen hat.

In den erwähnten und vielen weiteren ernährungswissenschaftlichen Studien wurde der Fokus der Untersuchung meist auf eine bestimmte Substanzgruppe gelegt. In unserer Studie sollte untersucht werden, inwiefern alltäglich konsumierte Nahrungsmittelkombinationen die Thrombozytenaggregation beeinflussen.

2.5. 8-Isoprostaglandin F_{2α}

Seit geraumer Zeit wird diskutiert, inwiefern oxidativer Stress zur Pathogenese von kardiovaskulären Erkrankungen beiträgt. Unter oxidativem Stress versteht man im Allgemeinen eine Gleichgewichtsverschiebung im Körper, die zugunsten oxidationsfreudiger Prozesse ausfällt. Isoprostaglandine sind Abkömmlinge der Arachidonsäure und gelten als Marker des oxidativen Stresses (Morrow et al. 1991). Die Arachidonsäure ist eine Fettsäure mit 20 Kohlenstoffatomen und fungiert als Ausgangssubstanz für Eikosanoide, die eine Klasse von Entzündungsmediatoren darstellen. Zu dieser Gruppe gehören die Prostaglandine, die Thromboxane und die Leukotriene, die durch enzymatische Reaktionen entstehen (Horn et al. 2002).

Die Existenz von Isoprostanen ist schon seit langem bekannt. 1968 gelang erstmals der in vitro Nachweis von 8-Isoprostaglandin E₁ (Daniels et al. 1968). 1979 wurde dann schließlich der Nachweis erbracht, dass Isoprostane auch in vivo vorzufinden sind (Pryor et al. 1976). Damals war man der Auffassung, Isoprostane entstünden durch die Isomerisierung von Prostaglandinen. Erst elf Jahre später wurde der Nachweis erbracht, dass Isoprostane durch nicht-enzymatische Reaktionen entstehen (Morrow et al. 1990).

F₂-Isoprostaglandine sind Isomere des Prostaglandin F_{2α} und stellen in der Gruppe der Isoprostane die Substanz mit der höchsten Urin-Exkretion dar (Roberts et al. 1996). 8-Isoprostaglandin F_{2α} entsteht durch nicht-enzymatische Lipid-Peroxidation der Arachidonsäure. Diese Lipid-Peroxidation wird durch reduktive Sauerstoffspezies verursacht, welche entweder durch unvollständige Sauerstoff-Reduktion entstehen oder durch Stickstoffmonoxid herbeigeführt werden kann (Schwedhelm 2000).

1996 beobachteten Levine et al., dass die Zufuhr von Antioxidantien (Vitamin C) bei Patienten mit Koronarer Herzkrankheit zu einer Verbesserung der Endothelfunktion führte (Levine et al. 1996). Im Jahr 2001 veröffentlichte die Arbeitsgruppe um Heitzer eine klinische Studie, in welcher sie zeigten, dass erhöhter oxidativer Stress der Gefäße prognostische Aussagekraft für spätere kardiovaskuläre Ereignisse hatte (Heitzer et al. 2001). Im Jahre 2004 zeigten Schwedhelm et al., dass die renale 8-Isoprostaglandin F_{2α}-Exkretion bei Patienten mit KHK erhöht ist (Schwedhelm et al. 2004).

In unserer Studie wurde untersucht, inwiefern sich der Zusatz von Antioxidantien in physiologischen Konzentrationen in Form von Gemüse auf den postprandialen Verlauf der renalen 8-Isoprostaglandin F_{2α}-Exkretion auswirkte.

3. Material und Methoden

3.1. Studiendesign

In die Studie wurden 24 gesunde Probanden eingeschlossen, an denen die Wirkung von drei verschiedenen Fast Food Menüs auf das kardiovaskuläre System beobachtet werden sollte. Die Studie wurde im dreifachen Crossover-Vergleich durchgeführt, was bedeutete, dass alle 24 Probanden jedes der drei Menüs an jeweils unterschiedlichen Untersuchungstagen einnahmen. Die Beobachter waren bis zum Abschluss der Auswertung der Daten verblindet.

Im Studienaufbau waren drei Randomisierungsgruppen bestehend aus acht Probanden vorgesehen, wobei für jede Gruppe jeweils unterschiedliche Reihenfolgen der einzunehmenden Menüs existierten. Die erste Gruppe erhielt die Menüs in der Reihenfolge der Sequenz A (Menü I, Menü II, Menü III), die zweite in der Sequenz B (Menü II, Menü I, Menü III) und die dritte in der Sequenz C (Menü III, Menü II, Menü I). Für die Studie lag ein positives Votum der Ethik-Kommission der Ärztekammer Hamburg (Aktenzeichen: OB-053/04) und das schriftliche Einverständnis aller Probanden vor.

3.2. Probanden

3.2.1. Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie wurden männliche und weibliche Versuchspersonen im Alter zwischen 18 und 65 Jahren eingeschlossen. Ausschlusskriterien waren das Vorliegen von kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus, Niereninsuffizienz (Kreatinin > 1,5 mg/dl), Gerinnungsstörungen (verlängerte Blutungszeiten in der Anamnese), Thrombozytopenie, akute Infektionen, Anämien oder eine bekannte Unverträglichkeit gegen eines der verwendeten Nahrungsmittel.

3.2.2. Risiken

Die Teilnahme an der Studie war freiwillig und konnte von Seiten des Probanden jederzeit ohne Angabe von Gründen abgebrochen werden. Abbruchkriterien waren unerwünschte Ereignisse, die im Rahmen der Untersuchungen auftreten konnten. Die Risiken der Studie wurden als gering eingestuft. Die Teilnahme umfasste an

allen drei Untersuchungstagen lediglich die Einnahme einer Fast Food Mahlzeit, drei venöse Blutentnahmen von jeweils 52,5 ml Blut und drei Ultraschalluntersuchungen.

3.3. Fast-Food-Menüs

Ausgewählt wurden drei Menüs der Fastfoodkette McDonalds, die sich in ihrer Zusammenstellung unterschieden, jedoch annähernd isokalorisch waren. Die Kalorienangaben sowie die Fett-, Protein- und Kohlenhydratanteile zu den ausgewählten Menüs sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

	Proteine (g)	Kohlen- hydrate (g)	Fett (g)	kcal
MENÜ I				
Big Mac™	26	44	25	503
Pommes Frites	7	57	24	468
Sprite™	0	51	0	207
Ketchup	0	6	0	24
Summe	33	158	49	1202
MENÜ II				
Gemüse Mac™	10	53	25	477
Pommes Frites	7	57	24	468
Sprite™	0	51	0	207
Ketchup	0	6	0	24
Summe	17	167	49	1176
MENÜ III				
Gemüse Mac™	10	53	25	477
Gartensalat™	1	1	0	11
2 Fruita Joghurt™	10	54	6	306
Dressing	0	4	2	33
Orangensaft (200 mg Vitamin C)	3	48	0	208
Summe	24	160	33	1035

Tabelle 3.1: Angegeben sind die Nährwerte der einzelnen Menüs.

Das „Burger-Menü“ (Menü I) sollte eine der weltweit meistverzeharten Fast-Food Variante widerspiegeln und enthielt einen Big Mac™, eine mittelgroße Portion Pommes Frites und einen halben Liter Zitronenlimonade. Das „vegetarische Burger-Menü“ (Menü II) war aus einem Gemüse Mac™, einer mittelgroßen Portion Pommes Frites und einem halben Liter Zitronenlimonade zusammengestellt. Das „Salat-Menü“ (Menü III) sollte mit einem Gemüse Mac™, einem Gartensalat™ mit Balsamico Dressing, zwei Fruita Joghurt™ und einem halben Liter Orangensaft die gesunde Variante darstellen.

3.4. Studienablauf

Alle 24 Probanden nahmen vier Termine wahr, davon ein Aufklärungsgespräch und drei Untersuchungstage, an denen sie jeweils eines der drei Menüs einnahmen. Zunächst wurden die Probanden im Gespräch über den Ablauf der Studie unterrichtet. Weiterhin wurden sie auf mögliche Risiken und unerwünschte Wirkungen aufmerksam gemacht und gaben eine schriftliche Einverständniserklärung ab. Im Anschluss wurde sichergestellt, dass der Proband sowohl die Einschluss- als auch die Ausschlusskriterien erfüllte. Im weiteren Verlauf wurden folgende basale und klinische Daten der Versuchsperson erhoben:

- Alter
- Körpergröße
- Körpergewicht
- Raucherstatus
- Kardiovaskuläre Risikofaktoren
- Medikation

Zuletzt wurde eine orientierende körperliche Untersuchung (Herz, Lunge, Lymphknoten) der Probanden durchgeführt.

Am ersten Studientag erfolgte zunächst um 8.00 Uhr morgens eine Nüchternblutentnahme für folgende Parameter:

- Klinisches Routinelabor mit großem Blutbild
- Thrombozytenaggregation
- KHK-Risikomarker: Cholesterin (LDL, HDL), Triglyceride, Harnsäure, ADMA, SDMA, L-Arginin, Glucose

Im Anschluss an die Blutentnahme erfolgte die Messung der Endothelfunktion der Arteria brachialis mittels Duplex-Sonografie. Um 10.00 Uhr erhielten die Probanden

das Fast Food Menü. Jeweils zwei und vier Stunden nach Einnahme der Mahlzeit erfolgten erneute Blutentnahmen und Endothelfunktionsuntersuchungen. Zusätzlich wurden die Probanden gebeten, prä- und postprandial Urin für die Bestimmung der Isoprostane zu sammeln.

Nach einer bzw. zwei Wochen erfolgte der Studienablauf analog zum ersten Tag. Die Menüzuteilung erfolgte außerhalb des Untersuchungsraumes und orientierte sich dabei an einem Randomisierungsplan. Der jeweilige Untersucher war über die Art des Menüs nicht informiert.

3.5. Probengewinnung und Aufbewahrung

Die venösen Blutentnahmen erfolgten in S-Monovetten. Die Blutproben wurden bei 2000 RPM für 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Das auf diese Weise entstandene Plasma wurde in 1,5 ml Safe-Lock Tubes bei -20°C tiefgefroren. Der Sammelurin wurde in 5 ml-Polypropylen-Röhrchen, die jeweils 1 mM EDTA enthielten, aliquotiert und bei -20°C tiefgefroren.

3.6. Analysenmethoden

3.6.1. Die Messung der Endothelfunktion der Arteria brachialis

Die in der Studie angewandte Methode zur Messung der Endothelfunktion orientiert sich an den Leitlinienempfehlungen des „American College of Cardiology“ (Corretti et al. 2002). Hierbei wird die Änderung des Durchmessers der Brachialarterie mit Hilfe von Duplex-Sonografie ermittelt. Die Zunahme des Gefäßdurchmessers kann einerseits endothelabhängig durch einen erhöhten Blutfluss und somit erhöhte endogene NO-Ausschüttung erzeugt werden. Diese nicht-invasive, komplikationsarme Methode hat den Vorteil, dass sie problemlos für wiederholte Messungen angewendet werden kann (Corretti et al. 2002).

Zielgrößen der im Folgenden beschriebenen Ultraschalluntersuchung der Arteria brachialis waren der basale Gefäßdurchmesser und der Durchmesser während der endothelabhängigen Vasodilatation.

Alle Ultraschallmessungen fanden unter folgenden Rahmenbedingungen statt: Der Untersuchungsraum wurde leise, temperaturkontrolliert und abgedunkelt gehalten, um eine Beeinflussung der messbaren Größen durch äußere Faktoren zu vermeiden. Des Weiteren wurde darauf geachtet, dass der Proband acht bis zwölf

Stunden vor der ersten Messung keine Nahrung aufgenommen sowie in den letzten vier bis sechs Stunden vor der Untersuchung keine gefäßstimulierenden Substanzen (Kaffee, Tabak, Vitamin C) konsumiert hatte. Ebenso wurde die Versuchsperson darauf hingewiesen, möglichst auf alle vasodilatierenden Medikamente zu verzichten (Corretti et al. 2002).

Für die Endothelfunktionsmessung wurde ein Sonografiegerät mit einem hochauflösenden 12 MHz-Schallkopf verwendet. Zur besseren Schallübertragung wurde Ultraschallkontaktgel benutzt. Um die Daten zu sichern, wurden alle Ultraschalluntersuchungen auf S-VHS-Videokassetten aufgezeichnet. Dadurch war es möglich, die Auswertung nach Abschluss aller Messungen durchzuführen.

Vor Beginn der Untersuchung wurde zunächst der Blutdruck gemessen. Dies wurde anhand eines manuellen Blutdruckmessgerätes mittels der nicht-invasiven Methode nach Riva-Rocci durchgeführt. Anschließend brachte der Proband seinen rechten Arm in eine bequeme Position, um die Arteria brachialis oberhalb der Fossa antecubitalis darzustellen. Hierzu wurde eine gut abgrenzbare Schnittstelle zwischen Lumen und Gefäßwand aufgesucht. Für nachfolgende Untersuchungen war es hilfreich, sich anatomische Landmarken wie beispielsweise umliegende Venen oder Faszien zu notieren, um bei späteren Endothelfunktionsmessungen im Rahmen der Studie denselben Gefäßabschnitt wieder zu finden (Corretti et al. 2002).



Abbildung 3.1: Endothelfunktionsmessung der Arteria brachialis.

Zu Beginn der Untersuchung wurde dem Probanden, wie in oben stehender Abbildung gezeigt, eine Blutdruckmanschette am Oberarm angelegt. Anschließend wurden die basalen Werte des Gefäßdurchmessers über einen Zeitraum von zwei Minuten aufgezeichnet. Im folgenden Untersuchungsschritt wurde die Blutdruckmanschette 50 mmHg über den systolischen Blutdruckwert aufgepumpt. Dieser Druck wurde für fünf Minuten aufrechterhalten, um in der Arteria brachialis eine Ischämie zu verursachen. Wurde die Blutdruckmanschette fünf Minuten später wieder geöffnet, so war ein erhöhter Blutfluss in der Arterie zu verzeichnen, welcher wiederum erhöhte Scherkräfte zwischen Blutfluss und Endothel erzeugte. Die Zunahme der Scherkräfte verursachte eine Vasodilatation der Arteria brachialis. Der vergrößerte Durchmesser der Arteria brachialis wurde im Zeitraum von 30 Sekunden bis zwei Minuten nach Öffnen der Blutdruckmanschette gemessen (Corretti et al. 2002).

Detaillierte Angaben zu verwendeten Verbrauchsmaterialien und Geräten befinden sich im Anhang.

3.6.2. Auswertung der Daten zur Endothelfunktion

Um die auf S-VHS-Videokassetten aufgezeichneten analogen Aufnahmen auswerten zu können, wurden diese Daten mit Hilfe des Programms „Vascular Imager“ digitalisiert. Zur Auswertung der Daten wurde das Programm „Brachial Analyser“ benutzt.

Für die Berechnung der endothelabhängigen Vasodilatation wurden folgende Zielgrößen benötigt: die basalen Gefäßdurchmesser und die Durchmesser während der endothelabhängigen Vasodilatation. Im Folgenden soll anhand eines Beispiels die Vorgehensweise bei der Auswertung dieser Daten dargestellt werden.

