

**Diplomarbeit**

**Effekte von Nitratsupplementierungen auf die  
Leistungsfähigkeit im Sport**

eingereicht von  
**Bastian Rolf Güttler**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde  
(Dr. med. univ.)**

an der  
**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt am  
**Institut für Physiologische Chemie**

unter der Anleitung von  
**Priv.-Doz. Mag. DDr. Manfred Lamprecht**

Graz, am 05.10.2016

### *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.*

*Graz, am 05.10.2016*

*Bastian Güttler eh.*

## Zusammenfassung

Bisher galten Nitrate als potentiell krebserregende Substanzen, die von der WHO mit festgelegten Aufnahmegrenzen kontrolliert wurden. Neue Studien deuten aber darauf hin, dass Nitrate unter bestimmten Bedingungen einen möglichen positiven Effekt auf den Organismus und dessen Sauerstoffutilisierung haben, der sogar einen Einsatz als Nahrungsergänzungsmittel z. B. beim Sport indizieren könnte. Daher ist es von Interesse, die genaue Studienlage zu den grundlegenden physiologischen Mechanismen der Nitratsupplementierung zu überprüfen und speziell auf die Effekte bei sportlicher Aktivität einzugehen. Dazu wurde für den Hauptteil eine systematische Literaturrecherche auf der medizinischen Datenbank PubMed durchgeführt. Eingeschlossen wurden alle Studien im Zeitraum von 2007 bis August 2015, in denen gesunde menschliche Probanden und Probandinnen mit einem Nitratsalz oder Rote-Bete-Saft supplementiert wurden, bevor sie eine sportliche Aktivität ausführten. Zusätzlich wurde darauf geachtet, dass es sich bei den Versuchen um Placebo-kontrollierte Studien handelt.

Die Suche ergab 43 relevante Studien mit insgesamt 515 Probanden und Probandinnen. Dabei zeigen etwa 84% aller Studien eine gesundheitsfördernde Wirkung und/oder einen positiven Effekt auf die sportliche Leistungsfähigkeit von wenig bis moderat trainierten Personen. Bei Dosen oberhalb von 9 mmol  $\text{NO}_3^-$  wird keine weitere Wirkungssteigerung beobachtet.

## **Abstract**

Anorganic nitrates used to be considered as potentially carcinogenic food compounds, severely restricted by the WHO. In contrast, however, new studies indicate the possibility of a positive effect on the human body and its oxygen consumption under certain circumstances like sports. Hence, it is of interest to evaluate the current state of research on the physiological mechanisms of nitrate supplementation, especially during exercise. For this reason, a systemic literature search was conducted on the PubMed database searching studies on humans during exercise and supplementation with a nitrate salt or beetroot juice. Other inclusion criteria were the period of time between 2007 and August 2015, as well as the fact that the examination protocol had to be placebo-controlled.

The search resulted in 43 relevant studies with a total of 515 subjects. 84% of these studies showed a positive effect of nitrate supplementation on general health and/or the exercise performance of low to moderately trained individuals. No further beneficial effects were found at nitrat supplementation levels exceeding 9 mmol.

# Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung .....	ii
Abstract .....	iii
Inhaltsverzeichnis .....	iv
Abbildungsverzeichnis .....	v
Tabellenverzeichnis .....	vi
1 Einleitung .....	1
2 Nitrate .....	2
2.1 Chemie .....	2
2.2 Vorkommen .....	2
2.3 Stickstoffkreislauf .....	4
2.4 Biochemie und Stoffwechsel .....	5
2.4.1 Allgemein .....	5
2.4.2 NO-Bildung .....	7
2.5 WHO-Richtlinien .....	11
3 Gesundheitsaspekte der Nitratsupplementierung .....	13
3.1 Gesundheitsschädliche Effekte .....	13
3.1.1 Geschichte .....	13
3.1.2 Auszug negativer Effekte .....	13
3.1.3 Neueste Erkenntnisse .....	17
3.2 Gesundheitsfördernde Effekte .....	19
3.2.1 Auszug Positiver Effekte .....	19
4 Nitratsupplementierung im Sport .....	24
4.1 Einführung .....	24
4.2 Methoden .....	25
4.3 Sauerstoffutilisation und aerobe Leistungsfähigkeit .....	25
4.3.1 Mögliche Mechanismen .....	30
4.4 Einfluss auf die sportliche Leistung .....	32
4.5 Einfluss von Leistung unter hypoxischen Bedingungen .....	37
4.6 Einnahmeprotokolle, Dauer, Dosen und Art der Nitratsupplementation .....	41
4.6.1 Dauer .....	41
4.6.2 Dosen .....	42
4.6.3 Art der Supplementation .....	42
4.7 Nitrate und Doping .....	43
5 Diskussion .....	44
6 Fazit .....	50
7 Literaturverzeichnis .....	51

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Mesomere Grenzstrukturen des Nitrat-Ions .....	2
Abbildung 2: Der Entero-Orale-Nitratkreislauf.....	7

# Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1: Nitratgehalt verschiedener Gemüsesorten..... 4**

# 1 Einleitung

Der schlechte Ruf von Nitraten in Nahrungsmitteln und ihre möglicherweise krebs-erregende Wirkung ist hinlänglich bekannt. Die WHO hat diesen Ruf mit den strengen Aufnahmegrenzen nicht gefördert. Aufgrund neuer Studien gibt es nun Grund zur Annahme, Nitrate könnten auch gesundheitsfördernde Wirkungen haben und sogar die sportliche Leistung durch eine Optimierung der Sauerstoffutilisierung verbessern, wie von Larsen et al. erstmals vorgeschlagen [1]. Die Bewertung einer Nitratsupplementation bedarf deshalb der Klärung der grundlegenden physiologischen Mechanismen des Nitratmetabolismus im menschlichen Körper. Das Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, die Effekte von nitrathaltigen Nahrungsergänzungsmitteln in Form von Nitratsalzen und Rote-Bete-Saft anhand einer Literaturrecherche zu überprüfen und speziell auf die Wirkungen im Sport einzugehen. Zunächst wird genauer auf das Nitrat, seine Entstehung und den Weg in den menschlichen Organismus selber eingegangen. Danach werden die Gesundheitsaspekte diskutiert, um dann schließlich genauer auf die Supplementation in verschiedenen sportlichen Kontexten einzugehen.

## 2 Nitrate

### 2.1 Chemie

Das Nitrat-Ion ist das Salz der Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ), der wichtigsten Oxosäure des Stickstoffs. Das zentrale Stickstoffatom hat in ihr die Oxidationszahl +V. Die Struktur des Anions  $\text{NO}_3^-$  ist planar und die drei Sauerstoffatome sind in einem  $120^\circ$  Bindungswinkel gebunden. Die Bindungsverhältnisse können in mesomeren Grenzstrukturen beschrieben werden (s. Abbildung 1). Die Reaktionseigenschaften des Nitrat-Ions sind stark pH-abhängig. In basischer Lösung sind Nitrate nur schwache Oxidationsmittel, wogegen sie in saurer Umgebung ein größeres Reduktionspotential erkennen lassen [2].

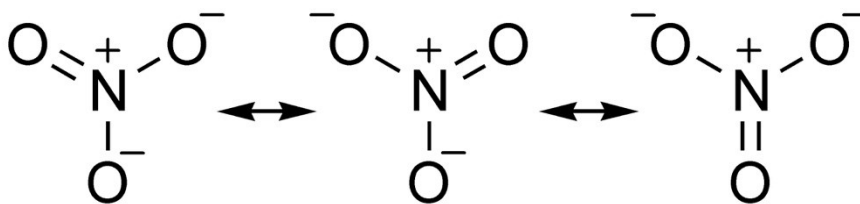


Abbildung 1: Mesomere Grenzstrukturen des Nitrat-Ions nach Mortimer et al. [2]

