

Diplomarbeit

**Antioxidantien und ihre Rolle bei der Bekämpfung  
von altersbedingtem oxidativem Stress**

eingereicht von

**Michaela Thiel**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde**

**(Dr<sup>in</sup>. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt am

**Lehrstuhl für Molekularbiologie und Biochemie**

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Mag.pharm. Dr.rer.nat. Wolfgang Graier

Graz, 17.11.2024

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass, sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI) Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und den Vorgaben meiner Universität erfolgte, sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.

Graz, am 17.11.2024

Michaela Thiel eh.

## Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, allen Personen meinen herzlichen Dank auszusprechen, die mich bei der Erstellung dieser Diplomarbeit unterstützt haben und mir während des gesamten Studiums eine große Stütze waren.

Zunächst gilt mein großer Dank Univ.-Prof. Mag,pharm. Dr.rer.nat. Wolfgang Graier, der mich durch seine fachkundige Betreuung stark unterstützt hat und dessen wertvolle Ratschläge mir von unschätzbarem Wert waren. Die zahlreichen Anregungen und motivierenden Worte bei jeder einzelnen Besprechung haben mir stets viel Motivation geschenkt. Vielen Dank für die ausgezeichnete Betreuung bei der Erstellung meiner Diplomarbeit.

Ich bedanke mich außerdem bei Frau MA Majcenovic, die eine unkomplizierte und schnelle Kommunikation ermöglicht hat.

Ein besonderer Dank gilt außerdem meiner wundervollen Familie. Ich danke insbesondere meinen Eltern, die mir nicht nur bei der Erstellung meiner Diplomarbeit eine maßlose emotionale Stütze waren, sondern auch während der gesamten Studienzeit uneingeschränkt an mich geglaubt haben. Sie haben mir eine unbeschwerte Zeit ohne größere Sorgen ermöglicht und mich grenzenlos unterstützt. Außerdem danke ich meinen wunderbaren Geschwistern Stephan und Regina, die mir auch in den schwierigsten Phasen stets zur Seite standen. Ohne euch allen wären die Hürden des Studiums kaum zu überwinden gewesen. Vielen, vielen Dank für eure unermüdliche Unterstützung.

## Zusammenfassung

Als häufigste Todesursache beider Geschlechter weltweit sind kardiovaskuläre Erkrankungen in ihrer Genese oft auf altersassoziierten oxidativen Stress und die daraus resultierenden vaskulären, zellulären, humoralen und immunologischen Veränderungen zurückzuführen. Diese führen zu degenerativen Modifikationen, insbesondere zur Arteriosklerose, die wiederum meist die Hauptursache für die epidemiologisch bedeutsamsten Entitäten wie koronare Herzkrankheit, arterielle Hypertonie, Myokardinfarkt und ischämischen Apoplex ist.

Zu Beginn der Arbeit wird der Alterungsprozess und sein Zusammenhang mit oxidativem Stress erläutert sowie die biochemischen Grundlagen der Radikale und Antioxidantien erklärt. Der Hauptteil untersucht, ob eine präventive oder therapeutische Supplementation von Vitamin C, Vitamin E oder Carotinoiden die Entstehung oder die Progredienz solch degenerativer Veränderungen beeinflussen kann. Dafür wurde eine Literaturrecherche mithilfe mehrerer Nachschlagewerke und der Datenbanken PubMed und UpToDate durchgeführt, wobei systematische Reviews, Meta-Analysen sowie pro- und retrospektive Studien analysiert wurden. Als primäres Recherchekriterium wurde die isolierte Wirkung der genannten Antioxidantien auf kardiovaskuläre Parameter gewählt.

Insgesamt fehlen eindeutige Studienergebnisse, die eine evidenzbasierte Empfehlung für oder gegen die isolierte Supplementation der genannten Antioxidantien erlauben. Weitere Studien sind erforderlich, da antioxidative Substanzen weiterhin großes Potenzial für die Gesundheitsprävention aufweisen und insbesondere in der Altersmedizin lebensqualitätssteigernde Effekte haben könnten. In die Untersuchungen sollten sowohl der individuelle Gesundheitszustand als auch Einflussfaktoren wie Ernährungsgewohnheiten und Lebensstil miteinbezogen werden, um Daten zu Dosierung, potenziellen Nebenwirkungen und Wechselwirkungen unterschiedlicher Nährstoffe zu sammeln. Zusätzlich ist eine striktere Differenzierung zwischen den Geschlechtern notwendig, da sich die Stoffwechselsituation und Wirkungskapazitäten unterschiedlicher Stoffe geschlechtsspezifisch unterscheiden können. Die meisten Studien wurden bisher jedoch an männlichen Probanden durchgeführt.

## **Abstract**

Cardiovascular diseases are the leading cause of death for both genders worldwide and are often attributed to age-associated oxidative stress and the resulting vascular, cellular, humoral, and immunological changes. These changes lead to degenerative modifications, particularly atherosclerosis, which in turn is usually the main cause of the most epidemiologically significant conditions, such as coronary heart disease, arterial hypertension, myocardial infarction, and ischemic stroke.

At the beginning of this work, the aging process and its connection to oxidative stress will be explained, as well as the biochemical fundamentals of radicals and antioxidants. The main part investigates whether preventive or therapeutic supplementation of vitamin C, vitamin E, or carotenoids can influence the development or progression of such degenerative changes. A literature review was conducted using various reference works and the databases PubMed and UpToDate, analyzing systematic reviews, meta-analyses, as well as prospective and retrospective studies. The primary research criterion was the isolated effect of the mentioned antioxidants on cardiovascular parameters.

Overall, there is a lack of definitive study results that allow for evidence-based recommendations for or against the isolated supplementation of the mentioned antioxidants. Further studies are necessary, as antioxidant substances continue to hold great potential for health prevention and could particularly have quality-of-life-enhancing effects in geriatric medicine. The investigations should include individual health status as well as influencing factors such as dietary habits and lifestyle to gather data on dosage, potential side effects, and interactions of different nutrients. Additionally, a stricter differentiation between genders is necessary, as the metabolic situation and efficacy of different substances can vary by sex. However, most studies have so far been conducted on male subjects.

# Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNGEN.....	III
ZUSAMMENFASSUNG .....	IV
ABSTRACT.....	V
INHALTSVERZEICHNIS.....	VI
ABKÜRZUNGEN UND DEREN ERKLÄRUNG.....	1
ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	3
1 EINLEITUNG .....	5
2 OXIDATIVER STRESS .....	6
2.1 DEFINITION .....	7
2.2 ALTERN: DEFINITION .....	8
2.3 OXIDATIVER STRESS UND ALTERN .....	13
3 FREIE RADIKALE.....	15
3.1 DEFINITION .....	15
3.2 ENTSTEHUNG UND EINTEILUNG.....	16
3.2.1 <i>ROS – Reaktive Sauerstoffspezies</i> .....	17
3.2.1.1 Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2$ .....	19
3.2.1.2 Superoxidanion-Radikal $\text{O}_2^{\cdot-}$ .....	19
3.2.1.3 Wasserstoffperoxid $\text{H}_2\text{O}_2$ .....	20
3.2.1.4 Hydroxyl-Radikal $\text{OH}^{\cdot}$ .....	20
3.2.2 <i>RNS – Reaktive Stickstoffspezies</i> .....	21
3.2.2.1 Stickstoffmonoxid $\text{NO}^{\cdot}$ .....	21
3.2.2.2 Peroxynitrit-Anion $\text{ONOO}^-$ .....	22
3.2.2.3 Stickstoffdioxid $\text{NO}_2^{\cdot}$ .....	22
3.2.3 <i>RSS – Reaktive Schwefelspezies</i> .....	22
3.2.4 <i>RHS – Reaktive Halogenspezies</i> .....	23
4 BEDEUTUNG UND AUSWIRKUNGEN FREIER RADIKALE AUF DEN MENSCHEN.....	24
4.1 PHYSIOLOGISCHE AUSWIRKUNGEN .....	24
4.2 PATHOPHYOLOGISCHE AUSWIRKUNGEN .....	25
4.3 ROLLE FREIER RADIKALE BEIM ALTERUNGSPROZESS.....	27
4.3.1 <i>Kardiovaskuläre Erkrankungen</i> .....	29
4.3.2 <i>Neurodegenerative Erkrankungen</i> .....	32

<b>5</b>	<b>ANTIOXIDANTIEN</b> .....	<b>35</b>
5.1	DEFINITION .....	35
5.2	EINTEILUNG .....	36
5.2.1	<i>Enzymatisches Abwehrsystem</i> .....	37
5.2.1.1	Superoxid-Dismutase (SOD) .....	38
5.2.1.2	Katalase (CAT) .....	38
5.2.1.3	Glutathion-Peroxidase (GPX) .....	39
5.2.2	<i>Nicht-enzymatisches Abwehrsystem</i> .....	39
5.2.2.1	Ascorbinsäure (Vitamin C) .....	40
5.2.2.2	Tocopherole (Vitamin E) .....	43
5.2.2.3	Carotinoide .....	45
5.2.2.4	Weitere nicht-enzymatische Antioxidantien .....	48
<b>6</b>	<b>SUPPLEMENTATION VON VITAMIN C, VITAMIN E UND CAROTINOIDEN ZUR PRÄVENTION KARDIOVASKULÄRER ERKRANKUNGEN</b> .....	<b>50</b>
6.1	STUDIENLAGE ZUM KLINISCHEN EINSATZ VON VITAMIN C .....	51
6.2	STUDIENLAGE ZUM KLINISCHEN EINSATZ VON VITAMIN E .....	59
6.3	STUDIENLAGE ZUM KLINISCHEN EINSATZ VON CAROTINOIDEN .....	65
<b>7</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>69</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>74</b>

## Abkürzungen und deren Erklärung

A $\beta$	Amyloid-Beta-Protein
AGEs	Advanced glycation end products
ATP	Adenosintriphosphat
Br <sup>-</sup>	Bromid
BrO <sup>-</sup>	Hypobromit
CAT	Katalase
Cl <sup>-</sup>	Chlorid
ClO <sup>-</sup>	Hypochlorit
CRP	C-reaktives Protein
Cu	Elementares Kupfer
EPO	Eosinophile Peroxidase
FADH	Flavin-Adenin-Dinukleotid
Fe	Elementares Eisen
GPX	Glutathionperoxidase
HIO	Hypoiodige Säure
HMG-CoA-Reduktase	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A-Reduktase
HNE	Hydroxynonenal
HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Hydroperoxyl-Radikal
HOBr	Hypobromige Säure
HOCl	Hypochlorige Säure
HOO <sup>•</sup>	Hydroperoxyl-Radikal
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
H <sub>2</sub> S	Schwefelwasserstoff
I <sup>-</sup>	Iodid
IFN $\alpha$	Interferon $\alpha$
IL-1, IL-6, IL-10	Interleukin-1, -6 und -10
IO <sup>-</sup>	Hypoiodit
KHK	Koronare Herzkrankheit
LPO	Lactoperoxidase
MCI	Myokardinfarkt

MDA	Malondialdehyd
MPO	Myeloperoxidase
mtDNA	Mitochondriale DANN
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NO <sup>•</sup>	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Stickstoffdioxid
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrit-Anion
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singulett-Sauerstoff
O <sub>2</sub> <sup>-•</sup>	Superoxidanion-Radikal
OH <sup>•</sup>	Hydroxyl-Radikal
oxLDL	Oxidiertes Low-Density-Lipoprotein
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
RHS	Reaktive Halogenspezies
RNS	Reaktive Stickstoffspezies
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RSS	Reaktive Schwefelspezies
SLE	Systemischer Lupus erythematodes
SOD	Superoxid-Dismutase

## Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1: Merkmale des Alterns (López-Otín et al., 2023) ..... 9**

López-Otín, C. et al. (2023) 'Hallmarks of aging: An expanding universe', *Cell*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>.

**Abbildung 2: Schrittweise Reduktion von O<sub>2</sub> zu H<sub>2</sub>O (Bienert, Schjoerring and Jahn, 2006)..... 18**

Bienert, G.P., Schjoerring, J.K. and Jahn, T.P. (2006) 'Membrane transport of hydrogen peroxide', *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.02.015>.

**Abbildung 3: Die Rolle von ROS bei der Zellalterung (Hajam et al., 2022)..... 28**

Hajam, Y.A. et al. (2022) 'Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives', *Cells*, 11(3). Available at: <https://doi.org/10.3390/cells11030552>.

**Abbildung 4: Beziehung zwischen ROS-Produktion, metabolischem Syndrom und Altern (Bonomini, Rodella and Rezzani, 2015) ..... 30**

Bonomini, F., Rodella, L.F. and Rezzani, R. (2015) 'Metabolic syndrome, aging and involvement of oxidative stress', *Aging and Disease*. Available at: <https://doi.org/10.14336/AD.2014.0305>.

**Abbildung 5: Chemische Struktur der Ascorbinsäure (Gęgotek and Skrzydlewska, 2022)..... 41**

Gęgotek, A. and Skrzydlewska, E. (2022) 'Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid', *Antioxidants*. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox11101993>.

**Abbildung 6: Chemische Struktur der Tocopherole und Tocotrienole (Ricciarelli, Zingg and Azzi, 2002) ..... 43**

Ricciarelli, R., Zingg, J.M. and Azzi, A. (2002) 'The 80th anniversary of vitamin E: Beyond its antioxidant properties', *Biological Chemistry*. Available at: <https://doi.org/10.1515/BC.2002.048>.

**Abbildung 7: Chemische Struktur der häufigsten Carotinoide (Langi et al., 2018)..... 45**

Langi, P. et al. (2018) 'Carotenoids: From plants to food and feed industries', in *Methods in Molecular Biology*. Available at: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8742-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8742-9_3).

**Abbildung 8: Todesursachen Österreich 2022 (Prammer-Waldhör and Ihle, 2024)..... 50**

Prammer-Waldhör, M. and Ihle, P. (2024) STATISTIK AUSTRIA Jahrbuch der Gesundheitsstatistik 2022.

# 1 Einleitung

Mit der zunehmenden Lebenserwartung der Menschheit steigt auch die Prävalenz altersbedingter gesundheitlicher Beeinträchtigungen, die die Medizin vor neue Herausforderungen stellt und die Altersforschung immer mehr in den Fokus der Wissenschaft drängt. Ein zentraler Aspekt ist hierbei der oxidative Stress, der mit steigendem Alter eine zunehmende Belastung darstellt und ein entscheidender Faktor bei der Genese vieler altersassoziierter Erkrankungen ist. Oxidativer Stress wird als das Ungleichgewicht zwischen der Produktion und Anhäufung freier Radikale in Zellen und Geweben einerseits und den endogenen antioxidativen Abwehrmechanismen andererseits definiert. Dies resultiert in einer dysregulierten oxidativen Umgebung, die das Potenzial zur Zellschädigung mit sich bringt (Hajam *et al.*, 2022).

In der vorliegenden Arbeit werden die biochemischen Mechanismen von oxidativem Stress behandelt und der Fokus auf die potenziell schützende Wirkung von Antioxidantien gelegt. Antioxidantien sind durch ihre Fähigkeit, freie Radikale zu neutralisieren, in der Lage, Zellen vor oxidativem Stress zu schützen und ihre optimale Anwendung könnte nicht nur dazu beitragen, altersbedingte Erkrankungen zu verhindern, sondern auch die Lebensqualität im Alter zu verbessern. Dabei wird aber auch auf die negativen Auswirkungen dieser eingegangen und ein Überblick über mögliche Risiken und Herausforderungen bei einer Antioxidans-Supplementierung gegeben.

Im zweiten Kapitel wird oxidativer Stress definiert, ein Überblick über die verschiedenen Mechanismen und Merkmale des Alterns gegeben und der Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und dem Alterungsprozess verdeutlicht.

Im Anschluss werden in Kapitel drei und vier die verschiedenen Arten freier Radikale klassifiziert, ihre physiologischen und pathophysiologischen Auswirkungen auf den menschlichen Körper erläutert und ihre Rolle beim Alterungsprozess dargestellt.

Das fünfte Kapitel gibt eine Übersicht über die Mechanismen der antioxidativen Abwehr und erklärt sowohl das enzymatische als auch das nicht-enzymatische Abwehrsystem. Es werden die verschiedenen Antioxidantien beschrieben und ihre Wechselwirkungen mit freien Radikalen aufgezeigt. Dabei liegt der Fokus auf den am umfassendsten untersuchten Antioxidantien, nämlich Vitamin C, Vitamin E und den Carotinoiden.

Mit besonderer Berücksichtigung kardiovaskulärer Pathologien werden im sechsten Kapitel klinische Anwendungen dieser exogenen Antioxidantien beschrieben und anhand klinischer Studien die Vor- und Nachteile einer Supplementierung dieser gegenübergestellt. Es werden die Herausforderungen und Risiken erläutert und die aktuellen Kontroversen in der Forschung diskutiert. Diese Krankheitsgruppe wurde aufgrund ihrer epidemiologischen Relevanz gewählt, da sie weltweit die führende Todesursache im Alter darstellt.

Das Ziel dieser Arbeit ist ein umfassender Überblick über die aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnisse bezüglich des therapeutischen Potentials in der Anwendung von Antioxidantien bei altersassoziierten, durch oxidativen Stress beeinflussten, insbesondere kardiovaskulärer, Erkrankungen.

## 2 Oxidativer Stress

### 2.1 Definition

Der menschliche Organismus ist kontinuierlich der Einwirkung freier Radikale ausgesetzt, die ihren Ursprung sowohl im endogenen physiologischen Stoffwechsel haben als auch exogen auf die Exposition gegenüber Faktoren wie Nikotin, Alkohol, Wasser- und Luftverschmutzung oder Strahlung zurückzuführen sind. Durch die Evolution hat der Mensch verschiedene enzymatische Abwehrsysteme entwickelt, um diesen ständigen Stressoren entgegenzuwirken. In Kombination mit einer ausgewogenen Zufuhr von Antioxidantien und einem Lebensstil, der die Entstehung freier Radikale minimiert, kann ein Gleichgewicht zwischen oxidierenden und antioxidativen Faktoren erreicht werden (Liguori *et al.*, 2018).

Oxidativer Stress wird als das Ungleichgewicht zwischen der Produktion und Anhäufung freier Radikale in Zellen und Geweben einerseits und den endogenen antioxidativen Abwehrmechanismen andererseits definiert. Dies resultiert in einer dysregulierten oxidativen Umgebung, die das Potenzial zur Zellschädigung mit sich bringt (Hajam *et al.*, 2022).

Die Entstehung oxidativen Stresses ist auf verschiedene Faktoren zurückzuführen:

- Das Ausmaß der Exposition gegenüber freien Radikalen durch externe Einflüsse wie Alkohol- oder Tabakkonsum sowie Einwirkungen von radioaktiver oder UV-Strahlung und Ozon
- Die Menge an exogen zugeführten Antioxidantien, darunter Ascorbinsäure, Tocopherole und Carotinoide
- Eine endogen gesteigerte Produktion freier Radikale, insbesondere im Zusammenhang mit inflammatorischen Erkrankungen wie Atherosklerose, Allergien oder Diabetes Mellitus (Baynes and Dominiczak, 2018)
- Der natürliche Anstieg des Lebensalters, der mit einer verminderten Fähigkeit des Organismus einhergeht, oxidativen Stress effektiv zu bekämpfen (Gorni and Finco, 2020)

## 2.2 Altern: Definition

Altern ist kein isoliertes Phänomen, sondern ein komplexer, multifaktorieller biologischer Prozess, der durch genetische, epigenetische und umweltassoziierte Einflüsse determiniert wird. Der Alterungsprozess ist durch einen graduellen Verlust physiologischer Integrität charakterisiert, welcher zu Funktionsbeeinträchtigungen und erhöhter Vulnerabilität führt. Daraus ergibt sich, wie aus einigen Studien ersichtlich, eine zunehmende Anfälligkeit für Erkrankungen wie Krebs, Diabetes Mellitus sowie kardiovaskuläre und neurodegenerative Erkrankungen (Samman Tahhan *et al.*, 2017; Dey *et al.*, 2018; Bigagli and Lodovici, 2019; Gorni and Finco, 2020; Zhang *et al.*, 2021). Die Erkenntnis, dass die Geschwindigkeit des Alterns zumindest teilweise von genetischen Faktoren, biochemischen Prozessen und extrinsischen Einflüssen wie Umweltfaktoren, Ernährungs- und Bewegungsgewohnheiten kontrolliert wird, hat die Altersforschung erheblich vorangetrieben (López-Otín *et al.*, 2023).

Im Jahr 2013 veröffentlichten López-Otín *et al.* erstmals ein Schema zur Kategorisierung und Identifikation der zellulären und molekularen Merkmale des Alterns. Dabei sollte jedes Merkmal bestimmte Kriterien erfüllen:

1. Das Merkmal sollte während des physiologischen Alterns auftreten.
2. Der experimentell verstärkte Effekt des Merkmals sollte den Alterungsprozess beschleunigen.
3. Der experimentell verminderte Effekt des Merkmals sollte das Altern verlangsamen und damit eine Verlängerung der Lebensdauer in Gesundheit ermöglichen (López-Otín *et al.*, 2013).

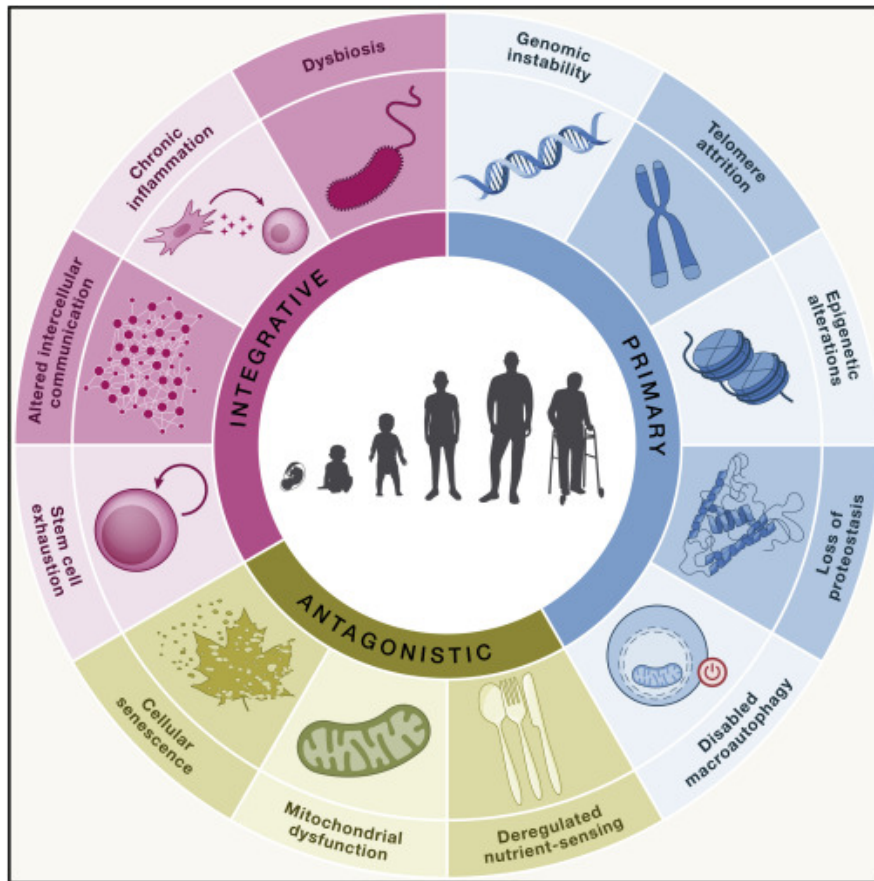


Abbildung 1: Merkmale des Alterns (López-Otín et al., 2023)

Anhand dieser Kriterien wurden die „Nine Hallmarks of Aging“ postuliert, die im Jänner 2023 um drei weitere Merkmale ergänzt wurden (López-Otín et al., 2023). Diese zwölf Merkmale des Alterns sind in Abbildung 1 dargestellt.

Die Kennzeichen des Alterns lauten also:

- Genetische Instabilität

Durch permanente Exposition gegenüber potenziellen Mutagenen ist die DNA sehr vulnerabel. Ein Großteil der verursachten Schäden kann durch zelluläre Reparaturmechanismen beseitigt werden, hin und wieder entkommen dennoch einige der Reparatur. Deshalb kommt es mit Zunahme des Alters zu einer Anhäufung dieser Schäden, wodurch die genetische Instabilität zunimmt. Das Ausmaß variiert dabei von Punktmutationen, die still verlaufen, bis hin zu Chromosomenbrüchen und Translokationen mit Aktivierung von Onkogenen oder Suppression von Tumoruppressorgenen und damit der Karzinogenese oder der Entstehung von degenerativen Erkrankungen (Aunan et al., 2016).

- Telomerabnutzung

Telomere dienen als repetitive Nukleotidsequenzen dem Schutz der Chromosomen vor genomischer Instabilität. Die meisten somatischen Zellen exprimieren jedoch keine Telomerase, ein Enzym zur Verlängerung der Telomerenden, wodurch es durch die Unfähigkeit der DNA-Polymerase, diese zu replizieren, mit jeder Zellteilung zu einer Verkürzung der DNA-Stränge kommt. Um diese reduktive Progredienz bis in die codierenden Abschnitte der DNA zu mindern, treten diese Zellen nach einer bestimmten Anzahl an Teilungen und der damit verbundenen Telomer-Verkürzung, der sogenannten Hayflick-Grenze, in den Zustand der replikativen Seneszenz ein (Aunan *et al.*, 2016). Zusätzlich zur physiologischen, replikativ bedingten, Verkürzung führt oxidativer Stress durch Replikationsstress zu einer Beschleunigung der Telomerverkürzung (Fouquerel *et al.*, 2019) und bedingt vorzeitige zelluläre Seneszenz (Barnes *et al.*, 2022).

- Epigenetische Veränderungen

Epigenetische Veränderungen in DNA-Methylierungsmustern oder in posttranslationaler Histon-Modifikationen im Rahmen von Methylierung, Acetylierung oder Phosphorylierung beeinflussen alle Zellen und Gewebe im Laufe des Lebens und können einen wichtigen Beitrag zur Zellalterung beitragen (Fraga and Esteller, 2007).

- Verlust der Proteostase

Viele altersbedingte Erkrankungen wie Morbus Alzheimer oder Morbus Parkinson sind mit einer Beeinträchtigung der Proteostase assoziiert. Daraus resultiert eine Akkumulation an fehlgefalteten, oxidierten, glykierten oder ubiquitinylierten Proteinen, die sich häufig als intrazelluläre Einschlusskörper oder extrazelluläre Plaques manifestieren (López-Otín *et al.*, 2023). Eine im Jahr 2021 veröffentlichte Studie von Pei-Chin Chen *et al.* verdeutlichte den Zusammenhang zwischen oxidativ-bedingt erhöhten Plasmakonzentrationen abnormer Proteinaggregate mit einem verminderten Volumen des Gehirns und dem Abfall neuropsychiatrischer Leistungsfähigkeit (Chen *et al.*, 2021).

- **Kompromittierte Autophagie**  
Autophagie ist als intrazellulärer Prozess sowohl an der Proteostase beteiligt als auch für den Abbau zelleigener Materialien, dysfunktionaler Organellen oder eingedrungener Pathogene zuständig. Ein altersbedingter Rückgang der Autophagie wird als wichtiger Mechanismus für die verringerte Organelldynamik betrachtet (López-Otín *et al.*, 2023).
- **Deregulierte Nährstoffwahrnehmung**  
Der Mensch ist zur Energiebereitstellung insbesondere auf eine effiziente Nutzung von Glukose angewiesen, weshalb deren Konzentration innerhalb eines engen Bereiches gehalten wird. Viele der dafür verantwortlichen homöostatischen Mechanismen verlieren mit zunehmendem Alter an Sensitivität, wodurch es neben der Zunahme des viszeralen Fettgewebes und dem Verlust von Muskelmasse zur Insulinresistenz mit einer erhöhten Glukosetoleranz kommt. Alle diese Faktoren erhöhen das Risiko für altersassoziierte Erkrankungen (Aunan *et al.*, 2016).
- **Zellalterung**  
Als zelluläre Seneszenz wird der Zustand einer sich nicht mehr teilenden Zelle bezeichnet. Ursächlich dafür können unterschiedliche schädliche Faktoren wie Telomer-Verkürzungen, genotoxische Schäden oder dysfunktionale Mitochondrien sein. Diese Zellen akkumulieren zunehmend mit dem Alter in verschiedenen Geweben, was in weiterer Folge in altersbedingten Krankheiten resultieren kann (López-Otín *et al.*, 2023). Eine Studie an Mäusen zeigte, dass durch die pharmakologische Senolytika-Gabe und dadurch der Eliminierung seneszenten Zellen deren Gesundheits- und Lebensdauer verlängert werden konnte (Xu *et al.*, 2018).
- **Mitochondriale Dysfunktion**  
Mitochondrien spielen eine Schlüsselrolle bei der Energieproduktion, weshalb jede Verschlechterung ihrer Funktion den gesamten Körper betrifft und zu einer Dysregulation des Stoffwechsels führt (Aunan *et al.*, 2016). Als mitochondriale Dysfunktion wird die Abnahme der Atmungskapazität,

typischerweise in Kombination mit einer erhöhten Produktion von Sauerstoffradikalen, bezeichnet und gilt damit sowohl als Ursache als auch als Folge der zellulären Seneszenz (Miwa *et al.*, 2022).