Die nachfolgende sonografische Abbildung ist ein Beispiel der Messung der Basalwerte. Der ermittelte basale Durchmesser der Arteria brachialis betrug in diesem Fall 4,1 mm. Die abgebildete Kurve zeigt die zeitliche Veränderung des Arterienradius, dessen Schwankungen auf den pulsatilen Blutdruckänderungen basieren. Die Kurve ist eine Reproduktion aus den Ultraschallaufnahmen, die mit einer Frequenz von zehn Bildern pro Sekunde aufgezeichnet und ausgewertet wurden. Es wurden jeweils das Maximum, das Minimum und der Mittelwert der einzelnen Kurvenbewegung bestimmt. Da die Mittelwerte am besten reproduzierbar waren und die geringsten Schwankungen zeigten, wurden sie zur

Berechnung der Endothelfunktion herangezogen. Um einen durchschnittlichen Wert zu ermitteln, wurden 30 Sekunden der Aufzeichnung (300 Bilder) ausgewertet. In dem hier gezeigten Beispiel lag der errechnete Mittelwert ebenfalls bei 4,1 mm.

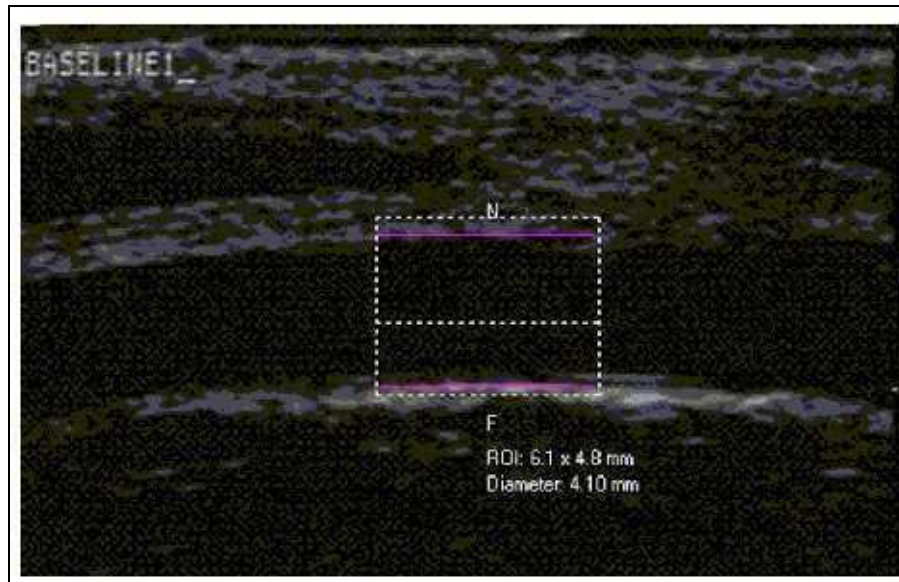


Abbildung 3.2: Ultraschallaufnahme der Arteria brachialis im Longitudinalchnitt unter basalen Bedingungen.

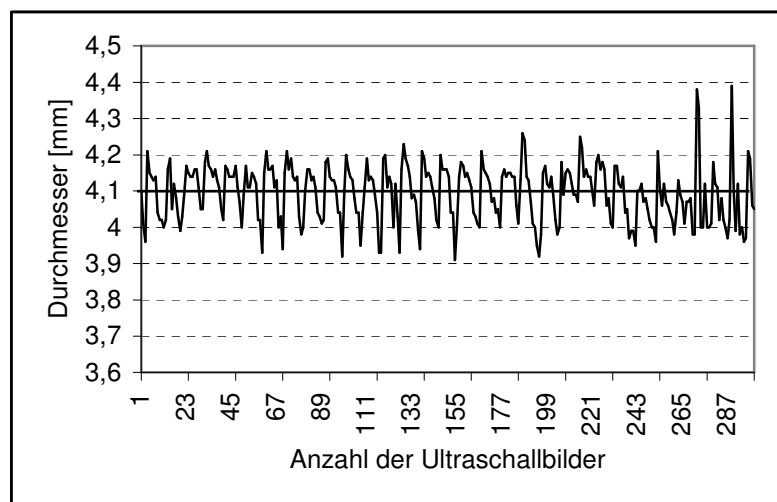


Abbildung 3.3: Pulsatile Änderung des basalen Arterienradius in [mm].

Im Folgenden ist ein Beispiel einer Messung des Arterienradius während der reaktiven Hyperämie eingefügt (Abbildung 3.4). Der Radius betrug in dieser Abbildung 4,33 mm. Wie in Abbildung 3.5 erkennbar, lag der Mittelwert des Arterienradius während der reaktiven Hyperämie bei 4,33 mm.

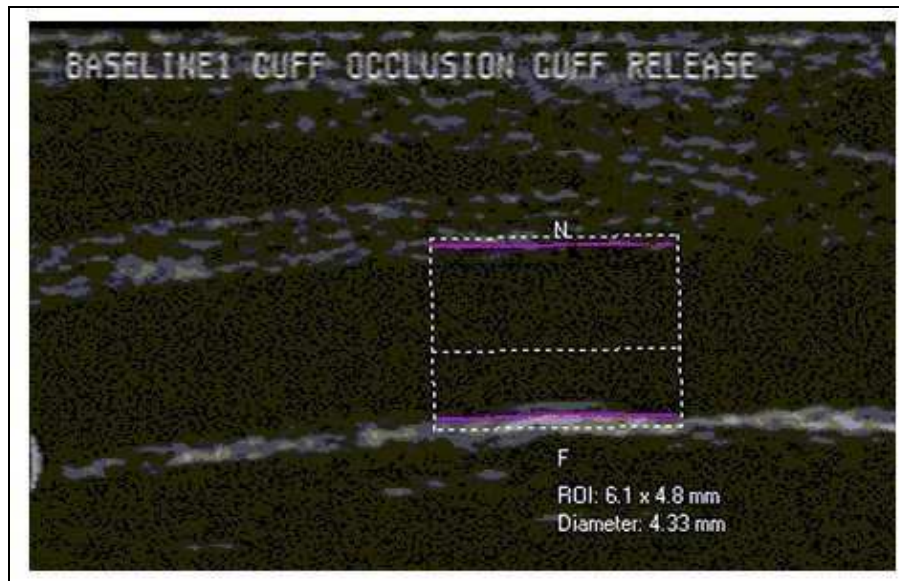


Abbildung 3.4: Ultraschallaufnahme der Arteria brachialis im Longitudinalschnitt während der reaktiven Hyperämie.

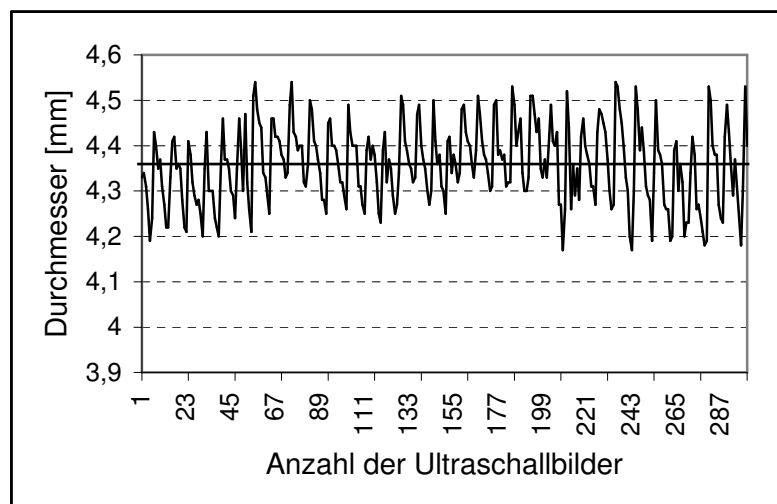


Abbildung 3.5: Pulsatile Änderung des Arterienradius in [mm] während der reaktiven Hyperämie.

Setzte man im folgenden Schritt die Werte der beiden gemessenen Durchmesser in die unten abgebildete Formel (Abbildung 3.6) ein, ließ sich die endotheliale Vasodilatation berechnen. Folglich betrug die endogene Dilatationsfähigkeit in diesem Fall 6,3%.

$$\frac{(\varnothing_{rh} - \varnothing_b) \cdot 100\%}{\varnothing_b} = \frac{(4,36 \text{ mm} - 4,1 \text{ mm}) \cdot 100\%}{4,1 \text{ mm}} = 6,3\%$$

Abbildung 3.6: Formel zur Berechnung der Endothelfunktion. \varnothing_{rh} entspricht dem Durchmesser während der reaktiven Hyperämie und \varnothing_b entspricht dem basalen Durchmesser.

3.6.3. Bestimmung der Thrombozytenaggregation

Die Bestimmung der Thrombozytenaggregation erfolgte nach der Methode von Bode-Böger et al. (1998). Dazu wurden dem Probanden in jedem Visitenabschnitt 20 ml venöses Blut entnommen. Die Messung wurde jedes Mal unmittelbar nach der Blutentnahme durchgeführt. Zunächst musste für die Bestimmung der Aggregation aus dem Vollblut plättchenreiches Plasma gewonnen werden. Dies war durch die Zentrifugation der Blutproben für 20 Minuten bei 200 rpm möglich. Nach Abnahme von 1000 μ l plättchenreichem Plasma wurden die Proben erneut zentrifugiert, nun jedoch für zehn Minuten bei 2000 rpm. Auf diese Weise wurde plättchenarmes Plasma gewonnen, welches benötigt wurde, um das Gerät auf das Plasma des jeweiligen Probanden zu eichen.

Die Aggregation wurde mit einem Aggregometer namens Labor APACT (Automated Platelet Aggregation Coagulation Tracer) gemessen. Neben dem plättchenreichen und plättchenarmen Plasma wurde dazu ein Induktor benötigt, der die Aggregation aktiviert. Als Induktor wurde eine Substanz namens U-46619 gewählt, bei dem es sich um einen Prostaglandin H_2 /Thromboxan A_2 -Rezeptoragonisten handelte. Die Arbeitslösung des Induktors wurde täglich neu hergestellt. Die Konzentration des Induktors U-46619 sollte 0,023 μ g/ μ l betragen. In der Stammlösung waren 10 mg in 1 ml Ethanol gelöst. Sie wurde mit 0,9-prozentiger Kochsalzlösung in eine 1:100 Verdünnung gebracht. Für die Arbeitslösung wurden schließlich 46 μ l der verdünnten Stammlösung und 154 μ l der 0,9-prozentigen Kochsalzlösung zusammen geführt.

Nach Eichung des Gerätes wurden 250 μ l des plättchenreichen Plasmas in eine Micro-Küvette gefüllt. Fünf Sekunden nach Beginn der Messung wurden 10 μ l der Arbeitslösung des jeweiligen Induktors in die Küvette pipettiert. Jede Messung wurde doppelt durchgeführt, so dass anschließend Mittelwerte aus zwei Werten ermittelt werden konnten. Die Aggregation wurde jeweils für vier Minuten gemessen. Zielparame-ter war das Maximum der Aggregationskurve im Bereich von 0% bis 100%. Im Folgenden ist ein Beispiel einer Messung der Thrombozytenaggregation dargestellt (Abbildung 3.7). Diese Abbildung zeigt die Aggregationsmessung einer

Plasma-Probe, in welcher die Thrombozyten vor Ende der Messung (240 Sekunden) vollständig, d.h. zu 100% aggregiert waren.

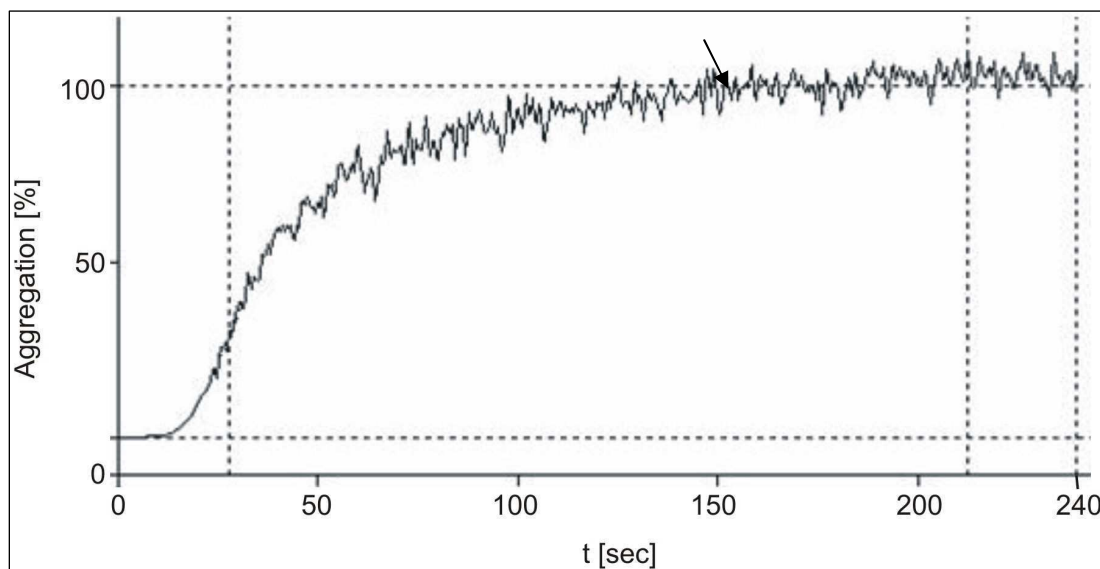


Abbildung 3.7: Zeitlicher Verlauf in [sec] der Thrombozytenaggregation in [%]. In diesem Beispiel waren die Thrombozyten schon vor Ablauf der 240 Sekunden Messzeit zu 100% aggregiert (siehe Pfeil).

Detaillierte Angaben zu verwendeten Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräten befinden sich im Anhang.

3.6.4 Bestimmung von ADMA, SDMA und L-Arginin im Plasma

Die in der Studie angewandte Methode zur Bestimmung des asymmetrischen Dimethylarginins (ADMA) basiert auf dem LC-tandem-MS-Verfahren, das Schwedhelm et al. 2005 beschrieben haben.

Die Plasma-Proben waren bis zur Verarbeitung in 1,5 ml Safe-Lock Tubes bei -20°C tiefgefroren. Nach vorsichtigem Auftauen wurden sie nach folgendem Schema aufgearbeitet: Zunächst wurden 50 μl Plasma mit dem internen Standard versetzt, der aus 50 $\mu\text{mol/L}$ L- $[\text{}^2\text{H}_7]$ -Arginin und 2 $\mu\text{mol/L}$ $[\text{}^2\text{H}_6]$ -ADMA zusammengesetzt war. Weiterhin wurden 100 μl Aceton zur Proteinfällung hinzugegeben. Anschließend wurden die Proben gut gemischt und bei 10.000 rpm für 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Nachfolgend wurde der Überstand in Autosampler-Gefäße überführt und unter Stickstoffgas eingengt. Im nächsten Schritt wurden die Proben mit jeweils 100 μl Butanol, der 1 mol/L HCl enthielt, bei 65°C für 17 Minuten derivatisiert. Nach kurzem Abkühlen wurden die Proben wiederholt unter Stickstoffgas eingengt. Bevor

die Proben in das LC-tandem-MS-Gerät überführt wurden, wurden diese in 1 ml 10-prozentigem Methanol gelöst, wovon jeweils 20 µl auf die Säule gegeben wurden.

Bei der Messung wurden zusätzlich drei unterschiedliche Qualitätskontrollen mitgeführt, die folgende Zusammensetzung aufwiesen: Die Qualitätskontrolle 1 enthielt lediglich reines Plasma. Die Qualitätskontrolle 2 enthielt zusätzlich zum Plasma 0,5 µM ADMA, 0,5 µM SDMA und 50 µM L-Arginin. Die Qualitätskontrolle 3 war aus Plasma, 2 µM ADMA, 2 µM SDMA und 100 µM L-Arginin zusammengesetzt (Schwedhelm et al. 2005).