### 2.2 Vorkommen

Zu den Hauptquellen von Nitraten für den Menschen zählen Gemüse, Trinkwasser, gepökeltes Fleisch, Bier und andere Nahrungsmittel. Laut der European Food and Safety Authority (EFSA) sollten die dadurch aufgenommenen Mengen einen Wert von 3,7 mg ( $\sim 0,06$  mmol) pro kg Körpergewicht (KG) pro Tag nicht überschreiten<sup>1</sup>. Gemüse macht dabei den Hauptteil der Zufuhr aus. Nitrate spielen in der Natur eine wichtige Rolle als Nährsalze der Pflanzen zum Aufbau von Pflanzenbausteinen. Sie sind in verschiedenen Konzentrationen im Erdboden vorhanden und können hier durch Assimilation von den Pflanzen aufgenommen werden. Wieviel Nitrat aufgenommen wird und in den einzelnen Gemüsesorten vorkommt, ist abhängig von umweltbedingten, landwirtschaftlichen und weiteren Einflussfaktoren nach der Ernte.

<sup>1</sup> 1 mmol Nitrat entspricht 62 mg

Zu den umweltbedingten Faktoren zählen Erdbodenfeuchtigkeit, Temperatur und Lichtintensität, wobei die Lichtintensität den Hauptfaktor darstellt. Nitrathaltige Düngemittel und Schutzmittel gegen Fressfeinde stellen die landwirtschaftlichen Faktoren dar, die einen erheblichen Einfluss auf den Nitratgehalt von Gemüse haben können [3]. Die künstliche Zufuhr von Stickstoff ist in der Landwirtschaft besonders wichtig, da dem Boden durch die ständig entnommene Ernte immer mehr dieses wichtigen Pflanzennährstoffs entzogen wird [4]. Es ist allerdings problematisch, dass deshalb die Stickstoffproduktion in den letzten 50 Jahren stark zugenommen hat. Ein Großteil dieses Stickstoffes wird als Düngemittel verwendet. Das beeinflusst den natürlichen Stickstoffkreislauf und die Stickstoffkonzentrationen im Grundwasser sind seit 1950 stark gestiegen [5]. Nach der Ernte spielen die Lagerung und die Verarbeitung des Gemüses eine Rolle für das Vorkommen von Nitrat, so erhöht sich z. B. der Gehalt bei warmer Lagerung. Auch eine längere Lagerdauer erhöht die Konzentration. Bei der anschließenden Verarbeitung kann die Konzentration beeinflusst werden durch Waschen, Schälen und Erhitzen. Waschen und Schälen der Nahrung kann zu einer Reduktion des Nitratgehalts führen, wobei dieser Effekt bei Blattgemüse stärker ausgeprägt ist als bei Knollengewächsen. Beim Erhitzen kann abhängig von der Art der Zubereitung auch Nitrat verloren gehen. Dünsten hat einen geringeren Einfluss auf den Verlust als das Kochen, Frittieren oder Braten, aber in welchem Ausmaß muss noch genauer untersucht werden [3]. Auch in Bezug auf die unterschiedlichen Gemüsesorten variiert der Nitratgehalt deutlich. Es hat sich gezeigt, dass vor allem grünes Blattgemüse, z. B. Salat, Spinat oder Rucola einen hohen Gehalt aufweisen, aber auch Sellerie oder rote Bete zählen zu den Arten mit hohen Konzentrationen [6]. Die Konzentration kann sich abhängig vom Gewächs von 0,1 mg/kg (Erbsen, Rosenkohl) bis zu 4800 mg/kg (Rucola) unterscheiden [3]. Der Nitratgehalt verschiedener Gemüsesorten ist in Tabelle 1 aufgelistet.