- Erschöpfung der Stammzellen

Der Rückgang von Stammzellfunktionen manifestiert sich auf unterschiedliche Weise, unter anderem durch Anämie beim Rückgang hämatopoetischer, durch Osteoporose bei dem mesenchymaler, durch Abnahme der Darmfunktion bei dem intestinaler epithelialer oder durch Sarkopenie bei dem muskulärer Stammzellen (Aunan *et al.*, 2016).

- Veränderte interzelluläre Kommunikation

Der Alterungsprozess ist ebenso durch Veränderungen in der endokrinen, neuroendokrinen oder neuronalen interzellulären Kommunikation gekennzeichnet. Durch entzündliche Veränderungen und solche in der extrazellulären Zusammensetzung werden neurohormonale Signalwege wie das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System dereguliert (López-Otín *et al.*, 2013).

- Störung des Mikrobioms

Mit dem Alter kommt es physiologischerweise zu einer individuellen Veränderung des Darmmikrobioms und einer Abnahme seiner Artenvielfalt (Wilmanski *et al.*, 2021). In Kombination mit dem altersbedingten strukturellen Integritätsverlust des Darms können diese mikrobiellen Veränderungen förderlich für Entzündungen und andere Erkrankungen sein (Schmauck-Medina *et al.*, 2022).

- Chronische Entzündung

In Studien konnte gezeigt werden, dass mit zunehmendem Alter die Blutspiegel proinflammatorischer Zytokine wie IL-1, IL-6, IFN $\alpha$  und Biomarker wie CRP ansteigen, wohingegen die Blutspiegel anti-inflammatorischer Zytokine wie IL-10 abfallen (Bartlett *et al.*, 2012). Dies kann sich systemisch durch altersassoziierte Krankheiten wie

Arteriosklerose, Arthritiden oder andere degenerative Erkrankungen manifestieren (Schmauck-Medina *et al.*, 2022). Veränderungen in T-Zell-Populationen umfassen die Hyperfunktion proinflammatorischer T-Helfer-Zellen, mangelnde Immunüberwachung sowie eine Abnahme der Reparatur biologischer Barrieren. All diese Faktoren begünstigen die systemische Entzündung (López-Otín *et al.*, 2023). Entzündungen gehen außerdem mit einer erhöhten Produktion freier Radikale von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen einher (Valko *et al.*, 2006).

## 2.3 Oxidativer Stress und Altern

Die Prinzipien und exakten molekularen, zellulären und organischen Mechanismen des Alterns stellen ein hochkomplexes Forschungsgebiet dar, da der Alterungsprozess ein enorm vielschichtiges Geschehen ist. Es wird von zahlreichen unterschiedlichen biologischen, genetischen und umweltbedingten Faktoren beeinflusst, die in komplexen Wechselwirkungen miteinander stehen und jeden Menschen im Verlauf seines Lebens betreffen.

Im Laufe der Zeit wurden, wie in Kapitel 2.2 ersichtlich, viele unterschiedliche Erklärungsmodelle und Einflussfaktoren des Alterungsprozesses postuliert. Wichtig zu betonen ist, dass diese nicht separat voneinander, sondern im Kontext als Zusammenspiel mehrerer Faktoren, die einander beeinflussen und zusammen durch Schadensakkumulation an der DNA den Alterungsprozess bedingen, betrachtet werden müssen (Aunan *et al.*, 2016).

Die freie Radikaltheorie wurde 1954 als *Free Radical Theory of Aging* von Denham Harman aufgestellt und bildet seither die Grundlage einer der bedeutendsten Alternstheorien. Sie besagt, dass zelluläres Altern durch Anhäufungen reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und die dadurch bedingte Akkumulation oxidativer Zellschäden bedingt ist (Harman, 1992). Freie Radikale, die unter anderem als Nebenprodukte des physiologischen Zellstoffwechsels entstehen, können Proteine, Lipide und Nukleinsäuren oxidieren, damit schädigen und deren Funktionalität beeinträchtigen (Aunan *et al.*, 2016).

Diese ursprüngliche Theorie wurde über die Jahrzehnte durch etliche Thesen ergänzt und stellt den Ursprung der mitochondrialen Alterungstheorie dar, die besagt, dass die mitochondriale DNA (mtDNA) aufgrund stetiger Exposition gegenüber ROS besonders anfällig für Schäden und daraus resultierenden altersassoziierten Veränderungen ist (Ziada, Smith and Côté, 2020). Dadurch bedingt, dass Mitochondrien mit ihrer Atmungskette die Hauptproduzenten freier Radikale endogenen Ursprungs sind, wird der Anstieg an ROS mit zunehmendem Alter mit einem Abfall an – durch Mutationen der mtDNA bedingter – mitochondrialer Integrität in Zusammenhang gebracht (Aunan *et al.*, 2016). Zusätzlich zur mitochondrialen Dysfunktion und der damit einhergehenden Abnahme der Energieproduktion wird davon ausgegangen, dass durch diese Mutationen im Sinne einer positiven Rückkopplung die Produktion freier Radikale gesteigert ist (Ziada, Smith and Côté, 2020).

Studien zeigen, dass oxidativer Stress nicht nur auf zellulärer, sondern auch auf organischer Ebene Auswirkungen hat. Eine erhöhte ROS-Produktion wird mit unterschiedlichen altersbedingten Veränderungen wie neurodegenerativen, kardiovaskulären, metabolischen oder onkologischen Erkrankungen in Verbindung gebracht (Abete *et al.*, 1999; De Cristofaro *et al.*, 2003; Putri and Thaha, 2014; Zuo *et al.*, 2014; Liguori *et al.*, 2018). Somit ist oxidativer Stress nicht nur ein Begleitphänomen des Alterungsprozesses, sondern auch aktiv an der Entstehung altersbedingter Krankheiten beteiligt.

Die Identifizierung von Mechanismen, die oxidativen Stress im Alter beeinflussen, sowie die Messung für oxidativen Stress spezifischer Biomarker könnte potenzielle Ansatzpunkte für therapeutische und präventive Interventionen zur Verzögerung des Alterungsprozesses darstellen. Eine antioxidative Therapie, beispielsweise durch die Supplementierung von Antioxidantien, die die ROS-Produktion reduziert oder die Effizienz der zellulären Abwehrmechanismen erhöht, könnte somit eine Möglichkeit bieten, die Auswirkungen des oxidativen Stresses auf den Alterungsprozess zu mindern (Liguori *et al.*, 2018).

## 3 Freie Radikale

### 3.1 Definition

Freie Radikale sind als hochreaktive Moleküle definiert, die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen mit antiparallelem Spin in ihrem äußeren Orbital besitzen. In ihrer äußersten Schale befindet sich also mindestens ein ungepaartes Valenzelektron, welches durch sein Bestreben nach seinem optimalen Zustand als Elektronenpaar eine hohe Reaktivität aufweist (Valko *et al.*, 2006). Das Prinzip dahinter besteht primär darin, dieses fehlende zweite Elektron aus einem bestehenden Elektronenpaar eines nicht-Radikals, wie es alle biologischen Makromoleküle sind, zu entreißen oder das einzelne Elektron an ein solches zu übertragen. Dadurch entsteht aus dem vorherigen nicht-Radikal durch die Entnahme oder Zufuhr eines Elektrons wiederum ein Radikal – dieser Vorgang ist der zugrundeliegende Mechanismus für chemische Kettenreaktionen, in denen fortlaufend neue Radikale entstehen und die somit unterschiedliche oxidative Zellschädigungen bedingen (Riley, 1994; Betteridge, 2000; Nespolo *et al.*, 2017). Freie Radikale differenzieren nicht zwischen den Molekülen mit gepaarten Elektronen, sondern greifen willkürlich unterschiedliche zelluläre Strukturen an (Sen, 2001). Sie können auf unterschiedliche Arten mit Molekülen reagieren:

1. Treffen zwei Radikale aufeinander, können sich ihre beiden ungepaarten Elektronen mit einer kovalenten Bindung kombinieren und ein gemeinsames Elektronenpaar bilden
2. Ein freies Radikal kann sein Elektron an ein anderes Molekül abgeben und dieses dadurch reduzieren
3. Ein freies Radikal kann ein Elektron von einem anderen Molekül aufnehmen und dieses dadurch oxidieren (Halliwell, 1995)

Radikale Spezies verursachen als Nebenprodukte des aeroben Stoffwechsels oxidative Schäden und verschiedene zelluläre Dysfunktionen (Di Meo and Venditti, 2020), sind aber in niedrigen Konzentrationen bei Prozessen wie Zellproliferation, Gen-Expression, Immunantwort und Apoptose (Pisoschi and Pop, 2015) unerlässlich. Dadurch ist ein Gleichgewicht zwischen oxidativen Spezies und antioxidativen Mechanismen für die physiologische Integrität unerlässlich (Warraich, Hussain and Kayani, 2020).

## 3.2 Entstehung und Einteilung

Die meisten Radikale sind reaktionsfreudig und nur in Ausnahmefällen stabil. Meist entstehen sie als kurzlebige Zwischenstufen bei Reaktionen durch Verlust oder Gewinn eines Elektrons oder durch das Aufbrechen einer kovalenten Bindung, zum Beispiel durch Einwirkung von Strahlung oder Hitze (Nespolo *et al.*, 2017). Je nach ihrem zugrundeliegenden Atom oder Molekül werden freie Radikale unterschiedlich klassifiziert. Auf die einzelnen Spezies wird in den folgenden Unterkapiteln näher eingegangen.

Freie Radikale können sowohl endogenen als auch exogenen Ursprungs sein. Aerobe Prozesse sind Ursprung endogener Quellen (Pisoschi and Pop, 2015):

- Durch die Reduktion molekularen Sauerstoffs entstehen freie Radikale als Nebenprodukt der mitochondrialen Elektronentransportkette (Turrens, 2003)
- Oxidierende Enzyme wie Cytochrom P450, NADPH-Oxidase oder Xanthinoxidase können Radikale produzieren (Valko *et al.*, 2006)
- Inflammatorische Zellaktivierung und mikrobielle Infektionen mit Phagozytenaktivierung führen zur Produktion von Superoxid ( $O_2^{\cdot-}$ ) und Hypochloriger Säure (HOCl) als Abwehrmechanismus (Betteridge, 2000)
- Bildung freier Radikale im Rahmen von Lipidoxidation innerhalb der Peroxisome (Warraich, Hussain and Kayani, 2020)
- Intensive physische Aktivität
- Stickstoffmonoxide können vom vaskulären Endothel und anderen Zellen produziert werden (Betteridge, 2000)

Exogene Quellen sind (Valko *et al.*, 2006; Pisoschi and Pop, 2015; Warraich, Hussain and Kayani, 2020):

- Drogen-, Alkohol- oder Nikotinkonsum
- Strahlung (UV-, Röntgen-,  $\gamma$ - Strahlung)
- Pestizide
- Ozon
- Verschiedene Medikamente wie Xenobiotika, Antibiotika oder Zytostatika
- Sonnenlicht (UVA-/UVB-Strahlung)

### 3.2.1 ROS – Reaktive Sauerstoffspezies

Aufgrund der Lebensnotwendigkeit von Sauerstoff und seiner unentbehrlichen Rolle im aeroben Stoffwechsel sind reaktive Sauerstoffspezies (ROS) eine für den menschlichen Organismus sehr bedeutende Gruppe der freien Radikale.

O<sub>2</sub> liegt bei Körpertemperatur als Biradikal mit zwei ungepaarten Elektronen mit parallelen Spins in den beiden äußersten Orbitalen vor (Baynes and Dominiczak, 2018). Aufgrund des parallelen Spins kann Sauerstoff nur mit einem Elektron gleichzeitig reagieren, weshalb er mit den zwei Elektronen einer bestehenden chemischen Bindung nicht sehr reaktiv ist (Turrens, 2003). Für Oxidationsprozesse müssten die zu oxidierenden Moleküle nämlich wiederum zwei Elektronen mit parallelem, zu den ungepaarten Elektronen des Sauerstoffs entgegengesetztem Spin zur Verfügung stellen. Die meisten stabilen organischen Moleküle besitzen aber Elektronenpaare mit entgegengesetztem Spin in diskreten Orbitalen, was die Notwendigkeit einer spontanen Spinumkehr eines der ungepaarten Elektronen des Sauerstoffs bedingt (Di Meo and Venditti, 2020). Da bei normaler Kollisionsfrequenz die Kontaktzeit zwischen den Molekülen zu kurz für eine solche Spinumkehr ist, treten unter physiologischen Temperaturen und ohne enzymatische Aktivitäten keine Sauerstoffreaktionen auf – O<sub>2</sub> zeigt daher, obwohl es als freies Radikal vorliegt, keine hohe Reaktivität und ist bei Körpertemperatur reaktionsträge (McCord, 2000).

Für viele aerobe Stoffwechselprozesse stammt die dafür notwendige Energie aus Oxidationsreaktionen, bei denen Sauerstoff reduziert wird, weshalb es Enzyme mit Bindungsstellen gibt, die O<sub>2</sub> zusammen mit einem oxidierbaren Molekül für eine längere Zeit binden können (McCord, 2000). Dies ermöglicht die Überbrückung der kinetischen Barriere, um eines der parallelen Elektronen in ein höheres Orbital zu heben. Dabei erfolgt eine Spinumkehr, wodurch das viel reaktionsfreudigere Singulett-Sauerstoffmolekül <sup>1</sup>O<sub>2</sub> entsteht (Di Meo and Venditti, 2020; Warraich, Hussain and Kayani, 2020).

Die mitochondriale Atmungskette ist die wichtigste endogene Quelle der radikalen Sauerstoffspezies, weshalb ihre Entstehung anhand dieser erklärt wird. Die

Atmungskette dient als Endstrecke des gesamten oxidativen Stoffwechsels der Energiebereitstellung im Sinne der ATP-Produktion. Dafür werden die, aus verschiedenen zellulären Reaktionen freigesetzten, Elektronen, welche durch die Coenzyme NADH und FADH aufgefangen und zum Mitochondrium transportiert werden, für den Aufbau eines Protonengradienten über der inneren Mitochondrienmembran genutzt (Horn *et al.*, 2018). Dabei wird Sauerstoff als endgültiger Elektronenakzeptor schrittweise, jeweils über den Transfer eines einzelnen Elektrons, zu Wasser reduziert (Sen, 2001).

Die Cytochrom-Oxidase, die als Komplex IV der Atmungskette die letzte Reaktion dieser katalysiert, behält die reaktiven, unvollständig reduzierten Zwischenprodukte des Sauerstoff-Moleküls, welches Elektron für Elektron reduziert wird, so lange bei sich, bis die Reduktion abgeschlossen ist (Horn *et al.*, 2018). Innerhalb der Transportkette können jedoch auch andere Redoxzentren Elektronen an O<sub>2</sub> abgeben, wodurch das Superoxidanion-Radikal O<sub>2</sub><sup>•-</sup> als erstes Zwischenprodukt und Ausgangsmolekül für die Bildung weiterer ROS, nämlich Hydroperoxyl-Radikal HO<sub>2</sub><sup>•</sup>, Wasserstoffperoxid H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und Hydroxyl-Radikal OH<sup>•</sup> entsteht (Turrens, 2003). Durch Anlagerung eines weiteren Elektrons und Protons an das Hydroxyl-Radikal OH<sup>•</sup> entsteht Wasser H<sub>2</sub>O, womit die Reduktion des Sauerstoffmoleküls abgeschlossen ist (Lushchak, 2014). Abbildung 2 gibt einen Überblick über die schrittweise Reduktion von O<sub>2</sub> zu H<sub>2</sub>O mit den reaktiven Zwischenprodukten (Bienert, Schjoerring and Jahn, 2006).

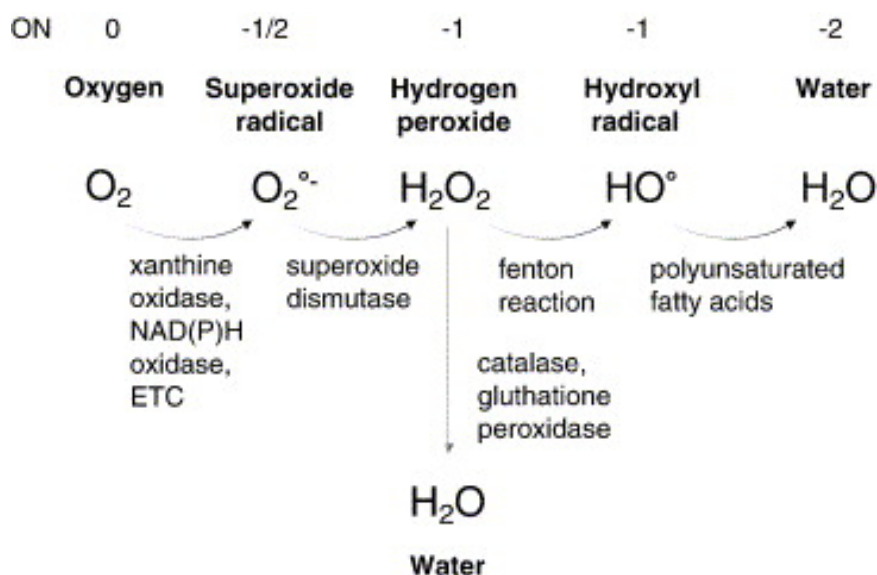


Abbildung 2: Schrittweise Reduktion von O<sub>2</sub> zu H<sub>2</sub>O (Bienert, Schjoerring and Jahn, 2006)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ist zwar kein freies Radikal, zeichnet sich aber genauso wie O<sub>2</sub><sup>-•</sup>, HO<sub>2</sub><sup>•</sup> und OH<sup>•</sup> durch eine höhere Reaktivität als molekularer Sauerstoff aus. Deshalb werden sie gemeinsam als reaktive Sauerstoffspezies ROS bezeichnet (Lushchak, 2014).

### **3.2.1.1 Singulett-Sauerstoff <sup>1</sup>O<sub>2</sub>**

Das <sup>1</sup>O<sub>2</sub>-Molekül ist die weit reaktionsfreudigere, angeregte Form des molekularen Sauerstoffs. Es ist zwar kein Radikal, ist aber durch seine zwei ungepaarten Elektronen auf unterschiedlichen Energieniveaus besonders reaktiv. Es reagiert sehr schnell mit Biomolekülen, insbesondere mit Doppelbindungen von ungesättigten Fettsäuren in Membranen und Lipoproteinen, aber auch mit Proteinen und Nukleinsäuren (Nespolo *et al.*, 2017; Murotomi *et al.*, 2023).

### **3.2.1.2 Superoxidanion-Radikal O<sub>2</sub><sup>-•</sup>**

Das Superoxidanion entsteht bei der Reduktion von O<sub>2</sub> um ein Elektron. Es besitzt noch immer ein ungepaartes Elektron, ist aber kurzlebig und reagiert schnell weiter zu Wasserstoffperoxid H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sen, 2001). O<sub>2</sub><sup>-•</sup> ist zwar kein starkes Oxidationsmittel, aber der Vorläufer der meisten ROS und Ausgangsmolekül oxidativer Kettenreaktionen.

Das Superoxidanion entsteht auf unterschiedliche Weisen (Turrens, 2003):

- Nichtenzymatisch durch direkte Übertragung eines einzelnen Elektrons auf O<sub>2</sub>. Dies kann durch reduzierte Coenzyme innerhalb der Redoxzentren der mitochondrialen Atmungskette oder durch reduzierte Xenobiotika geschehen.
- Enzymatische Produktion, beispielsweise durch NADPH-Oxidasen endothelialer Zellen als Reaktion auf Wachstumsfaktoren, Zytokine oder Ischämie (Frey, Ushio-Fukai and Malik, 2009) oder durch Phagozyten im Sinne des „respiratory burst“ zur Infektabwehr (Vignais, 2002). Durch sie wird die Reduktion von O<sub>2</sub> zu O<sub>2</sub><sup>-•</sup> unter Oxidation von NADPH katalysiert (Diwanji and Bergmann, 2018).

Das Superoxidanion ist an vielen physiologischen zellulären Prozessen wie Genexpression, Zellproliferation, Migration, Angiogenese und Apoptose beteiligt (Frey, Ushio-Fukai and Malik, 2009). Durch Oxidationsreaktionen mit Proteinen

oder Lipiden kann es jedoch auch zur Zellschädigung kommen. Zusammen mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  kann es unter Abwesenheit von  $\text{Fe}^{2+}$ - oder  $\text{Cu}^+$ -Atomen in der Haber-Weiß-Reaktion zu dem reaktivsten freien Radikal, dem Hydroxyl-Radikal  $\text{OH}^\bullet$ , reagieren (siehe 3.2.1.4). In wässriger Lösung liegt  $\text{O}_2^{\bullet-}$  im Gleichgewicht mit der schwachen Säure Hydroperoxyradikal  $\text{HOO}^\bullet$  (Baynes and Dominiczak, 2018).

### **3.2.1.3 Wasserstoffperoxid $\text{H}_2\text{O}_2$**

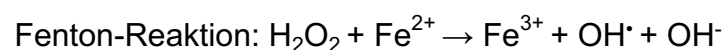
Wasserstoffperoxid ist per Definition kein freies Radikal, aber dennoch ein potentes Oxidans (Sen, 2001). Die Reduktion von  $\text{O}_2^{\bullet-}$  zu  $\text{H}_2\text{O}_2$  wird hauptsächlich durch das antioxidative Enzym Superoxid-Dismutase (SOD) katalysiert, wobei aus zwei  $\text{O}_2^{\bullet-}$ -Molekülen  $\text{O}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  entsteht (Lushchak, 2014). Es kann aber auch direkt enzymatisch, beispielsweise durch Oxidation von Fettsäuren in Peroxisomen, gebildet werden (Bonekamp *et al.*, 2009).

Als relativ stabiles Molekül ist es die reaktive Sauerstoffspezies mit der höchsten Konzentration im menschlichen Organismus. Durch die Fenton-Reaktion mit  $\text{Fe}^{2+}$  oder  $\text{Cu}^+$  oder die Haber-Weiß-Reaktion mit  $\text{O}_2^{\bullet-}$  stellt  $\text{H}_2\text{O}_2$  eine Quelle für das reaktive Hydroxyl-Radikal  $\text{OH}^\bullet$  dar (siehe 3.2.1.4) (Baynes and Dominiczak, 2018). Um die Entstehung von  $\text{OH}^\bullet$  zu minimieren, wird  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch Peroxidasen oder Katalasen (CAT) in weniger schädliche Moleküle wie Wasser umgewandelt (Lushchak, 2014).

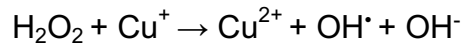
### **3.2.1.4 Hydroxyl-Radikal $\text{OH}^\bullet$**

Das Hydroxyl-Radikal  $\text{OH}^\bullet$  ist die reaktivste und aggressivste radikale Sauerstoffspezies. Mit einer Halbwertszeit weniger Nanosekunden ist es sehr kurzlebig und reagiert daher mit Biomolekülen nahe seines Bildungsortes (Baynes and Dominiczak, 2018).

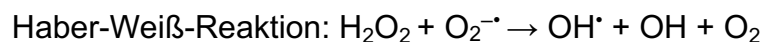
$\text{OH}^\bullet$  kann durch Reaktionen von  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Molekülen mit redox-aktiven Metallionen entstehen. In dieser nach Fenton benannten Reaktion reduziert  $\text{H}_2\text{O}_2$  freies  $\text{Fe}^{2+}$ , wobei  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{OH}^\bullet$  und  $\text{OH}^-$  entsteht (Valko *et al.*, 2006).



Ein kleiner Teil des körpereigenen Eisens liegt nicht an Transferrin oder Ferritin gebunden vor und kann als solcher in die Fenton-Reaktion eingehen. Ein Überschuss an  $O_2^{\cdot-}$  kann weiters eine Freisetzung von  $Fe^{2+}$  aus eisenhaltigen Molekülen bewirken (Valko *et al.*, 2006). Freies Kupfer katalysiert dieselbe Reaktion, weshalb es durch erhöhte  $Cu^+$ -Spiegel im Blut, beispielsweise im Rahmen des Morbus Wilson, ebenfalls zur Bildung von  $OH^{\cdot}$  kommen kann (Baynes and Dominiczak, 2018).



Eine weitere Quelle für  $OH^{\cdot}$  ist die Haber-Weiß-Reaktion, in der  $O_2^{\cdot-}$ , unter Abwesenheit von  $Fe^{2+}$  oder  $Cu^+$ , mit  $H_2O_2$  zu  $OH^{\cdot}$  reagiert (Baynes and Dominiczak, 2018).



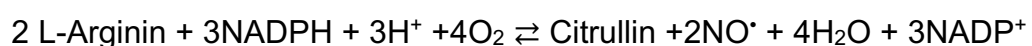
Es existieren keine enzymatischen Abwehrsysteme zum Schutz vor Hydroxylradikalen, weshalb der  $H_2O_2$ -Spiegel anhand verschiedener Peroxidasen genau reguliert werden muss (Lushchak, 2015).

### **3.2.2 RNS – Reaktive Stickstoffspezies**

Unter reaktiven Stickstoffspezies werden redoxfähige, von Stickstoff abgeleitete Moleküle verstanden (Turrens, 2003). Durch eine Dysbalance in der Produktion reaktiver Stickstoffspezies und der Fähigkeit zur Neutralisation dieser entsteht nitrosativer Stress. In Folge kann es zu Nitrosylations-Reaktionen kommen, wodurch Proteine und andere Biomoleküle in ihrer Struktur und dadurch ihrer physiologischen Funktion verändert werden (Al-Shehri, 2021).

#### **3.2.2.1 Stickstoffmonoxid $NO^{\cdot}$**

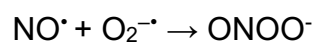
Stickstoffmonoxid  $NO^{\cdot}$  entsteht bei der durch die von Stickstoffmonoxid-Synthasen (NOS) katalysierte Reaktion von L-Arginin zu L-Citrullin (Lushchak and Lushchak, 2021):



NO<sup>•</sup> hat zahlreiche Funktionen im menschlichen Organismus. Es spielt unter anderem durch seine vasodilatative Wirkung eine wichtige Rolle bei der Blutdruckregulierung, hat biologische Funktionen bei der Neurotransmission und ist bei der angeborenen Immunabwehr als antimikrobiell wirksames Molekül involviert (Al-Shehri, 2021).

### **3.2.2.2 Peroxynitrit-Anion ONOO<sup>-</sup>**

Im Rahmen von Entzündungsreaktionen kommt es zur vermehrten Freisetzung von NO<sup>•</sup> und O<sub>2</sub><sup>-•</sup> durch Immunzellen. Diese beiden Moleküle können schnell miteinander reagieren und das sehr reaktive Peroxynitrit-Anion ONOO<sup>-</sup> bilden (Valko *et al.*, 2006).



Das Peroxynitrit-Anion wird also einerseits zum Schutz vor Pathogenen gebildet, führt aber unter Dysregulation zu DNA- und mitochondrialen Schäden, zu Lipidperoxidation und zu Gewebsschädigung durch Oxidation von Proteinen (Adams, Franco and Estevez, 2015).

### **3.2.2.3 Stickstoffdioxid NO<sub>2</sub><sup>•</sup>**

Unter physiologischen pH-Bedingungen liegt Peroxynitrit sowohl als Anion ONOO<sup>-</sup> als auch in seiner protonierten Form, als ONOOH, vor. In wässriger Lösung ist ONOOH instabil und durch homolytische Spaltung des Moleküls kann, neben der Entstehung des Superoxid-Anions, eine weitere reaktive Stickstoffspezies entstehen: das Stickstoffdioxid NO<sub>2</sub><sup>•</sup> (Radi, 2018). NO<sub>2</sub><sup>•</sup> kann außerdem auch durch die von der Myeloperoxidase katalysierten Oxidation von NO<sup>•</sup> durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> entstehen (Baynes and Dominiczak, 2018).