Die Messungen wurden mit einem Varian 1200L Triple Quadrupol Massenspektrometer durchgeführt, welches mit zwei Varian ProStar HPLC Pumpen (Modell 210) ausgestattet war. Die chromatographische Trennung erfolgte mit Hilfe einer Varian Analysensäule (50 × 2,0 mm I.D.), die mit Polaris C₁₈-Ether (3 µm Körnunggröße) versehen war. Die mobile Phase bestand aus Methanol (mobile Phase A) und Wasser (mobile Phase B), welche jeweils 1 ml/L Ameisensäure enthielten. Die Chromatographie wurde bei einer Temperatur von 25°C und mit einer Flussrate von 0,4 mL/min durchgeführt. Zunächst wurde für 30 Sekunden ein Gradient von 2% A verwendet, der anschließend in einem Zeitraum von 90 Sekunden auf 50% A gesteigert wurde. Nachfolgend wurde der Gradient für 120 Sekunden zurück auf 2% A äquilibriert. Zur Verdampfung und Trocknung wurde Stickstoffgas mit einer Geschwindigkeit von 90 bzw. 180 L/h und einer Temperatur von jeweils 380°C verwendet. Für die Ionisierung im *ESI*+-Modus (positive electrospray ionization modus) wurden Nadel- und Schild-Spannung auf 5850 V bzw. 400 V eingestellt. Folgende Ionen wurden nach Fragmentierung mit Argon (1,5 mTorr) detektiert:

- m/z 231→70 [Kollisionsenergie (CE), -22 eV] für L-Arginin,
- m/z 238→77 (CE, -24 eV) für L-[²H₇]-Arginin,
- m/z 259,3→214 (CE, -16 eV) für ADMA,
- m/z 259,3→228 (CE, -14 eV) für SDMA,
- m/z 265,3→220 (CE, -16 eV) für [²H₆]-ADMA

Alle genannten Verbindungen wurden als Butylester gemessen.

Für die Aufstellung einer Standardkurve wurden drei verschiedene Substanzen (L-Arginin, ADMA und SDMA) in sechs verschiedenen Konzentrationen (0, 25, 50, 250, 500 µmol/L für L-Arginin; 0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 µmol/L für ADMA bzw. SDMA) verwendet. Die Eichsubstanzen wurden analog zu den Plasmaproben aufgearbeitet (siehe unten). Die lineare Regressionsanalyse der Peak-Flächen Verhältnisse (LC-MS; y) und Verhältnisse der zugegebenen Eichsubstanz (x) ergaben Folgendes:

- $y=0,919x - 0,0086$ ($r^2 = 0.999$) für Arginin,
- $y=1,189x - 0,023$ ($r^2 = 0.997$) für ADMA,
- $y=3,539x$ ($r^2 = 0.995$) für SDMA.

Die untere Detektionsgrenze war als ein Signal zu Hintergrundrauschen von 3:1 definiert. Sie betrug 45 nmol/L für L-Arginin, 3 nmol/L für ADMA und 2 nmol/L für SDMA.

Nachfolgend ist die Auswertung der Chromatogramme dargestellt. Hierfür wurde ein Programm namens „Mass Spectrometry Workstation“ der Firma Varian verwendet. Für jede der fünf gemessenen Substanzen war, wie unten abgebildet, ein entsprechendes Chromatogramm vorhanden. Die Messung erfolgte jeweils über einen Zeitraum von 30 Sekunden.

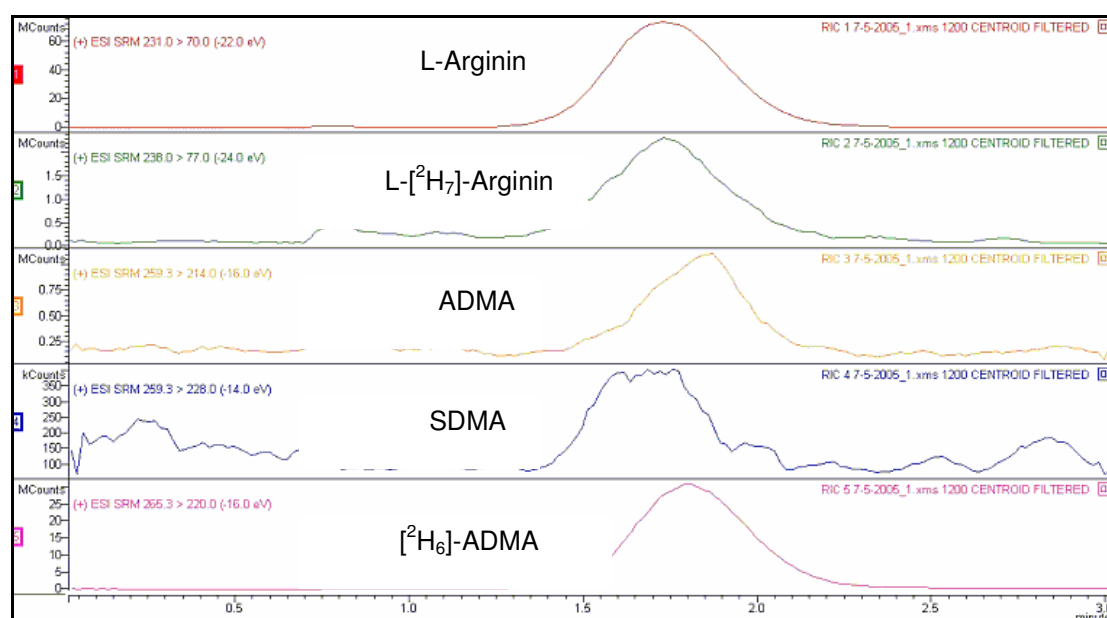


Abbildung 3.8: Beispiel der LC-tandem-MS-Chromatogramme der folgenden Substanzen: L-Arginin, L-[²H₇]-Arginin, ADMA, SDMA und [²H₆]-ADMA.

Für die Auswertung dieser Rohdaten wurden zunächst die Flächen unterhalb der Peaks der einzelnen Kurven berechnet. Dies ist in Abbildung 3.9 beispielhaft für das Chromatogramm für L-Arginin dargestellt.



Abbildung 3.9: LC-tandem-MS-Chromatogramm für L-Arginin. Mit Hilfe des Programms „Mass Spectrometry Work Station“ wurde die Fläche unterhalb des Peaks der Kurve bestimmt.

Im nächsten Schritt der Datenauswertung wurden die Quotienten der Flächen von L-Arginin/L-[²H₇]-Arginin, ADMA/[²H₆]-ADMA bzw. SDMA/[²H₆]-ADMA gebildet. Um diese Quotienten an die jeweiligen Standardkurven anzugleichen, wurden diese mit einem weiteren Quotienten (Standard-Menge/Steigung des Graphen) multipliziert.

Detaillierte Angaben zu verwendeten Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräten befinden sich im Anhang.

3.6.5. Bestimmung von 8-Isoprostaglandin F_{2α} im Urin

Das 8-Isoprostan F_{2α} (8-iso-PGF_{2α}) wurde anhand des GC/MS-Verfahrens bestimmt. Die in der Studie angewandte Methode basiert auf dem Verfahren, das Tsikas et al. 2003 beschrieben haben.

Die Urinproben wurden in Polypropylen-Behältern gesammelt, die jeweils 1 mM EDTA enthielten. Der Urin wurde bis zur Verarbeitung in 5 ml-Aliquots bei -20°C verwahrt. Bei der Aufbereitung der Aliquots wurden zunächst 20 µl des internen Standards (0,25 ng/µL 8-iso-PGF_{2α}-d₄) hinzugefügt, so dass eine Konzentration von 1 ng/ml vorhanden war. Anschließend wurden die Proben für fünf Minuten bei 2000 rpm zentrifugiert und auf die Säule gegeben. Danach wurde die 4-ml IAC-Säule mit 2 ml Säulenpuffer sowie 2 ml destilliertem Wasser gewaschen. Nachfolgend wurde die Säule mit 2 ml einer Lösung aus 95% absolutem Ethanol und 5% destilliertem Wasser in 4 ml Polypropylen-Röhrchen eluiert. Die Elutionslösung wurde im Anschluss unter Stickstoff bis zu 0,3-0,5 ml eingeeengt und in saubere Glasgefäße (Spitzvials) überführt, in denen die Kristallisierung unter Stickstoffgas abgeschlossen wurde. Der Rückstand wurde mit 100 µl Acetonitril, 10 µl Methanol, 10 µl Hünigbase und 10 µl PFB-Bromid (33%ig in Acetonitril) versetzt. Nachdem die Proben für eine Stunde bei 30°C inkubiert wurden, wurden sie erneut bis zur Kristallisierung unter Stickstoffgas getrocknet. Zuletzt wurden die Rückstände mit jeweils 100 µl BSTFA versetzt und für eine Stunde bei 60°C inkubiert. Die Proben wurden in Autosampler-Gefäßen bis zur Messung bei 4°C gelagert. Für nachfolgende Proben wurde die Säule mit 5 ml destilliertem Wasser und 5 ml Säulenpuffer regeneriert. Um die Säule vor Austrocknung zu schützen, wurde sie bei 4°C in 2 ml Säulenpuffer gelagert (Tsikas et al. 2003).

Für die Messung von 8-iso-PGF_{2α} wurde ein Quadrupol Massenspektrometer 1200 (Varian) verwendet, das mit einem Varian Gaschromatographen (CP-3800) verbunden war. Die chromatographische Trennung erfolgte über eine 30m × 0,25mm

(Länge × Durchmesser) Factor-Four 5MS Kapillarsäule (0,25µm Filmdicke). Als Trägergas diente Helium mit einem konstanten Fluss von 1 ml/min. Die Säule wurde zunächst für zwei Minuten auf 70°C gehalten. Anschließend wurde die Säulentemperatur mit 25°C/min auf 280°C und weiter mit 5°C/min auf 325°C erhöht.

Die Temperatur des Injektors lag zum Zeitpunkt der Injektion bei 150°C und wurde anschließend mit 200°C/min auf 300°C erhöht. Das Injektionsvolumen betrug 2,0 µl im „split/splitless“-Modus. Die Temperatur von „transfer line“ und Ionenquelle wurden konstant gehalten (300°C bzw. 170°C). Die Ionisierungsenergie betrug 70 eV und der Elektronenstrom 150 µA. Zur chemischen Ionisation an der Ionenquelle wurde Methan benutzt. Zur Detektion der Ionen wurde der „electron-multiplier“ auf eine Spannung von 1,4 kV gesetzt.

8-iso-PGF_{2α} und sein interner Standard [²H]₄8-iso-PGF_{2α} wurden bei einem „m/z-ratio“ von 573,4 im SIM-Modus (single ion monitoring) quantifiziert.

Der für die Messung verwendete Säulenpuffer war aus folgenden Substanzen zusammengesetzt:

- 1 l destilliertes Wasser
- 29,2 g Natriumchlorid
- 0,5 Natriumazid
- 3,22 g Kaliumhydrogenphosphat
- 17,4 g Di-Kaliumhydrogenphosphat-Trihydrat

Im ersten Schritt der Auswertung der Chromatogramme für 8-iso-PGF_{2α}-d₄ und 8-iso-PGF_{2α}-d₀ wurden die Flächen unterhalb der Peaks berechnet (siehe Auswertung der LC-tandem-MS-Chromatogramme in Kapitel 3.6.4). Nachfolgend wurde der Quotient aus den Flächen von 8-iso-PGF_{2α}-d₀ und 8-iso-PGF_{2α}-d₄ gebildet ($d_{0,4} = d_0/d_4$). Um den Quotienten $d_{0,4}$ an die Nierenfunktion des jeweiligen Probanden anzupassen, wurde dieser schließlich zur Kreatinin-Konzentration ins Verhältnis gesetzt ($d_{0,4}/\text{Kreatinin-Konzentration}$).

Detaillierte Angaben zu verwendeten Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräten befinden sich im Anhang.

3.6.6. Laborparameter

Für die Analyse von den Laborparametern wurden für jeden Visitenabschnitt eine EDTA-Monovette (7,5ml Vollblut) und eine Serum-Monovette (10 ml Vollblut) in ein

kommerzielles Labor („Arndt und Partner“ in Hamburg) geschickt. Die folgenden Parameter wurden dort durch zertifizierte Methoden ermittelt:

- Klinisches Routinelabor
- Großes Blutbild
- Kreatinin, Cholesterin (LDL, HDL), Triglyceride, Harnsäure, Glucose
- hsCRP

3.7. Statistik

Als Grundlage der Fallzahlplanung dienten vorangegangene Studien zur Messung der Endothelfunktion nach Nahrungsaufnahme. Beispielsweise benötigten Van Oostrom et al. (2003) lediglich acht Probanden, um eine signifikante Änderung der Endothelfunktion nach Nahrungsaufnahme zu zeigen. Esposito et al. (2002) konnten mit 25 Probanden Unterschiede nachweisen.

Zielparameter für die statistische Berechnung war der Vergleich der intraindividuellen Änderung der Endothelfunktion zwischen dem Menü I und dem Menü III in einem ungepaarten zweiseitigen t-Test. Als Grundlage zur Berechnung der Fallzahl wurde eine Formel von Norman/Streiner (2000) herangezogen. Da im Rahmen von Mahlzeiten mit einer größeren Standardabweichung des Zielparameters, als beispielsweise unter endothelwirksamen Medikamenten, gerechnet wird, wurde der klinisch relevante Unterschied mit 40% angesetzt. Erwartete man eine endothelabhängige Vasodilatation von 10% (mit einer Standardabweichung von 2,0-4,5%) für ein $p < 0,05$ und eine Power $\geq 0,8$, dann lag die Fallzahl bei 8-27 Fällen pro Gruppe.

Unter Berücksichtigung der statistischen Berechnung sowie den Fallzahlen vorangegangener Studien, wurde die Anzahl der Probanden auf 24 festgelegt. Als zusätzliche Grundlage für die Fallzahlplanung diente das Protokoll zur Endothelfunktionsmessung von Corretti et al. (2002), das eine Fallzahl von 20 bis 30 Probanden vorschlug.

Alle Daten wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft. Bei Normalverteilung wurden die Variablen als arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung oder als Medianwert mit 25% und 75%-iger Perzentile angegeben. Für Vergleiche wurden sowohl parametrische (t-Test) als auch nicht-parametrische Tests (zweiseitiger Mann-Whitney-U and Kruskal-Wallis-H) verwendet. Soweit nicht anders angegeben, wurden diese Daten ebenfalls als Mittelwert \pm

Standardabweichung oder Medianwert mit 25% und 75%-iger Perzentile angegeben. Kategoriale Variablen wurden entweder mittels χ^2 -Test oder mit dem exakten Test nach Fisher verglichen. Die Korrelationsanalysen wurden nach Pearsons oder Spearman durchgeführt.