Neben der pflanzlichen Quelle stellt gepökelttes Fleisch eine weitere Quelle der Nitrate dar. Grund dafür sind die zur Konservierung eingesetzten Pökelsalze, mit denen das Fleisch behandelt wird. Die antibakterielle Wirkung von Stickstoffmonoxid machen sich die Menschen bereits seit über eintausend Jahren zunutze. Schon damals wurde das Fleisch mit Pökelsalz länger haltbar gemacht. Dabei wird das Fleisch mit einem Gemisch aus Kochsalz, Natriumnitrit und Natriumnitrat behandelt. Die Bakterien verarbeiten das Nitrat zu Nitrit, was dann wiederum chemisch unter

Einfluss von Protonen oder bakteriell zu NO weiter reduziert wird. NO bindet an lebenswichtige eisenhaltige Enzyme der Bakterien und führt so zur Abtötung. Die typische rote Farbe des behandelten Fleisches entsteht durch das Binden von NO an das eisenhaltige Myoglobin, dem sauerstoffbindenden Hämoprotein des Muskels [7]. Gepökelttes Fleisch macht zusammen mit den weiteren Nitratquellen (Trinkwasser, Bier, andere Nahrungsmittel) pro Tag ca. 35 - 44 mg pro Person der zugeführten Menge aus [3].

**Tabelle 1: Nitratgehalt verschiedener Gemüsesorten nach Hord et al. [6]**

<b>Nitratgehalt (in mg/100g)</b>	<b>Gemüsesorten</b>
Sehr niedrig, <20	Artischocke, Dicke Bohne, Aubergine, Knoblauch, Zwiebel, Grüne Bohne, Champignon, Erbsen, Pfeffer, Kartoffel, Zucchini, Süßkartoffel, Wassermelone, Tomate
Niedrig, 20 - 50	Brokkoli, Mohrrübe, Blumenkohl, Gurke, Kürbis, Chicorée
Mittel, 50 - 100	Kohl, Dill, Rübe, Wirsing
Hoch, 100 - 250	Knollensellerie, Chinakohl, Endivie, Fenchel, Kohlrabi, Lauch, Petersilie
Sehr hoch, ≥ 250	Sellerie, Kresse, Kerbel, Kopfsalat, Rote Bete, Spinat, Rucola

### **2.3 Stickstoffkreislauf**

Um zu verstehen, wieso Nitrat in Gemüse ausgiebig vorhanden ist, ist das grundlegende Verständnis des Stickstoffkreislaufes unumgänglich. Der zentral im Nitratmolekül gelegene Stickstoff ist mit ca. 80% das häufigste Element der Luft. Er ist als Baustein für Aminosäuren, Proteine und Nukleinsäuren der wichtigste limitierende Pflanzennährstoff. In der Luft liegt er als Distickstoff vor, zwei Stickstoffatome über eine Dreifachbindung miteinander verbunden und dadurch sehr stabil. Atmosphärischer, gasförmiger Stickstoff findet seinen Weg in den Boden über verschiedene Wege der Stickstofffixierung. Neben der bakteriellen Fixierung über Prokaryoten, die den Stickstoff zur Synthese stickstoffhaltiger organischer Verbindungen nutzen

können und dabei Ammoniak produzieren, gibt es auch die Möglichkeit der Fixierung über Blitze. Das Molekül  $N_2$  erfährt durch einen Blitzschlag die nötige Aktivierungsenergie, um seine starke Bindung zu lösen und mit Sauerstoff zu Stickstoffmonoxid zu reagieren.  $NO$  oxidiert schließlich weiter und geht durch Regenwasser in Form von Salpetersäure in den Erdboden über, wo es nach Neutralisation in Nitrate überführt wird. Weitere Quellen für Stickstoffverbindungen im Boden sind Düngemittel, die große Mengen an Ammonium und Nitrat einbringen und Destruenten, die durch Abbauprozesse organischen Materials über Ammonifikation organischen Stickstoffs ebenfalls Ammonium im Erdboden bereitstellen. Der nächste Schritt des Kreislaufs umfasst die Nitrifikation, bei der Ammonium mithilfe nitrifizierender Bakterien zunächst zu Nitrit und schließlich zu Nitrat oxidiert wird. Pflanzen sind dazu in der Lage, sowohl Ammonium-Ionen als auch Nitrat durch Assimilation aufzunehmen und zum Aufbau von pflanzlichen Baustoffen zu verwenden. Der Kreislauf schließt sich mit der Denitrifikation, durch die denitrifizierenden Bakterien im Boden unter anoxischen Bedingungen. Dabei nutzen die Bakterien Nitrat anstelle von Sauerstoff für ihren Stoffwechsel und setzen Distickstoff frei [2, 4].