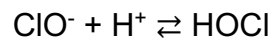
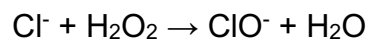
### **3.2.3 RSS – Reaktive Schwefelspezies**

Schwefel wird in Form der essenziellen Aminosäure Methionin über den Verdauungstrakt resorbiert und endogen zum Teil in die nicht essenzielle Aminosäure Cystein umgebaut. Die RSS entstehen endogen primär aus Cystein und spielen wichtige Rollen in der Redoxregulation und bei physiologischen Stoffwechselprozessen. Dysbalancen in der RSS-Homöostase können zu

unterschiedlichen vaskulären, neurologischen, nephrologischen Pathologien und Stoffwechselerkrankungen wie Diabetes Mellitus führen. Zu den RSS gehören Schwefelwasserstoff H<sub>2</sub>S, Persulfide und Polysulfide (Iciek *et al.*, 2022).

### 3.2.4 RHS – Reaktive Halogenspezies

Verschiedene Peroxidasen (u.a. Myeloperoxidase MPO, eosinophile Peroxidase EPO, Lactoperoxidase LPO) katalysieren mithilfe von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> die Oxidation von Halogeniden wie Chlorid Cl<sup>-</sup>, Bromid Br<sup>-</sup> und Iodid I<sup>-</sup> zu Hypohalogeniten (ClO<sup>-</sup>, IO<sup>-</sup>, BrO<sup>-</sup>), die sich in sauren pH-Umgebungen zu den stark oxidationsfähigen Hypohalogen-Säuren (HOCl, HIO, HOBr) umwandeln. Die potenteste RHS ist die hypochlorige Säure HOCl (Moldogazieva *et al.*, 2020).



Die verschiedenen RHS werden also enzymatisch erzeugt und spielen in der Immunabwehr eine bedeutende Rolle. So wandelt beispielsweise die in den Granula neutrophiler Leukozyten vorkommende MPO Chlorid in die hypochlorige Säure um, die antibakteriell wirksam ist (Moldogazieva *et al.*, 2020). HOCl induziert außerdem die oxidative Chlorierung von Lipiden, Proteoglycanen, Aminosäuren und intrazellulären oder membrangebundenen Bestandteilen (Pisoschi and Pop, 2015).

## 4 Bedeutung und Auswirkungen freier Radikale auf den Menschen

Freie Radikale entstehen als Nebenprodukte des physiologischen Zellstoffwechsels und sind als solche in geringen Konzentrationen unerlässlich für die Aufrechterhaltung der Homöostase, können aber im Rahmen des oxidativen Stresses ursächlich für verschiedene pathologische Veränderungen sein.

### 4.1 Physiologische Auswirkungen

Freie Radikale spielen bei der Immunantwort, der Regulation zellulärer Proliferation, Apoptose und Genexpression, der Signaltransduktion und bei zahlreichen anderen physiologischen Mechanismen eine Rolle.

- Immunantwort und zelluläre Abwehr: Makrophagen und neutrophile Granulozyten reagieren als Teil des angeborenen Immunsystems auf bakterielle, virale und Pilzinfektionen mit einer gesteigerten, als „respiratory burst“ bezeichneten, Produktion reaktiver Spezies. Dabei werden über den membrangebundenen NADPH-Oxidase-Komplex  $O_2^{\cdot-}$ -Anionen gebildet (Nguyen, Green and Mecsas, 2017), aus welchen über die Superoxiddismutase in weiterer Folge  $H_2O_2$  entsteht (Vignais, 2002). Im Rahmen der Immunantwort wird zusätzlich vermehrt  $NO^{\cdot}$ , welches mit  $O_2^{\cdot-}$  zum  $ONOO^-$ -Anion reagieren kann, freigesetzt (Valko *et al.*, 2006). Die Pathogene werden entweder durch die vom oxidativen Stress verursachten Schäden oder durch Aktivierung der Pathogen-Eliminierung, beispielsweise durch Autophagie oder Aktivierung von T-Lymphozyten, getötet (Paiva and Bozza, 2014).
- Durch Modifikation von Zielproteinen und Veränderungen intrazellulärer Redoxzustände beeinflussen freie Radikale, insbesondere  $NO^{\cdot}$  und  $H_2O_2$ , die zelluläre Signalübertragung (Bartosz, 2009)
- $NO^{\cdot}$  wirkt als Botenstoff sehr vielfältig. Durch Verhinderung koronarer Vasospasmen wirkt es kardioprotektiv, hat aber auch durch Thrombozyten-Aggregationshemmung und Verminderung der Expression sowohl endothelialer Adhäsionsmoleküle für entzündliche Zellen als auch des

vasokonstriktiv und mitogen wirkenden Peptids Endothelin-1 eine vasoprotektive und antiatherogene Wirkung (Michel and Vanhoutte, 2010).

Es werden drei Isoformen der NO-Synthasen unterschieden:

- eNOS: die NO<sup>•</sup>-Synthese durch die endotheliale NO-Synthase bewirkt über den cGMP-Signalweg eine Vasorelaxation und -dilatation, wodurch es eine Schlüsselrolle im kardiovaskulären System spielt
  - nNOS: die neuronale NO-Synthase produziert NO<sup>•</sup> zur neuronalen, intrazellulären Kommunikation
  - iNOS: die induzierbare NO-Synthase produziert als Reaktion auf Endotoxine oder Zytokin-Signale hohe, zytotoxische Konzentrationen an NO<sup>•</sup> (Al-Shehri, 2021)
- Unter Hypoxie führen niedrige Spiegel von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und O<sub>2</sub><sup>•-</sup> zu einer gesteigerten Synthese von hypoxieinduzierbarem Faktor-1, welcher wiederum die Expression von Wachstumsfaktoren wie VEGF induziert und dadurch die Angiogenese antreibt (Zheng *et al.*, 2024).
  - Niedrige Konzentrationen reaktiver Spezies fördern die Differenzierung und Proliferation von Kardiomyozyten (Zheng *et al.*, 2024).
  - Der Umstand, dass freie Radikale in hohen Konzentrationen zum Zelltod führen, wird vom Organismus für die Apoptose genutzt (Dröge, 2002).

## 4.2 Pathophysiologische Auswirkungen

In größeren Mengen oder bei unzureichender Neutralisierung durch antioxidative Substanzen oder Mechanismen wirken freie Radikale im Rahmen des oxidativen Stresses und der damit ausgelösten chemischen Kettenreaktionen toxisch auf Makromoleküle wie Proteine, Lipide, Polysaccharide und DNA (Turrens, 2003).

Primäre Radikale wie O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und NO<sup>•</sup> reagieren in der Regel reversibel mit Biomolekülen, während Reaktionen mit sekundären Radikalen wie OH<sup>•</sup>, HOCl und ONOO<sup>-</sup> zu irreversiblen Schäden führen können (Weidinger and Kozlov, 2015).

- Mikroorganismen haben Resistenzstrategien gegen die toxische Wirkung freier Radikale entwickelt. So können die im Rahmen des respiratory bursts freigesetzten Radikale zwar häufig Erreger beseitigen, aber auch enorme lokale, langfristige Schäden an Biomolekülen bewirken. Dazu gehören ein

beschleunigter Alterungsprozess, Gewebeschäden, Karzinogenese und Neurodegeneration (Trachootham *et al.*, 2008; O'Neill *et al.*, 2015)

- Eine Dysregulation antimikrobieller Aktivitäten kann schwere entzündliche und Autoimmunerkrankungen wie SLE, rheumatoide Arthritis oder Diabetes Mellitus Typ I provozieren (Nguyen, Green and Meccas, 2017)
- Zellmembranen, die reich an ungesättigten Fettsäuren sind, sind die sensibelste Angriffsstelle für freie Radikale, weil die C-H-Bindung am benachbarten Kohlenstoffatom einer Doppelbindung geschwächt ist. Durch oxidative Schädigung können Ionengradienten nicht aufrechterhalten werden, das Membranpotenzial nimmt ab, die Permeabilität nimmt zu, die Zellmembran verliert ihre Fluidität und Funktionsfähigkeit (Betteridge, 2000). Im Rahmen dieser Lipidperoxidation entstehen Lipidperoxide und Lipidperoxyradikale als sekundäre Oxidationsprodukte, die wiederum zu reaktiven Carbonylverbindungen wie Malondialdehyd (MDA) und Hydroxynonenal (HNE) zerfallen (Baynes and Dominiczak, 2018)
- Proteine werden entweder direkt durch reaktive Spezies oder durch bei der Lipidperoxidation entstandene Aldehyde oxidativ modifiziert. Die Protein-Carbonylierung, die Einführung einer Carbonylgruppe in die Seitenketten der Aminosäuren, ist eine der wesentlichen oxidativen Veränderungen (Akagawa, 2021). Dadurch werden Proteine anfällig für Proteolyse und es kommt zu Einzel- oder Doppelstrangbrüchen der DNA (Betteridge, 2000)
- Durch Reaktion reaktiver Spezies mit Kohlenhydraten entstehen reaktive Carbonylverbindungen, die durch Reaktion mit Proteinen „advanced glycation end-products“ (AGEs) bilden. Bei Diabetes Mellitus sind die AGEs aufgrund der Hyperglykämie und dem oxidativen Stress erhöht (Baynes and Dominiczak, 2018)
- Leber und Nieren sind durch ihre Stoffwechsel- und Filtrationsfunktion der oxidierenden Wirkung reaktiver Spezies stark ausgesetzt. Schäden an Hepatozytenmembranen induzieren Kollagenablagerungen und führen schließlich zu Leberfibrose und -zirrhose. In den Nieren verursacht oxidativer Stress die Produktion proinflammatorischer Zytokine und damit die Entstehung einer nephrotischen Entzündung mit Einschränkung der Nierenfunktion (Hajam *et al.*, 2022)

### 4.3 Rolle freier Radikale beim Alterungsprozess

Der Alterungsprozess geht mit einem Funktionsnachlass oder -verlust von Geweben und Organen einher. Nach der Theorie der freien Radikale sind diese altersbedingten funktionellen Verluste auf die Wirkung reaktiver Spezies zurückzuführen. Die durch oxidativen Stress verursachten Schädigungen von Makromolekülen führen zur Störung der Homöostase und Abnahme der Funktionsfähigkeit unterschiedlicher Gewebe (Bonomini, Rodella and Rezzani, 2015). Dies trägt zur Genese altersassoziierter Beeinträchtigungen, darunter kardiovaskulären, chronisch pulmonalen und renalen, neurodegenerativen und onkologischen Erkrankungen, bei (Hajam *et al.*, 2022). Durch Studien konnte an verschiedenen Tierarten gezeigt werden, dass es einen Zusammenhang von oxidativem Stress mit der Lebensdauer gibt:

- In *Caenorhabditis elegans* führt eine DAF-2-Genmutation zu einer erhöhten SOD-Expression und damit einer verlängerten Lebensdauer (Honda and Honda, 1999)
- Durch Gabe von SOD- und CAT-Mimetika konnte in *Caenorhabditis elegans* die durchschnittliche Lebensdauer um 44% erhöht werden (Melov *et al.*, 2000)
- Mäuse mit einer Mutation im p66shc-Gen, welches für einen Stress-apoptotischen Signaltransduktor codiert, weisen eine erhöhte Resistenz gegen oxidativen Stress und erhöhte Lebensdauer auf (Dröge, 2002)
- *Drosophila melanogaster* mit einer Überexpression von den antioxidativ wirkenden Enzymen SOD und CAT weisen eine Verlängerung der Lebenszeit um bis zu 40% auf (Orr and Sohal, 1994; Parkes *et al.*, 1998)

Mitochondrien sind mit ihrer Atmungskette die wichtigste Quelle endogener ROS und gleichzeitig häufiges Ziel dieser, wodurch mitochondriale Proteine, Lipide und mtDNA geschädigt werden. Durch die progressive Akkumulation oxidativ induzierter Mutationen der mtDNA kommt es im Laufe des Lebens zu einer Abnahme der bioenergetischen mitochondrialen Funktion, die zum Alterungsprozess beiträgt. Dies führt zu einem Teufelskreis mit einer Zunahme der ROS-Produktion einerseits und einer Akkumulation weiterer mtDNA-Mutationen andererseits (Bratic and Larsson, 2013). Aufgrund der unzureichenden

Energieversorgung und der damit erhöhten Anfälligkeit für die Apoptose ergibt sich der progressive Rückgang zellulärer und Gewebefunktionen (Bonomini, Rodella and Rezzani, 2015). Die Annahme, dass die mitochondriale ROS-Produktion neben anderen Faktoren ursächlich für die zelluläre Seneszenz ist, konnte 2007 in einer Studie von Passos et al., in welcher früh seneszente Zellen höhere Konzentrationen an ROS-Werten sowie dysfunktionale Mitochondrien und kürzere Telomere als andere, nicht oder später seneszente Zellen aufwiesen, untermauert werden (Passos *et al.*, 2007). Eine Zunahme der ROS-Produktion verringert wiederum die Aktivität enzymatischer Abwehrsysteme durch die SOD oder die CAT. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die verringerte Aktivität dieser beiden Enzyme bei Mäusen zu einer Erhöhung des oxidativen Stresses und in weiterer Folge zu vorzeitigem Altern und dem Auftreten altersassoziierter Pathologien führt (Hajam *et al.*, 2022).

Aufgrund der funktionalen Ineffizienz von Enzymen und anderen Biomolekülen ist die zelluläre Lebensdauer reduziert. Zusätzlich dazu verursacht oxidativer Stress die peroxidative Schädigung von Membranlipiden, die Abnahme von Fettsäuren und den Abbau von Proteinen, wodurch es zur Akkumulation gealterter Proteine und Lipide sowie einer Abnahme der replikativen Fähigkeit der DNA kommt. Dies wird in Abbildung 3 veranschaulicht (Hajam *et al.*, 2022). Als Reaktion auf die Schädigungen treten die betroffenen Zellen in den Zustand der Seneszenz ein.

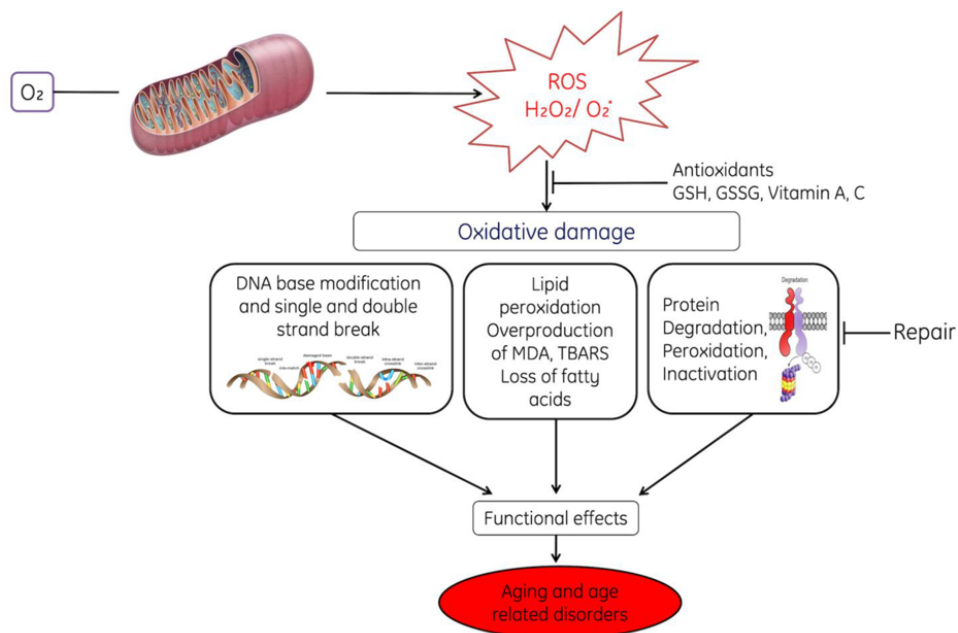


Abbildung 3: Die Rolle von ROS bei der Zellalterung (Hajam *et al.*, 2022)

Senescente Zellen nehmen den sogenannten „Seneszenz-assoziierten sekretorischen Phänotyp“ (SASP) an. Als solche sezernieren diese Zellen große Mengen an Interleukinen, Chemokinen, Immunmodulatoren, Wachstumsfaktoren und Proteasen wie Matrixmetalloproteasen (MMPs). Es entsteht ein entzündlicher Zustand, der in einem Teufelskreis zu einer gegenseitigen Verstärkung mit oxidativem Stress führt und die Morbidität und Mortalität erhöht (Liguori *et al.*, 2018).

Im Folgenden wird auf einen Teil der häufigsten altersassoziierten Erkrankungen und ihren Zusammenhang mit oxidativem Stress genauer eingegangen. Diese Auflistung wurde auf einige wenige relevante Erkrankungen beschränkt und ist keinesfalls vollständig.

#### **4.3.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen**

Durch Reduktion der Expression antioxidativer Enzyme sinkt mit steigendem Alter die Toleranz des Herzens gegenüber oxidativem Stress. Dies konnte durch Studien an Ratten gezeigt werden, bei welchen die kardialen Konzentrationen der Glutathionperoxidase, der SOD und der Ascorbatwerte mit dem Alter signifikant abnahmen (Abete *et al.*, 1999; Suh, Heath and Hagen, 2003). Diese verminderte Toleranz erhöht das Risiko zur Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen, in welchen die Arteriosklerose neben den anderen Symptomen des metabolischen Syndroms eine entscheidende Rolle als Hauptursache spielt. Insulinresistenz, Adipositas, Hypertonie und Dyslipidämie sind kardiale Risikofaktoren, die mit systemischer Entzündung einhergehen und zu einer Erhöhung von Interleukinen führen. Dies führt wiederum, wie in Abbildung 4 ersichtlich, zu einem Teufelskreis zwischen ROS-Produktion, metabolischem Syndrom und Altern, die sich gegenseitig verstärken (Bonomini, Rodella and Rezzani, 2015). Gemeinsam mit dem metabolischen Syndrom als Risikofaktor für die Entstehung der Arteriosklerose führt die SASP-induzierte osteoblastische Metaplasie seneszenter glatter Muskelzellen zur vaskulären Verkalkung (Liguori *et al.*, 2018).

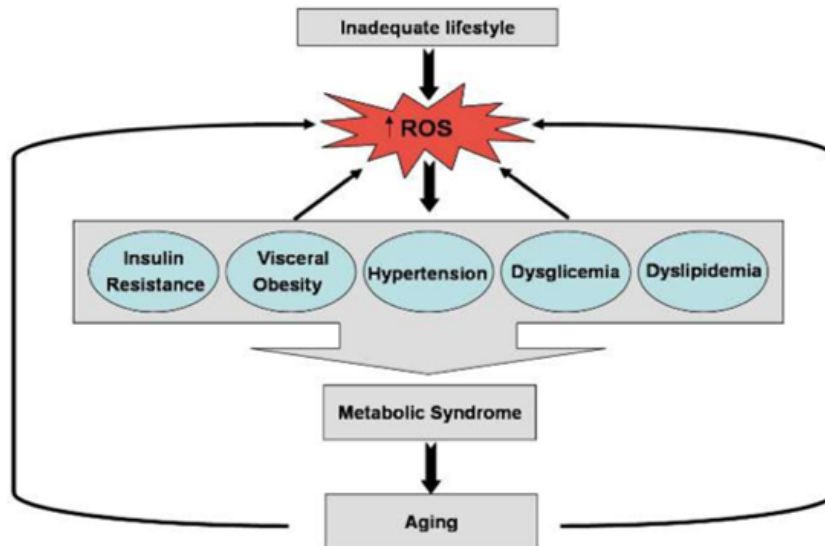


Abbildung 4: Beziehung zwischen ROS-Produktion, metabolischem Syndrom und Altern (Bonomini, Rodella and Rezzani, 2015)

Oxidativer Stress wirkt auf mehreren Ebenen als wichtiger pathogenetischer Faktor kardiovaskulärer Erkrankungen. Durch die Reduktion der Bioverfügbarkeit von  $\text{NO}^{\bullet}$  durch Reaktion mit  $\text{O}_2^{\bullet-}$  unter Bildung von  $\text{ONOO}^-$  nimmt  $\text{NO}^{\bullet}$  in seiner antiatherogenen, kardio- und vasoprotektiven Wirkung ab (Gradinaru *et al.*, 2015). Eine Studie von Hamilton *et al.* zeigte, dass bei Ratten die  $\text{NO}^{\bullet}$ -Bioverfügbarkeit mit steigendem Alter sinkt, die  $\text{O}_2^{\bullet-}$ -Konzentration jedoch steigt (Hamilton *et al.*, 2001). Die  $\text{NO}^{\bullet}$ -Abnahme beruht zusätzlich auf dem altersbedingten Rückgang der eNOS-Expression und die verminderte intrazelluläre L-Arginin-Konzentration durch altersbedingten Arginase-Anstieg (Berkowitz *et al.*, 2003). Eine weitere Studie von Donato *et al.* (2007) zeigte, dass endothelialer oxidativer Stress bei Männern mit steigendem Alter zu- und die Fähigkeit zur endothelialen Vasodilatation abnimmt. Zusätzlich wurde herausgefunden, dass diese Zunahme an oxidativem Stress auf eine erhöhte Expression der NAD(P)H-Oxidase zurückzuführen sein könnte (Donato *et al.*, 2007). Die Identifikation der NAD(P)H-Oxidasen als Hauptquellen der vaskulären  $\text{O}_2^{\bullet-}$ -Produktion erfolgte schon 2002 in einer Studie von Csiszar *et al.*, die ebenfalls eine Erhöhung der  $\text{O}_2^{\bullet-}$ - und eine Abnahme der  $\text{NO}^{\bullet}$ -Bioverfügbarkeit in gealterten Ratten postulierte (Csiszar *et al.*, 2002). Durch Mangel der  $\text{NO}^{\bullet}$ -Wirkungen wie Vermeidung endothelialer Adhäsion entzündlicher Zellen und Hemmung der Thrombozytenaggregation werden Inflammation und Atherogenese gefördert (Ungvari *et al.*, 2010). Zusätzlich ist der Spiegel von Endothelin-1, dem effektivsten Vasokonstriktor, erhöht (Liguori *et al.*, 2018).

Als zweiter kausaler Faktor für die Genese kardiovaskulärer Erkrankungen gilt die endotheliale Dysfunktion aufgrund von Lipidperoxidation, bei welcher oxidiertes LDL-Cholesterin (oxLDL) zur Bildung und Progression atherosklerotischer Plaques beiträgt (Gradinaru *et al.*, 2015). 2013 wurde in einer Studie an 2944 gesunden Frauen im Alter zwischen 30 und 79 Jahren ein beachtlicher Anstieg der ox-LDL-Plasmaspiegel nach dem 50. Lebensjahr und der damit einhergehende Risikoanstieg einer koronaren Herzerkrankung betont (Paik *et al.*, 2013).

Die oxidative endotheliale Schädigung durch ox-LDL veranlasst die Expression von Leukozyten-bindenden Adhäsionsmolekülen, darunter interzelluläre und vaskuläre Adhäsionsmoleküle, Integrine und Selektine. Letztere verursachen eine gesteigerte Leukozyten-Migration, Integrine wiederum die Bindung dieser an die Verletzungsstelle. Gebundene Leukozyten dringen in die Intima ein, wo sie sich zu Makrophagen entwickeln, die wiederum durch Expression von Scavenger-Rezeptoren ox-LDL aufnehmen können und so zu Schaumzellen werden (Wang, Chun and Song, 2013). Ox-LDL rekrutiert und aktiviert also Makrophagen, initiiert die LDL-Aufnahme dieser und damit die Bildung von Schaumzellen (Pisoschi and Pop, 2015). Es fördert die Proliferation glatter Muskelzellen, die Zytotoxizität gegenüber Endothelzellen, entzündliche Veränderungen der Gefäßwand und die thrombozytäre Adhäsion und Aggregation (Gradinaru *et al.*, 2015). Dadurch erklären sich die proinflammatorischen, -thrombotischen und -atherogenen Wirkungen von ox-LDL, die zur endothelialen Dysfunktion und vaskulären Umstrukturierung führen und damit Faktoren für die Genese von Hypertonie und Arteriosklerose sind (Liguori *et al.*, 2018).

In klinischen Studien konnte bestätigt werden, dass oxidativer Stress und seine pathophysiologischen Mechanismen wie Lipidperoxidation, Protein-Carbonylierung und DNA-Oxidation zu funktionellen und strukturellen myokardialen Veränderungen führen können. Weiters ist eine Exposition mit reaktiven Spezies an der Pathogenese von Vorhofflimmern beteiligt und führt zu zellulären Schäden mit Induktion von Nekrose, Apoptose und Autophagie (Baker *et al.*, 2009; Rodrigo, 2012; Ali-Hassan-Sayegh *et al.*, 2014). Im Myokard ist die O<sub>2</sub>-Diffusionsrate sehr hoch, weshalb unter oxidativem Stress mehr ROS entstehen als in anderen

Gewebe. Eine erhöhte ROS-Produktion wiederum erhöht die mitochondriale Permeabilität und führt zu einer Dysfunktion der Mitochondrien, woraus in weiterer Folge apoptotische Moleküle wie Cytochrom c ausgeschüttet werden (Zheng *et al.*, 2024).

### **4.3.2 Neurodegenerative Erkrankungen**

Mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress spielen bei der Genese und dem Fortschreiten verschiedener neurodegenerativer Erkrankungen eine wichtige Rolle, wobei die Erschöpfung von Zellmembranen als Folge der Lipidperoxidation als eine führende Ursache gilt. Durch diese Schädigung können Membranproteine wie GLUT-3, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasen und verschiedene Kinasen ihre Funktion nicht mehr erfüllen, woraus eine Dysregulation der Ionenübertragung und des Kalziumhaushalts resultiert. Diese Veränderungen können zu ROS-Produktion und Zelltod führen, die schlussendlich über die Apoptose in der Neurodegeneration resultieren (Pisoschi and Pop, 2015). Zu diesen neurodegenerativen Erkrankungen gehören unter anderen Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Chorea Huntington sowie die Amyotrophe Lateralsklerose (Liguori *et al.*, 2018).

#### **Morbus Alzheimer**

Die Erkrankung ist eine Form der Demenz, bei welcher es neben synaptischer Dysfunktion zur Atrophie bestimmter Gehirnareale mit allmählichem Verlust von Gedächtnis und kognitiver Funktionen kommt, die schließlich zum Tod führt (Zhao and Zhao, 2013). Pathognomonisch für den Krankheitsprozess ist die Akkumulation der normalerweise löslichen Proteine Amyloid-Beta (A $\beta$ ) und Tau, welche Plaques und neurofibrilläre Bündel bilden (Goedert and Spillantini, 2006). In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass verschiedene Biomarker oxidativen Stresses in Gehirn und Liquor von Alzheimer-Patient\*innen erhöht sind und unterstreichen damit die Aussage, dass reaktive Spezies wichtige Faktoren bei der Entstehung und Progression der Erkrankung sind (Hensley *et al.*, 1995; Lovell *et al.*, 1995; Selley, Close and Stern, 2002; Praticò, 2008). So korrelierten in einer Studie von Baierle *et al.* (2015) erhöhte MDA-, Glutathion-Peroxidase-(GSH-Px) und Protein-Carbonyl-Spiegel mit erhöhten Konzentrationen

proinflammatorischer Zytokine, die beide mit einer geringeren kognitiven Leistungsfähigkeit bei Älteren verbunden waren (Baierle *et al.*, 2015). Zusätzlich dazu wurde sowohl im ZNS als auch in peripheren Geweben eine geringere Aktivität und/oder Expressierung der SOD und CAT in Alzheimer-Patient\*innen festgestellt (Marcus *et al.*, 1998; Omar *et al.*, 1999). Dieser Umstand trägt zusätzlich zu anderen Faktoren, die zu einer Erhöhung reaktiver Spezies im Metabolismus führen können, zu einem Missverhältnis des Redox-Zustandes bei und führt zu oxidativem Stress (Hajam *et al.*, 2022), welcher wiederum die Aggregation an A $\beta$ - und die Polymerisation von Tau-Proteinen fördern kann. Diese Ablagerungen führen ebenfalls zu einer Zunahme des oxidativen Stresses und es ergibt sich ein sich selbst verstärkender Teufelskreis (Zhao and Zhao, 2013).

Eine Studie von Bobba *et al.* (2013) zeigte, dass A $\beta$ -Plaques in kortikalen Zellkulturen von Ratten Defekte in den Komplexen I (NADH-Dehydrogenase) und IV (Cytochrom c-Oxidase) der mitochondrialen Atmungskette verursachen. Aus der Schädigung des Komplex I resultierte eine bis zu 5-fache Zunahme der intrazellulären ROS-Bildung (Bobba *et al.*, 2013). Gemeinsam mit akkumulierten Tau-Proteinen, die ebenfalls die Aktivität der NADH-Dehydrogenase hemmen, kommt es zu einer massiven Verstärkung des Redoxungleichgewichts, welches schließlich zur mitochondrialen Dysfunktion mit ineffizienter neuronaler ATP-Versorgung führt (Hajam *et al.*, 2022). Diese Mangelversorgung hat eine Beeinträchtigung in der Neurotransmission und dem axonalen Transport zur Folge, indem ATP-abhängige Ionenkanäle in ihrer Funktion eingeschränkt sind und das zytoplasmatische Ionengleichgewicht nicht aufrechterhalten werden kann (Bobba *et al.*, 2013). ROS verursachen also einerseits die Inaktivierung enzymatischer Schutzsysteme und andererseits die Phosphorylierung des Tau-Proteins, wodurch es zu einer pathologischen Anhäufung neurofibrillärer Bündel kommt (Hajam *et al.*, 2022).