Die Effekte der Menüs wurden anhand des „Generellen Linearen Modells“ (GLM) berechnet. Es wurden wiederholte Messungen für die einzelnen Menü-Gruppen (3 Level) und die verschiedenen Messzeitpunkte (2-3 Level) durchgeführt. Die Vergleiche wurden für die Differenzen zwischen den Menü-Gruppen, den Messzeitpunkten und die jeweiligen Interaktionen angegeben. Bei Verletzung der Sphäritätsannahme wurde die Huynh-Feldt Korrektur verwendet. Konnten die GLM-Analysen einen signifikanten Effekt aufweisen ($p < 0,05$), so wurden die einzelnen Menü-Gruppen paarweise miteinander verglichen (Bonferroni korrigiert). Um den Effekt der einzelnen Menüs zu errechnen, wurde das GLM-Modell für jede einzelne Menü-Gruppe und für alle Messzeitpunkte als fester Faktor berechnet. Für das GLM wurden die Parameter mit einer extrem schiefen Verteilung (8-iso-PGF_{2 α} , Triacylglyceride) log-transformiert. Für die Zahl der untersuchten GLM-Analysen wurde keine Korrektur des Typ I Fehlers vorgenommen. Ein p-Wert von $p < 0,05$ (zweiseitig) wurde als statistisch signifikant betrachtet. Alle Berechnungen wurden mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 12.0) durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1. Demographische Variablen

An der Studie nahmen im Zeitraum von September bis November 2004 insgesamt 24 gesunde Probanden im Alter zwischen 20 und 62 Jahren teil (Tabelle 4.1). Das Kollektiv bestand aus vierzehn Frauen und zehn Männern. Der Altersdurchschnitt \pm Standardabweichung betrug 32 ± 11 Jahre, die Größe $175,3 \pm 8,9$ cm und das Gewicht $73,7 \pm 17,0$ kg. Aus Größen- und Gewichtsangaben wurde ein durchschnittlicher Body Mass Index (BMI) von $24,00 \pm 5,5$ kg/m² errechnet.

Die Probanden zeigten folgende Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen: Fünf Studienteilnehmer waren Raucher und zwei waren Hypertoniker. Weitere zwei wiesen eine positive Familienanamnese bezüglich kardiovaskulärer Erkrankungen auf. Bei einem Probanden war eine Hypercholesterinämie und Adipositas nachgewiesen. Drei der teilnehmenden Frauen nahmen Östrogen-haltige Kontrazeptiva ein. Weitere zwei Probanden erhielten Schilddrüsenhormone und waren unter der Therapie euthyreot.

Demographische Variablen		Kardiovaskuläre Risikofaktoren	
Alter (Jahre)	32 \pm 11	Nikotinabusus	5
Geschlecht (m--w)	10--14	arterielle Hypertonie	2
Größe (cm)	175,3 \pm 8,9	positive Familienanamnese	2
Gewicht (kg)	73,7 \pm 17,0	Hypercholesterinämie	1
BMI (kg/ m ²)	24,0 \pm 5,5	Adipositas	1

Tabelle 4.1: Demographische Variablen \pm Standardabweichung und kardiovaskuläre Risikofaktoren der 24 Probanden.

Die Parameter des Lipidstoffwechsels waren bei der ersten Visite durchschnittlich im physiologischen Bereich angesiedelt: Die Nüchtern-Cholesterin-Werte lagen bei $175,5 \pm 33,7$ mg/dl (LDL: $95,9 \pm 25,3$ mg/dl), während die Triglycerid-Werte im nüchternen Zustand $72,0$ mg/dl ($52,5$ - $112,8$ mg/dl) betrug. Die Studienteilnehmer waren weder auf Diät noch nahmen sie Vitamin-Präparate ein.

4.2. Endothelfunktion

In Abbildung 4.1 ist der postprandiale Verlauf der endothelabhängigen Vasodilatation grafisch dargestellt. In allen drei Gruppen ist eine deutliche Abnahme der FMD (flow-mediated dilation) nach Nahrungsaufnahme zu erkennen. Ausgehend vom Basalwert handelt es sich bei allen drei Menü-Gruppen um eine statistisch

signifikante Abnahme der 2-Stunden Werte mit $p < 0,001$. Die 4-Stunden Werte zeigten im Vergleich zum Basalwert lediglich in Menü I und II eine statistisch signifikante Abnahme. Der intraindividuelle Vergleich von prä- und postprandialen FMD-Werten im Generellen-Linearen-Modell-Vergleich (GLM-Vergleich) zeigt, dass der Zeitpunkt ($p < 0,001$), jedoch nicht die Art des Menüs ($p = 0,711$) im Zusammenhang mit den FMD-Werten steht.

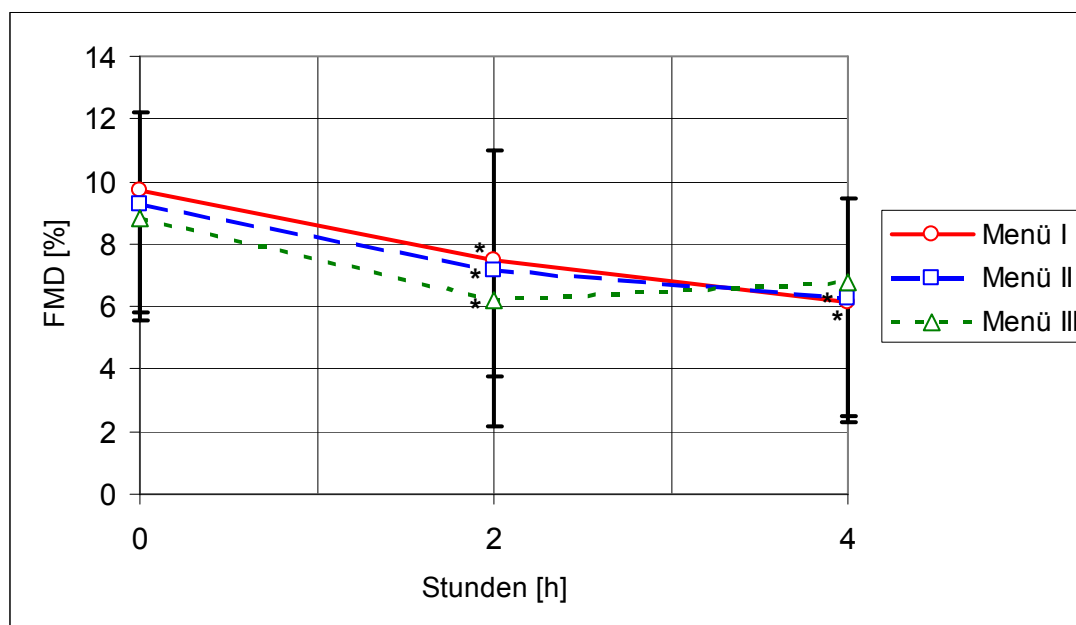


Abbildung 4.1: Postprandialer Verlauf der endothelabhängigen Vasodilatation. Mittelwert \pm Standardabweichung für Menü I in positive und für Menü II sowie III in negative Ausrichtung. (* $p < 0,01$ versus Basalwert)

Wie bereits beschrieben, wurde für die Fallzahlplanung der Vergleich der intraindividuellen Änderung der Endothelfunktion zwischen dem Burger-Menü (Menü I) und dem vegetarischen Salat-Menü (Menü III) gefordert. Vier Stunden nach Nahrungsaufnahme zeigte sich für das Burger-Menü eine Reduktion der Werte um $32,1 \pm 41,9\%$ ($p < 0,001$) und für das vegetarische Salat-Menü eine Reduktion um $13,5 \pm 57,9\%$ ($p = 0,072$). Aus diesen Daten resultierte ein durchschnittlicher intraindividuellem Unterschied zwischen den Menüs von $18,7\%$ (mit 95% Konfidenzintervall von $-9,1$ bis $46,4\%$ und $p = 0,178$), der nicht statistisch signifikant war.

Die nachfolgende Grafik (Abbildung 4.2) zeigt eine geringe, aber dennoch signifikante Zunahme des basalen Durchmessers nach Nahrungsaufnahme. Dieses Phänomen war intraindividuell über alle Mahlzeiten gerechnet signifikant. Außerdem erreichte die Zunahme des basalen Durchmessers sowohl in der Menü-Gruppe I (Burger-Menü; $p < 0,001$) als auch in der Menü-Gruppe III (vegetarisches Salat-Menü; $p < 0,001$), nicht jedoch in Menü-Gruppe II (vegetarisches Burger-Menü) statistische

Signifikanz. Insgesamt war aber die postprandiale Änderung zwischen den einzelnen Mahlzeiten nicht signifikant unterschiedlich ($p=0.148$).

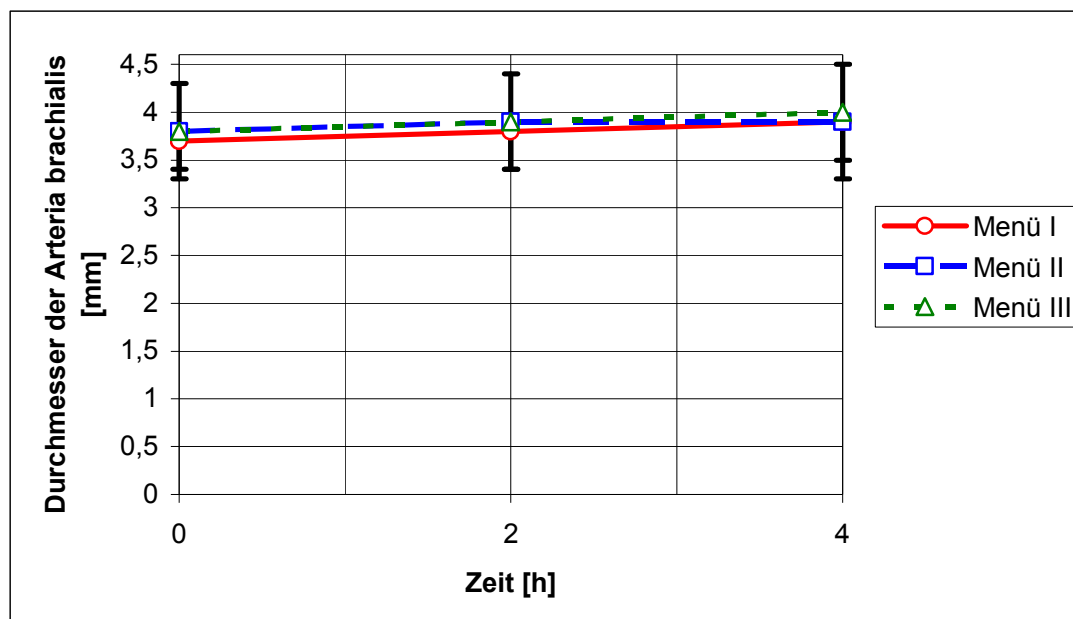


Abbildung 4.2: Postprandiale Änderung des Durchmessers der Arteria brachialis. Mittelwert \pm Standardabweichung für Menü I in positive und für Menü II sowie III in negative Ausrichtung.

4.3. Thrombozytenaggregation

Tabelle 4.2 zeigt den postprandialen Verlauf der Thrombozytenaggregation, die durch U-46619 (Prostaglandin H_2 /Thromboxan A_2 -Rezeptoragonist) induziert wurde. Im zeitlichen Verlauf der Thrombozytenaggregation wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt ($p > 0,05$ versus Basalwert).

Menü	Messpunkt (Stunden)	Induktor: U-46619 (%)
I	0	93,58 \pm 14,26
	2	97,56 \pm 4,38
	4	95,42 \pm 6,58
II	0	94,45 \pm 7,92
	2	97,23 \pm 6,80
	4	94,92 \pm 11,31
III	0	95,00 \pm 7,57
	2	94,19 \pm 10,14
	4	95,96 \pm 9,35

Tabelle 4.2: Prä- und postprandiale Aggregationswerte \pm Standardabweichung.

4.4. Oxidativer Stress

In der nachfolgenden Tabelle sind die prä- und postprandialen Messpunkte der Parameter ADMA, L-Arginin und 8-Isoprostan $F_{2\alpha}$ abgebildet. Im postprandialen Verlauf des endogenen NOS-Inhibitors ADMA waren in allen drei Menü-Gruppen keine statistisch signifikanten Änderungen nachzuweisen. Demgegenüber wurde sowohl für L-Arginin als auch für das L-Arginin/ADMA-Verhältnis ein statistisch signifikanter Anstieg nach Einnahme von Menü I und III beobachtet. Die Analyse der renalen 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion zeigte eine beträchtliche interindividuelle Varianz. Dennoch war die basale individuelle 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion während des Studienverlaufes in allen drei Visiten stabil (alle $r > 0,6$; $\rho > 0,6$; $p < 0,01$ in der individuellen Korrelationsanalyse für die basale 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion an allen drei Studientagen). Im GLM-Vergleich der einzelnen Menü-Gruppen untereinander wurde kein statistisch signifikanter Unterschied registriert ($p = 0,226$). Für alle drei Menü-Gruppen war postprandial ein numerischer Anstieg der renalen 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion zu verzeichnen, der jedoch keine statistische Signifikanz erreichte ($p = 0,067$).

Menü	Messpunkt (Stunden)	ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	L-Arginin ($\mu\text{mol/l}$)	L-Arginin/ADMA	8-Isoprostan $F_{2\alpha}$ (pg/mg Kreatinin)
I	0	0,43 \pm 0,16	79,6 \pm 27,1	196,1 \pm 50,1	191,0 (133,5-308,1)
	2	0,45 \pm 0,12	99,4 \pm 32,1**	226,0 \pm 59,7**	-
	4	0,48 \pm 0,18	115,0 \pm 52,1**	238,7 \pm 75,5**	247,5 (192,3-355,8)
II	0	0,44 \pm 0,13	84,8 \pm 23,9	201,6 \pm 51,4	236,4 (117,7-387,9)
	2	0,42 \pm 0,14	79,1 \pm 19,4	203,2 \pm 62,0	-
	4	0,45 \pm 0,16	82,4 \pm 24,1	195,7 \pm 55,5	258,7 (169,5-417,4)
III	0	0,45 \pm 0,15	93,0 \pm 33,3	208,0 \pm 49,3	215,3 (120,3-374,6)
	2	0,49 \pm 0,18	110,7 \pm 41,0*	230,9 \pm 65,6**	-
	4	0,45 \pm 0,14	95,7 \pm 28,6	222,7 \pm 68,2	340,1 (206,8-399,6)

Tabelle 4.3: Prä- und postprandiale Werte \pm Standardabweichung für ADMA, L-Arginin, das L-Arginin/ADMA-Verhältnis sowie 8-Isoprostan $F_{2\alpha}$. (* $p < 0,05$ versus Basalwert; ** $p < 0,01$ versus Basalwert)

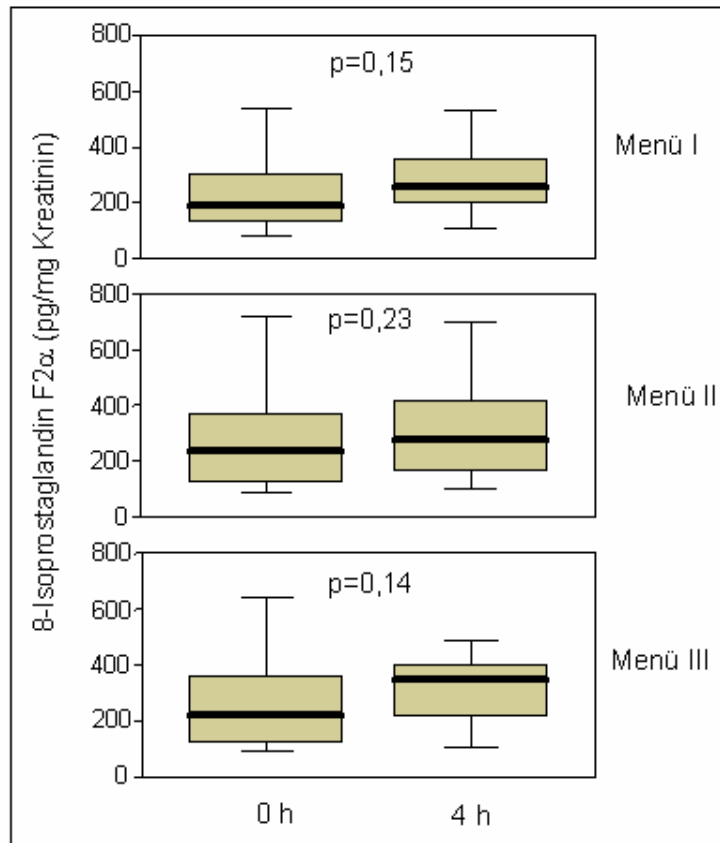


Abbildung 4.3: Postprandialer Verlauf der 8-Isoprostaglandin F_{2α}-Konzentration. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile und Extremwerte.

4.5. Serumlipide

Sowohl nach dem Burger-Menü als auch nach den beiden vegetarischen Menüs fand sich ein deutlicher postprandialer Anstieg der Triglyceride. In Abbildung 4.3 ist dies grafisch dargestellt. Ausgehend vom Basalwert handelt es sich in allen drei Gruppen sowohl für die 2-Stunden-Werte als auch für die 4-Stunden Werte um einen signifikanten Anstieg ($p < 0,001$). Die intraindividuellen Unterschiede zwischen den 2- und 4-Stunden-Werten sind in allen drei Menü-Gruppen ebenfalls statistisch signifikant (Menü I: $p = 0,001$; Menü II: $p = 0,024$; Menü III: $p = 0,026$). Im Gegensatz dazu sind im GLM-Vergleich der drei Mahlzeiten untereinander keine statistisch signifikanten Unterschiede ($p = 0,851$) feststellbar.

In Tabelle 4.3 sind die prä- und postprandialen Werte für HDL-, LDL- und Gesamt-Cholesterin gezeigt. Im postprandialen Verlauf der drei Menü-Gruppen finden sich bezüglich der basalen Werte weder für LDL- und HDL-Cholesterin noch für das Gesamt-Cholesterin statistisch signifikante Änderungen.

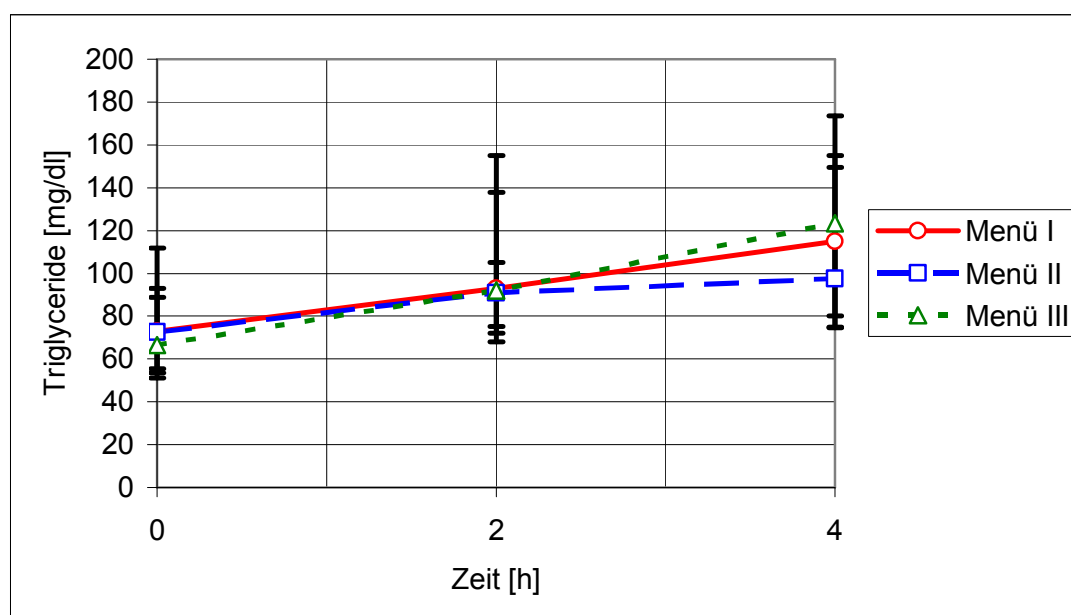


Abbildung 4.4: Postprandialer Verlauf der Triglycerid-Konzentration. Mittelwert \pm Interquartil-Range.

Menü	Messpunkt (Stunden)	Gesamt-Cholesterin (mg/dl)	LDL-Cholesterin (mg/dl)	HDL-Cholesterin (mg/dl)
I	0	169,9 \pm 30,9	91,6 \pm 23,3	63,1 \pm 12,5
	2	169,5 \pm 33,0	87,6 \pm 21,3	62,4 \pm 12,2
	4	168,3 \pm 31,4	83,3 \pm 21,7	60,6 \pm 12,6
II	0	170,6 \pm 30,9	93,2 \pm 24,7	61,6 \pm 11,6
	2	169,7 \pm 29,7	87,3 \pm 25,0	60,8 \pm 12,3
	4	166,9 \pm 27,3	84,4 \pm 22,0	57,9 \pm 15,1
III	0	170,4 \pm 30,8	91,8 \pm 22,8	61,3 \pm 11,9
	2	170,2 \pm 30,3	86,0 \pm 25,6	60,9 \pm 12,7
	4	170,5 \pm 30,6	82,2 \pm 21,2	59,8 \pm 12,2

Tabelle 4.4: Prä- und postprandiale Werte \pm Standardabweichung für HDL-, LDL- und Gesamt-Cholesterin.

4.6. Entzündungszellen

In Abbildung 4.5 ist der postprandiale Verlauf der Monozyten-Zahl dargestellt. In allen drei Menü-Gruppen ist ausgehend vom Basalwert für beide postprandiale Zeitpunkte jeweils ein statistisch signifikanter Anstieg mit $p < 0,05$ nachweisbar.

Grafik 4.6 zeigt einen postprandialen Anstieg der Konzentration der neutrophilen Granulozyten. Bezogen auf den Basalwert lässt sich sowohl für die 2-Stunden als auch für die 4-Stunden Werte in allen drei Gruppen ein statistisch signifikanter Anstieg mit $p < 0,05$ versus Basalwert nachweisen. Allerdings unterschieden sich die postprandialen Veränderungen von Monozyten und neutrophilen Granulozyten zwischen den drei Mahlzeiten nicht signifikant (alle $p > 0,05$).

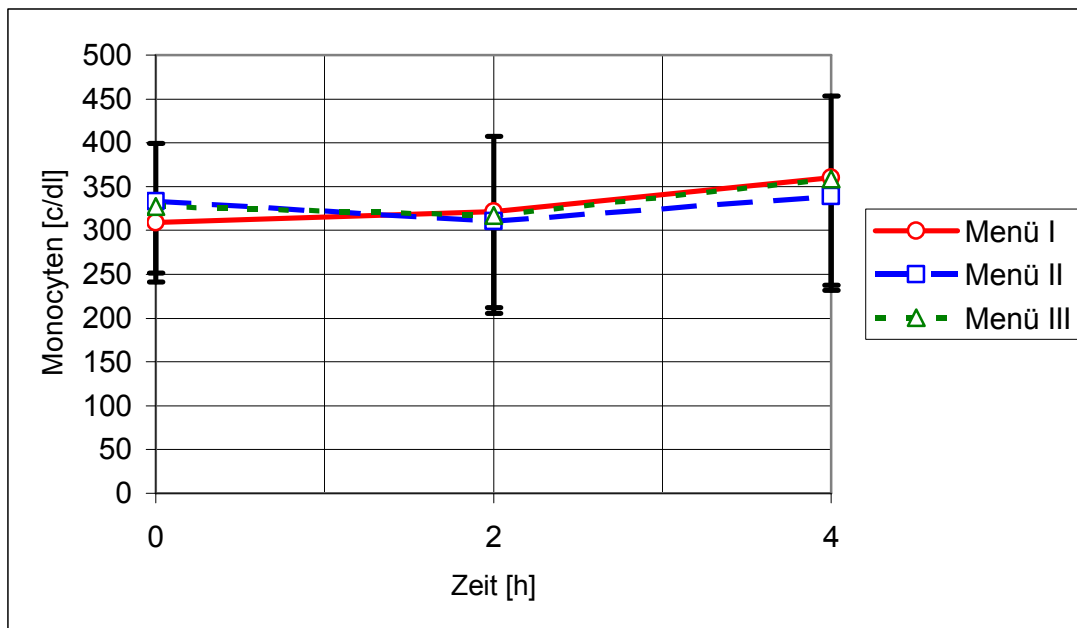


Abbildung 4.5: Postprandialer Verlauf der Konzentration der Monozyten. Mittelwert \pm Standardabweichung für Menü I in positive und für Menü II sowie III in negative Ausrichtung.

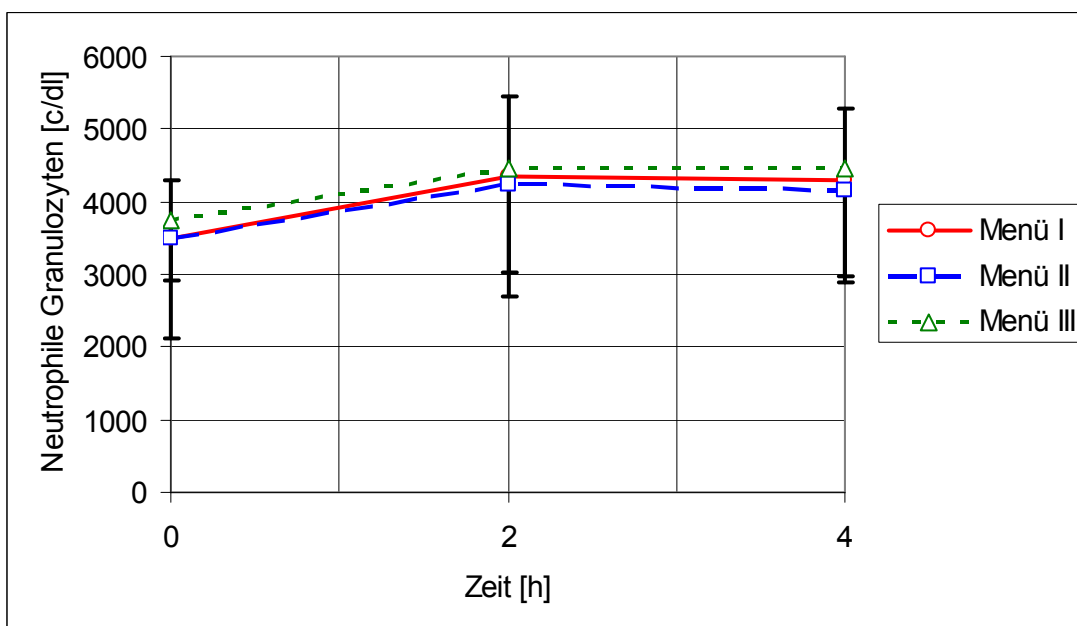


Abbildung 4.6: Postprandialer Verlauf der Konzentration der neutrophilen Granulozyten. Mittelwert \pm Standardabweichung für Menü I in positive und für Menü II sowie III in negative Ausrichtung.

4.7. Hochsensitives CRP und Glucose

Bei der Analyse von Glucose und hsCRP (hochsensitives CRP) zeigen sich folgende Ergebnisse: Für das hsCRP sind im Verlauf der einzelnen Menü-Gruppen keine statistisch signifikanten Differenzen nachweisbar. Im postprandialen Verlauf der Glucose-Werte lässt sich lediglich bei dem vegetarischen Burger-Menü (Menü II) ein statistisch signifikanter Anstieg vom Ausgangswert auf den 2-Stunden Wert feststellen.

Menü	Messpunkt (Stunden)	hochsensitives CRP (mg/l)	Glucose (mg/dl)
I	0	1,48±1,34	78,7±10,1
	2	1,46±1,20	83,2±21,2
	4	1,42±1,18	79,7±12,8
II	0	3,25±7,48	80,1±9,9
	2	2,99±6,45	93,9±27,7*
	4	2,86±5,89	83,4±15,6
III	0	1,58±1,52	80,1±10,3
	2	1,53±1,48	86,7±19,1
	4	1,53±1,44	80,8±16,0

Tabelle 4.5: Prä- und postprandiale Werte ± Standardabweichung für hsCRP und Glucose. (* p< 0,05 versus Basalwert)

4.8. Hämodynamische Parameter

In Tabelle 4.5 sind die prä- und postprandialen Daten der Blutdruckwerte und der Pulsrate dargestellt. In allen drei Menü-Gruppen zeigte sich zwei Stunden nach Nahrungsaufnahme ein signifikanter Anstieg der Pulsrate (Menü I: p=0,013; Menü II: p=0,001; Menü III: p=0,004). Signifikante Unterschiede zwischen den Mahlzeiten fanden sich dabei nicht (p=0,378).

Die diastolischen und die systolischen Blutdruckwerte zeigten im postprandialen Verlauf keine statistisch signifikanten Veränderungen.

Menü	Messpunkt (Stunden)	systolischer Blutdruck (mmHg)	diastolischer Blutdruck (mmHg)	Pulsrate (min ⁻¹)
I	0	116±17	73±8	66±8
	2	116±14	72±10	70±18*
	4	115±14	72±7	64±16
II	0	114±16	74±10	64±10
	2	116±14	70±9	71±11*
	4	114±17	73±10	67±11
III	0	119±20	73±12	62±17
	2	119±14	72±11	72±11*
	4	115±15	74±11	67±11

Tabelle 4.6: Prä- und postprandiale Werte ± Standardabweichung des Blutdrucks und der Pulsrate. (* p< 0,05 versus Basalwert)

4.9. Korrelationsanalyse

In den vorangegangenen Abschnitten wurden die postprandialen Verläufe der untersuchten Parameter dargestellt und beschrieben. Besonders auffallend war die Abnahme der Endothelfunktion (einer der Hauptparameter) nach Nahrungsaufnahme in allen drei Menü-Gruppen. Um einen möglichen Mechanismus für diese Beobachtung zu diskutieren, wurden Korrelationsanalysen zwischen FMD bzw. dem basalen Arterienradius und FMD-beeinflussenden Parametern durchgeführt (Tabellen 4.7 und 4.8).

Zwischen der Endothelfunktion und FMD-beeinflussenden Parametern konnten keine Korrelationen ermittelt werden, wohingegen zwischen basalem Arterienradius und FMD-beeinflussenden Parametern zwei relevante Assoziationen gefunden wurden: Zum einen zeichnete sich eine schwache, statistisch aber stabile Korrelation zwischen dem basalen Arterienradius und dem L-Arginin/ADMA-Verhältnis ab. Zum anderen zeigte sich in der Korrelationsanalyse eine geringfügige negative Abhängigkeit zwischen dem basalen Arterienradius und der 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion im Urin ($r=-0,389$; $p=0,001$).