### **Morbus Parkinson**

Morbus Parkinson ist nach Morbus Alzheimer die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung. Pathognomonisch ist ein progressiver Verlust dopaminerger Neurone in der Substantia nigra und die Aggregation des Proteins

$\alpha$ -Synuclein zu den eosinophilen, intraneuronalen Lewy-Einschlusskörperchen (Gandhi and Abramov, 2012). Eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese spielt oxidativer Stress, dessen Ursprung zusätzlich zu anderen Faktoren, die zu einer Erhöhung reaktiver Spezies im Metabolismus führen können, auf die Autooxidation von Dopamin und den Dopamin-Abbau durch Monoaminoxidasen zurückzuführen sein könnte (Dalfó *et al.*, 2005). Zusätzlich fördert, ähnlich wie beim Morbus Alzheimer,  $\alpha$ -Synuclein die mitochondriale Dyfunktion, wodurch ein Teufelskreis entsteht (Hsu *et al.*, 2000). In betroffenen Gehirnen ist die Konzentration der mehrfach ungesättigten freien Fettsäuren vermindert, die der Lipidperoxidations-Marker wie MDA und HNE, die wiederum mit Proteinen reagieren können, jedoch erhöht (Pisoschi and Pop, 2015). RNS bewirken die Protein-Nitration und -Nitrosylierung im Gehirn von Parkinson-Erkrankten und führen zu einer Funktionseinschränkung des Komplex I in der mitochondrialen Atmungskette (Brown and Borutaite, 2004). Es liegt auch die Annahme vor, dass in erkrankten Arealen eine höhere Tendenz zur Reaktion von  $\text{NO}^{\bullet}$  mit  $\text{O}_2^{\bullet-}$  zum stark reaktiven  $\text{ONOO}^-$  vorliegt. Eine veränderte posttranslationale Protein-Ubiquitinierung wurde außerdem als entscheidend für den dopaminergen Zelltod identifiziert (Dextera and Jenner, 2013).

In betroffenen Gehirnarealen sind erhöhte Protein-Carbonylierungen nachweisbar, was darauf schließen lässt, dass die Proteinoxidation hier im größeren Rahmen stattfindet (Alam *et al.*, 1997; Floor and Wetzel, 1998; Gandhi and Abramov, 2012). In einer Studie von Seet *et al.* (2010) wurden außerdem erhöhte Konzentrationen von 8-Hydroxydeoxyguanosin, welche mit einer Zunahme an mt-DNA-Deletionen in dopaminergen Neuronen der Substantia nigra einhergehen, nachgewiesen (Seet *et al.*, 2010). Neben der erhöhten Produktion und Exposition gegenüber reaktiven Spezies wurde ein verminderter Spiegel von reduziertem Glutathion, welches physiologischerweise als Antioxidans wirkt, in der Substantia nigra festgestellt. Dies unterstreicht die Hypothese von oxidativem Stress als wesentlichem Bestandteil bei der Pathogenese des Morbus Parkinson (Sian *et al.*, 1994; Dalfó *et al.*, 2005).

## 5 Antioxidantien

### 5.1 Definition

Als Radikalfänger spielen Antioxidantien eine wichtige Rolle bei der Reduktion oxidativer Prozesse und schädlicher Wirkungen reaktiver Spezies. Durch Aufnahme oder Abgabe einzelner Elektronen neutralisieren sie die freien Radikale, reduzieren damit deren schädliche Eigenschaften und bieten Schutz für biologische Strukturen (Valko *et al.*, 2006). Antioxidantien sind also Substanzen, die die Oxidation oxidierbarer Substrate reduzieren und damit oxidative Schäden an Zielmolekülen verzögern, verhindern oder beseitigen (Gulcin, 2020). Dazu gehört die Lipidperoxidation mit der Entstehung sekundärer Lipidperoxidationsprodukte, die Proteinoxidation und -carbonylierung mit der Veränderung der Proteinfunktion sowie die Oxidation von Kohlenhydraten und DNA (Sindhi *et al.*, 2013). Primäre Antioxidantien wirken durch direktes Abfangen radikaler Spezies, wandeln diese in stabilere oder nicht-Radikale um und unterbrechen somit eine potenzielle Kettenreaktion. Sekundäre Antioxidantien inaktivieren  $^1\text{O}_2$ , zerlegen Peroxide zu nicht-Radikalen, hemmen oxidative Enzyme oder absorbieren UV-Strahlung (Pisoschi and Pop, 2015).

Anhand ihres Wirkungszeitpunktes können Antioxidantien in vier Verteidigungslinien eingeteilt werden:

1. Präventive Antioxidantien: durch Neutralisation reaktiver Spezies, wie zum Beispiel die Reaktion von  $\text{O}_2^-$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu unschädlichem  $\text{O}_2$ , werden oxidative Reaktionen durch die Umwandlung chemischer Moleküle in potenzielle freie Radikale und die Entstehung weiterer verhindert (Pisoschi *et al.*, 2021). Dazu gehören metallionen-bindende Proteine wie Transferrin, Ferritin, Ceruloplasmin oder Albumin, die durch Bindung von  $\text{Fe}^{2+}$  und  $\text{Cu}^+$  deren Reaktivität mindern (Baynes and Dominiczak, 2018)
2. Radikalfänger: durch Abgabe von Elektronen werden Radikale neutralisiert und die entstehende Kettenreaktion wird unterdrückt. Die dabei neu entstehenden Radikale sind leicht neutralisierbar. Dazu gehören die hydrophilen Moleküle Ascorbinsäure, Glutathion und Harnsäure sowie die lipophilen  $\alpha$ -Tocopherol und Ubichinon (Pisoschi *et al.*, 2021)

3. Reparierende Antioxidantien sind Enzyme, die beschädigte Lipide, Proteine und DNA erkennen und ihre Anhäufung verhindern. Oxidierte Proteine sind somit Ziele proteasomalen Abbaus und geschädigte DNA wird durch unterschiedliche Exzisionsreparaturmechanismen mithilfe von Polymerasen, Glykosylasen und Nukleasen repariert (Baynes and Dominiczak, 2018)
4. Auf Adaptionsmechanismen angepasste Antioxidantien nutzen für ihre Wirkung die für die Radikal-Produktion oder -Reaktion mit anderen Molekülen erforderlichen Signale. Diese induzieren die Synthese und den Transport geeigneter Antioxidantien an den richtigen Orten (Noguchi, Watanabe and Shi, 2000)

Viele wissenschaftlich Studien beschäftigen sich mit den Einflüssen von Antioxidantien in Bezug auf Stress, Alterung und den pathophysiologischen Hintergründen neurologischer, kardiovaskulärer und onkologischer Erkrankungen (Gulcin, 2020). Da reaktive Spezies aber, wie in Kapitel 3.3.1 erläutert, auch zahlreiche physiologische Aufgaben im menschlichen Organismus haben, kann eine (übermäßige) Supplementierung von Antioxidantien durchaus negative Folgen haben, weshalb ihr therapeutischer oder präventiver Einsatz in verschiedenen erkrankungsspezifischen Situationen wissenschaftlich umstritten ist.

## 5.2 Einteilung

Auf die unterschiedlichen Arten der Klassifikation von Antioxidantien wird nur kurz Bezug genommen, bevor im Anschluss der Fokus auf die Einteilung in das enzymatische und nicht-enzymatische Abwehrsystem gelegt wird:

- Klassifikation je nach Ursprung (endogen/exogen, natürlich/synthetisch)
  - Endogene Antioxidantien sind Enzyme, metallionen-bindende Proteine und Moleküle wie Glutathion, Harnsäure und Melatonin, die im physiologischen menschlichen Organismus vorkommen
  - Exogene Antioxidantien werden im Körper nicht synthetisiert und müssen über die Nahrung aufgenommen werden. Dazu gehören Ascorbinsäure, Tocopherole und Karotinoide (Pisoschi *et al.*, 2021)

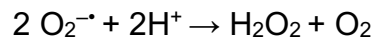
- Natürliche Antioxidantien werden über die Nahrung aufgenommen und sind in Obst, Gemüse und Gewürzen enthalten (Sindhi *et al.*, 2013)
- Synthetische Antioxidantien sind hauptsächlich künstlich hergestellte, phenolische Strukturen, die in der Lebensmittelkonservierung zum Erhalt von Farbe, Geschmack und Konsistenz durch Verzögerung der Lipidperoxidation eingesetzt werden (Gulcin, 2020; Pisoschi *et al.*, 2021)
- Klassifikation je nach Löslichkeit
  - Hydrophile Antioxidantien wie Ascorbinsäure, Glutathion, Harnsäure oder Flavonoide
  - Lipophile Antioxidantien wie Tocopherol, Karotinoide oder Ubichinol (Pisoschi *et al.*, 2021)
- Klassifikation enzymatisch und nicht-enzymatisch
  - Enzymatische Abwehrsysteme sind unter anderem die SOD, die CAT und die Glutathionperoxidase (GPX) (Matés, Pérez-Gómez and De Castro, 1999a)
  - Nicht-enzymatische Antioxidantien umfassen unter anderem Ascorbinsäure, Tocopherol, Karotinoide, Polyphenole wie Flavonoide (Valko *et al.*, 2006) sowie bioorganische Moleküle wie Harnsäure, Glutathion, Ubichinon sowie metallionen-bindende Proteine wie Transferrin, Ferritin, Ceruloplasmin (Pisoschi *et al.*, 2021)

### **5.2.1 Enzymatisches Abwehrsystem**

Als Teil der endogenen Abwehr spielen unterschiedliche antioxidativ wirksame Enzyme eine wesentliche Rolle im Redox-Gleichgewicht des menschlichen Organismus. Die wichtigsten Vertreter darunter sind die Superoxid-Dismutase (SOD), die Katalase (CAT) und die Glutathion-Peroxidase (GPX) (Matés, Pérez-Gómez and De Castro, 1999a). Für die meisten Reaktionen benötigen die Enzyme unterschiedliche Spurenelemente wie Mangan, Kupfer, Zink, Eisen oder Selen als Co-Faktoren, weshalb eine ausreichende Zufuhr dieser über die Nahrung für die antioxidative Funktion dieser Enzyme essenziell ist.

### **5.2.1.1 Superoxid-Dismutase (SOD)**

Die SOD katalysiert als leistungsstärkstes zelluläres Antioxidans die Reaktion von  $O_2^{\cdot-}$  zum weniger reaktiven  $H_2O_2$  (Matés, Pérez-Gómez and De Castro, 1999b).



Als Metalloenzym benötigt die SOD für ihre biologische Aktivität einen Metall-Kofaktor, welcher entweder Mangan (Mn) oder Zink (Zn) und Kupfer (Cu) ist. Je nach gebundenem Metallion werden zwei Isoformen der SOD unterschieden (Ighodaro and Akinloye, 2018):

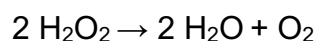
- Die Mn-SOD, welche in den Mitochondrien wirkt
- Die CuZn-SOD, welche ubiquitär innerhalb der Zelle, aber vor allem zytoplasmatisch, verteilt ist

Das extrazelluläre Glykoprotein EC-SOD ist eine Isoform der CuZn-SOD, die im vaskulären Endothel vor  $O_2^{\cdot-}$ - und ONOOH- verursachten Schäden schützt (Baynes and Dominiczak, 2018)

In einer Studie von Lebovitz et al. (1996) wurden die Auswirkungen von genomisch veränderten Mn-SOD-Enzymen an Mäusen untersucht. Dabei wurden vermehrt pathologische Veränderungen wie Neurodegenerationen, motorische Störungen und schwere Anämien festgestellt. Außerdem wiesen ältere Mäuse mitochondriale Schäden und degenerative myokardiale Alterationen mit stark hypertrophierten und dilatierten Herzen auf (Lebovitz et al., 1996). Diese Beobachtungen sind ein Hinweis darauf, dass Mutationen und dadurch mangelnde Funktionsfähigkeiten der Mn-SOD zu einer erhöhten Anfälligkeit für mitochondriale oxidative Schäden führen können.

### **5.2.1.2 Katalase (CAT)**

$H_2O_2$  kann durch Akkumulation (Ighodaro and Akinloye, 2018) oder als potenzielle Quelle für  $OH^{\cdot}$  toxisch sein, wodurch die CAT als Peroxidase die Reaktion von  $H_2O_2$  zu den weniger schädlichen Molekülen  $H_2O$  und  $O_2$  katalysiert und somit den von der SOD initiierten Entgiftungsprozess beendet. Die CAT ist vor allem in Peroxisomen vorhanden (Lushchak, 2014; Baynes and Dominiczak, 2018).

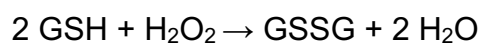


Dieses sehr effiziente Enzym ist ebenfalls ein Metalloprotein und nutzt als Kofaktor entweder Mn oder Fe<sup>2+</sup> (Ighodaro and Akinloye, 2018).

In zahlreichen wissenschaftlichen Veröffentlichungen konnte eine mangelnde CAT-Funktion mit unterschiedlichen Pathologien in Verbindung gebracht werden. So werden genetische Polymorphismen mit veränderter CAT-Expression und CAT-Aktivität mit oxidativen DNA-Schädigungen und konsekutiv erhöhtem Malignom-Risiko assoziiert (Zámocký and Koller, 1999; Khan *et al.*, 2010).

### **5.2.1.3 Glutathion-Peroxidase (GPX)**

Da die CAT in den Mitochondrien fehlt, wird ihre Funktion innerhalb dieser durch die GPX ausgeführt (Ighodaro and Akinloye, 2018). Dieses Enzym existiert als selenunabhängige Glutathion-S-Transferase und als selenabhängige GPX (Valko *et al.*, 2006) und katalysiert sowohl mitochondrial als auch zytoplasmatisch unter Oxidation von Glutathion (GSH) die Reduktion von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Matés, Pérez-Gómez and De Castro, 1999b) und den Abbau von Lipidperoxiden (Pisoschi *et al.*, 2021).



Als Tripeptid besteht GSH aus den Aminosäuren Glutaminsäure, Glycin und Cystein. Die Sulfhydrylgruppe (-SH) von Cystein fungiert bei der Reaktion als Elektronendonator und bildet mit der SH-Gruppe eines zweiten Glutathions eine Disulfidbrücke. Durch NADPH-abhängige Reduktion der Disulfidbrücke regeneriert die Glutathionreduktase das GSH (Horn *et al.*, 2018).

### **5.2.2 Nicht-enzymatisches Abwehrsystem**

Bei der nicht-enzymatischen Abwehr wird zwischen endogenen und exogenen Antioxidantien unterschieden. Zu den endogen wirksamen Vertretern gehören Moleküle wie GSH, Harnsäure, Melatonin, Ubiquinone und  $\alpha$ -Liponsäure, die im physiologischen menschlichen Organismus gebildet werden. Exogene Antioxidantien werden im Körper nicht synthetisiert und müssen über die Nahrung aufgenommen werden. Dazu gehören Ascorbinsäure, Tocopherole, Karotinoide, Phenole und Flavonoide (Pisoschi *et al.*, 2021). Ein Teil dieser Antioxidantien wirkt in einem hydrophilen, ein anderer in einem hydrophoben und wieder ein anderer in

beiden zellulären Milieus. Dieser Umstand ist wichtig, da Zellen sowohl hydrophile als auch lipophile Kompartimente aufweisen und jedes einzelne vor Schäden durch radikale Spezies geschützt werden muss. So wirkt Ascorbinsäure in hydrophiler, Tocopherol in lipophiler und  $\alpha$ -Liponsäure sowohl in hydro- als auch in lipophiler Umgebung, wodurch es sowohl zytoplasmatisch als auch an Zellmembranen wirken kann (Valko *et al.*, 2006).

### **5.2.2.1 Ascorbinsäure (Vitamin C)**

Ascorbinsäure, deren Name auf ihren therapeutischen Einsatz bei Skorbut zurückzuführen ist, wird von den meisten Säugetieren endogen aus Glucose-6-Phosphat synthetisiert (Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten, 2018). Aufgrund einer evolutionär bedingten Defizienz der dafür notwendigen L-Gulonolacton-Oxidase ist dies dem Menschen nicht möglich, weshalb Vitamin C exogen über die Nahrung zugeführt werden muss (Nishikimi and Yagi, 1991; Gęgotek and Skrzydlewska, 2022).

Für einen gesunden, nicht rauchenden Erwachsenen wird nach den D-A-CH-Referenzwerten (2020) eine Vitamin-C-Zufuhrmenge von 95mg für Frauen und 110mg für Männer pro Tag empfohlen. Aufgrund des vermehrten oxidativen Stresses beim Rauchen steigt der Bedarf bei Frauen auf 135mg und bei Männern auf 155mg pro Tag (*Vitamin C - Alles zu Bedarf, Quellen und Mangel | Gesundheitsportal*, no date). Vitamin C wird primär über den Verzehr von Früchten wie schwarzen Johannisbeeren, Kiwis, Erdbeeren und Zitrusfrüchten, von Gemüse wie Brokkoli, Kohl, Paprika, Kartoffeln und Sauerkraut (Doseděl *et al.*, 2021) sowie von Hülsenfrüchten und Vollkornprodukten aufgenommen (Jia *et al.*, 2023). Da es sich hierbei um Lebensmittel handelt, die zum Großteil ganzjährig verfügbar sind, ist ein Mangel heutzutage selten und meist auf eine schwere Erkrankung zurückzuführen. Durch den vermehrt verursachten oxidativen Stress kann es hierbei nämlich zu einem erhöhten metabolischen Verbrauch von Vitamin C und einer mangelnden Regeneration von der oxidierten zur reduzierten, ursprünglichen Form kommen (Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten, 2018).

## Wirkungsweise

Als kettenbrechendes Antioxidans wirkt Vitamin C durch Abgabe eines H<sup>+</sup>-Atoms als Reduktionsmittel und verhindert damit die Bildung organischer Radikale durch die Reaktion reaktiver Spezies mit Biomolekülen. Das dadurch entstehende Dehydroascorbyl-Radikal ist nicht reaktiv und wird enzymatisch durch die Dehydroascorbat-Reductase GSH-abhängig wieder zu Ascorbinsäure reduziert (Baynes and Dominiczak, 2018).

In seiner chemischen Struktur ist Ascorbinsäure ein wasserlöslicher, ungesättigter Polyhydroxy-Alkohol mit einem 5-C-Kohlenstoffring als Zentrum. Durch die Doppelbindung zwischen C2 und C3 und die vier Hydroxylgruppen an C2, C3, C5 und C6 erklärt sich die starke Reduktionsfähigkeit der Ascorbinsäure, wodurch reaktive Moleküle wie O<sub>2</sub><sup>-•</sup> und OH<sup>•</sup> entradikalisiert werden können (Gęgotek and Skrzydlewska, 2022).

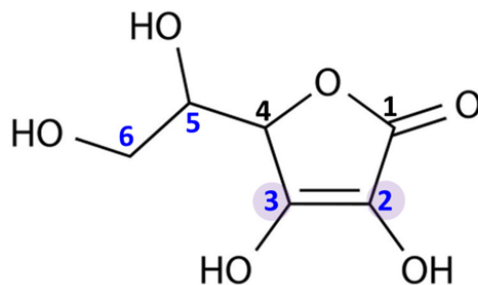


Abbildung 5: Chemische Struktur der Ascorbinsäure (Gęgotek and Skrzydlewska, 2022)

Als idealer Elektronendonator dient Vitamin C außerdem als Cofaktor bei vielen enzymatischen Reaktionen (Gęgotek and Skrzydlewska, 2022). Ascorbinsäure spielt zum Beispiel neben der Neurotransmitter- und Gallensäure-Synthese (Baynes and Dominiczak, 2018) eine unerlässliche Rolle bei der Synthese von Kollagen, indem es durch Reduktion von oxidiertem Fe<sup>3+</sup> den für die Prokollagen-Prolin-Dioxygenase und Prokollagen-Lysin-Dioxygenase notwendigen Cofaktor Fe<sup>2+</sup> herstellt (Njus *et al.*, 2020). Trotz dieser essenziellen Reaktion entsteht mit dem zweiwertigen Fe-Atom gleichzeitig wiederum ein Substrat für die Fenton-Reaktion und damit die Entstehung von OH<sup>•</sup> (Tariq, 2007). Somit bildet Vitamin C trotz seiner wichtigen Funktion als Antioxidans durch seine Reaktionen auch Produkte, die prooxidative Eigenschaften zeigen (Yen, Duh and Tsai, 2002; Ivanova, Trofimova and Piskarev, 2013).

Als weitere wichtige antioxidative Funktion scheint Vitamin C über die Reduktion von Dihydrobiopterin zu Tetrahydrobiopterin und damit der Bildung eines Cofaktors der eNOS eine wichtige Rolle bei der Vasorelaxation zu spielen (Skovsted *et al.*, 2017). Studien zeigen, dass Ascorbinsäure so die Enzymaktivität der NO-Synthase aufrechterhält und die NO-Verfügbarkeit um ein Vielfaches erhöht (Lykkesfeldt, Michels and Frei, 2014).

Neben seinen antioxidativen Eigenschaften hat Ascorbinsäure durch Unterstützung unterschiedlicher zellulären Funktionen des innatens und adaptiven Immunsystems auch immunmodulatorische Wirkungen. Durch Anreicherung in phagozytierenden Zellen werden Chemotaxis und Phagozytose sowie die Bildung reaktiver Spezies und damit die Abtötung unterschiedlicher mikrobieller Pathogene verstärkt. Zusätzlich dazu wird die Differenzierung und Proliferation von B- und T-Zellen durch seine Funktion als Cofaktor für genregulatorische Enzyme gefördert (Carr and Maggini, 2017).

Wichtig zu nennen ist auch die synergistische Interaktion zwischen Vitamin C und dem oxidierten Vitamin E, dem Tocopheryloxyl-Radikal, welches durch Reduktion radikaler Spezies in lipophiler Umgebung entsteht. Ascorbinsäure regeneriert dieses Radikal durch Abgabe eines H<sup>+</sup>-Atoms zu Tocopherol und stellt somit dessen Funktionsfähigkeit wieder her (Valko *et al.*, 2006; Njus *et al.*, 2020). Das dabei entstehende Ascorbyl-Radikal wird seinerseits wiederum GSH-abhängig reduziert (Gęgotek and Skrzydlewska, 2022).

In Studien an Ratten wurden neben einer Abnahme der kardialen GPX- und SOD-Aktivität verringerte Ascorbat-Konzentrationen festgestellt (Abete *et al.*, 1999; Suh, Heath and Hagen, 2003), woraus eine verminderte Toleranz gegenüber oxidativem Stress und ein erhöhtes Risiko zur Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen (CVDs) mit der Arteriosklerose als Leitsymptom resultiert. Eine pharmakologische Supplementation von Vitamin C als antiinflammatorisches und immununterstützendes Antioxidans könnte das Potential zur Prävention oder Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen mit sich bringen (Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten, 2018).

### 5.2.2.2 Tocopherole (Vitamin E)

Vitamin E existiert als lipophiles Vitamin in acht Isoformen, nämlich in vier Tocopherol- und vier Tocotrienol-Homologen, wobei die Tocopherole im Gegensatz zu den Tocotrienolen gesättigt sind (Engin, 2009). Mit dem bicyclischen, substituierten 1,4-Benzochinon als Grundstruktur bildet Vitamin E die größte Substanzgruppe der Chromanole (Wallert *et al.*, 2020). Je nach ihren an die Benzolringe gebundenen Methyl- oder Protonengruppen wird, wie in Abbildung 6 ersichtlich, jeweils zwischen der  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Form unterschieden (Engin, 2009).

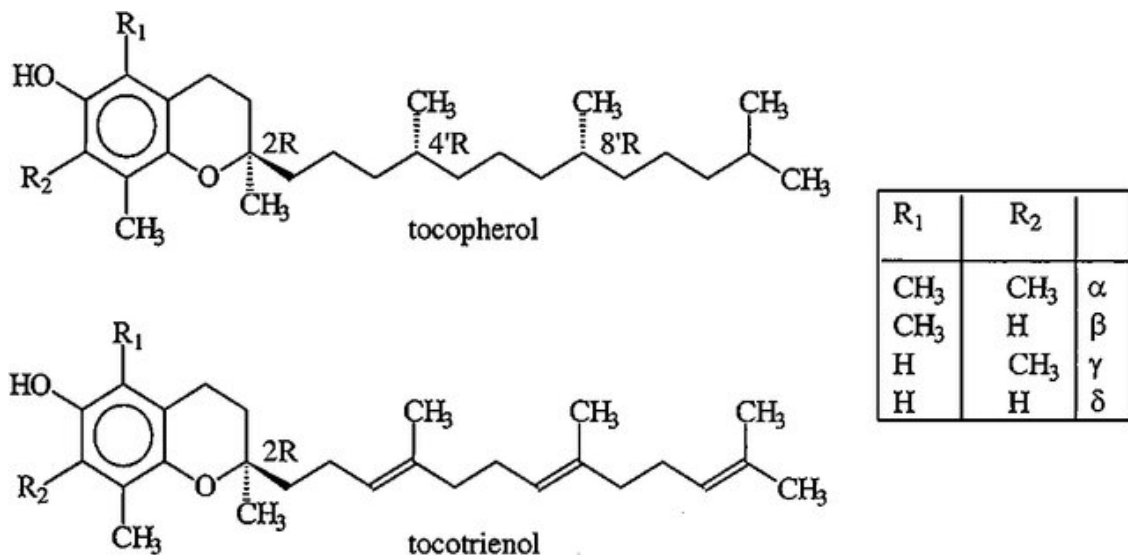


Abbildung 6: Chemische Struktur der Tocopherole und Tocotrienole (Ricciarelli, Zingg and Azzi, 2002)

Das membrangebundene  $\alpha$ -Tocopherol ist die aktivste Form von Vitamin E und stellt das wichtigste lipophile Antioxidans im menschlichen Organismus dar (Valko *et al.*, 2006). Neben seinen Wirkungen bei der Immunantwort, der Genexpression und der zellulären Signalübertragung durch Hemmung der Proteinkinase C (Baynes and Dominiczak, 2018) besteht seine primäre Funktion im Schutz der Zellmembranen vor der Lipidperoxidation (Pryor, 2000).

Studien zeigen, dass  $\gamma$ -Tocopherol,  $\delta$ -Tocopherol und  $\gamma$ -Tocotrienol antioxidative und antiphlogistische Eigenschaften besitzen, die bei chronischen, entzündungsbedingten Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen und nützlich eingesetzt werden könnten. So entradikalisieren sie RNS, hemmen die durch die COX-2 und 5-Lipoxygenase katalysierte Bildung von Eicosanoiden und

supprimieren proinflammatorische Signale wie NF- $\kappa$ B und STAT. Außerdem wurden neuroprotektive, antikanzerogene und cholesterinsenkende Eigenschaften von Tocotrienolen festgestellt (Ahsan *et al.*, 2014).

Für einen gesunden Erwachsenen wird nach den D-A-CH-Referenzwerten (2020) eine Vitamin-E-Zufuhrmenge von 12mg bei Frauen und 14mg bei Männern pro Tag empfohlen. Bei Schwangeren steigt der Bedarf auf 13mg und bei Stillenden auf 17mg pro Tag (*Vitamin E - Alles zu Bedarf, Quellen und Mangel | Gesundheitsportal*, no date). Vitamin E wird primär über pflanzliche Öle, Nüsse und grünes Blattgemüse aufgenommen und kann aufgrund seiner Fettlöslichkeit neben dem Fettgewebe in allen Lipid-enthaltenden Strukturen wie Zellmembranen und Lipoproteinen gespeichert werden. Dadurch ist ein Mangel an Vitamin E selten (Baynes and Dominiczak, 2018).

### **Wirkungsweise**

Vitamin E erlangt durch seine freie Hydroxylgruppe am Benzolring seine antioxidativen Eigenschaften. Durch die Abgabe eines H<sup>+</sup>-Atoms aus dieser Gruppe können reaktive Radikale reduziert und <sup>1</sup>O<sub>2</sub>-Moleküle inaktiviert, in ihrer Reaktivität geschwächt und damit radikale Kettenreaktionen unterbrochen werden. Somit wirkt Vitamin E als Reduktionsmittel und kettenbrechendes Antioxidans, welches mehrfach ungesättigte Fettsäuren vor der Lipidperoxidation, damit Zellmembranen vor Strukturveränderungen und somit die Integrität von Lipidstrukturen schützt (Engin, 2009; Baynes and Dominiczak, 2018; Gulcin, 2020). Lipidperoxyradikale werden durch die Aufnahme des H<sup>+</sup>-Atoms von  $\alpha$ -Tocopherol zu einem stabilen, nicht-radikalen Lipidhydroperoxid LOOH reduziert. Das dabei entstehende Tocopheryloxy-Radikal wird durch Ascorbinsäure wiederum zum ursprünglichen  $\alpha$ -Tocopherol reduziert (Baynes and Dominiczak, 2018).