	FMD					
	Basalwerte		2h		4h	
	r/rho	p	r/rho	p	r/rho	p
8-Iso $F_{2\alpha}$	-0,091	0,460	-	-	0,144	0,228
Harnsäure	-0,074	0,536	0,047	0,697	-0,271	0,021
Glukose	-0,004	0,972	-0,135	0,266	-0,134	0,262
Triglyceride	-0,206	0,082	-0,032	0,792	-0,030	0,801
L-Arginin	0,125	0,297	-0,008	0,946	0,171	0,150
ADMA	0,035	0,770	-0,169	0,155	0,152	0,201
L-Arginin/ADMA	0,083	0,492	0,137	0,251	-0,040	0,739

Tabelle 4.7: Korrelationsanalyse zwischen Werten der Endothelfunktion und FMD-beeinflussenden Parametern, 8-Iso $F_{2\alpha}$ = 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$.

	basaler Arterienradius					
	Basalwerte		2h		4h	
	r/rho	p	r/rho	p	r/rho	p
8-Iso $F_{2\alpha}$	-0,389	0,001	-	-	-0,145	0,225
Harnsäure	-0,013	0,914	0,001	0,996	0,043	0,719
Glucose	-0,310	0,008	-0,139	0,247	0,147	0,218
Triglyceride	0,123	0,100	0,039	0,745	0,159	0,183
L-Arginin	0,163	0,175	0,175	0,142	0,042	0,728
ADMA	-0,096	0,424	-0,072	0,550	-0,159	0,183
L-Arginin/ADMA	0,362	0,002	0,343	0,003	0,327	0,005

Tabelle 4.8: Korrelationsanalyse zwischen den Werten des basalen Arterienradius und FMD-beeinflussenden Parametern; 8-Iso $F_{2\alpha}$ = 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$.

5. Diskussion

Wesentliche Ergebnisse der vorliegenden Studie sind:

1. Die Endothelfunktion verschlechterte sich postprandial nach allen drei Menüs.
2. Weder vegetarische noch vitaminreiche Fast Food Varianten konnten die Abnahme der Endothelfunktion verhindern.
3. Die Parameter des oxidativen Stresses zeigten nach allen drei Menüs keine signifikanten Änderungen.

Das wichtigste Ergebnis unserer Untersuchungen ist die Beobachtung, dass es nach der Einnahme von allen drei Menüs zu einer signifikanten Abnahme der Endothelfunktion kam. Entgegen unseren Erwartungen ergaben unsere Untersuchungen jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Menü-Gruppen. Das bedeutet, dass sowohl herkömmliche als auch vegetarische bzw. vitaminreiche Varianten die flussinduzierte Vasodilatation verschlechtern. Somit führen die gesunden Fast Food Alternativen zumindest akut zu einer Verschlechterung des kardiovaskulären Profils. Dieses Ergebnis steht nicht nur in Kontrast zu unseren Erwartungen, sondern auch zu bisherigen wissenschaftlichen Untersuchungen. Beispielsweise zeigten Plotnick et al. (1997), dass die akute postprandiale Verschlechterung der FMD durch Vitamin-Ergänzung verhindert werden konnte.

Bei der Interpretation dieser Daten muss eine weitere Beobachtung berücksichtigt werden: Unsere Untersuchungen zeigen eine geringe, aber dennoch signifikante Zunahme des basalen Gefäßdurchmessers nach Nahrungsaufnahme, während der absolute Wert der flussinduzierten Vasodilatation konstant bleibt. Dies könnte bedeuten, dass die postprandiale Zunahme des basalen Gefäßdurchmessers eine Verschlechterung der Endothelfunktion lediglich vortäuscht. Die Arbeitsgruppen um Gokce (2001) und Raitakari (2000) haben in ihren Studien bezüglich der Endothelfunktionsmessung das gleiche Phänomen beschrieben. Demgegenüber stehen Untersuchungen, in denen keine Zunahme des basalen Gefäßdurchmessers beschrieben wurde (Vogel et al. 1997; Nicholls et al. 2006). In vielen anderen Studien, die die Endothelfunktion untersuchten, wurden die basalen Gefäßdurchmesser ganz außer Acht gelassen. Jedoch muss in diesem Zusammenhang berücksichtigt werden, dass die postprandiale Zunahme des basalen Durchmessers nur gering war. Das bedeutet wiederum, dass die postprandiale Abnahme der flussinduzierten Vasodilatation nicht ausschließlich durch die Zunahme des basalen Gefäßdurchmessers erklärt werden kann.

In den vergangenen Jahren wurden etliche Studien durchgeführt, die den Zusammenhang zwischen endothelialer Dysfunktion und Hyperlipidämie untersuchten. So berichteten beispielsweise Lundmann et al., dass es nach Injektion einer Triglycerid-Emulsion zu einem signifikanten Anstieg der Serum-Triglyceride kam. Diese Hypertriglyceridämie korrelierte negativ mit einer signifikanten Abnahme der endothelabhängigen Vasodilatation (Lundmann et al. 1997). Die Arbeitsgruppe um Vogel führte auf diesem Gebiet Untersuchungen durch, die der Realität der postprandialen Hypertriglyceridämie näher kamen als die Versuche der Arbeitsgruppe um Lundmann. In einer klinischen Studie konnten sie zeigen, dass die Einnahme einer sehr fettreichen Mahlzeit zu einem signifikanten Anstieg der Triglycerid-Werte im Serum und zur Abnahme der Endothelfunktion führte. Auch Vogel et al. beobachteten eine negative Korrelation zwischen postprandialer Hypertriglyceridämie und endothelialer Dysfunktion (Vogel et al. 1997). Die Arbeitsgruppe um Steer ging mit ihren Untersuchungen noch einen Schritt weiter. Die Probanden ihrer klinischen Studie nahmen an drei unterschiedlichen Untersuchungstagen jeweils eines von drei Menüs mit unterschiedlichem Fettanteil zu sich. Die Untersuchungen zeigten, dass ein Zusammenhang zwischen Fettgehalt des Menüs und dem Ausmaß der endothelialen Dysfunktion besteht: Je höher der Fettanteil der Mahlzeit, desto schlechtere Werte wurden für die Endothelfunktion gemessen. Die Einnahme eines Menüs mit besonders geringem Fettanteil führte sogar zu einer Verbesserung der Endothelfunktion (Steer et al. 2003). In unserer Studie beobachteten wir in allen drei Menü-Gruppen einen deutlichen postprandialen Anstieg der Triglyceride. Im GLM-Vergleich der drei Gruppen untereinander waren jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellbar. Die Tatsache, dass die Triglycerid-Werte nach Einnahme Menüs III in gleichem Maße anstiegen, kann durch den hohen Anteil an Kohlenhydraten (insbesondere Fructose) in Gemüse und Früchten erklärt werden. Bestimmte Kohlenhydrate führen ebenso wie Triglyceride zu einer postprandialen Hypertriglyceridämie. Der nächste Schritt unserer Untersuchung war die Korrelationsanalyse zwischen der postprandialen Hypertriglyceridämie und der Abnahme der Endothelfunktion. Im Gegensatz zu den oben genannten Studien konnten wir keine signifikante Korrelation finden. Die Interpretation unserer Daten führt folglich zu der Annahme, dass eine Verschlechterung der Endothelfunktion unabhängig von der Triglycerid-Konzentration im Plasma ist. Die Arbeitsgruppen um Williams (1999) und Chowienczyk (1997) kamen ebenfalls zu dieser Schlussfolgerung, da auch sie in ihren Studien keine Korrelation zwischen den beiden Parametern fanden. Steinberg et al. (1997) untersuchten wie Lundmann et al. (1997) den akuten Einfluss einer Lipid-Injektion auf das Gefäßsystem und den Lipidstatus. Sie konnten ebenfalls

keinen Zusammenhang zwischen der postprandialen endothelialen Dysfunktion und Hypertriglyceridämie messen. Allerdings konnten sie eine negative Korrelation zwischen der Abnahme der Endothelfunktion und eine erhöhte Konzentration der freien Fettsäuren feststellen. Diese Beobachtung kann von uns allerdings nicht verifiziert werden, da wir die Konzentration der freien Fettsäuren in unserer Studie nicht bestimmt haben.

Als weitere Ursache für die postprandiale Abnahme der Endothelfunktion wurde in den vergangenen Jahren der so genannte oxidative Stress diskutiert. 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ wurde bereits als Parameter des oxidativen Stresses vorgestellt. Des Weiteren wurde einleitend dargestellt, dass Antioxidantien die renale 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion senken können. Beispielsweise zeigten Plotnick et al. (1997), dass die Verschlechterung der Endothelfunktion nach Einnahme eines fettreichen Menüs durch die zusätzliche Gabe von Antioxidantien (Vitamin C und E) verhindert wurde. Jedoch zeigten unsere Untersuchungen im GLM-Vergleich keine statistisch signifikanten Unterschiede in den postprandialen Verläufen der renalen 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion. Es war zwar für alle drei Menü-Gruppen ein postprandialer Anstieg der renalen 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion zu verzeichnen, jedoch erreichte dieser Anstieg für alle drei Menü-Gruppen keine statistische Signifikanz. Somit stehen unsere Ergebnisse im Kontrast zu Studien, in denen durch die Applikation von Antioxidantien die renale 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion gesenkt bzw. ein Abfall der FMD verhindert wurde. Jedoch muss in diesem Zusammenhang die Tatsache berücksichtigt werden, dass in den vorangehenden Untersuchungen den Probanden pharmakologische, sprich sehr hohe Vitamin-Dosen bzw. physiologische, d.h. geringere Dosen über einen längeren Zeitraum verabreicht wurden. So applizierten Levine et al. Patienten mit Koronarer Herzkrankheit eine Dosis von 2g Vitamin C, um einen Anstieg der flussinduzierten Vasodilatation zu zeigen (Levine et al. 1996). Plotnick et al. (1997) verwendeten mit 1g Vitamin C ebenfalls eine vergleichsweise hohe Dosis, wohingegen wir in unserer Studie den Probanden eine "physiologische" Menge von 200 mg in Form von Obst und Gemüse verabreichten. In den Untersuchungen von Sánchez-Moreno et al. (2003) nahmen die Probanden Orangensaft mit hohem Vitamin C-Gehalt bzw. eine Gemüsesuppe über einen Zeitraum von zwei Wochen ein. Anschließend konnte jeweils eine statistisch signifikant geringere renale 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion gemessen werden (Sánchez-Moreno et al. 2003/2004). Bei den Untersuchungen von Engler et al. (2003) und Huang et al. (2003) handelte sich ebenfalls um Applikationen von Vitamin-Präparaten über einen längeren Zeitraum. Zusammenfassend konnten wir im Vergleich zu Studien, die pharmakologischen Dosen bzw. physiologische Dosen über einen längeren Zeitraum applizierten, die renale 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -

Exkretion durch eine einzige physiologische Vitamin-Dosis in Form von Obst und Gemüse nicht senken. Jedoch muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass es keine genauen Angaben gibt, zu welchem postprandialen Zeitpunkt die maximale renale 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion gemessen werden kann. Da wir nur einen einzigen Messpunkt gewählt haben, wurde vermutlich nicht das komplette Ausmaß der renalen 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion erfasst.

Im Gegensatz zu bisherigen Untersuchungen (Fard et al. 2000) konnten wir keinen postprandialen Anstieg der Plasma-ADMA-Konzentration feststellen. Wir fanden auch keinen unterschiedlichen Einfluss der Mahlzeiten auf die Plasma-Konzentration von asymmetrischem Dimethylarginin. Es wurde bereits beschrieben, dass die Anwesenheit der klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren mit erhöhten Plasma-ADMA-Konzentrationen assoziiert ist. Verschiedene Arbeitsgruppen konnten zudem zeigen, dass erhöhte ADMA-Konzentrationen im Plasma mit einer Abnahme der Endothelfunktion einhergehen. Beispielsweise fanden Böger et al. (1998) bei Patienten mit Hypercholesterinämie statistisch signifikant höhere Plasma-ADMA-Konzentrationen, die wiederum mit einer Verschlechterung der Endothelfunktion assoziiert waren. Durch Applikation von L-Arginin konnte dieser Effekt rückgängig gemacht werden (Böger et al. 1998). In weiteren Studien wurde der Zusammenhang zwischen bestimmten Nahrungssubstanzen und ADMA-Konzentrationen untersucht. So beobachteten Fard et al. (2000), dass die Einnahme von unnatürlich fettreichen Mahlzeiten zu einer signifikanten postprandialen Erhöhung der ADMA-Plasmakonzentrationen führt. Ferner konnten wir in der Korrelationsanalyse keinen Zusammenhang zwischen ADMA-Konzentration und der Endothelfunktion bzw. dem basalen Gefäßdurchmesser finden. Als Erklärung für unsere Ergebnisse können verschiedene Gegebenheiten in Betracht gezogen werden: Es handelte sich bei unseren Probanden um junge und gesunde Menschen mit sehr geringen basalen Plasma-ADMA-Konzentrationen. Experimentelle Untersuchungen zeigten, dass ADMA die NO-Produktion in einem Konzentrationsbereich zwischen 2-15 $\mu\text{mol/l}$ hemmt (Cardounel et al. 2007). In unseren Untersuchungen waren sowohl die basalen als auch die postprandialen ADMA-Konzentrationen im Plasma geringer als 0,5 $\mu\text{mol/l}$. Im nächsten Schritt stellt sich jedoch die Frage, warum wir keinen postprandialen Anstieg der ADMA-Konzentration messen konnten. Es wurde bereits dargestellt, dass Fard et al. (2000) nach der Einnahme einer unnatürlich fettreichen Mahlzeit eine akute Erhöhung der ADMA-Konzentration im Plasma feststellte. Gleichzeitig untersuchte dieselbe Arbeitsgruppe den postprandialen Verlauf eines Menüs mit geringerem Fettanteil. Die Daten zeigen in diesem Fall keinen postprandialen Anstieg der ADMA-Konzentration. Leider geht aus dem Studienprotokoll von Fard et al. nicht hervor, wie hoch der Fettanteil dieses zweiten

Menüs war. Der Anteil des fettreichen Menüs war jedoch zwei bis drei Mal so hoch wie in denen von uns untersuchten Menüs. Aus diesen Beobachtungen ließe sich schlussfolgern, dass die Höhe des Fettgehalts mit dem postprandialen Anstieg der ADMA-Konzentration korrelieren könnte.

Neben ADMA, das als Analogon von L-Arginin die NO-Synthese hemmt, haben wir zusätzlich die L-Arginin-Konzentrationen im Plasma gemessen. L-Arginin dient bei der NO-Synthese als Substrat, bewirkt damit eine Dilatation von Blutgefäßen und außerdem begünstigt eine Supplementation von L-Arginin die Endothelfunktion (Böger 2003). Wir konnten in unseren Untersuchungen im postprandialen Verlauf von Menü I und III einen signifikanten Anstieg der L-Arginin-Konzentration im Plasma feststellen. Für das vegetarische Menü war dieser Effekt nicht signifikant, wobei es sich hier auch um das Menü mit dem geringsten Protein- und somit L-Arginin-Gehalt handelte. Dies war einer der wenigen Parameter für den sich postprandial signifikante Unterschiede zwischen den Mahlzeiten fanden. Des Weiteren bestimmten wir den L-Arginin-ADMA-Quotienten, der als Indikator für die NO-Synthese und somit für die Endothelfunktion postuliert wurde (Bode-Böger et al. 2003). Entsprechend der postprandialen Verläufe der L-Arginin-Konzentrationen konnten wir auch für den L-Arginin-ADMA-Quotienten für das Menü I und III einen postprandialen Anstieg feststellen. Außerdem fanden wir eine Korrelation zwischen dem Anstieg des genannten Quotienten und der Vergrößerung des basalen Gefäßdurchmessers. Allerdings führte die Erhöhung des Quotienten nach keinem der Menüs zu einer Verbesserung der endothelialen Dysfunktion. Somit stimmen unsere Ergebnisse mit denen der Arbeitsgruppe um Walker überein: Nach einer zweiwöchigen Applikation von L-Arginin stellten sie bei ihren Probanden einen Anstieg des L-Arginin-ADMA-Quotienten fest, doch konnten sie ebenso wie wir keine Verbesserung der Endothelfunktion messen (Walker et al. 2001). Möglicherweise ist die Erhöhung des L-Arginin-ADMA-Quotienten nicht ausreichend, um der durch andere Faktoren verursachten postprandialen endothelialen Dysfunktion entgegen zu wirken. Eine zusätzliche Erklärung für diesen überraschenden Befund könnte sich aus der Methodik der Endothelfunktionsmessung an der Arteria brachialis ergeben: Eine Erhöhung des L-Arginin-ADMA-Verhältnisses, die sich in einem physiologischen Rahmen erstreckt, könnte zu einer gesteigerten basalen NO-Bildung führen. Dies könnte wiederum die Ursache für die von uns beobachtete Zunahme des basalen Gefäßdurchmessers sein. Der größere Gefäßdurchmesser geht ebenfalls in die Berechnung der FMD ein und täuscht möglicherweise eine geringere FMD nur vor.