Schon 1987 konnte in einer Studie von Pincemail *et al.* gezeigt werden, dass  $\alpha$ -Tocopherol die oxidative Schädigung mehrfach ungesättigter Fettsäuren verhindert (Pincemail *et al.*, 1987).

### 5.2.2.3 Carotinoide

Carotinoide sind eine Gruppe natürlicher, lipophiler Pflanzenpigmente, die von Pflanzen und Mikroorganismen, aber nicht vom Menschen synthetisiert werden können und somit exogen über die Nahrung zugeführt werden müssen. Sie besitzen neben ihrer antioxidativen Aktivität gemeinsam mit ihren Derivaten wie Retinol (Vitamin A) zahlreiche biologische Wirkungen im menschlichen Organismus und beeinflussen unter anderem die Zellkommunikation über Gap Junctions, die Zelldifferenzierung und den Zellzyklus über Interaktionen mit dem MAP-Kinase-Signalweg und die Immunantwort über Wechselwirkungen mit NF- $\kappa$ B (Kaulmann and Bohn, 2014; Gulcin, 2020).

Alle Carotinoide enthalten in ihrem Grundgerüst eine Polyisoprenoid-Struktur aus acht Isopreneinheiten (siehe Abbildung 7). Charakteristisch ist die lange, aus 40 mit verschiedenen Endgruppen substituierten Kohlenstoffatomen bestehende Kette konjugierter Doppelbindungen mit annähernd bilateraler Symmetrie um die zentrale Doppelbindung (Milani *et al.*, 2017). Dieses Doppelbindungssystem bildet den Polyen-Chromophor, welcher die Lichtabsorption bestimmt und die vielfältigen Färbungen der Pflanzen ermöglicht (Saini, Nile and Park, 2015).

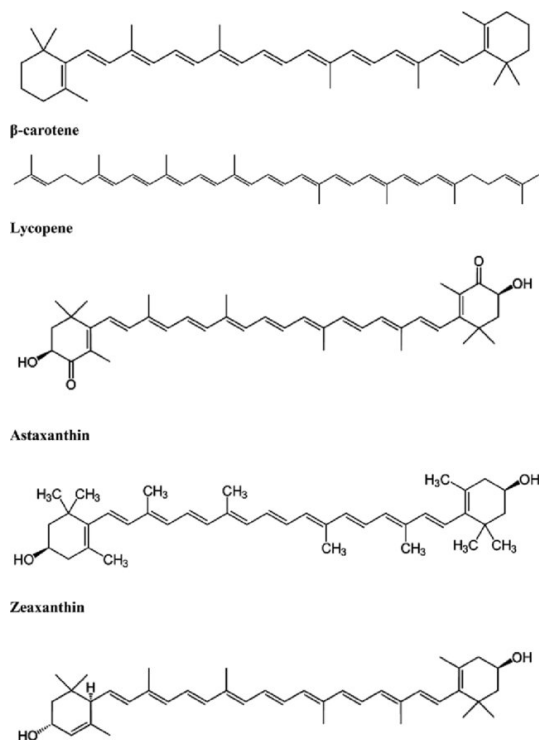


Abbildung 7: Chemische Struktur der häufigsten Carotinoide (Langi *et al.*, 2018)

Anhand ihrer funktionellen Gruppen werden Carotinoide in zwei Gruppen eingeteilt:

- Xanthophylle mit O<sub>2</sub> als funktioneller Gruppe: dazu gehören Lutein, Zeaxanthin, Astaxanthin und Canthaxanthin (Gulcin, 2020)
- Carotene, die nur aus einer CH-Kette ohne funktionelle Gruppe bestehen: dazu gehören  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin und Lycopin (Saini, Nile and Park, 2015)

Zusätzlich kann eine Einteilung auch anhand der Möglichkeit einer Umwandlung in Retinol erfolgen. So werden Provitamin-A-Carotinoide wie  $\beta$ -Carotin und  $\beta$ -Cryptoxanthin von Nicht-Provitamin-A-Carotinoiden wie Lycopin und Lutein unterschieden (Kaulmann and Bohn, 2014).

Für einen gesunden Erwachsenen wird nach den D-A-CH-Referenzwerten (2020) eine Carotinoid-Zufuhrmenge von 2-4mg empfohlen (*Vitamin A - Bedarf, Quellen und Mangel - Überdosierung | Gesundheitsportal*, no date). Die quantitativ wichtigsten Carotinoide sind  $\beta$ -Carotin, Lycopin, Lutein,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Zeaxanthin und Astaxanthin (Gulcin, 2020). Sie werden primär über Obst und Gemüse gelber, oranger oder roter Farbe aufgenommen. So ist in Karotten  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, in reifen Tomaten Lycopin, in roten Paprika Capsanthin und in rötlichen Krustentieren Astaxanthin vorhanden. Orangefarbene Früchte wie Mandarinen, Orangen und Papayas sind reich an Cryptoxanthin und grünes Blattgemüse ist eine Quelle für Lutein,  $\beta$ -Carotin, Violaxanthin und Neoxanthin (Saini, Nile and Park, 2015; Milani *et al.*, 2017).

### **Wirkungsweise**

Als lipophile Moleküle wirken Carotinoide in hydrophoben Bereichen der Zelle und steigern die antioxidative Aktivität von Tocopherolen in Zellmembranen (Pisoschi *et al.*, 2021). Ihre Polarität ist abhängig von den an die Polyen-Kette angehängten funktionellen Gruppen, was ihre Wechselwirkung mit anderen Molekülen und ihre zelluläre Lokalisation beeinflussen kann (Milani *et al.*, 2017). So sind die weniger hydrophoben Xanthophylle an der Lipid-/Wasser-Schnittstelle von Zellmembranen lokalisiert und können sowohl in fett- als auch in wasserlöslichen Umgebungen antioxidativ wirken. Carotene hingegen liegen aufgrund ihrer ausgeprägten Lipophilie tief in der apolaren Zellmembran und entradikalisieren somit radikale

Spezies innerhalb der Lipidphase. Carotinoide befinden sich sowohl in der äußeren Zellmembran, der mitochondrialen Membran, dem Zellkern und den Liposomen und spielen eine große Rolle beim Schutz dieser vor Schäden durch reaktive Spezies (Kaulmann and Bohn, 2014).

Carotinoide schützen als Radikalfänger von  $\text{HO}_2^\cdot$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  und  $\text{OH}^\cdot$  Zellmembranen vor der Lipidperoxidation und stoppen durch Reduktion von  $^1\text{O}_2$  dessen Reaktionsfähigkeit (Pisoschi *et al.*, 2021). Ihre besondere antioxidative Wirksamkeit erlangen Carotinoide durch ihre delokalisierten Elektronen im  $\pi$ -Elektronensystem, welches sie durch ihre konjugierte Polyenstruktur erhalten. Dieses ermöglicht die Stabilisierung ungepaarter Elektronen, die durch die Reaktion mit radikalen Spezies entstehen, wodurch Carotinoide zu starken Radikalfängern werden, ohne dabei selbst zu reaktiven Molekülen zu werden. Carotinoide wirken entweder durch Aufnahme oder Abgabe von Elektronen oder  $\text{H}^+$ -Atomen oder durch „physikalisches Löschen“, bei welchem  $^1\text{O}_2$  durch direkte Energieübertragung in seiner Reaktivität neutralisiert wird (Kaulmann and Bohn, 2014). Dabei entsteht ein  $\text{O}_2$ -Molekül im Grund- und ein Carotinoidmolekül im angeregten Zustand, wobei letzteres aufgrund seiner Fähigkeit zur Stabilisierung nicht sehr reaktiv ist. Durch rotationsinduzierte Wechselwirkungen mit der Umgebung wird die erworbene Energie abgegeben, das Carotinoid kehrt in seinen unangeregten Zustand zurück und kann so mehrmals die Entradikalisierung reaktiver Moleküle wiederholen (Monego, da Rosa and do Nascimento, 2017; Gulcin, 2020).

Eine Carotinoid-reiche Ernährung wurde aufgrund des antioxidativen Potentials mit der Prävention verschiedener, durch oxidativen Stress verursachter altersassoziierter Pathologien, wie unterschiedliche Krebserkrankungen, Diabetes oder ophthalmologische und kardiovaskuläre Veränderungen, in Verbindung gebracht (Kaulmann and Bohn, 2014; Gulcin, 2020). Diese Annahmen wurden durch verschiedene Studien bestärkt, auf welche in Kapitel 5 ein ausführlicherer Bezug genommen wird.

#### **5.2.2.4 Weitere nicht-enzymatische Antioxidantien**

##### **Flavonoide**

Flavonoide sind die häufigsten Vertreter der Polyphenole und als sekundäre Pflanzenfarbstoffe in fast jeder Pflanze, besonders in ihren Blättern und Blüten, vorhanden. Ihre antioxidative Aktivität erhalten sie durch ihre Doppelbindungen und freien Hydroxyl-Gruppen, die ihnen die Entradikalisierung von  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{OH}^{\cdot}$  und Lipidperoxyl-Radikalen und damit den zellulären Schutz vor Lipid-Peroxidation ermöglichen. Dadurch hemmen sie unter anderem die Cholesterin-Oxidation und sind in Folge antiarteriosklerotisch wirksam (Gulcin, 2020).

##### **Spurenelemente**

###### **Zink**

Als Cofaktor ist Zink ein essenzieller Bestandteil für die biologische Aktivität der primär zytoplasmatisch wirksamen CuZn-SOD und wirkt auch über seinen Einfluss auf die zelluläre Signaltransduktion durch die Regulation unterschiedlicher Gene wie p53 und NF- $\kappa$ B antioxidativ (Pisoschi *et al.*, 2021). Durch die Inaktivierung von NF- $\kappa$ B kommt es somit zu einer geringeren Bildung inflammatorischer Zytokine wie TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$ . Zink ist außerdem ein Inhibitor der  $\text{O}_2^{\cdot-}$ -produzierenden NADPH-Oxidase und fördert die Expression der zytoplasmatischen Metallothioneine, welche durch ihren großen Anteil an Cystein gute Radikalfänger von  $\text{OH}^{\cdot}$  sind (Prasad, 2014). In einer Studie von Prasad *et al.* wurde gezeigt, dass die Marker für oxidativen Stress wie HAE und MDA unter Zink-Supplementation in ihrer plasmatischen Konzentration sanken und es durch NF- $\kappa$ B-Hemmung zu einer niedrigeren Genexpression von TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  kam (Prasad *et al.*, 2004).

Eine übermäßige Zink-Zufuhr kann jedoch auch die Bildung reaktiver Spezies fördern. So können abnorme Zink-Konzentrationen die endotheliale Expression der NADPH-Oxidase verstärken und die Liponamid-Dehydrogenase aktivieren. Dabei handelt es sich um ein Enzym, welches als Teil der Pyruvatdehydrogenase eine wichtige Rolle bei der oxidativen Decarboxylierung und damit der Koppelung der Glykolyse an den Citratzyklus spielt. Unter Bildung der reaktiven Sauerstoffspezies  $\text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{O}_2^{\cdot-}$  katalysiert sie die Oxidation von NADH durch  $\text{O}_2$  (Gazaryan *et al.*, 2002; Horn *et al.*, 2018; Pisoschi *et al.*, 2021).

## **Selen**

Als Bestandteil einiger Enzyme wie der Glutathion-Peroxidase, welche die DNA und andere zelluläre Komponenten vor oxidativen Schäden schützen, ist Selen ein essenzielles Spurenelement für den Organismus. Neben dem oxidativen Schutz spielen diese Selenenzyme eine Rolle bei der Mitose, der Apoptose entarteter Zellen, der Onkogen-Inaktivierung und der Funktion des Immunsystems (Valko *et al.*, 2006). So wurde in einer Studie von Blot *et al.* 1993 gezeigt, dass eine tägliche diätische Zufuhr von Selen in Kombination von  $\beta$ -Carotin und  $\alpha$ -Tocopherol mit einer Reduktion der Mortalitätsrate durch Magenkrebs assoziiert ist (Blot *et al.*, 1993).

Neben Mangan als weiteres Spurenelement und Cofaktor für die Mn-SOD existieren die endogenen nicht-enzymatischen Antioxidantien, darunter Harnsäure, Glutathion, Ubichinon sowie metallionen-bindende Proteine wie Transferrin, Ferritin und Ceruloplasmin (Pisoschi *et al.*, 2021).

## 6 Supplementation von Vitamin C, Vitamin E und Carotinoiden zur Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen

Der Begriff kardiovaskulärer Erkrankungen (CVDs) fasst zahlreiche Pathologien des Herzens und des Gefäßsystems zusammen, deren Ursprung pathophysiologisch auf degenerative Veränderungen, allen voran die Arteriosklerose, zurückzuführen sind. Die epidemiologisch bedeutsamsten Entitäten sind die koronare Herzkrankheit (KHK), die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK), die arterielle Hypertonie, der Myokardinfarkt (MCI) sowie der ischämische Apoplex (Labarthe, 2011).

Im Jahr 2022 waren CVDs mit einem Anteil von 34,3% aller Sterbefälle die führende Todesursache in Österreich (*Todesursachen - STATISTIK AUSTRIA - Die Informationsmanager*, no date). Wie in Abbildung 8 ersichtlich, ist der Anteil bei Frauen mit 36,9% etwas höher als bei Männern mit 31,7%. CVDs sind damit eindeutig die führende Todesursache bei beiden Geschlechtern (Prammer-Waldhör and Ihle, 2024). Dies gilt nicht nur für Österreich, sondern auch weltweit (Griebler *et al.*, 2021) und die zugrundeliegende Arteriosklerose ist dabei die Ursache für mehr als 50% aller Todesfälle in westlichen Industriestaaten (Silbernagl and Lang, 2019).

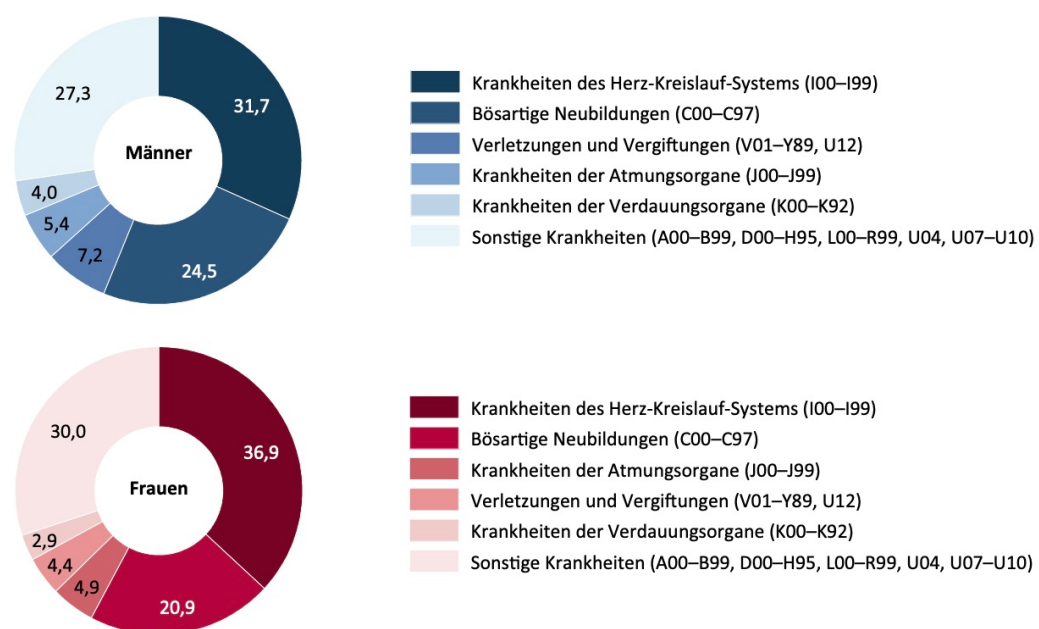


Abbildung 8: Todesursachen Österreich 2022 (Prammer-Waldhör and Ihle, 2024)

Die Entstehung der Arteriosklerose und der in weiterer Folge daraus resultierenden CVDs ist durch Meidung bekannter Risikofaktoren wie Adipositas, Hypercholesterinämie, mangelnder Bewegung, ungesunder Ernährung sowie übermäßigen Alkohol- und Nikotinkonsums zu einem großen Teil bekanntermaßen vermeidbar (Griebler *et al.*, 2021). Wie in Kapitel 3.3.3.1 erläutert, spielt auch oxidativer Stress eine große Rolle bei der Entstehung arteriosklerotischer Plaques und konsekutiver kardiovaskulärer Erkrankungen. Im Folgenden wird diskutiert, ob eine gezielte Supplementation unterschiedlicher Antioxidantien einen hemmenden Einfluss auf diese Entstehung haben könnte.

Um den Umfang dieser Diplomarbeit im Rahmen zu halten, liegt der Fokus auf den am umfassendsten untersuchten Antioxidantien, nämlich Vitamin C, Vitamin E und Vitamin A mit den Carotinoiden als seinen Vorläufermolekülen (Liguori *et al.*, 2018) und ihren potentiell förderlichen Auswirkungen auf die kardiale und vaskuläre Gesundheit. Es wurden zahlreiche Beobachtungsstudien zu den Auswirkungen einer Supplementation dieser Vitamine auf das Risiko des Auftretens oder der Progredienz von CVDs durchgeführt. Die Ergebnisse dahingehend sind unterschiedlich: in vielen Studien wurde ein Zusammenhang einer Vitamin-Zufuhr mit einer Senkung des kardiovaskulären Risikos hergestellt, wohingegen in anderen eine solche Verabreichung zu einer signifikanten Zunahme der Gesamtmortalität führte (Bjelakovic *et al.*, 2007; Liguori *et al.*, 2018).

Diese Widersprüche werfen in der medizinischen Forschung die Frage auf, ob eine Supplementation von Vitamin C, Vitamin E und Carotinoiden als wirksame therapeutische und prophylaktische Maßnahme zur Prävention eines Auftretens oder einer Progression kardiovaskulärer Erkrankungen in Betracht gezogen werden kann, oder ob ein solcher Einsatz kontraproduktiv sein könnte.

## **6.1 Studienlage zum klinischen Einsatz von Vitamin C**

Die folgenden Absätze dienen als kurze Wiederholung des Kapitels 4.2.2.1. Detailliertere Informationen zu Bedarf, natürlichem Vorkommen sowie antioxidativer Wirkungsweise sind dort zu entnehmen.

Als essenzielles Vitamin mit physiologischen Plasmaspiegeln von 23 – 55  $\mu\text{mol/L}$  (Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten, 2018) wirkt Ascorbinsäure in hydrophiler Umgebung als Reduktionsmittel und verhindert somit die Bildung organischer Radikale durch die Reaktion reaktiver Spezies mit Biomolekülen. Das dabei entstehende, nicht reaktive Dehydroascorbyl-Radikal wird bei gesunden Menschen effizient durch die Dehydroascorbat-Reduktase GSH-abhängig wieder zu Ascorbinsäure reduziert (Baynes and Dominiczak, 2018). Dieser Prozess kann jedoch im Alter, bei Krankheit oder Raucher\*innen eingeschränkt sein, was zu einem erhöhten Vitamin-C-Umsatz und Dehydroascorbyl-Radikal-Anfall führen kann (Lykkesfeldt and Tveden-Nyborg, 2019). Schon 1997 wurde in einer Studie von Lykkesfeldt et al. gezeigt, dass Nikotin-Konsum zu massivem oxidativem Stress und mangelnder Reduktionskapazität des Dehydroascorbyl-Radikals führt (Lykkesfeldt *et al.*, 1997).

Vitamin C dient zudem als Cofaktor vieler enzymatischer Reaktionen und ist essenziell für die Synthese lebenswichtiger Moleküle, wie beispielsweise Kollagen (Njus *et al.*, 2020). Somit spielt Vitamin C auch eine maßgebende Rolle bei der Aufrechterhaltung der vaskulären Kollagen-Integrität (Skovsted *et al.*, 2017).

Ascorbinsäure besitzt zudem immunmodulatorische Wirkungen (Carr and Maggini, 2017) und regeneriert das Tocopheroxyl-Radikal im Rahmen der synergistischen Interaktion zwischen Vitamin C und dem oxidierten Vitamin E zu Tocopherol (Wang, Chun and Song, 2013).

Durch das Fehlen der L-Gulonolactonoxidase ist der Mensch nicht dazu in der Lage, Ascorbinsäure selbstständig zu exprimieren, weshalb eine komplexe pharmakokinetische Regulierung notwendig ist, um einem Vitamin C-Mangel entgegenzuwirken und eine Homoöstate zu erreichen (Lykkesfeldt and Tveden-Nyborg, 2019). Die intestinale Aufnahme, renale Rückresorption und Organverteilung wird primär über  $\text{Na}^+$ -abhängige Vitamin C-Cotransporter reguliert, welche in verschiedenen Organen unterschiedliche Substrataffinitäten aufweisen, wodurch sich die physiologischen Konzentrationswerte zwischen verschiedenen Geweben deutlich unterscheiden (Hasselholt, Tveden-Nyborg and Lykkesfeldt, 2015). Ein Mangel an Vitamin C kann auf eine zu geringe diätische

Aufnahme zurückzuführen sein, steht aber auch in Zusammenhang mit Nikotinkonsum, Schwangerschaft, genetischer Prädisposition, fortgeschrittenem Alter oder dem metabolischen Syndrom mit Hypertonie, Diabetes mellitus und Adipositas (Lykkesfeldt, Michels and Frei, 2014). Adipositas beispielsweise ist, vor allem in westlichen Nationen, als ein Hauptrisikofaktor für die Genese von CVDs mit einer erhöhten diätischen Aufnahme von Fett und Zucker verbunden. Diese Ernährung ist wiederum mit einem niedrigen Vitamin-C-Status assoziiert (Skovsted *et al.*, 2022).

### **Studienlage**

Viele Studien legen nahe, dass Personen mit nahezu gesättigten Vitamin-C-Plasmaspiegeln das geringste Risiko aufweisen, eine CVD zu entwickeln (Lykkesfeldt, Michels and Frei, 2014). Eine Querschnittsstudie an 20.926 Männern und Frauen zwischen 40 und 79 Jahren erbrachte beispielsweise das Ergebnis, dass die Wahrscheinlichkeit für arterielle Hypertonie bei den Personen, deren plasmatische Vitamin-C-Werte in den obersten Quartilen lagen, um 22% niedriger war als bei denen mit Werten in den untersten. Damit wurde ein starker Zusammenhang zwischen Vitamin-C-Konzentrationen und dem Blutdruckniveau nachgewiesen (Myint *et al.*, 2011)

Eine Vielzahl von Interventionsstudien zeigte, dass eine zusätzliche Supplementation von Vitamin C bei Personen mit bereits hoher Plasmakonzentration keinen zusätzlichen gesundheitlichen Nutzen bringt (Lykkesfeldt, Michels and Frei, 2014). Zusammenfassend lässt sich aus zahlreichen Studien nämlich kein direkter Zusammenhang einer isolierten Vitamin-C-Supplementation mit der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität herstellen (Skovsted *et al.*, 2022), sondern viel mehr, dass die langfristigen gesundheitlichen Vorteile dann eintreffen, wenn eine Supplementation bei einem vorliegenden Vitamin-Mangel oder bei Plasmaspiegeln innerhalb des unteren Referenzbereichs erfolgt (Lykkesfeldt, 2020).

In einer Studie von Skovsted *et al.* (2017) konnte an Guinea Meerschweinchen gezeigt werden, dass ein Vitamin-C-Mangel sowohl zu einer verminderten plasmatischen Tetrahydrobiopterin-Konzentration sowie zu einer Abnahme der

durch muskarinerge Rezeptoren vermittelten koronaren Vasokonstriktion führt. Da CVDs durch ein Ungleichgewicht zwischen Vasodilatation und -konstriktion charakterisiert sind, durch welches es zu Blutflussveränderungen bis hin zu organischer Dysfunktion kommen kann, liegt die Annahme anhand dieser Studienergebnisse nahe, dass ein Zusammenhang zwischen Vitamin-C-Mangel und der CVDs-Genese besteht (Skovsted *et al.*, 2017).

Entzündliche Prozesse führen zu einer gesteigerten Produktion reaktiver Spezies, senken die Bioverfügbarkeit von vasodilatativem NO<sup>\*</sup> und führen zu endothelialer Dysfunktion, die schließlich auch zur Versteifung großer, elastischer Arterien führen kann. Der Zusammenhang zwischen der endothelialen Dysfunktion und oxidativem, durch akute Entzündungen bedingten, Stress konnte in Studien belegt werden, bei welchen die endotheliale Funktion junger Erwachsener durch Gabe von Vitamin-C-Infusionen wiederhergestellt wurde (Lefferts *et al.*, 2021). Bei Älteren steigt das kardiovaskuläre Risiko durch akute Entzündungen um ein Vielfaches (Smeeth *et al.*, 2004), weshalb es von großem klinischem Interesse ist, ob diese endotheliale Regeneration durch Antioxidantien-Gabe auch bei älteren Generationen möglich ist. Mit dem physiologischen Alterungsprozess geht ein erhöhter oxidativer Stresslevel und damit eine Erhöhung der systemischen Entzündung einher, weshalb akute Inflammationen zu einer verstärkten vaskulären Reaktion führen. Eine Studie von Lefferts *et al.* (2021) beschäftigte sich mit der Frage, ob die endotheliale Dysfunktion während akuter Entzündungen durch perorale Vitamin-C-Gabe auch bei älteren Personen im Sinne einer Regeneration beeinflussbar ist. Dabei wurde festgestellt, dass Vitamin C die vaskuläre Funktion wiederherstellt, ohne aber einen Einfluss auf Entzündungsparameter wie C-reaktives Protein oder Interleukin-6 zu haben. Die genauen Wirkmechanismen dabei sind nicht bekannt und bedürfen weiterer Forschung. Somit könnte die Verabreichung von Vitamin C bei älteren Personen das kardiovaskuläre Risiko während akuter Entzündungen direkt durch seine antioxidative Wirkung und indirekt durch die Stabilisierung von Tetrahydrobiopterin und die daraus folgende erhöhte Verfügbarkeit von NO<sup>\*</sup> senken (Lefferts *et al.*, 2021).

Einen weiteren Risikofaktor für die Genese von CVDs stellt die vaskuläre Verkalkung durch Ablagerung von Kalziumphosphat-Kristallen in der arteriellen Intima dar (Jia *et al.*, 2023). Unter anderem ausgelöst durch oxidativen Stress, entzündliche Prozesse und Alterung kommt es zu einer phänotypischen Veränderung vaskulärer glatter Muskelzellen (Durham *et al.*, 2018), welche in weiterer Folge osteogene, mineralisierende Faktoren wie das Bone Sialoprotein BSP freisetzen. Diese Phänotypänderung beruht vermutlich auf der gesteigerten Expression des osteogenen Transkriptionsfaktors Runx2, welche durch erhöhte Konzentrationen reaktiver Spezies ausgelöst wird (Farrokhi, Samani and Chaleshtori, 2015). Proinflammatorische Faktoren wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6, die von Makrophagen sezerniert werden, haben ebenfalls einen fördernden Einfluss auf die Differenzierung glatter Muskelzellen und folglich die arterielle Kalzifikation (Jia *et al.*, 2023). In vitro-Versuchen zufolge kann Ascorbinsäure neben seinen antioxidativen Fähigkeiten die NF- $\kappa$ B-vermittelte entzündliche Reaktion und damit die Sekretion inflammatorischer Faktoren wie IL-6 und TNF- $\alpha$  hemmen (Du *et al.*, 2022), wodurch sich der positive Effekt von Vitamin C auf die Gefäßverkalkung durch Hemmung der phänotypischen Veränderung der Gefäßwand erklären ließe.