Des Weiteren könnten andere, hier nicht untersuchte Bestandteile der Nahrung die NO-Bildung und somit eine Verbesserung der Endothelfunktion verhindern. Zusammenfassend bedeutet es, dass sich die ADMA-Plasma-Konzentrationen nach alltäglich konsumierten Mahlzeiten nicht akut ändern. Außerdem waren die Erhöhungen der L-Arginin-Konzentrationen im Plasma nicht suffizient, um die postprandiale endotheliale Dysfunktion zu verhindern.

Als weiterer Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen gilt eine gesteigerte Thrombozytenaggregation. Bereits im Jahre 1990 zeigten die Untersuchungen von Trip et al., dass eine Hyperreaktivität der Thrombozyten mit einer erhöhten Mortalitätsrate und einer erhöhten Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen einhergeht. In unseren Untersuchungen induzierten wir die Aggregation in vitro mit einem Prostaglandin H₂/Thromboxan A₂-Rezeptoragonisten (U-46619). Allerdings konnten wir im zeitlichen Verlauf keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Zeitpunkten bzw. zwischen den einzelnen Menügruppen feststellen. In diesem Zusammenhang muss jedoch beachtet werden, dass unsere Daten sowohl für die basalen als auch für die postprandialen Zeitpunkte durchschnittlich in einem Bereich zwischen 90 und 100% Aggregation lagen. Das könnte daraufhin deuten, dass wir zu hohe Konzentrationen des Induktors eingesetzt haben, um eine postprandiale Veränderung messen zu können. Ferner ist darauf zu hinweisen, dass die Datenlage der Studien, die den Einfluss von verschiedenen Nahrungsmitteln auf die Aggregation untersuchen, schwer zu beurteilen ist. Dies liegt zum einen daran, dass die Untersuchungen auf diesem Gebiet entweder mit nur sehr kleinen Probandengruppen oder als Tierversuche durchgeführt wurden. Zum anderen werden sehr verschiedenartige Methoden zur Bestimmung der Thrombozytenaggregation verwendet, so dass sich die Daten der einzelnen Studien nicht ohne weiteres miteinander vergleichen lassen.

Sowohl für die Neutrophilen als auch für die Monozyten konnten wir einen statistisch signifikanten postprandialen Anstieg nachweisen. Allerdings waren im GLM-Vergleich zwischen den drei Menü-Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede zu verzeichnen. Van Oostrom et al. (2003) beobachteten ebenfalls einen postprandialen Anstieg der neutrophilen Granulozyten. Im Gegensatz zu unseren Beobachtungen konnten van Oostrom jedoch für den Verlauf der Monozyten keine statistisch signifikanten Änderungen messen. Allerdings stimmen unsere Beobachtungen mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen überein. Beispielsweise konnten Hyson et al. (2002) ebenfalls einen postprandialen Anstieg der Monozyten-Anzahl nachweisen. Van Oostrom et al. führten auf diesem Gebiet weitere klinische Studien durch: Zum einen konnten sie eine Korrelation zwischen

dem postprandialen Anstieg der Triglyceride und der Erhöhung der neutrophilen Granulozyten zeigen. Ferner konnten sie anhand der Messung von Oberflächenmarkern eine erhöhte postprandiale Aktivierung von Monozyten und Neutrophilen feststellen (Van Oostrom et al. 2004). Somit kamen sie zu der Annahme, dass die postprandiale Erhöhung der Triglyceride im Serum eine mögliche Ursache für eine Erhöhung der Anzahl und Aktivität der Neutrophilen sei. In der Korrelationsanalyse konnten wir jedoch keinen Zusammenhang zwischen einem Anstieg der Triglycerid-Konzentration und der gleichzeitigen Erhöhung der neutrophilen Granulozyten feststellen.

In unseren Untersuchungen sind für den Entzündungsparameter hsCRP im postprandialen Verlauf der einzelnen Menü-Gruppen keine statistisch signifikanten Differenzen nachweisbar. Jedoch zeigten Carroll et al. (2003), dass die CRP-Werte nach einem fettreichen Menü statistisch signifikant anstiegen. Allerdings stimmte das Menü in seiner Zusammensetzung nicht mit den von uns untersuchten Menüs überein. Vor allem der Fettgehalt des Menüs, das die Arbeitsgruppe um Carroll wählte (70g), war weitaus höher als in unseren Menüs (33 bzw. 49g). Ferner ist anzumerken, dass die CRP-Werte erst sechs bis zwölf Stunden nach einer akuten Infektion ihr Maximum erreichen. Da es sich bei den Mahlzeiten vermutlich um einen schwächeren Stimulus gehandelt hat, wird es noch schwieriger sein, akute Veränderungen innerhalb von zwei bis vier Stunden zu messen. Carroll et al. beobachteten in der gleichen Studie einen weiteren Effekt: Die postprandiale Erhöhung der CRP-Werte konnte durch die zusätzliche Applikation von 800 IU Vitamin E und 1g Vitamin C verhindert werden (Carroll et al. 2003). Da wir im Verlauf der Menü-Gruppen mit geringem Vitamingehalt keine Änderungen der CRP-Werte feststellen konnten, war es nicht möglich zu prüfen, ob ein Vitaminreiches Menü diesen Effekt ändern kann. Weiterhin bleibt anzumerken, dass Carroll et al. (2003) weitaus höhere bzw. pharmakologische Vitamindosen verwendeten, um einen Anstieg der postprandialen CRP-Werte zu verhindern.

Als weiteren Parameter der Atherogenese untersuchten wir das Serum-Cholesterin. Wie erwartet konnten wir keine postprandialen Änderungen feststellen. Unsere Ergebnisse decken sich somit mit den Beobachtungen anderer Studien, die ebenfalls wie wir die akuten Auswirkungen von bestimmten Nahrungsmitteln untersuchten (Vogel et al. 1997; Steer et al. 2003). Folglich werden die Cholesterin-Werte nicht akut durch die Einnahme eines einzelnen Menüs beeinflusst und können aus diesem Grunde nicht für die Abnahme der Endothelfunktion in Betracht gezogen werden.

Bezüglich der Glucose-Werte konnten wir wie erwartet nach zwei Stunden einen postprandialen Anstieg messen. Jedoch handelte es sich lediglich bei dem Menü mit

dem höchsten Anteil an Kohlenhydraten (vegetarisches Burger-Menü) um einen statistisch signifikanten Anstieg.

Zusammenfassend ergeben unsere Untersuchungen, dass sich herkömmliches Fast Food und vegetarische Alternativen in ihren akuten Wirkungen auf das kardiovaskuläre Risikoprofil wider Erwarten sehr ähneln.

6. Zusammenfassung

Der Konsum von Schnellgerichten (Fast Food) hat in den letzten Jahrzehnten drastisch zugenommen. Zahlreiche Studien weisen darauf hin, dass klassische Fast Food Mahlzeiten einen negativen Effekt auf die Gefäßfunktion haben. Entsprechend werden zunehmend vegetarische Fast Food Gerichte bzw. Mahlzeiten mit vitaminreicheren Beilagen angeboten. Die akuten Folgen dieser vermeintlich gesünderen Alternativen auf die Gefäßfunktion und auf kardiovaskuläre Risikomarker sind bisher kaum bekannt. Aus diesem Grunde wurden in der „Hamburger Burger Studie“ bei 24 gesunden Probanden die akuten Auswirkungen von drei verschiedenen Fast Food Mahlzeiten auf folgende kardiovaskuläre Risikofaktoren untersucht: Endothelfunktion, Thrombozytenaggregation, ADMA und 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$. Die randomisierte Studie wurde im „Cross-Over-Design“ durchgeführt. Als Menüs wurden gewählt: ein herkömmliches Fast Food Menü, eine vegetarische Alternative und eine Fast Food Variante mit hohem Vitamingehalt.

Nach der Einnahme aller drei Menüs konnte eine statistisch signifikante Abnahme der Endothelfunktion beobachtet werden. Weiterhin wurde eine geringe postprandiale Zunahme des basalen Gefäßdurchmessers verzeichnet, welche in die Berechnung der Endothelfunktion eingeht. Diese Beobachtung lässt die Vermutung zu, dass die postprandiale Abnahme der Endothelfunktion teils durch die Zunahme des Gefäßdurchmessers verursacht wird, kann sie aber nicht mit Sicherheit erklären.

Die L-Arginin-Konzentration und der L-Arginin-ADMA-Quotient stiegen im postprandialen Verlauf an. Außerdem korrelierte der Anstieg des Quotienten mit der Vergrößerung des basalen Gefäßdurchmessers. Dies könnte bedeuten, dass eine Erhöhung des L-Arginin-ADMA-Verhältnisses zu einer vermehrten NO-Bildung und somit zu einer Zunahme des basalen Gefäßdurchmessers führt. Weiterhin konnte für die Neutrophilen-, Monozyten- und Triglycerid-Konzentrationen ein statistisch signifikanter postprandialer Anstieg nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu konnte für die renale Ausscheidung von 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ kein signifikanter postprandialer Anstieg gezeigt werden. Gleiches gilt für die Thrombozytenaggregation, Serum-Cholesterin, hsCRP und den Blutdruck.

Insgesamt lassen die Untersuchungen der „Hamburger Burger Studie“ die nachstehenden Schlussfolgerungen zu: Wider Erwarten haben herkömmliches Fast Food und vermeintlich gesündere Alternativen sehr ähnliche Auswirkungen auf die Endothelfunktion und auf das kardiovaskuläre Risikoprofil. Antioxidantienreiche Beilagen scheinen weder die Endothelfunktion noch die 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ -Exkretion in klinisch relevanter Weise zu beeinflussen.

7. Literaturverzeichnis

- Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P (1995) The effect of Cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 332:488-493
- Bode-Böger SM, Muke J, Surdacki A, Brabant G, Böger RH, Frölich JC (2003) Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years. *Vasc Med* 8(2):77-81
- Böger RH (2003) The discovery of a new cardiovascular risk factor. Inhibition of endothelial NO synthase by asymmetric dimethylarginine. *Arzneimittel-Therapie-Kritik* 2:371-374
- Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP (1998) Asymmetric dimethylarginine (ADMA): A novel risk factor for endothelial dysfunction. Its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 98:1842-1847
- Bowman SA, Gortmaker SL, Ebbeling CB, Pereira MA, Ludwig DS (2004) Effects of fast-food consumption on energy intake and diet quality among children in a national household survey. *Pediatrics* 113:112-118
- Bowman SA, Vinyard BT (2004) Fast food consumption of U.S. Adults: Impact on energy and nutrient intakes and overweight status. *J Am Coll Nutr* 23(2):163-168
- Cardounel AJ, Cui H, Samouilov A, Johnson W, Kearns P, Tsai AL, Berka V, Zweier JL (2007) Evidence for the Pathophysiological Role of Endogenous Methylarginines in Regulation of Endothelial NO Production and Vascular Function. *J Biol Chem* 282(2):879-887
- Carroll MF, Schade DS (2003) Timing of Antioxidant Vitamin Ingestion Alters Postprandial Proatherogenic Serum Markers. *Circulation* 2003;108:24
- Corretti M, Anderson T, Benjamin E, Celermajer D, Charbonneau F, Creager M, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R (2002) Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 39(2): 257-260
- Chowienczyk PJ, Watts GF, Wierzbicki AS, Cockcroft JR, Brett SE, Ritter JM (1997) Preserved endothelial function in patients with severe hypertriglyceridemia and low functional lipoprotein lipase activity. *J Am Coll Cardiol* 29:964–968

- Daniels EG, Krüger WC, Kupiecki FP, Pike JE, Schneider WP (1968) Isolation and characterization of a new prostaglandin isomer. *J Am Chem Soc* 90:5894
- Duden (1997) *Das Fremdwörterbuch*. Bibliographisches Institut & F.A. Brockhaus AG 5:256
- Engler MM, Engler MB, Malloy MJ, Chiu EY, Schloetter MC, Paul SM, Stuehlinger M, Lin KY, Cooke JP, Morrow JD, Ridker PM, Rifai N, Miller E, Witztum JL, Mietus-Snyder M (2003) Antioxidant vitamins C and E improve endothelial function in children with hyperlipidemia: Endothelial Assessment of Risk from Lipids in Youth. (EARLY) Trial. *Circulation* 108(9):1059-63.
- Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, D'Armiento M, D'Andrea F, Giugliano D (2004) Effect of a Mediterranean-Style Diet on Endothelial Dysfunction and Markers of Vascular Inflammation in the Metabolic Syndrome. *JAMA* 292:1440-1446
- Esposito K, Nappo F, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Giugliano D (2003) Effect of dietary antioxidants on postprandial endothelial dysfunction induced by a high-fat meal in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 77:139-143
- Fard A, Tuck CH, Donis JA, Sciacca R, Di Tullio MR, Wu HD, Bryant TA, Chen NT, Torres-Tamayo M, Ramasamy R, Berglund L, Ginsberg HN, Homma S, Cannon PJ (2000) Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:2039-2044
- Furchgott RF, Zawadzki JV (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288:373-376
- Gaenzer H, Sturm W, Neumayr G, Kirchmair R, Ebenbichler C, Ritsch A, Foger B, Weiss G, Patsch JR (2001) Pronounced postprandial lipemia impairs endothelium-dependent dilation of the brachial artery in men. *Cardiovasc Res* 52(3):509-516
- Gokce N, Duffy SJ, Hunter LM, Keaney JF, Vita JA (2001) Acute Hypertriglyceridemia is associated with peripheral vasodilation and increased basal flow in healthy young adults. *Am J Cardiol* 88:153-159
- Guthrie JF, Lin BH, Frazao E (2002) Role of food prepared away from home in the American diet, 1977-78 versus 1994-96: changes and consequences. *J Nutr Educ Behav* 34 (3):140-150

- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM (1997) Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: the European Concerted Action Project. *JAMA* 277:1775-1781
- Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T (2001) Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 104:2673-2678
- Horn F, Lindenmeier G, Moc I, Grillhösl C, Berghold S, Schneider N, Münster B (2002) *Biochemie des Menschen*. 1. Auflage, Thieme Stuttgart New York, S.414
- Huang HY, Appel LJ, Croft KD, Miller ER, Mori TA, Puddey IB (2002) Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: results of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 76(3):549-555
- Hyson DA, Paglieroni TG, Wun T, Rutledge JC (2002) Monocyte Activation and Increased Monocyte Cytokine Expression in Normolipemic Men. *Clin Appl Thromb Hemost* 8(2):147-155
- Keevil JG, Osman HE, Reed JD, Folts JD (2000) Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. *J Nutr* 130:53-56
- Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keaney JF, Vita JA (1996) Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 93:1107-1113
- de Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N (1999) Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: Final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 99:779-785
- Lundmann P, Eriksson M, Schenk-Gustafsson K, Karpe F, Tornvall P (1997) Transient triglyceridemia decreases vascular reactivity in young, healthy men without risk factors for coronary heart disease. *Circulation* 96:3266-3268
- Lundmann P, Eriksson, Stuhlinger M, Cooke JP, Hamsten A, Tornvall P (2001) Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol*. 38(1):111-116
- Modena MG, Bonetti L, Coppi F, Bursi F, Rossi R (2002) Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 40:505-510
- Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ (1990) A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by

- a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci* 87:9383-9387
- Morrow JD, Roberts LJ (1991) Quantification of noncyclooxygenase derived prostanoids as a marker of oxidative stress. *Free Radical Biol Med* 10:195-200
 - Nicholls SJ, Lundman P, Harmer JA, Cutri B, Griffiths KA, Rye KA, Barter PJ, Celermajer DS (2006) Consumption of saturated fat impairs the anti-inflammatory properties of high-density lipoproteins and endothelial function. *J Am Coll Cardiol* 48(4):715-720.
 - Nielsen SJ, Siega-Riz AM, Popkin BM (2002) Trends in energy intake in U.S. between 1977 and 1996: Similar shifts seen across age groups. *Obes Res* 10(5):370-378
 - Nordoy A, Lagarde M, Renaud S (1984) Platelets during alimentary hyperlipaemia induced by cream and cod liver oil. *Eur J Clin Invest* 14:339-345
 - Norman GR, Streiner DL (2000) *Biostatistics: The Bare Essentials*. 2. Auflage, Hamilton Ontario, S.89-93
 - Oh K, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Willett WC (2005) Dietary Fat Intake and Risk of Coronary Heart Disease in Women: 20 Years of Follow-up of the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 161(7):672-9
 - Oostrom Van AJ, Sijmonsma TP, Verseyden C, Jansen EH, de Koning EJ, Rabelink TJ, Castro Cabezas M (2003) Postprandial recruitment of neutrophils may contribute to endothelial dysfunction. *J Lipid Res* 44(3):576-583
 - Oostrom Van AJ, Rabelink TJ, Verseyden C, Sijmonsma TP, Plokker HW, De Jaegere PP, Cabezas MC (2004) Activation of leukocytes by postprandial lipemia in healthy volunteers. *Atherosclerosis* 177(1):175-182
 - Paeratakul S, Ferdinand D, Champagne C, Ryan D, Bray G (2003) Fast-food consumption among US adults and children: Dietary and nutrient intake profile. *JADA* 103(10):1332-1338
 - Pereira MA, Kartashov AI, Ebbeling CB, Van Horn L, Slattery ML, Jacobs DR, Ludwig DS (2005) Fast-food habits, weight gain, and insulin resistance (the cardia study): 15-year prospective analysis. *Lancet* 365:36-42
 - Plotnick GD, Corretti MC, Vogel A (1997) Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal. *JAMA* 278(20):1682-1686

- Pryor WA, Stanley JP, Blair E (1976) Autooxidation of polyunsaturated fatty acids: A suggested mechanism for the formation of TBA-reactive materials from prostaglandin-like endoperoxides. *Lipids* 11:370-379
- Radomski MW, Palmer RMJ, & Moncada S (1990) An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci* 87:5193-7
- Raitakari OT, Lai N, Griffiths K, McCredie R, Sullivan D, Celermajer DS (2000) Enhanced peripheral vasodilation in humans after a fatty meal. *J Am Coll Cardiol* 36(2):417-422
- Roberts LJ 2nd, Moore KP, Zackert WE, Oates JA, Morrow JD (1996) Identification of the major urinary metabolite of the F2-isoprostane 8-iso-prostaglandin F_{2α} in humans. *J Biol Chem* 271(34):20617-20620
- Sánchez-Moreno C, Cano MP, Ancos B, Plaza L, Olmedilla B, Granado F, Martín A (2003) High-pressurized orange juice consumption affects plasma vitamin C, antioxidative status and inflammatory markers in healthy humans. *J Nutr* 133:2204-2209
- Sánchez-Moreno C, Cano MP, Ancos B, Plaza L, Olmedilla B, Granado F, Martín A (2004) Consumption of high-pressurized vegetable soup increases plasma vitamin C and decreases oxidative stress and inflammatory biomarkers in healthy humans. *J Nutr* 134(11):3021-3025
- Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM (2000) Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 101:1899-1906
- Schmidt RF, Thews G, Lang I (2001) *Physiologie des Menschen*. 28. Auflage, Springer, Hamburg Heidelberg New York, S.426-429
- Schwedhelm E (2000) Isoprostane und 3-Nitrotyrosin als neue Indexparameter des oxidativen Stresses in vivo: Analytik, Bildung, Metabolismus und biologische Bedeutung, Chem. Dissertation. Universität Hannover
- Schwedhelm E, Bartling A, Lenzen H Tsikas D, Maas R, Brümmer J, Gutzki FM, Berger J, Frölich JC, Böger RH (2004) Urinary 8-iso-prostaglandin F_{2α} as a risk marker in patients with coronary heart disease: a matched case-control study. *Circulation* 109: 843–848
- Schwedhelm E, Tan-Andresen J, Maas R, Riederer U, Schulze F, Böger RH (2005) Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for analysis of asymmetric dimethylarginine in human plasma. *Clin Chem* 51: 1268-1271

- Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode-Boeger SM, Kruszelnicka-Kwiatkowska O, Kokot F, Dubiel JS, Froelich JC (1999) Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 33(4):652-658
- Steer P, Sarabi DM, Karlström B, Basu S, Berne C, Vessby B, Lind L (2003) The effect of a mixed meal on endothelium-dependent vasodilation is dependent on fat content in healthy humans. *Clin Sci* 105:81-87
- Steinberg HO, Tarshoby M, Monestel R, Hook G, Cronin J, Johnson A, Bayazeed B, Baron AD (1997) Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Invest* 100:1230–1239
- Stühlinger MC, Oka RK, Graf EE, Schmölzner I, Upson BM, Kapoor O, Szuba A, Malinow MR, Wascher TC, Pachinger O, Cooke JP (2003) Endothelial dysfunction induced by homocysteinemia. Role of Asymmetric Dimethylarginine. *Circulation* 108:933-938
- Stühlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS (2002) Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 287:1420-1426
- Trip MD, Cats VM, van Capelle FJ, Vreken J (1990) Platelet hyperreactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1990; 322(22):1549-1554
- Tsikas D, Schwedhelm E, Suchy MT, Niemann J, Gutzki FM, Erpenbeck VJ, Hohlfeld JM, Surdacki A, Frölich JC (2003) Divergence in urinary 8-iso-PGF_{2α} (iPF_{2α}-III, 15-F_{2t}-IsoP) levels from gas chromatography-tandem mass spectrometry quantification after thin layer chromatography and immunoaffinity column chromatography reveals heterogeneity of 8-iso-PGF_{2α}. Possible methodological, mechanistic and clinical implications. *J Chromatogr B* 794: 237- 255
- Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, Laaksonen R (2001) Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 358:2127-2128
- Vallance P (1992) Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339:572-575
- Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD (1997) Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol* 79:350-354
- Walker HA, McGing E, Fisher I, Böger RH, Bode-Böger SM, Jackson G, Ritter JM, Chowienczyk PJ (2001) Endothelium-dependent vasodilation is

independent of the plasma L-arginine/ADMA ratio in men with stable angina: lack of effect of oral L-arginine on endothelial function, oxidative stress and exercise performance. *J Am Coll Cardiol* 38(2):499-505.

- Williams MJ, Sutherland WH, Mc Cornick MP, de Jong SA, Walker RJ, Wilkins GT (1999) Impaired endothelial function following a meal rich in used cooking fat. *J Am Coll Cardio* 33(4):1050-1055
- Yusuf S, Hawken S, Ôunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L (2004) Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (Interheart-Study). *Lancet* 364:937-952

8. Danksagung

Ein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. R. H. Böger, Leiter der Arbeitsgruppe Klinische Pharmakologie, am Institut für Experimentelle Pharmakologie Hamburg-Eppendorf, der mir es ermöglichte, die Dissertationsarbeit erstellen zu können.

Ausdrücklich bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. med. T. Rudolph und Herrn Dr. med. R. Maas für die Bereitstellung des Themas. Durch ihre hohe fachliche Kompetenz und exzellente Betreuung waren sie mir bei allen Fragestellungen eine hervorragende Hilfe.

Ein ganz herzlicher Dank gebührt A. Steenpaas, E. Silberhorn, M. Kastner und J. Tan-Andresen für ihre hervorragende Einweisung in das Arbeiten im Labor und ihre steten Hilfestellungen während der gesamten Laborarbeit.

Herrn Dr. rer. nat. E. Schwedhelm danke ich für seine Hilfe bei der Messung von ADMA und 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ mittels Massenspektrometrie.

Schließlich möchte ich mich bei meinen Eltern und Brüdern, Florian Brodersen, Swantje Gustafsson und bei allen Mitarbeitern des Instituts für Klinische Pharmakologie bedanken, an die ich mich stets mit Fragen und Anliegen wenden konnte.

9. Lebenslauf

Der Lebenslauf entfällt aus datenschutztechnischen Gründen.

10. Anhang

10.1. Verbrauchsmaterial/ Geräte

- **Aggregometer** „Labor APACT“: LAbor GmbH (Ahrensburg, BRD)
- **Autosampler:** CC- Chromatographie Service GmbH, (Langerwehe, BRD)
- **Blutdruckmessgerät** Typ Tycos: Welch Allyn (Arden, USA)
- **Micro-Küvetten mit Rührfisch** (1,0 x 4,0): Biochemica (Flacht, BRD)
- **Nitrolingual-Nitroglycerin-Spray:** Pohl-Boskamp (Hohenlockstedt, BRD)
- **4ml/ 5 ml Polypropylen- Röhrchen:** Greiner (Frickenhausen, BRD)
- **Pulse Trace- Gerät:** Micro Medical Limited, (Rochester, GB)
- **1,5 ml Safe-Lock Tubes:** Eppendorf, Hamburg (BRD)
- **S-Monovetten:** Sartstedt, Nümbrecht (BRD)
- **Sonografiegerät:** Siemens (München, BRD)
- **Spitzvials:** CC- Chromatographie Service GmbH, Langerwehe (BRD)
- **Gaschromatograph** (CP-3800): Varian (Darmstadt, BRD)
- **Ultraschallkontaktgel:** Caeser & Loretz (Hilden, BRD)
- **Varian 1200L Triple Quadrupol Massenspektrometer:** Varian (Darmstadt, BRD)
- **Varian ProStar HPLC Pumpe** (Modell 210): Varian (Darmstadt, BRD)
- **Varian Analysensäule** (50 x 2,0 mm I.D.): Varian (Darmstadt, BRD)
- **S-VHS- Videogerät** Typ NVHS 830: Panasonic (Hamburg, BRD)
- **S-VHS-Videokassetten:** Fuji (Kleve, BRD)
- **Zentrifuge** „Centrifuge 5415 R“: Eppendorf, (Hamburg, BRD)
- **Zentrifuge** „Rotina 35 R“: Hettich Zentrifugen (Tuttlingen, BRD)

10.2. Computerprogramme

- **Brachial Analyzer** (Version 4.1.3) Medical imaging applications LLC (Iowa, USA)
- **Mass Spectrometry Workstation**

- (MS Data Review Version 6.3) Varian (Darmstadt, BRD)
- **SPSS** (Version 12.0) SPSS (München, BRD)
- **Vascular Imager** (Version 4.1.3) Medical imaging applications LLC (Iowa, USA)

10.3. Anhang: Chemikalien/Gase

- **Aceton:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **Acetonitril:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **[²H₆]-ADMA:** Herstellung in Arbeitsgemeinschaft
- **Ameisensäure:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **Argon:** Linde (Hannover, BRD)
- **BSTFA:** Perbio (Rockford, USA)
- **Butanol:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **Di-Kaliumhydrogenphosphat-Trihydrat:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **EDTA** Sigma (Deisenhofen, BRD)
- **Ethanol:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **Factor-Four 5MS Kapillarsäule:** Varian (Darmstadt, BRD)
- **Helium:** Linde (Hannover, BRD)
- **Hünigbase:** Sigma (Deisenhofen, BRD)
- **4-ml IAC- Säule:** Cayman Chemical Company (Estonia)
- **8-iso-PGF_{2α}-d₄:** Cayman Chemical Company (Estonia)
- **Kaliumhydrogenphosphat:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **L-[²H₇]-Arginin:** Eurisotop (Darmstadt, BRD)
- **Methan:** Linde (Hannover, BRD)
- **Methanol:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **Natriumazid:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **Natriumchlorid:** Merck (Darmstadt, BRD)
- **PFB-Bromid:** Sigma (Deisenhofen, BRD)
- **Polaris C₁₈- Ether:** Varian (Darmstadt, BRD)
- **SDMA:** Sigma (Deisenhofen, BRD)
- **U-46619:** Cayman Chemical Company (Estonia)
- **Wasserstoffchlorid (HCL):** Merck (Darmstadt, BRD)

10.4. Abkürzungen

- **ADMA:** asymmetrisches Dimethylarginin
- **ADP:** Adenosindiphosphat
- **BMI:** Body Mass Index
- **BSTFA:** bis-N,O-trimethylsilyl trifluoroacetamide
- **DDAH:** Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase
- **EDTA:** Ethylendiamintetraacetat
- **eNOS:** endotheliale NO-Synthase
- **HDL:** high density lipoprotein
- **GLM-Vergleich:** General-Linear-Model-Vergleich
- **HPLC:** high performance liquid chromatography
- **GC/MS:** Gaschromatographie/ Massenspektrometrie
- **hsCRP:** hochsensitives C-reaktives Protein
- **FMD:** flow-mediated vasodilation
- **4-ml IAC- Säule:** Isoprostan Affinity Column:
- **IU:** international units
- **8-iso-PGF_{2α}:** 8-Isoprostaglandin F_{2α}
- **KI:** Konfidenzintervall
- **KHK:** Koronarer Herzkrankheit
- **LC/MS** Liquidchromatographie/ Massenspektrometrie
- **LDL:** low density lipoprotein
- **L-NMMA:** Mono-Methylarginin
- **NO:** Stickstoffmonoxid
- **PFB-Bromid:** Pentafluorobenzyl-Bromid
- **SDMA:** symmetrisches Dimethylarginin
- **SRM-Modus:** selected reaction monitoring
- **vWF:** von-Willebrand-Faktor

10.5. Veröffentlichte wissenschaftliche Arbeit

- Tanja K Rudolph, Kaike Ruempler, Edzard Schwedhelm, Jing Tan-Andresen, Ulrich Riederer, Rainer H Böger, Renke Maas (2007) Acute effects of various fast-food meals on vascular function and cardiovascular disease risk markers: the Hamburg Burger Trial. Am J Clin Nutr 86:334–40

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Kaike Janna Schorsch

Hamburg, 22.11.2010