Die Verkalkung der Aorta abdominalis tritt früher auf als die der Koronararterien (Jia *et al.*, 2023), gilt aber genauso als Prädiktor für CVDs und zeigt eine starke Assoziation mit der kardiovaskulären Mortalität (Gonçalves *et al.*, 2012). In einer Studie von Bolland *et al.* (2010) wurde beispielsweise ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer fortschreitenden Abdominalaortenkalzifikation und dem Auftreten eines MCI hergestellt (Bolland *et al.*, 2010). 2023 konnte in einer Studie von Jia *et al.* ein inverser Zusammenhang zwischen der Vitamin-C-Aufnahme und der Kalzifizierung der Aorta abdominalis festgestellt werden. Diese positive Wirkung im Sinne einer Verkalkungsreduktion wurde aber nicht für die Supplementierung mit synthetischen Vitamin-C-Nahrungsergänzungsmitteln, sondern nur bei erhöhter diätischer Aufnahme von natürlichen Vitamin C-reichen Nahrungsmitteln nachgewiesen (Jia *et al.*, 2023). Dies könnte zum einen daran liegen, dass die intestinale Resorption von synthetischem Vitamin C geringer ist als die von natürlichem und zum anderen daran, dass bei der Extraktion des Vitamins aus natürlichen Quellen Zwischenprodukte entstehen, die die

Bioverfügbarkeit dessen herabsetzen könnten (Pawlowska, Szczepanska and Blasiak, 2019). Eine Meta-Analyse aus 15 Kohortenstudien und drei Interventionsstudien zeigte außerdem eine Korrelation zwischen einer gesteigerten Vitamin-C-Zufuhr und einem niedrigeren CVD-Mortalitätsrisiko (Jayedi *et al.*, 2019), eine weitere Studie wies ein erhöhtes Schlaganfallrisiko bei Vitamin-C-Mangel auf (Yang *et al.*, 2022).

In den meisten Fällen wird Ascorbinsäure gut vertragen und kann über die enterale Aufnahme kaum überdosiert werden, weil die mukosalen, intestinalen Transporter sättigbar sind und überschüssiges Vitamin C ab einer Plasmakonzentration von 55µmol/L mit dem Urin ausgeschieden wird (Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten, 2018). Bei manchen Personen treten jedoch bei höheren Dosierungen von 5-10g oral verabreichtem Vitamin C gastrointestinale und/oder urogenitale Beschwerden wie osmotische Diarrhoe, osmotische Polyurie oder schmerzhafter Blähbauch auf (Doseděl *et al.*, 2021), weshalb das Institute of Medicine die empfohlene Zufuhrmenge von peroralem Vitamin C auf 2g/Tag beschränkt (Lykkesfeldt, Michels and Frei, 2014). Bei sehr hohem Verbrauch antioxidativer Abwehrmechanismen, wie es beispielsweise unter septischen oder ischämischen Zuständen der Fall ist, steigt der Bedarf von Vitamin C über die intestinale Resorptionskapazität, weshalb physiologische Plasmaspiegel kaum über die diätische Zufuhr erreicht werden können. Bei kritisch Kranken ist deshalb eine intravenöse Verabreichung von 2-3g Vitamin C/Tag notwendig (Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten, 2018). Trotz der oben genannten Nebenwirkungen werden in der Regel auch kurzfristig sehr hohe Dosen von bis zu 200g Vitamin C intravenös gut vertragen (Doseděl *et al.*, 2021).

Oxidiertes Vitamin C, das Dehydroascorbyl-Radikal, wird zum Großteil GSH-abhängig recycelt, ein Teil jedoch zu Oxalat abgebaut und renal ausgeschieden. Durch langfristige Vitamin C-Supplementierung steigt der Oxalatspiegel im Urin dosisabhängig und damit das Risiko einer Oxalat-Nephropathie als Folge einer Nephrocalcinose durch Ablagerung von Kalzium-Oxalat-Steinen (Lykkesfeldt, Michels and Frei, 2014; Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten,

2018). Für das Harnsteinbildungsrisiko scheint weniger die Dosierung von Ascorbinsäure relevant zu sein, sondern viel mehr die Dauer der Verabreichung und die damit längerfristig bestehende erhöhte Oxalatkonzentration im Urin. Zusätzlich steigt das Risiko, schon bei kurzen Einnahmedauern, bei Patient\*innen mit höheren basalen Harnoxalatspiegeln (Doseděl *et al.*, 2021). Das Ergebnis einer prospektiven Kohortenstudie von Taylor *et al.* (2004), in welcher über 14 Jahre im zweijährigen Intervall Follow-up-Untersuchungen zu neu aufgetretenen Harnsteinen durchgeführt wurden, zeigte bei einer täglichen oralen Gabe von 1g Vitamin C eine Erhöhung des Harnsteinbildungsrisikos von 41%, weshalb eine routinemäßige Einnahme von mehr als 1g Vitamin C nicht empfohlen werden sollte (Taylor, Stampfer and Curhan, 2004). Bei kurzen hochdosierten Verabreichungen an kritisch kranke Personen wurde keine Oxalat-Nephropathie nachgewiesen (Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten, 2018).

Ascorbinsäure erhöht durch Reduktion von  $\text{Fe}^{3+}$  zu  $\text{Fe}^{2+}$  die intestinale Resorption von Nicht-Häm-Eisen aus pflanzlichen Quellen. Zusätzlich wird das zweiwertige Eisen vor einer erneuten Oxidation geschützt, da dieses im Darm schnell wieder zu  $\text{Fe}^{3+}$  oxidiert werden könnte. Durch diese optimierte intestinale  $\text{Fe}^{2+}$ -Resorption kann eine gemeinsame diätische Aufnahme von Vitamin C und Eisen einerseits zu einer gesteigerten Hämoglobin-Synthese bei anämischen Patient\*innen führen, andererseits steigt dadurch auch das Risiko einer Eisenüberladung bei prädisponierten Personen, die an hämatologischen Erkrankungen mit erhöhter intestinaler Eisenaufnahme oder an Hämochromatose leiden. In solchen Fällen sollte allerdings nicht die Zufuhr von Vitamin C, sondern die Eisenaufnahme reduziert werden, um eine Eisenüberladung zu vermeiden (Lykkesfeldt, Michels and Frei, 2014).

Zusätzlich zur ROS-vermittelten myokardialen Apoptose nach Ischämie bzw. Reperfusion wurde in neueren Studien eine eisenabhängige Form des Zelltods, die Ferroptose, entdeckt (Coradduzza *et al.*, 2023), die vor allem bei ischämischen Erkrankungen mit Zellschädigung, durch welche vermehrt Eisen freigesetzt wird, relevant ist. Bei der Ferroptose kommt es durch eisenkatalysierte Reaktionen zu einer Ansammlung von Lipidperoxiden, welche schließlich den Zelltod zur Folge

hat (Zheng *et al.*, 2024). Damit unterstützt sie den Tod geschädigter Zellen, erhöht aber gleichzeitig auch die mit seneszenten Zellen assoziierte Ausschüttung proinflammatorischer Faktoren und trägt somit vermutlich zur Genese unterschiedlicher altersassoziierter Erkrankungen wie CVDs bei (Corraduzza *et al.*, 2023). Dieser Prozess hängt also mit einer erhöhten Eisenverfügbarkeit und der Bildung reaktiver Spezies zusammen, weshalb ein therapeutischer Ansatz darin bestehen könnte, in ischämischen Geweben sowohl die Eisenverfügbarkeit als auch die Lipidperoxidation einzuschränken (Zheng *et al.*, 2024). Vitamin C könnte hier als wirksames Antioxidans eventuell präventiv gegen die Lipidperoxidation wirksam sein und das Eisen in der stabileren  $\text{Fe}^{2+}$ -Form halten, wodurch es vor Oxidation geschützt ist. Gleichzeitig steigert Ascorbinsäure aber die intestinale Eisenresorption, bedingt dadurch eine erhöhte Eisenverfügbarkeit und ist deshalb angesichts der potenziellen Risiken fraglich sinnvoll und müsste noch weiter untersucht werden.

Vitamin C spielt bei vielen physiologischen Prozessen eine essenzielle Rolle als Elektronendonator. Bei der Kollagensynthese beispielsweise stellt es durch Reduktion von oxidiertem  $\text{Fe}^{3+}$  den für die Prokollagen-Prolin-Dioxygenase und Prokollagen-Lysin-Dioxygenase notwendigen Cofaktor  $\text{Fe}^{2+}$  her (Njus *et al.*, 2020), wodurch mit dem zweiwertigen Fe-Atom gleichzeitig ein Substrat für die Fenton-Reaktion und damit die Entstehung von  $\text{OH}^{\cdot}$  entsteht (Tariq, 2007). Somit bildet Vitamin C trotz seiner wichtigen Funktion als Antioxidans durch seine Reaktionen auch Produkte, die prooxidative Eigenschaften zeigen (Yen, Duh and Tsai, 2002; Ivanova, Trofimova and Piskarev, 2013). Das Dehydroascorbyl-Radikal an sich ist nicht reaktiv (Baynes and Dominiczak, 2018). Diese Wirkung als Prooxidans tritt insbesondere in höheren Dosierungen auf und bildet vermutlich die Grundlage für seine antikanzerogene Wirkung und den Einsatz als medikamentöse intravenöse Therapie von Krebserkrankungen (Doseděl *et al.*, 2021).

Bei einer Verabreichung von Vitamin C sollte bedacht werden, dass Glukometer durch hohe Plasmaspiegel des Vitamins beeinflusst werden und fälschlicherweise eine Hyperglykämie messen können. Um das Auftreten einer Hypoglykämie durch eine konsekutive Insulintherapie zu verhindern, sollten Blutzuckermessungen nach

Vitamin C-Gabe mittels Blutgasanalyse oder im Zentrallabor erfolgen (Spoelstra-De Man, Elbers and Oudemans-Van Straaten, 2018). Zusätzlich sollte erwähnt werden, dass eine langfristige peripartale maternale Vitamin C-Supplementierung, vor allem in höheren Dosierungen, zu einem Rebound-Skorbut beim Neugeborenen führen kann (Doseděl *et al.*, 2021).

## **6.2 Studienlage zum klinischen Einsatz von Vitamin E**

Die folgenden Absätze dienen als kurze Wiederholung des Kapitels 4.2.2.2. Detailliertere Informationen zu Bedarf, natürlichem Vorkommen sowie antioxidativer Wirkungsweise sind dort zu entnehmen.

Durch seine Fähigkeit, Fettsäureperoxyradikale in Membranen und Lipoproteinen zu neutralisieren, gilt Vitamin E in Kombination mit Vitamin C, welches das Tocopheroxyl-Radikal durch Abgabe eines H<sup>+</sup>-Atoms zu Tocopherol regeneriert, als schützendes Antioxidans von Zellmembranen vor strukturellem Verlust und von oxidierten Lipoproteinen vor der Atherogenese. In zahlreichen *in vitro*-Experimenten mit Zellkulturen, Erythro- und Hepatozyten, Mizellen und Lipoproteinen konnte diese synergistische Interaktion zwischen den beiden Vitaminen nachgewiesen werden (Azzi, 2022).

Neben seinen Wirkungen bei der Immunantwort, der Genexpression und der zellulären Signalübertragung durch Hemmung der Proteinkinase C (Baynes and Dominiczak, 2018) besteht seine primäre Funktion im zellulären Schutz vor der Lipidperoxidation und könnte damit vorbeugend gegen die daraus resultierende Arteriosklerose und in weiterer Folge die Entstehung von CVDs wirken (Kumar *et al.*, 2023).

Mit einem physiologischen Plasmaspiegel von 11,6 – 46,4 mmol/l (*Vitamin-E-Mangel - Ernährungsbedingte Störungen - MSD Manual Profi-Ausgabe*, no date) ist das membrangebundene  $\alpha$ -Tocopherol die aktivste Form von Vitamin E (Valko *et al.*, 2006). Dieser große Referenzbereich lässt sich dadurch erklären, dass Vitamin E intestinal resorbiert und über Chylomikronen zur Leber transportiert wird, weshalb seine plasmatische Konzentration stark von den individuellen

Cholesterin-Spiegeln abhängt (Owen and Dewald, 2024). Vitamin E stellt das wichtigste lipophile Antioxidans im menschlichen Organismus dar (Valko *et al.*, 2006). Durch ihre antioxidativen und antiphlogistischen Eigenschaften spielen Tocopherole und Tocotrienole eine wichtige Rolle bei chronischen, entzündungsbedingten Erkrankungen, entradikalisieren RNS, hemmen die Bildung von Eicosanoiden und supprimieren proinflammatorische Signale wie STAT und NF- $\kappa$ B, welches im Rahmen der Arteriosklerose eine Rolle beim Umbau von Gefäßstrukturen in glatten Muskelzellen spielt. Zusätzlich dazu wurden neuroprotektive, antikanzerogene und cholesterinsenkende Eigenschaften (Ahsan *et al.*, 2014) sowie eine verringerte Synthese proinflammatorischer Zytokine wie IL-1, IL-6, IL-8, IFN und TNF $\alpha$  festgestellt (Mathur *et al.*, 2015).

Eine Supplementation ist wegen des antioxidativen Potentials von Vitamin E und insbesondere dessen Einfluss auf die Lipidperoxidation interessant (Kumar *et al.*, 2023). Aus diesem Grund gibt es zahlreiche Studien zu den Auswirkungen einer Supplementation von Vitamin E auf die kardiovaskuläre Gesundheit. Die Ergebnisse dahingehend sind sehr unterschiedlich: in vielen Studien wurde ein Zusammenhang einer gesteigerten Zufuhr mit einer Senkung des kardiovaskulären Risikos hergestellt, wohingegen in anderen eine solche Verabreichung negative Auswirkungen hatte.

Obwohl sich alle acht Isoformen von Vitamin E hinsichtlich Vorkommen, Pharmakokinetik und antioxidativer Wirksamkeit unterscheiden, liegt in den meisten Studien und Analysen der Fokus auf  $\alpha$ -Tocopherol.  $\gamma$ -Tocopherol scheint aber auch, unter anderem durch seine stabilisierende Wirkung auf Tetrahydrobiopterin, eine essenzielle Rolle beim Erhalt der endothelialen Funktion zu spielen. Nach seiner intestinalen Resorption wird es hepatisch durch  $\omega$ -Hydroxylation, Oxidation und  $\beta$ -Oxidation modifiziert, wodurch Hydroxy- und Carboxychromanole entstehen, die starke antioxidative Kapazitäten aufweisen und die, durch die COX-2 und 5-Lipoxygenase katalysierte, Bildung von Eicosanoiden und damit die Synthese proinflammatorischer Signale wie NF- $\kappa$ B und STAT hemmen (Ahsan *et al.*, 2014; Mathur *et al.*, 2015).

## Studienlage

Schon 1991 wurde in einer Studie von Boscoboinik et al. an Ratten nachgewiesen, dass  $\alpha$ -Tocopherol die Proliferation glatter aortaler Muskelzellen verhindert und die Aktivität der Proteinkinase C einschränkt (Boscoboinik, Szewczyk and Azzi, 1991). Özer et al. (2002) führten eine Studie durch, in welcher Hasen einer cholesterolreichen Diät ausgesetzt waren. Die Gruppe der Hasen, der zusätzlich Vitamin E supplementiert wurde, wies keine aortalen arteriosklerotischen Läsionen auf. Im Gegensatz dazu konnten in der Gruppe ohne Supplementation sowohl die typischen Cholesterol-induzierten Plaques als auch eine erhöhte Aktivität der Proteinkinase C nachgewiesen werden (Özer and Azzi, 2000). Letzteres ist vor allem wegen des Einflusses des Enzyms auf die Zellproliferation, aber auch deshalb interessant, weil durch seine Hemmung über verschiedene Mechanismen die endogene  $O_2^{\cdot-}$ -Produktion reduziert wird (Upston et al., 2002). Eine erhöhte Aktivität der Proteinkinase C führt außerdem zu einer Hypertrophie von Kardiomyozyten sowie zu einer Insulinresistenz (*Duale Reihe Biochemie*, 2022), welche beide prädisponierende Faktoren für die Genese von CVDs sind.

Ein Mangel an Vitamin E scheint mit einer Hochregulation der CD36-Rezeptor-Expression in Monozyten und Makrophagen assoziiert zu sein (Munteanu et al., 2006; Huang et al., 2012). Bei diesem Rezeptor handelt es sich um ein Glykoprotein, welches in phagozytierenden Zellen unter anderem als Scavenger-Rezeptor eine wichtige Rolle bei der zellulären Aufnahme von oxidierten Phospholipiden und Lipoproteinen spielt, somit einen Einfluss auf inflammatorische und atherothrombotische Prozesse hat und eine Rolle bei der Entstehung cholesterinvermittelter arteriosklerotischer Plaques spielt (Silverstein and Febbraio, 2009). Eine  $\alpha$ -Tocopherol-Supplementation bewirkte in einer Studie von Munteanu et al. (2006) eine geringere Expression des CD36-Rezeptors sowie eine verminderte Aufnahme von oxLDL (Erklärung siehe Seite 27) in Monozyten (Munteanu et al., 2006). Untersuchungen von Huang et al. (2012) weisen darauf hin, dass Vitamin E durch Einfluss auf den durch oxidativen Stress aktivierten NF- $\kappa$ B-Signalweg die Schaumzellbildung aus Makrophagen unterdrückt, indem es die oxLDL-Aufnahme hemmt (Huang et al., 2012). Grundsätzlich ist ein Mangel an Vitamin E in industriellen Ländern aber selten Folge einer zu geringen diätischen

Aufnahme, sondern meist auf eine Fettmalabsorption, eine chronisch cholestatische hepatische Erkrankung, andere Störungen des Leberstoffwechsels oder eine zystische Fibrose zurückzuführen (Johnson, 2022).

2018 veranschaulichte eine Studie von Su et al. die schützenden Effekte von V<sub>E</sub>-HDL, einer Vitamin E-beinhaltenen Form des kardio- und vaskuloprotektiven high density lipoproteins, auf Makrophagen. Hier konnte eine Minderung der Schaumzellbildung, des oxLDL-induzierten oxidativen Stresses und der Apoptose von Makrophagen unter V<sub>E</sub>-HDL-Verabreichung nachgewiesen werden (Su et al., 2018). Eine weitere Studie untersuchte 2018 den Effekt einer Multivitamin-Supplementation, unter anderem mit  $\alpha$ -Tocopherol, auf die kardiovaskuläre Gesundheit innerhalb einer russischen Population, welche durch hohen Alkohol- und Nikotinkonsum sowie eine geringe diätische Aufnahme von Obst und Gemüse charakterisiert war. Nach einer achtwöchigen Supplementation konnte eine Reduktion der CVD-Biomarker festgestellt werden (Isakov et al., 2018). Weiters wurde ein positiver Einfluss von Vitamin E auf die vaskuläre Gesundheit bei Patient\*innen mit dem Hp2-2-Genotyp festgestellt, welche ein signifikant höheres Risiko für die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2, einer endothelialen Dysfunktion und der Entwicklung von CVDs aufweisen (Alshiek et al., 2017). Träger\*innen dieses Genotyps exprimieren das antioxidativ wirksame Akute-Phase-Protein Haptoglobin in geringeren Mengen und haben eine niedrigere Bindungsaffinität für den CD163 Scavenger Rezeptor von Makrophagen, woraus eine reduzierte anti-inflammatorische Zytokin-Synthese resultiert (Levy et al., 2010).

Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse aus in vitro- aber auch aus murinen in vivo-Studien gibt es zahlreiche klinische Humanstudien, die diese gesundheitsfördernden Einflüsse von Vitamin E nicht am Menschen beweisen konnten. In der randomisierten Placebo-kontrollierten HOPE- und HOPE-TWO-Studie konnten so beispielsweise unter einer täglichen Supplementierung von 400 IU Vitamin E keine positiven Effekte bezüglich kardiovaskulärer Ereignisse im Vergleich zur Placebo-Gruppe festgestellt werden. In der Vitamin E-Gruppe war die allgemeine Inzidenz von CVDs und die Hospitalisierungsrate aufgrund

kardialen Versagens sogar häufiger. Zusätzlich wurde über einen Zeitraum von vier Jahren unter Vitamin E-Supplementation eine durchschnittliche Abnahme der linksventrikulären Ejektionsfraktion von 1,86% festgestellt. In der Placebo-Gruppe betrug die Abnahme lediglich 0,58% (Lonn, 2005).

Anders als in der oben erwähnten Studie von Alshiek et al. (2017) konnte 2020 in einer randomisierten klinischen Studie von Dalan et al. kein klarer gesundheitlicher Vorteil einer Vitamin-E-Supplementation auf oxidativen Stress, Entzündungsreaktionen oder die vaskuläre Funktionsfähigkeit bei Träger\*innen des Hp2-2 Genotyps festgestellt werden, zeigte aber ein erhöhtes Risiko arterieller Steifheit unter Vitamin-E-Zufuhr (Dalan *et al.*, 2020). Die genauen Mechanismen dahinter sind nicht bekannt und erfordern weitere Untersuchungen.

Eine Vitamin-E-Supplementation von 400mg/Tag wurde 2013 in der randomisierten, Placebo-kontrollierten SELECT-Studie von Nicastro et al., welche die Auswirkungen einer Supplementation von Selen und Vitamin E über eine Zeitdauer von sieben Jahren auf die Prostatakarzinom-Inzidenz untersuchte, mit einem um 17% erhöhten Risiko für die Entstehung eines solchen Karzinoms im Vergleich zur Placebo-Gruppe assoziiert (Nicastro and Dunn, 2013).

2005 wurde in einer Metaanalyse aus 19 klinischen Studien die dosisabhängige Beziehung zwischen einer Vitamin E-Supplementation und der Gesamtmortalität untersucht. Das Ergebnis erbrachte eine Zunahme der Gesamtmortalität ab einer Dosierung von 150 IU/Tag (Miller *et al.*, 2005) (entspricht 100,67 mg Vitamin E (*Vitamin E: mg und IE umrechnen*, no date)), welche damit weit unter der bis dahin empfohlenen Höchstdosierung von 300mg/Tag für Erwachsene lag. Deshalb wurde die empfohlene Höchstmenge vom deutschen Bundesinstitut für Risikobewertung auf 30mg/Tag reduziert ('Höchstmengenvorschläge für Vitamin E in Lebensmitteln inklusive Nahrungs-ergänzungsmitteln', no date). Grundsätzlich wurde, auch in niedrigeren Dosierungen, kein präventiver Effekt einer Vitamin-E-Supplementation auf das Auftreten eines MCIs, Schlaganfalls oder andere kardiovaskuläre Ereignisse festgestellt (Miller *et al.*, 2005).

Eine Metaanalyse von Schürks et al. (2010) untersuchte die Auswirkungen einer Vitamin-E-Supplementation auf die Inzidenz hämorrhagischer und ischämischer Schlaganfälle. Das Ergebnis der Analyse zeigte eine 22%ige Zunahme der Inzidenz hämorrhagischer Schlaganfälle, das Risiko für ischämische sank um 10% (Schürks *et al.*, 2010). Die Zunahme hämorrhagischer Insulte lässt sich durch die antikoagulatorische Wirkung von Vitamin E erklären, welches die Vitamin K-abhängige  $\gamma$ -Glutamylcarboxylase, die wiederum die Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X sowie Protein C und S aktiviert, hemmt (Dowd and Zheng, 1995). Dadurch erklärt sich die Hinderung der Thrombozytenaggregation und -adhäsion und damit das erhöhte Risiko für hämorrhagische Ereignisse, vor allem bei Patient\*innen unter oraler Antikoagulation oder mit Vitamin K-Mangel (Garg and Lee, 2022).

Durch eine erhöhte diätische Zufuhr von Vitamin E konnte keine Erhöhung seiner plasmatischen Konzentrationen über den physiologischen Referenzbereich hinaus beobachtet werden, sondern nur als Folge einer exogenen Supplementation. Obwohl die empfohlene tägliche Zufuhrmenge 15mg/Tag entspricht, sind die meisten Supplemente mit 100 – 1000mg viel höher dosiert (Owen and Dewald, 2024). Überschüssiges Vitamin E wird, trotz seiner Fettlöslichkeit, über Urin und Gallenflüssigkeit ausgeschieden, weshalb der Eintritt der oben genannten toxischen Effekte bei gesunden Personen bei einer täglichen Zufuhr von unter 1000mg unwahrscheinlich ist (Traber, 2013). Nebenwirkungen wie Blutungen, physische Schwäche, psychische Instabilität sowie gastrointestinale Beschwerden treten jedoch bei kurzfristiger hoher Vitamin-E-Gabe auf (Owen and Dewald, 2024). Bei älteren, multimorbiden Patient\*innen mit zusätzlichen Risikofaktoren liegt die Grenze vermutlich tiefer.

Diese vorläufigen Ergebnisse deuten insgesamt darauf hin, dass Vitamin E die Genexpression und Enzymaktivität, die mit Entzündungsprozessen, oxLDL-Aufnahme und Schaumzellbildung verbunden sind, modulieren kann und somit die Initiation von Atherosklerose auf zellulärer Ebene beeinflusst. Einige Studien zeigen jedoch, dass eine Vitamin-E-Supplementation unter bestimmten Bedingungen auch negative Effekte haben kann. So kann Vitamin E besonders in

hohen Dosierungen oder in oxidativer Umgebung pro-oxidativ wirken und die zelluläre Integrität beeinträchtigen. Eine präventive oder therapeutische Anwendung sollte kritisch hinterfragt und weiter untersucht werden, bevor eine konkrete Empfehlung ausgesprochen werden kann.

### **6.3 Studienlage zum klinischen Einsatz von Carotinoiden**

Die folgenden Absätze dienen als kurze Wiederholung des Kapitels 4.2.2.3. Detailliertere Informationen zu Bedarf, natürlichem Vorkommen sowie antioxidativer Wirkungsweise sind dort zu entnehmen.

Der Begriff „Carinoide“ umfasst eine Vielzahl essenzieller pflanzlicher Pigmentmoleküle, die, abhängig von ihren funktionellen Gruppen und folglich ihrer Polarität, vorwiegend in lipophiler Umgebung als Reduktionsmittel wirken (Milani *et al.*, 2017). Als starke Radikalfänger schützen sie die äußeren Zellmembranen, die mitochondriale Membran, den Zellkern und die Liposomen vor der Lipidperoxidation, ohne dabei selbst zu reaktiven Molekülen zu werden. Dies erklärt sich durch ihre Fähigkeit zur Stabilisierung ungepaarter Elektronen, welche sie durch ihre delokalisierten Elektronen im  $\pi$ -Elektronensystem erhalten (Kaulmann and Bohn, 2014). Durch Abgabe ihrer erworbenen Energie durch rotationsinduzierte Wechselwirkungen mit der Umgebung kehren Carotinoide selbst in ihren unangeregten Zustand zurück (Monego, da Rosa and do Nascimento, 2017; Gulcin, 2020).

Die physiologischen Plasmaspiegel variieren je nach Art des Moleküls. Für die quantitativ wichtigsten Carotinoide gelten folgende Referenzwerte: 0,1 – 0,6  $\mu\text{mol/L}$  für  $\beta$ -Carotin, 0,3 – 0,7  $\mu\text{mol/L}$  für Lycopin, 0,2 – 1,5  $\mu\text{mol/L}$  für Lutein und Zeaxanthin und 0,1 – 0,4  $\mu\text{mol/L}$  für  $\beta$ -Cryptoxanthin (Cervantes-Paz Braulio and Victoria-Campos, 2016).

Eine Carotinoid-Supplementation ist aufgrund ihres antioxidativen Potentials und des damit einhergehenden reduzierten Schädigungspotentials von oxLDL als Risikofaktor für die Atherosklerose interessant (Wang *et al.*, 2018). Zusätzlich scheinen Carotinoide durch Beeinflussung zellulärer Signalwege inflammatorische und oxidative Prozesse zu unterdrücken und damit einen Teil zur Erhaltung der

endothelialen Integrität beizutragen (Yao, Goh and Kim, 2021). Aus diesem Grund existieren zahlreiche Studien zu den Auswirkungen einer Supplementation von Carotinoiden auf die kardiovaskuläre Gesundheit, aber auch hier sind die Resultate aufgrund teils widersprüchlicher Ergebnisse sehr kontrovers.

### **Studienlage**

Schon 1996 wurde in einer von Sahyoun et al. durchgeführten Kohortenstudie unter anderem der Zusammenhang zwischen der CVD-Mortalität und der diätischen Zufuhr von Carotinoiden untersucht. Dabei wurde zwischen den verschiedenen Carotinoiden nicht differenziert, sondern die kollektive Gesamtcarotinoideaufnahme, bestehend aus  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lycopin, Lutein und Zeaxanthin, untersucht. In dieser Studie konnte über den 12-jährigen Beobachtungszeitraum kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Carotinoideaufnahme und dem CVD-Risiko festgestellt werden (Sahyoun, Jacques and Russell, 1996). Weitere Studien, die ebenfalls nicht zwischen den unterschiedlichen Carotinoiden differenzierten, erlangten dasselbe Ergebnis (Yao, Goh and Kim, 2021).

Die Studienlage zu den unterschiedlichen, individuellen biologischen Auswirkungen der 6 quantitativ bedeutsamsten Carotinoide ( $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lycopin, Lutein und Zeaxanthin) beschränkt sich auf zahlreiche Interventions- und Beobachtungsstudien, die primär in den 1990er Jahren durchgeführt wurden. In den letzten beiden Jahrzehnten bauten weitere Studien zwar auf diesen Ergebnissen auf, die für die in dieser Diplomarbeit behandelte Fragestellung notwendigen, grundlegenden Informationen werden aber aus den ursprünglichen Quellen entnommen.

Die differenzierte Beurteilung der 6 oben genannten Carotinoide lässt vermuten, dass eine Supplementation von  $\beta$ -Carotin zu einer Erhöhung des kardiovaskulären Risikos führen könnte (Qiu et al., 2022a). Eine randomisierte kontrollierte Studie von Rapola et al. (1997), welche die Häufigkeit koronarer Ereignisse bei 1862 männlichen Rauchern mit positiver MCI-Anamnese über einen mittleren Beobachtungszeitraum von 5,3 Jahren untersuchte, zeigte eine erhöhte Inzidenz

für letale KHK-Ereignisse unter Supplementierung von  $\beta$ -Carotin (Rapola et al., 1997). Ursächlich dafür könnte die Tatsache sein, dass überschüssiges  $\beta$ -Carotin in atherosklerotischen Plaques abgelagert wird und diese dadurch anfälliger für Rupturen werden könnten (Prince, LaMuraglia and MacNichol Jr, 1988). Weitere Überlegungen sind eine verringerte spontane Thrombolyse oder eine elektrische oder mechanische Insuffizienz des bereits vorgeschädigten Myokards, die durch  $\beta$ -Carotin bedingt wird (Rapola et al., 1997). Auch in den beiden großen Interventionsstudien, der „ $\alpha$ -Tocopherol,  $\beta$ -Carotene Prevention (ATBC) Study“ und dem „ $\beta$ -Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET)“ wurde während der Intervention, also der Supplementation von 20mg  $\beta$ -Carotin/Tag in der ATBC- und 30mg  $\beta$ -Carotin/Tag in der CARET-Studie, eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen einer erhöhten  $\beta$ -Carotin-Konzentration im Gewebe und sowohl der CVD-Morbidität als auch -Mortalität festgestellt (Goodman et al., 2004). Insbesondere bei rauchenden Personen wurde eine signifikant erhöhte Lungenkrebsinzidenz beobachtet (Goodman et al., 2004). 2022 unterstrich eine Meta-Analyse von Kordiak et al. diesen Zusammenhang eindeutig (Kordiak et al., 2022). Eine naheliegende Ursache für das erhöhte Risiko unter Nikotinexposition könnte in der Molekülinstabilität von  $\beta$ -Carotin unter erhöhten Plasmaspiegeln radikaler Spezies liegen (Qiu et al., 2022a).

In einer Analyse aus den Daten der „National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)“, welche den Zusammenhang der Serumcarotinoid-Konzentrationen mit der CVD-Mortalität bei Erwachsenen mit Typ-2-Diabetes untersuchte, wurde ein linear höheres CVD-Mortalitäts-Risiko bei Personen mit hohen  $\beta$ -Carotin-Serumspiegeln ( $> 424,9$  nmol/L) als bei solchen mit niedrigen Spiegeln festgestellt (Qiu et al., 2022). Dieser Zusammenhang wurde aber nicht bei einer erhöhten diätischen  $\beta$ -Carotin-Aufnahme beobachtet und zusätzlich wurde auch nur eine geringe Korrelation zwischen den plasmatischen  $\beta$ -Carotin-Spiegeln und dessen alimentärer Zufuhr festgestellt, weshalb die beobachtete Assoziation vermutlich hauptsächlich auf  $\beta$ -Carotin in Supplementen zurückzuführen ist (Qiu et al., 2022). Daher sollte der Verzehr von  $\beta$ -Carotin-haltigen Lebensmitteln auch bei Risikopatient\*innen nicht eingeschränkt werden,

da es sich hierbei hauptsächlich um Obst und Gemüse als wichtige Lieferanten vieler zusätzlicher Vitamine und Spurenelemente handelt.

Eine Metaanalyse aus sieben RCTs zeigte ebenfalls eine geringe, aber signifikante Zunahme der CVD-Mortalität unter  $\beta$ -Carotin-Supplementation über einen Zeitraum von vier bis zwölf Jahren (Vivekananthan *et al.*, 2003). 2022 sprach das Panel des US Preventive Services Task Force außerdem eine evidenzbasierte Empfehlung gegen den klinischen therapeutischen und präventiven Einsatz von  $\beta$ -Carotin gegen CVDs und Krebs aus (Zhu *et al.*, 2023).

Die Ergebnisse bezüglich des Zusammenhangs von Carotinoiden und der CVD- sowie Gesamtmortalität sind aber sehr unterschiedlich. So beobachtete eine weitere Studie über einen mittleren Beobachtungszeitraum von 16,3 Jahren einen inversen Zusammenhang zwischen den Serumkonzentrationen von  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lycopin und Lutein/Zeaxanthin und der CVD-Mortalität bei an Hypertonie leidenden Personen. Niedrige Spiegel der genannten Carinoide wurden dabei mit einem Anstieg sowohl der Gesamt- als auch der CVD-Mortalität assoziiert (Zhu *et al.*, 2023).

Die Ergebnisse mehrerer Beobachtungsstudien bringen ein geringeres Mortalitätsrisiko mit höheren plasmatischen Carotinoidkonzentrationen in Zusammenhang (Zhu *et al.*, 2023). In einer Meta-Analyse von Aune *et al.* (2018) wurde ebenfalls ein inverser Zusammenhang zwischen einer gesteigerten Carotinoid-Aufnahme und dem Auftreten von altersassoziierten Erkrankungen wie KHK, Insult und anderen kardiovaskulären Erkrankungen geschlussfolgert. Dabei ist besonders aufgefallen, dass die erhöhte Aufnahme von Tomaten und die damit gesteigerten Plasmakonzentrationen von Lycopin invers mit der KHK-Inzidenz assoziiert ist (Aune *et al.*, 2018). Eine Querschnittsstudie von Chiva-Blanch *et al.* (2020) untersuchte den Zusammenhang zwischen plasmatischen Lycopin-Spiegeln und dem Vorhandensein bzw. der Ausprägung von Carotisplaques bei 105 Diabetiker\*innen. Dabei wurde eine inverse Beziehung zwischen den Plasmaspiegeln und der atherosklerotischen Belastung festgestellt (Chiva-Blanch *et al.*, 2020).

## 7 Diskussion

Abschließend werden aus den in Kapitel 5 vorgestellten Studien Schlüsse zur klinischen Anwendung der behandelten Antioxidantien in Bezug auf kardiovaskuläre Erkrankungen im Zusammenhang mit altersassoziertem oxidativem Stress gezogen und diskutiert, ob ein solcher Einsatz einen präventiven und/oder therapeutischen Nutzen bringen könnte. Dies erfolgt wieder in derselben Reihenfolge wie in Kapitel 5.

### Vitamin C

Die Studienergebnisse legen nahe, dass eine isolierte Vitamin-C-Supplementation bei Personen, deren Plasmaspiegel gesättigt sind oder im oberen physiologischen Bereich liegen, keinen zusätzlichen gesundheitlichen Nutzen im Hinblick auf die Prävention von CVDs mit sich bringt. In diesem Fall gibt es nur wenige Belege für eine positive Wirkung auf Biomarker für CVDs oder Risikofaktoren wie arterielle Steifheit, arterielle Hypertonie, Hyperglykämie, Hyperlipidämie oder endotheliale Dysfunktion (Doseděl *et al.*, 2021). Die langfristigen Vorteile einer Supplementation treffen, wie es scheint, nur dann ein, wenn die Patient\*innen einen Vitamin-Mangel oder Plasmaspiegel im (physiologischen) unteren Referenzbereich aufweisen.

Obwohl durch zahlreiche Studien belegt ist, dass Ascorbinsäure die Bildung reaktiver Spezies auf zellulärer und organspezifischer Ebene reduziert, ist ihr Nutzen im kardiovaskulären System nicht ganz klar. Die unterschiedlichen Wirkungen von Vitamin C auf in vitro-Zellkulturen sind nicht übereinstimmend mit den Nebenwirkungen aus klinischen in vivo-Studien, weshalb es problematisch ist, die Forschungsergebnisse einheitlich zu interpretieren und Leitlinien für eine klinische Implementierung von Vitamin C als therapeutisches Medikament zu erstellen (Zheng *et al.*, 2024).

Bisher gibt es also keine evidenzbasierten Empfehlungen für eine isolierte Supplementation von Vitamin C bezüglich der Prävention oder Heilung von CVDs. Es sind weitere Humanstudien über längere Zeiträume erforderlich, um kumulative

zeitabhängige Daten bezüglich der Dosierung und eventuell auftretender Nebenwirkungen festzustellen. Aufgrund des erhöhten Risikos für die Bildung von Nierensteinen liegt eine weitere Notwendigkeit außerdem in der Entwicklung eventueller Kombinationstherapien. Nach aktuellem Studienstand gilt aber, dass die Supplementierung von Ascorbinsäure wegen des gut dokumentierten erhöhten Risikos für die Nierensteinbildung und in der Schwangerschaft wegen des potentiellen Auftretens des Rebound-Skorbut in hohen Dosen über einen längeren Zeitraum vermieden werden sollte (Doseděl *et al.*, 2021), da es derzeit keine eindeutigen Hinweise auf einen schützenden kardiovaskulären Effekt gibt.

Ein weiterer interessanter Ansatzpunkt für die Vitamin-C-Supplementation ist die kürzlich entdeckte Ferroptose, in welcher die Wechselwirkung zwischen reaktiven Spezies, dem Eisenhaushalt und der Lipidperoxidation im Myokard unter ischämischen Zuständen entscheidend über das zelluläre Outcome ist (Zheng *et al.*, 2024). Um diesen Zusammenhang besser verstehen und daraus mögliche therapeutische Möglichkeiten schlussfolgern zu können, sind weitere Untersuchungen und Studien notwendig.

### **Vitamin E**

Ähnlich wie bei Vitamin C gibt es auch bei der Frage, ob eine Vitamin-E-Supplementation förderlich auf die Entstehung oder Progredienz kardiovaskulärer Erkrankungen wirken könnte, keine einheitliche Studienlage und keine evidenzbasierten Empfehlungen für eine isolierte erhöhte Zufuhr. In zahlreichen murinen in vitro- und in vivo-Studien wurde gezeigt, dass vor allem  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Tocopherol antioxidative Fähigkeiten besitzen und die Mechanismen, die mit Entzündung, oxLDL-Aufnahme, Schaumzell- und arteriosklerotischer Plaquebildung assoziiert sind, beeinflussen können. Inwieweit diese Effekte aus Nagetiermodellen auf das humane kardiovaskuläre System übertragbar sind, ist unklar. Derzeit gibt es keine eindeutigen Hinweise auf einen signifikanten positiven Effekt einer Vitamin-E-Supplementation beim Menschen (Kumar *et al.*, 2023).

Eine einheitliche Interpretation der Forschungsergebnisse und die Erstellung von Leitlinien für eine klinische Implementierung von Vitamin E als therapeutisches

Medikament ist nach wie vor problematisch. Zusammengefasst zeigen aber die bestehenden Studienergebnisse keine klaren Vorteile einer Supplementation von Vitamin E über einen längeren Zeitraum auf die kardiovaskuläre Gesundheit. Manche Studien zeigten im Gegensatz sogar ein erhöhtes Mortalitäts-, kanzerogenes und kardiovaskuläres Risiko (Hantikainen and Lagerros, 2023).

Es sind weitere randomisierte kontrollierte Humanstudien über längere Zeiträume mit größeren Testgruppen erforderlich, bei welchen auch zwischen Altersgruppen und andere Einflussfaktoren wie Ernährungsgewohnheiten differenziert wird, um kumulative zeitabhängige Daten bezüglich der Dosierung, eventuell auftretender Nebenwirkungen, Wechselwirkungen und gegenseitiger Beeinflussung unterschiedlicher Nährstoffe festzustellen (Garg and Lee, 2022).

Die Tatsache, dass die meisten bestehenden Daten aus Beobachtungsstudien entspringen, in welchen Regelmäßigkeit und Dosierung der  $\alpha$ -Tocopherol-Einnahmen durch von den Studienteilnehmer\*innen ausgefüllte Fragebögen erfasst wurden, bietet eine hohe Anfälligkeit für Recall Bias. Zusätzlich dazu kann der Effekt von Vitamin E nicht isoliert von anderen mit der Nahrung aufgenommenen Stoffen beobachtet und interpretiert werden (Hantikainen and Lagerros, 2023). Weiters wäre es in zukünftigen Studien wichtig, zwischen den verschiedenen Isoformen von Vitamin E zu differenzieren und die Metabolomik genau zu untersuchen, weil verschiedene physiologische und pathophysiologische Mechanismen sowie Genpolymorphismen einen unterschiedlichen Einfluss der verschiedenen Isoformen auf die Genese und Progredienz von CVDs bewirken könnten (Kumar *et al.*, 2023). So haben beispielsweise auch Tocotrienole Potential, kardioprotektiv zu wirken, indem sie durch eine verminderte Expression der HMG-CoA-Reduktase die Cholesterinspiegel senken und die LDL-Oxidation reduzieren (Packer, Weber and Rimbach, 2001; Kumar *et al.*, 2023). Die Forschungssituation dahingehend beschränkt sich aber auf wenige Studien vom Beginn der 2000er Jahre.

### **Carotinoide**

In der Regel weichen die Ergebnisse von Studien, welche an der Allgemeinbevölkerung durchgeführt wurden, signifikant von denen, die an

Risikopatient\*innen durchgeführt wurden, ab. Viele der im Kapitel 5.3 genannten Studienergebnisse lassen eine prooxidative anstatt einer antioxidativen Wirkung von  $\beta$ -Carotin unter verstärktem oxidativen Stressstatus, wie er bei Nikotinkonsum, Diabeteserkrankungen oder MCI in der Vorgeschichte vorliegt, vermuten (Qiu *et al.*, 2022). Die Diskrepanz in den aktuellen Resultaten verlangt nach weiteren Studien, um die Assoziation nicht nur zwischen  $\beta$ -Carotin, sondern auch den anderen Carotinoiden und der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität zu untersuchen.

Die genauen biologischen und biochemischen Mechanismen, die zu der potentiell prooxidativen Wirkung von  $\beta$ -Carotin bei Risikopatient\*innen führen, sind noch unklar. Dennoch liegt die Vermutung aufgrund der Studienergebnisse nahe, dass eine erhöhte oxidative Umgebung gemeinsam mit erhöhten plasmatischen  $\beta$ -Carotin-Spiegeln zu einer Veränderung des  $\beta$ -Carotin-Stoffwechsels und damit einer Akkumulation oxidativer Metaboliten führen kann (Qiu *et al.*, 2022). Diese wiederum könnten als Prooxidantien oxidative Schäden wie jede andere radikale Spezies verursachen, weshalb ihre Supplementation bei Personen mit Risikoprofil und daraus resultierenden erhöhten oxidativen und proinflammatorischen Bedingungen vermutlich mehr negative als positive Wirkungen mit sich bringen könnte. Weiters gibt es Hinweise, dass  $\beta$ -Carotin in Adipozyten zu thrombogenen und atherogenen Metaboliten verstoffwechselt werden könnte, was das kardiovaskuläre Risiko wiederum erhöhen würde (Rapola *et al.*, 1997; Qiu *et al.*, 2022). Die komplexe Verstoffwechslung von Carotinoiden und die dabei entstehenden Metaboliten erfordern noch genauere Untersuchungen, bevor eine eindeutige Empfehlung für oder gegen den isolierten präventiven oder therapeutischen Einsatz von Carotinoiden bei CVDs ausgesprochen werden kann (Zhu *et al.*, 2023). Dabei sollten sowohl der individuelle Gesundheitszustand der ausgewählten Personen sowie andere Einflussfaktoren wie deren Ernährungsgewohnheiten und Lebensstilfaktoren in die Untersuchungen miteinbezogen werden, um Daten bezüglich der Dosierung, eventuell auftretender Nebenwirkungen, Wechselwirkungen und gegenseitiger Beeinflussung unterschiedlicher Nährstoffe zu sammeln (Qiu *et al.*, 2022).

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass es derzeit eine Herausforderung darstellt, eine klare evidenzbasierte Empfehlung für oder gegen die klinische, isolierte Supplementation der Antioxidantien Vitamin C, Vitamin E und den Carotinoiden zur Prävention und/oder Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen mit ihrem Ursprung im altersassoziierten oxidativen Stress auszusprechen. Weitere Studien zur Untersuchung potenzieller therapeutischer Effekte, vor allem im Zusammenhang mit neu entdeckten Mechanismen wie der Ferroptose sind bezüglich der Vitamin-C-Supplementation genauso notwendig wie eine differenzierte Betrachtung der unterschiedlichen Wirkungen und Wechselwirkungen der verschiedenen Vitamin-E-Isoformen. Insbesondere für  $\beta$ -Carotin lässt sich aus Studienergebnissen eine prooxidative Wirkung unter Bedingungen mit erhöhtem oxidativem Stress vermuten, weshalb eine Supplementation das kardiovaskuläre Risiko bei bestimmten Risikogruppen zusätzlich erhöhen könnte. Ähnlich wie bei Vitamin E ist es auch hier notwendig, die exakte Metabolomik der einzelnen Carotinoide in unterschiedlichen Dosierungen über verschiedene Zeiträume zu analysieren.

Um ein umfassendes Verständnis der einzelnen Wirkungen und Nebenwirkungen auf die kardiovaskuläre Gesundheit zu erlangen, sind noch einige weitere randomisierte, kontrollierte Humanstudien mit großen Testgruppen über längere Beobachtungszeiträume notwendig. Ein weiterer potenzieller Ansatz wäre eine kombinierte Supplementierung verschiedener Antioxidantien. Obwohl hierfür bereits zahlreiche Studien existieren, liegt der Fokus dieser Diplomarbeit auf der Analyse des aktuellen Forschungsstands zur isolierten Supplementation der angeführten Antioxidantien. Eine weitere Auseinandersetzung mit den möglichen Vor- und Nachteilen einer Kombinationstherapie würde zusätzliche umfassende Ausführungen benötigen und über den Rahmen dieser Arbeit hinausführen, könnte aber in einer gesonderten Untersuchung und Analyse behandelt werden.

## Literaturverzeichnis

- Abete, P. *et al.* (1999) 'Age-related decrease in cardiac tolerance to oxidative stress', *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 31(1). Available at: <https://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0862>.
- Adams, L., Franco, M.C. and Estevez, A.G. (2015) 'Reactive nitrogen species in cellular signaling', *Experimental Biology and Medicine*, 240(6). Available at: <https://doi.org/10.1177/1535370215581314>.
- Ahsan, H. *et al.* (2014) 'Pharmacological potential of tocotrienols: A review', *Nutrition and Metabolism*. Available at: <https://doi.org/10.1186/1743-7075-11-52>.
- Akagawa, M. (2021) 'Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches', *Free Radical Research*. Available at: <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1851027>.
- Alam, Z.I. *et al.* (1997) 'A generalised increase in protein carbonyls in the brain in Parkinson's but not incidental Lewy body disease', *Journal of Neurochemistry*, 69(3). Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69031326.x>.
- Ali-Hassan-Sayegh, S. *et al.* (2014) 'Antioxidant supplementations for prevention of atrial fibrillation after cardiac surgery: An updated comprehensive systematic review and meta-analysis of 23 randomized controlled trials', *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. Available at: <https://doi.org/10.1093/icvts/ivu020>.
- Al-Shehri, S.S. (2021) 'Reactive oxygen and nitrogen species and innate immune response', *Biochimie*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.11.022>.
- Alshiek, J.A. *et al.* (2017) 'Anti-oxidative treatment with vitamin E improves peripheral vascular function in patients with diabetes mellitus and Haptoglobin 2-2 genotype: A double-blinded cross-over study', *Diabetes Research and Clinical Practice*, 131. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.06.026>.
- Aunan, J.R. *et al.* (2016) 'Molecular and biological hallmarks of ageing', *British Journal of Surgery*. Available at: <https://doi.org/10.1002/bjs.10053>.
- Azzi, A. (2022) 'Oxidative Stress: What Is It? Can It Be Measured? Where Is It Located? Can It Be Good or Bad? Can It Be Prevented? Can It Be Cured?', *Antioxidants*. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox11081431>.
- Baierle, M. *et al.* (2015) 'Relationship between inflammation and oxidative stress and cognitive decline in the institutionalized elderly', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015. Available at: <https://doi.org/10.1155/2015/804198>.
- Baker, W.L. *et al.* (2009) 'Use of N-acetylcysteine to reduce post-cardiothoracic surgery complications: a meta-analysis', *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2008.11.027>.
- Barnes, R.P. *et al.* (2022) 'Telomeric 8-oxo-guanine drives rapid premature senescence in the absence of telomere shortening', *Nature Structural and Molecular Biology*, 29(7). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41594-022-00790-y>.
- Bartlett, D.B. *et al.* (2012) 'The age-related increase in low-grade systemic inflammation (Inflammaging) is not driven by cytomegalovirus infection', *Aging Cell*, 11(5). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00849.x>.
- Bartosz, G. (2009) 'Reactive oxygen species: Destroyers or messengers?', *Biochemical Pharmacology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.11.009>.
- Baynes, J.W. and Dominiczak, M.H. (2018) *Medical Biochemistry E-Book*, Elsevier, *Medical Biochemistry: Protein Synthesis and Turnover*.

Berkowitz, D.E. *et al.* (2003) ‘Arginase Reciprocally Regulates Nitric Oxide Synthase Activity and Contributes to Endothelial Dysfunction in Aging Blood Vessels’, *Circulation*, 108(16). Available at: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000092948.04444.C7>.

Betteridge, D.J. (2000) ‘What is oxidative stress?’, in *Metabolism: Clinical and Experimental*. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3).

Bienert, G.P., Schjoerring, J.K. and Jahn, T.P. (2006) ‘Membrane transport of hydrogen peroxide’, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.02.015>.

Bigagli, E. and Lodovici, M. (2019) ‘Circulating oxidative stress biomarkers in clinical studies on type 2 diabetes and its complications’, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Available at: <https://doi.org/10.1155/2019/5953685>.

Bjelakovic, G. *et al.* (2007) ‘Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: Systematic review and meta-analysis’, *JAMA*. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.297.8.842>.

Blot, W.J. *et al.* (1993) ‘Nutrition intervention trials in linxian, China: Supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population’, *Journal of the National Cancer Institute*, 85(18). Available at: <https://doi.org/10.1093/jnci/85.18.1483>.

Bobba, A. *et al.* (2013) ‘Mitochondrial respiratory chain Complexes I and IV are impaired by  $\beta$ -amyloid via direct interaction and through Complex I-dependent ROS production, respectively’, *Mitochondrion*, 13(4). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mito.2013.03.008>.

Bolland, M.J. *et al.* (2010) ‘Abdominal aortic calcification on vertebral morphometry images predicts incident myocardial infarction’, *Journal of Bone and Mineral Research*, 25(3). Available at: <https://doi.org/10.1359/jbmr.091005>.

Bonekamp, N.A. *et al.* (2009) ‘Reactive oxygen species and peroxisomes: Struggling for balance’, *BioFactors*. Available at: <https://doi.org/10.1002/biof.48>.

Bonomini, F., Rodella, L.F. and Rezzani, R. (2015) ‘Metabolic syndrome, aging and involvement of oxidative stress’, *Aging and Disease*. Available at: <https://doi.org/10.14336/AD.2014.0305>.

Boscoboinik, D., Szewczyk, A. and Azzi, A. (1991) ‘ $\alpha$ -Tocopherol (vitamin E) regulates vascular smooth muscle cell proliferation and protein kinase C activity’, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 286(1). Available at: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(91\)90039-L](https://doi.org/10.1016/0003-9861(91)90039-L).

Bratic, A. and Larsson, N.G. (2013) ‘The role of mitochondria in aging’, *Journal of Clinical Investigation*. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI64125>.

Brown, G.C. and Borutaite, V. (2004) ‘Inhibition of mitochondrial respiratory complex I by nitric oxide, peroxynitrite and S-nitrosothiols’, *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.03.016>.

Carr, A.C. and Maggini, S. (2017) ‘Vitamin C and immune function’, *Nutrients*. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu9111211>.

Cervantes-Paz Braulio and Victoria-Campos, C.I. and O.-P.J. de J. (2016) ‘Absorption of Carotenoids and Mechanisms Involved in Their Health-Related Properties’, in C. Stange (ed.) *Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function*. Cham: Springer International Publishing, pp. 415–454. Available at: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_16).

Chen, P.C. *et al.* (2021) ‘The Potential Effects of Oxidative Stress-Related Plasma Abnormal Protein Aggregate Levels on Brain Volume and Its Neuropsychiatric Consequences in Parkinson’s Disease’, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1155/2021/3666327>.

Chiva-Blanch, G. *et al.* (2020) '5-CIS-, trans-and total lycopene plasma concentrations inversely relate to atherosclerotic plaque burden in newly diagnosed type 2 diabetes subjects', *Nutrients*, 12(6), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu12061696>.

Coradduzza, D. *et al.* (2023) 'Ferroptosis and Senescence: A Systematic Review', *International Journal of Molecular Sciences*. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms24043658>.

De Cristofaro, R. *et al.* (2003) 'Lipid and protein oxidation contribute to a prothrombotic state in patients with type 2 diabetes mellitus', *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1(2). Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1538-7836.2003.00072.x>.

Csiszar, A. *et al.* (2002) 'Aging-induced phenotypic changes and oxidative stress impair coronary arteriolar function', *Circulation Research*, 90(11). Available at: <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000020401.61826.EA>.

Dalan, R. *et al.* (2020) 'Impact of Vitamin E supplementation on vascular function in haptoglobin genotype stratified diabetes patients (EVAS Trial): a randomised controlled trial', *Nutrition and Diabetes*, 10(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0116-7>.

Dalfó, E. *et al.* (2005) 'Evidence of oxidative stress in the neocortex in incidental Lewy body disease', *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 64(9). Available at: <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000179050.54522.5a>.

Dextera, D.T. and Jenner, P. (2013) 'Parkinson disease: From pathology to molecular disease mechanisms', *Free Radical Biology and Medicine*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.01.018>.

Dey, S. *et al.* (2018) 'Mitochondrial ROS drive sudden cardiac death and chronic proteome remodeling in heart failure', *Circulation Research*, 123(3). Available at: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.312708>.

Diwanji, N. and Bergmann, A. (2018) 'An unexpected friend – ROS in apoptosis-induced compensatory proliferation: Implications for regeneration and cancer', *Seminars in Cell and Developmental Biology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.07.004>.

Donato, A.J. *et al.* (2007) 'Direct Evidence of Endothelial Oxidative Stress With Aging in Humans', *Circulation Research*, 100(11). Available at: <https://doi.org/10.1161/01.res.0000269183.13937.e8>.

Doseděl, M. *et al.* (2021) 'Vitamin c—sources, physiological role, kinetics, deficiency, use, toxicity, and determination', *Nutrients*. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu13020615>.

Dowd, P. and Zheng, Z.B. (1995) 'On the mechanism of the anticlotting action of vitamin E quinone', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(18), pp. 8171–8175. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.92.18.8171>.

Dröge, W. (2002) 'Free radicals in the physiological control of cell function', *Physiological Reviews*. Available at: <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>.

Du, Y.T. *et al.* (2022) 'Prooxidative inhibition against NF-κB-mediated inflammation by pharmacological vitamin C', *Free Radical Biology and Medicine*, 180. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.01.007>.

*Duale Reihe Biochemie* (2022) *Duale Reihe Biochemie*. Available at: <https://doi.org/10.1055/b000000425>.

Durham, A.L. *et al.* (2018) 'Role of smooth muscle cells in vascular calcification: Implications in atherosclerosis and arterial stiffness', *Cardiovascular Research*. Available at: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy010>.

Engin, K.N. (2009) 'Alpha-tocopherol: Looking beyond an antioxidant', *Molecular Vision*, 15.

Farrokhi, E., Samani, K.G. and Chaleshtori, M.H. (2015) 'Oxidized low-density lipoprotein increases bone sialoprotein expression in vascular smooth muscle cells via runt-related transcription factor 2', *American Journal of the Medical Sciences*, 349(3). Available at: <https://doi.org/10.1097/MAJ.0000000000000381>.

Floor, E. and Wetzel, M.G. (1998) 'Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay', *Journal of Neurochemistry*, 70(1). Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.70010268.x>.

Fouquerel, E. *et al.* (2019) 'Targeted and Persistent 8-Oxoguanine Base Damage at Telomeres Promotes Telomere Loss and Crisis', *Molecular Cell*, 75(1). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.04.024>.

Fraga, M.F. and Esteller, M. (2007) 'Epigenetics and aging: the targets and the marks', *Trends in Genetics*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.05.008>.

Frey, R.S., Ushio-Fukai, M. and Malik, A.B. (2009) 'NADPH oxidase-dependent signaling in endothelial cells: Role in physiology and pathophysiology', *Antioxidants and Redox Signaling*. Available at: <https://doi.org/10.1089/ars.2008.2220>.

Gandhi, S. and Abramov, A.Y. (2012) 'Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1155/2012/428010>.

Garg, A. and Lee, J.C. (2022) 'Vitamin E : Where Are We Now in Vascular Diseases ?'

Gazaryan, I.G. *et al.* (2002) 'Zinc is a potent inhibitor of thiol oxidoreductase activity and stimulates reactive oxygen species production by lipoamide dehydrogenase', *Journal of Biological Chemistry*, 277(12). Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M108264200>.

Gęgotek, A. and Skrzydlewska, E. (2022) 'Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid', *Antioxidants*. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox11101993>.

Goedert, M. and Spillantini, M.G. (2006) 'A century of Alzheimer's disease', *Science*. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1132814>.

Gonçalves, F.B. *et al.* (2012) 'Calcification of the abdominal aorta as an independent predictor of cardiovascular events: A meta-analysis', *Heart*, 98(13). Available at: <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2011-301464>.

Goodman, G.E. *et al.* (2004) 'The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial: Incidence of lung cancer and cardiovascular disease mortality during 6-year follow-up after stopping  $\beta$ -carotene and retinol supplements', *Journal of the National Cancer Institute*, 96(23), pp. 1743–1750. Available at: <https://doi.org/10.1093/jnci/djh320>.

Gorni, D. and Finco, A. (2020) 'Oxidative stress in elderly population: A prevention screening study', *Aging Medicine*, 3(3). Available at: <https://doi.org/10.1002/agm2.12121>.

Gradinaru, D. *et al.* (2015) 'Oxidized LDL and NO synthesis-Biomarkers of endothelial dysfunction and ageing', *Mechanisms of Ageing and Development*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mad.2015.03.003>.

Griebler, R. *et al.* (2021) 'Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Österreich', *Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz*, pp. 44–50. Available at: [https://www.sozialministerium.at/dam/jcr:ef1ec0fd-01a7-4047-9828-42ce906a2239/Bericht\\_HKE\\_2020\\_2021\\_Mit\\_Titelbild.pdf](https://www.sozialministerium.at/dam/jcr:ef1ec0fd-01a7-4047-9828-42ce906a2239/Bericht_HKE_2020_2021_Mit_Titelbild.pdf).

Gulcin, İ. (2020) 'Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview', *Archives of Toxicology*. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>.

Hajam, Y.A. *et al.* (2022) 'Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives', *Cells*, 11(3). Available at: <https://doi.org/10.3390/cells11030552>.

Halliwell, B. (1995) 'Oxygen radicals, nitric oxide and human inflammatory joint disease', in *Annals of the Rheumatic Diseases*. Available at: <https://doi.org/10.1136/ard.54.6.505>.

- Hamilton, C.A. *et al.* (2001) 'Superoxide excess in hypertension and aging a common cause of endothelial dysfunction', in *Hypertension*. Available at: <https://doi.org/10.1161/01.hyp.37.2.529>.
- Hantikainen, E. and Lagerros, Y.T. (2023) 'Vitamin E – a scoping review for Nordic Nutrition Recommendations 2023', 1(6), pp. 1–8.
- Harman, D. (1992) 'Free radical theory of aging', *Mutation Research DNaging*, 275(3–6). Available at: [https://doi.org/10.1016/0921-8734\(92\)90030-S](https://doi.org/10.1016/0921-8734(92)90030-S).
- Hasselholt, S., Tveden-Nyborg, P. and Lykkesfeldt, J. (2015) 'Distribution of vitamin C is tissue specific with early saturation of the brain and adrenal glands following differential oral dose regimens in guinea pigs', *British Journal of Nutrition*, 113(10). Available at: <https://doi.org/10.1017/S0007114515000690>.
- Hensley, K. *et al.* (1995) 'Brain Regional Correspondence Between Alzheimer's Disease Histopathology and Biomarkers of Protein Oxidation', *Journal of Neurochemistry*, 65(5). Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1995.65052146.x>.
- 'Höchstmengenvorschläge für Vitamin E in Lebensmitteln inklusive Nahrungsergänzungsmitteln' (no date). Available at: [www.bfr.bund.de](http://www.bfr.bund.de) (Accessed: 21 May 2024).
- Honda, Y. and Honda, S. (1999) 'The daf-2 gene network for longevity regulates oxidative stress resistance and Mn-superoxide dismutase gene expression in *Caenorhabditis elegans*', *The FASEB Journal*, 13(11). Available at: <https://doi.org/10.1096/fasebj.13.11.1385>.
- Horn, F. *et al.* (2018) *Biochemie des Menschen, Biochemie des Menschen*. Available at: <https://doi.org/10.1055/b-006-160377>.
- Hsu, L.J. *et al.* (2000) 'α-synuclein promotes mitochondrial deficit and oxidative stress', *American Journal of Pathology*, 157(2). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64553-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64553-1).
- Huang, Z.G. *et al.* (2012) 'Vitamin E ameliorates ox-LDL-induced foam cells formation through modulating the activities of oxidative stress-induced NF-κB pathway', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 363(1–2). Available at: <https://doi.org/10.1007/s11010-011-1153-2>.
- Iciek, M. *et al.* (2022) 'Reactive sulfur species and their significance in health and disease', *Bioscience Reports*. Available at: <https://doi.org/10.1042/BSR20221006>.
- Ighodaro, O.M. and Akinloye, O.A. (2018) 'First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid', *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
- Isakov, V.A. *et al.* (2018) 'Effects of multivitamin, multimineral and phytonutrient supplementation on nutrient status and biomarkers of heart health risk in a russian population: A randomized, double blind, placebo controlled study', *Nutrients*, 10(2). Available at: <https://doi.org/10.3390/nu10020120>.
- Ivanova, I.P., Trofimova, S. V. and Piskarev, I.M. (2013) 'Evaluation of prooxidant properties of ascorbic acid', *Biophysics (Russian Federation)*, 58(4). Available at: <https://doi.org/10.1134/S0006350913040076>.
- Jayed, A. *et al.* (2019) 'Dietary and circulating Vitamin C, Vitamin E, β-carotene and risk of total cardiovascular mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective observational studies', *Public Health Nutrition*. Available at: <https://doi.org/10.1017/S1368980018003725>.
- Jia, J. *et al.* (2023) 'Association between dietary vitamin C and abdominal aortic calcification among the US adults', *Nutrition Journal*, 22(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12937-023-00889-y>.

Johnson, V.L.E. (2022) 'Ausgabe für medizinische Fachkreise Vitamin-E-Mangel', (1), pp. 1–4. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2011.1437>.

Kaulmann, A. and Bohn, T. (2014) 'Carotenoids, inflammation, and oxidative stress-implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention', *Nutrition Research*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2014.07.010>.

Khan, M.A. *et al.* (2010) 'Antioxidant enzymes and cancer', *Chinese Journal of Cancer Research*. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11670-010-0087-7>.

Kumar, M. *et al.* (2023) 'Vitamin E Supplementation and Cardiovascular Health: A Comprehensive Review', *Cureus* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.7759/cureus.48142>.

Labarthe, D.R. (2011) 'Cardiovascular diseases: a global public health challenge', *Epidemiology and prevention of cardiovascular diseases: a global challenge* [Preprint].

Langi, P. *et al.* (2018) 'Carotenoids: From plants to food and feed industries', in *Methods in Molecular Biology*. Available at: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8742-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8742-9_3).

Lebovitz, R.M. *et al.* (1996) 'Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(18). Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.93.18.9782>.

Lefferts, E.C. *et al.* (2021) 'Oral vitamin C restores endothelial function during acute inflammation in young and older adults', *Physiological Reports*, 9(21). Available at: <https://doi.org/10.14814/phy2.15104>.

Levy, A.P. *et al.* (2010) 'Haptoglobin: Basic and clinical aspects', *Antioxidants and Redox Signaling*. Available at: <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2793>.

Liguori, I. *et al.* (2018) 'Oxidative stress, aging, and diseases', *Clinical Interventions in Aging*. Available at: <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>.

Lonn, E. (2005) 'Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: A randomized controlled trial', *JAMA*, 293(11). Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.293.11.1338>.

López-Otín, C. *et al.* (2013) 'The hallmarks of aging', *Cell*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>.

López-Otín, C. *et al.* (2023) 'Hallmarks of aging: An expanding universe', *Cell*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>.

Lovell, M.A. *et al.* (1995) 'Elevated thiobarbituric acid-reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in alzheimer's disease', *Neurology*, 45(8). Available at: <https://doi.org/10.1212/WNL.45.8.1594>.

Lushchak, V.I. (2014) 'Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification', *Chemico-Biological Interactions*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>.

Lushchak, V.I. (2015) 'Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications', *Ukrainian Biochemical Journal*, 87(6). Available at: <https://doi.org/10.15407/ubj87.06.011>.

Lushchak, V.I. and Lushchak, O. (2021) 'Interplay between reactive oxygen and nitrogen species in living organisms', *Chemico-Biological Interactions*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109680>.

Lykkesfeldt, J. *et al.* (1997) 'Ascorbic acid and dehydroascorbic acid as biomarkers of oxidative stress caused by smoking', *American Journal of Clinical Nutrition*, 65(4). Available at: <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.4.959>.

Lykkesfeldt, J. (2020) 'On the effect of vitamin C intake on human health: How to (mis)interpret the clinical evidence', *Redox Biology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101532>.

- Lykkesfeldt, J., Michels, A.J. and Frei, B. (2014) 'Vitamin C', *Advances in Nutrition*, 5(1). Available at: <https://doi.org/10.3945/an.113.005157>.
- Lykkesfeldt, J. and Tveden-Nyborg, P. (2019) 'The pharmacokinetics of vitamin C', *Nutrients*. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu11102412>.
- Marcus, D.L. *et al.* (1998) 'Increased peroxidation and reduced antioxidant enzyme activity in Alzheimer's disease', *Experimental Neurology*, 150(1). Available at: <https://doi.org/10.1006/exnr.1997.6750>.
- Matés, J.M., Pérez-Gómez, C. and De Castro, I.N. (1999a) 'Antioxidant enzymes and human diseases', *Clinical Biochemistry*. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(99)00075-2).
- Matés, J.M., Pérez-Gómez, C. and De Castro, I.N. (1999b) 'Antioxidant enzymes and human diseases', *Clinical Biochemistry*. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(99)00075-2).
- Mathur, P. *et al.* (2015) 'Tocopherols in the prevention and treatment of atherosclerosis and related cardiovascular disease', *Clinical Cardiology*. Available at: <https://doi.org/10.1002/clc.22422>.
- McCord, J.M. (2000) 'The evolution of free radicals and oxidative stress', *American Journal of Medicine*, 108(8). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(00\)00412-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(00)00412-5).
- Melov, S. *et al.* (2000) 'Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics', *Science*, 289(5484). Available at: <https://doi.org/10.1126/science.289.5484.1567>.
- Di Meo, S. and Venditti, P. (2020) 'Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Available at: <https://doi.org/10.1155/2020/9829176>.
- Michel, T. and Vanhoutte, P.M. (2010) 'Cellular signaling and NO production', *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0765-9>.
- Milani, A. *et al.* (2017) 'Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment', *British Journal of Pharmacology*. Available at: <https://doi.org/10.1111/bph.13625>.
- Miller, E.R. *et al.* (2005) 'Meta-analysis: High-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality', *Annals of Internal Medicine*. Available at: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-142-1-200501040-00110>.
- Miwa, S. *et al.* (2022) 'Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging', *Journal of Clinical Investigation*. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI158447>.
- Moldogazieva, N.T. *et al.* (2020) 'Dual Character of Reactive Oxygen, Nitrogen, and Halogen Species: Endogenous Sources, Interconversions and Neutralization', *Biochemistry (Moscow)*. Available at: <https://doi.org/10.1134/S0006297920140047>.
- Monego, D.L., da Rosa, M.B. and do Nascimento, P.C. (2017) 'Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: A review', *Food Chemistry*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.073>.
- Munteanu, A. *et al.* (2006) 'Antagonistic effects of oxidized low density lipoprotein and  $\alpha$ -tocopherol on CD36 scavenger receptor expression in monocytes: Involvement of protein kinase B and peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ ', *Journal of Biological Chemistry*, 281(10). Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M508799200>.
- Murotomi, K. *et al.* (2023) 'Significance of Singlet Oxygen Molecule in Pathologies', *International Journal of Molecular Sciences*. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms24032739>.
- Myint, P.K. *et al.* (2011) 'Association between plasma vitamin C concentrations and blood pressure in the European prospective investigation into cancer-norfolk population-based

study', *Hypertension*, 58(3). Available at: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.171108>.

Nespolo, M. *et al.* (2017) 'Free Radicals in Biology and Medicine. Fifth Edition', *Acta Cryst*, 73.

Nguyen, G.T., Green, E.R. and Mecsas, J. (2017) 'Neutrophils to the ROScUE: Mechanisms of NADPH oxidase activation and bacterial resistance', *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00373>.

Nicastro, H.L. and Dunn, B.K. (2013) 'Selenium and prostate cancer prevention: Insights from the Selenium and Vitamin E cancer prevention trial (SELECT)', *Nutrients*. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu5041122>.

Nishikimi, M. and Yagi, K. (1991) 'Molecular basis for the deficiency in humans of gulonolactone oxidase, a key enzyme for ascorbic acid biosynthesis', *American Journal of Clinical Nutrition*, 54(SUPPL. 6). Available at: <https://doi.org/10.1093/ajcn/54.6.1203s>.

Njus, D. *et al.* (2020) 'Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties', *Free Radical Biology and Medicine*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013>.

Noguchi, N., Watanabe, A. and Shi, H. (2000) 'Diverse functions of antioxidants', *Free Radical Research*, 33(6). Available at: <https://doi.org/10.1080/10715760000301331>.

Omar, R.A. *et al.* (1999) 'Increased expression but reduced activity of antioxidant enzymes in Alzheimer's disease', *Journal of Alzheimer's Disease*, 1(3). Available at: <https://doi.org/10.3233/JAD-1999-1301>.

O'Neill, S. *et al.* (2015) 'Genetic disorders coupled to ROS deficiency', *Redox Biology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.009>.

Orr, W.C. and Sohal, R.S. (1994) 'Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*', *Science*, 263(5150). Available at: <https://doi.org/10.1126/science.8108730>.

Owen, K.N. and Dewald, O. (2024) 'Vitamin E Toxicity.', in. Treasure Island (FL).

Özer, N.K. and Azzi, A. (2000) 'Effect of vitamin E on the development of atherosclerosis', in *Toxicology*. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00209-2](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00209-2).

Packer, L., Weber, S.U. and Rimbach, G. (2001) 'Symposium : Molecular Mechanisms of Protective Effects of Vitamin E in Atherosclerosis Molecular Aspects of  $\gamma$ -Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling 1', *Journal of Nutrition*, 131(2), pp. 369S-373S. Available at: <https://doi.org/10.1093/jn/131.2.369S>.

Paik, J.K. *et al.* (2013) 'Effect of age on atherogenicity of LDL and inflammatory markers in healthy women', *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 23(10). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.08.002>.

Paiva, C.N. and Bozza, M.T. (2014) 'Are reactive oxygen species always detrimental to pathogens?', *Antioxidants and Redox Signaling*. Available at: <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5447>.

Parkes, T.L. *et al.* (1998) 'Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motoneurons', *Nature Genetics*, 19(2). Available at: <https://doi.org/10.1038/534>.

Passos, J.F. *et al.* (2007) 'Mitochondrial dysfunction accounts for the stochastic heterogeneity in telomere-dependent senescence', *PLoS Biology*, 5(5). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050110>.

Pawlowska, E., Szczepanska, J. and Blasiak, J. (2019) 'Pro- And antioxidant effects of Vitamin C in cancer in correspondence to its dietary and pharmacological concentrations', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Available at: <https://doi.org/10.1155/2019/7286737>.

- Pincemail, J. *et al.* (1987) 'Pentane measurement in man as an index of lipoperoxidation', *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 18(1–3). Available at: [https://doi.org/10.1016/0302-4598\(87\)85013-4](https://doi.org/10.1016/0302-4598(87)85013-4).
- Pisoschi, A.M. *et al.* (2021) 'Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status', *European Journal of Medicinal Chemistry*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112891>.
- Pisoschi, A.M. and Pop, A. (2015) 'The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review', *European Journal of Medicinal Chemistry*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>.
- Prammer-Waldhör, M. and Ihle, P. (2024) *STATISTIK AUSTRIA Jahrbuch der Gesundheitsstatistik 2022*.
- Prasad, A.S. *et al.* (2004) 'Antioxidant effect of zinc in humans', *Free Radical Biology and Medicine*, 37(8). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.07.007>.
- Prasad, A.S. (2014) 'Zinc is an Antioxidant and Anti-Inflammatory Agent: Its Role in Human Health', *Frontiers in Nutrition*. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnut.2014.00014>.
- Praticò, D. (2008) 'Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal', *Trends in Pharmacological Sciences*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.09.001>.
- Prince, M.R., LaMuraglia, G.M. and MacNichol Jr, E. (1988) *Increased Preferential Absorption in Human Atherosclerotic Plaque With Oral Beta Carotene Implications for Laser Endarterectomy*. Available at: <http://ahajournals.org>.
- Pryor, W.A. (2000) 'Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials', *Free Radical Biology and Medicine*. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00224-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00224-5).
- Putri, A.Y. and Thaha, M. (2014) 'Role of oxidative stress on chronic kidney disease progression', *Acta medica Indonesiana*.
- Qiu, Z. *et al.* (2022) 'Associations of serum carotenoids with risk of cardiovascular mortality among individuals with type 2 diabetes: Results from nhanes', *Diabetes Care*, 45(6), pp. 1453–1461. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc21-2371>.
- Radi, R. (2018) 'Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(23). Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1804932115>.
- Rapola, J.M. *et al.* (1997) *Randomised trial of-tocopherol and-carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infarction*.
- Ricciarelli, R., Zingg, J.M. and Azzi, A. (2002) 'The 80th anniversary of vitamin E: Beyond its antioxidant properties', *Biological Chemistry*. Available at: <https://doi.org/10.1515/BC.2002.048>.
- Riley, P.A. (1994) 'Free radicals in biology: Oxidative stress and the effects of ionizing radiation', *International Journal of Radiation Biology*, 65(1). Available at: <https://doi.org/10.1080/09553009414550041>.
- Rodrigo, R. (2012) 'Prevention of postoperative atrial fibrillation: Novel and safe strategy based on the modulation of the antioxidant system', *Frontiers in Physiology*. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00093>.
- Sahyoun, N.R., Jacques, P.F. and Russell, R.M. (1996) *Carotenoids, Vitamins C and E, and Mortality in an Elderly Population*. Available at: <https://academic.oup.com/aje/article/144/5/501/66603>.
- Saini, R.K., Nile, S.H. and Park, S.W. (2015) 'Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities', *Food Research International*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>.

Samman Tahhan, A. *et al.* (2017) 'Association between oxidative stress and atrial fibrillation', *Heart Rhythm*, 14(12). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2017.07.028>.

Schmauck-Medina, T. *et al.* (2022) 'New hallmarks of ageing: a 2022 Copenhagen ageing meeting summary', *Ageing*, 14(16). Available at: <https://doi.org/10.18632/aging.204248>.

Schürks, M. *et al.* (2010) 'Effects of vitamin E on stroke subtypes: Meta-analysis of randomised controlled trials', *BMJ (Online)*, 341(7781), p. 1033. Available at: <https://doi.org/10.1136/bmj.c5702>.

Seet, R.C.S. *et al.* (2010) 'Oxidative damage in Parkinson disease: Measurement using accurate biomarkers', *Free Radical Biology and Medicine*, 48(4). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.026>.

Selley, M.L., Close, D.R. and Stern, S.E. (2002) 'The effect of increased concentrations of homocysteine on the concentration of (E)-4-hydroxy-2-nonenal in the plasma and cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease', *Neurobiology of Aging*, 23(3). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(01\)00327-X](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(01)00327-X).

Sen, C.K. (2001) 'Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: Introduction', in *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Available at: <https://doi.org/10.1097/00005768-200103000-00005>.

Sian, J. *et al.* (1994) 'Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia', *Annals of Neurology*, 36(3). Available at: <https://doi.org/10.1002/ana.410360305>.

Silbernagl, S. and Lang, F. (2019) *Taschenatlas Pathophysiologie, Taschenatlas Pathophysiologie*. Available at: <https://doi.org/10.1055/b-007-168903>.

Silverstein, R.L. and Febbraio, M. (2009) 'CD36, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior', *Science Signaling*. Available at: <https://doi.org/10.1126/scisignal.272re3>.

Sindhi, V. *et al.* (2013) 'Potential applications of antioxidants – A review', *Journal of Pharmacy Research*, 7(9). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.10.001>.

Skovsted, G.F. *et al.* (2017) 'Vitamin C deficiency reduces muscarinic receptor coronary artery vasoconstriction and plasma tetrahydrobiopterin concentration in guinea pigs', *Nutrients*, 9(7). Available at: <https://doi.org/10.3390/nu9070691>.

Skovsted, G.F. *et al.* (2022) 'Vitamin C Deficiency Exacerbates Dysfunction of Atherosclerotic Coronary Arteries in Guinea Pigs Fed a High-Fat Diet', *Antioxidants*, 11(11). Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox11112226>.

Smeeth, L. *et al.* (2004) 'Risk of Myocardial Infarction and Stroke after Acute Infection or Vaccination', *New England Journal of Medicine*, 351(25). Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa041747>.

Spoelstra-De Man, A.M.E., Elbers, P.W.G. and Oudemans-Van Straaten, H.M. (2018) 'Vitamin C: Should we supplement?', *Current Opinion in Critical Care*. Available at: <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000510>.

Su, M. *et al.* (2018) 'Preparation of Vitamin E-Containing High-Density Lipoprotein and Its Protective Efficacy on Macrophages', *Assay and Drug Development Technologies*, 16(2). Available at: <https://doi.org/10.1089/adt.2017.831>.

Suh, J.H., Heath, S.H. and Hagen, T.M. (2003) 'Two subpopulations of mitochondria in the aging rat heart display heterogenous levels of oxidative stress', *Free Radical Biology and Medicine*, 35(9). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00468-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00468-4).

Tariq, S.A. (2007) 'Role of ascorbic acid in scavenging free radicals and lead toxicity from biosystems', in *Molecular Biotechnology*. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0045-x>.

Taylor, E.N., Stampfer, M.J. and Curhan, G.C. (2004) 'Dietary factors and the risk of incident kidney stones in men: New insights after 14 years of follow-up', *Journal of the American Society of Nephrology*, 15(12). Available at: <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000146012.44570.20>.

Todesursachen - STATISTIK AUSTRIA - Die Informationsmanager (no date). Available at: <https://www.statistik.at/statistiken/bevoelkerung-und-soziales/bevoelkerung/gestorbene/todesursachen> (Accessed: 5 May 2024).

Traber, M.G. (2013) 'Mechanisms for the prevention of vitamin e excess', *Journal of Lipid Research*, 54(9), pp. 2295–2306. Available at: <https://doi.org/10.1194/jlr.R032946>.

Trachootham, D. *et al.* (2008) 'Redox regulation of cell survival', *Antioxidants and Redox Signaling*. Available at: <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1957>.

Turrens, J.F. (2003) 'Mitochondrial formation of reactive oxygen species', *Journal of Physiology*. Available at: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>.

Ungvari, Z. *et al.* (2010) 'Mechanisms of vascular aging: New perspectives', *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 65 A(10). Available at: <https://doi.org/10.1093/gerona/gdq113>.

Upston, J.M. *et al.* (2002) 'Oxidized lipid accumulates in the presence of  $\alpha$ -tocopherol in atherosclerosis', *Biochemical Journal*, 363(3). Available at: <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3630753>.

Valko, M. *et al.* (2006) 'Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer', *Chemico-Biological Interactions*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>.

Vignais, P. V. (2002) 'The superoxide-generating NADPH oxidase: Structural aspects and activation mechanism', *Cellular and Molecular Life Sciences*. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00018-002-8520-9>.

Vitamin A - Bedarf, Quellen und Mangel - Überdosierung | Gesundheitsportal (no date). Available at: <https://www.gesundheit.gv.at/leben/ernaehrung/vitamine-mineralstoffe/fettloesliche-vitamine/vitamin-a.html> (Accessed: 8 January 2024).

Vitamin C - Alles zu Bedarf, Quellen und Mangel | Gesundheitsportal (no date). Available at: <https://www.gesundheit.gv.at/leben/ernaehrung/vitamine-mineralstoffe/wasserloesliche-vitamine/vitamin-c.html#wo-ist-vitamin-c-enthalten> (Accessed: 8 January 2024).

Vitamin E - Alles zu Bedarf, Quellen und Mangel | Gesundheitsportal (no date). Available at: <https://www.gesundheit.gv.at/leben/ernaehrung/vitamine-mineralstoffe/fettloesliche-vitamine/vitamin-e.html> (Accessed: 8 January 2024).

Vitamin E: mg und IE umrechnen (no date). Available at: <https://rechner-tools.de/76-vitamin-e-einheitenrechner.php#rechner> (Accessed: 21 May 2024).

Vitamin-E-Mangel - Ernährungsbedingte Störungen - MSD Manual Profi-Ausgabe (no date). Available at: <https://www.msdmanuals.com/de/profi/ern%C3%A4hrungsbedingte-st%C3%B6rungen/vitaminmangel,-abh%C3%A4ngigkeit-und-intoxikation/vitamin-e-mangel> (Accessed: 15 May 2024).

Vivekananthan, D.P. *et al.* (2003) 'Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials', *The Lancet*, 361(9374), pp. 2017–2023. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13637-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13637-9).

Wallert, M. *et al.* (2020) 'Diversity of Chromanol and Chromenol Structures and Functions: An Emerging Class of Anti-Inflammatory and Anti-Carcinogenic Agents', *Frontiers in Pharmacology*, 11(April), pp. 1–33. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00362>.

Wang, C. *et al.* (2018) 'Higher dietary and serum carotenoid levels are associated with lower carotid intima-media thickness in middle-aged and elderly people', *British Journal*

of *Nutrition*, 119(5), pp. 590–598. Available at: <https://doi.org/10.1017/S0007114517003932>.

Wang, Y., Chun, O.K. and Song, W.O. (2013) ‘Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: A review of human studies’, *Nutrients*. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu5082969>.

Warrach, U. e. A., Hussain, F. and Kayani, H.U.R. (2020) ‘Aging - Oxidative stress, antioxidants and computational modeling’, *Heliyon*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04107>.

Weidinger, A. and Kozlov, A. V. (2015) ‘Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: Oxidative stress versus signal transduction’, *Biomolecules*. Available at: <https://doi.org/10.3390/biom5020472>.

Wilmanski, T. *et al.* (2021) ‘Gut microbiome pattern reflects healthy ageing and predicts survival in humans’, *Nature Metabolism*, 3(2). Available at: <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00348-0>.

Xu, M. *et al.* (2018) ‘Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age’, *Nature Medicine*, 24(8). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0092-9>.

Yang, C. *et al.* (2022) ‘Association between Dietary Total Antioxidant Capacity of Antioxidant Vitamins and the Risk of Stroke among US Adults’, *Antioxidants*, 11(11). Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox11112252>.

Yao, Y., Goh, H.M. and Kim, J.E. (2021) ‘The roles of carotenoid consumption and bioavailability in cardiovascular health’, *Antioxidants*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox10121978>.

Yen, G.C., Duh, P. Der and Tsai, H.L. (2002) ‘Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid’, *Food Chemistry*, 79(3). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00145-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00145-0).

Zámocký, M. and Koller, F. (1999) ‘Understanding the structure and function of catalases: Clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis’, *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 72(1). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0079-6107\(98\)00058-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6107(98)00058-3).

Zhang, K. *et al.* (2021) ‘A Novel Systematic Oxidative Stress Score Predicts the Prognosis of Patients with Operable Breast Cancer’, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1155/2021/9441896>.

Zhao, Y. and Zhao, B. (2013) ‘Oxidative stress and the pathogenesis of alzheimer’s disease’, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1155/2013/316523>.

Zheng, H. *et al.* (2024) ‘Vitamin C as Scavenger of Reactive Oxygen Species during Healing after Myocardial Infarction’, *International Journal of Molecular Sciences*. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms25063114>.

Zhu, X. *et al.* (2023) ‘Associations of Serum Carotenoids With Risk of All-Cause and Cardiovascular Mortality in Hypertensive Adults’, *Journal of the American Heart Association*, 12(4). Available at: <https://doi.org/10.1161/JAHA.122.027568>.

Ziada, A.S., Smith, M.S.R. and Côté, H.C.F. (2020) ‘Updating the Free Radical Theory of Aging’, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.575645>.

Zuo, L. *et al.* (2014) ‘Interrelated role of cigarette smoking, oxidative stress, and immune response in COPD and corresponding treatments’, *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajplung.00330.2013>.