## **2.4 Biochemie und Stoffwechsel**

### **2.4.1 Allgemein**

Nach der Aufnahme von anorganischem Nitrat durch die Nahrung wird es schnell im oberen Gastrointestinaltrakt absorbiert und geht in den Blutkreislauf über. Hier zirkuliert es zusammen mit dem aus dem Abbau von Stickstoffmonoxid entstandenen Nitrat. Die Halbwertszeit im Blut beträgt dann ca. fünf bis sechs Stunden [8]. 65 - 70% des über die Nahrung aufgenommenen Nitrats geht über die passive Urinausscheidung verloren. Der Rest wird aktiv entweder über das Kolon oder über den Speichel sezerniert [9]. Bis zu 25% des im Plasma zirkulierenden Nitrats wird aktiv von den Speicheldrüsen wieder aufgenommen [8]. Mitverantwortlich dafür ist der Nitrattransporter Sialin, der in der Plasmamembran der azinären Zellen in den Speicheldrüsen vorkommt. Sialin ist ein Protein, das den Kcotransport von Nitrat und  $H^+$ -Ionen in die Speicheldrüsenzellen vermittelt. Es wird vermehrt in den Speicheldrüsen exprimiert, aber zu einem geringen Anteil auch in Gehirn, Herz, Leber, Niere und Darm [10]. Dadurch kann es zu 20-fach höheren Konzentrationen von Nitrat im Speichel als im Plasma kommen [11]. Bei einer Speichelproduktion von bis zu 1,5

Litern pro Tag gelangt so eine große Menge dieser Anionen in das Magenlumen, in dessen saurer Umgebung sie weitere Reaktionen eingehen können [12]. In der oralen Kavität wird es durch die physiologisch vorhandene Mundflora fakultativ anaerober Bakterien zu Nitrit reduziert. Diese nutzen das Anion als alternativen Elektronenakzeptor zur Energiegewinnung. Um bioaktiv wirksam zu werden benötigt Nitrat diese Reduktion zu Nitrit, da der Mensch zwar über körpereigene Nitritreduktasen verfügt, nicht jedoch über die erforderlichen Nitratreduktasen. Nitrit nimmt damit durch seine besondere Stellung zwischen Nitrat und NO eine wichtige chemische Rolle ein. Es wird auch als endokrines Reservoir für Stickstoffmonoxid bezeichnet [13]. Das gebildete Nitrit, zusammen mit dem von den Bakterien nicht verwerteten Nitrat gelangt schließlich wieder in den Magen wo es weiterreagieren oder erneut absorbiert werden kann und in den Blutkreislauf übergeht. Dieser Mechanismus wird auch als Entero-Oraler-Kreislauf bezeichnet (s. Abbildung 2). Unter normalen Umständen führt dieser Vorgang schon nach den ersten 30 Minuten zu einem Anstieg von Nitrat im Blut. Auffällig ist das Erreichen des maximalen Plasmaspiegels von Nitrit erst zeitverzögert nach ca. zwei bis drei Stunden [8, 11]. Spiegelhalder et al. konnten bereits 1976 eine Rezirkulation des aufgenommenen Nitrats und Nitrits im Speichel nachweisen. Eine Unterbrechung des Kreislaufes durch Auslöschen der bakteriellen Mundflora oder Verhindern des Schluckens blockt auch den Anstieg von Nitrit im Speichel und Plasma signifikant und die damit verbundenen positiven Wirkungen [11, 14].

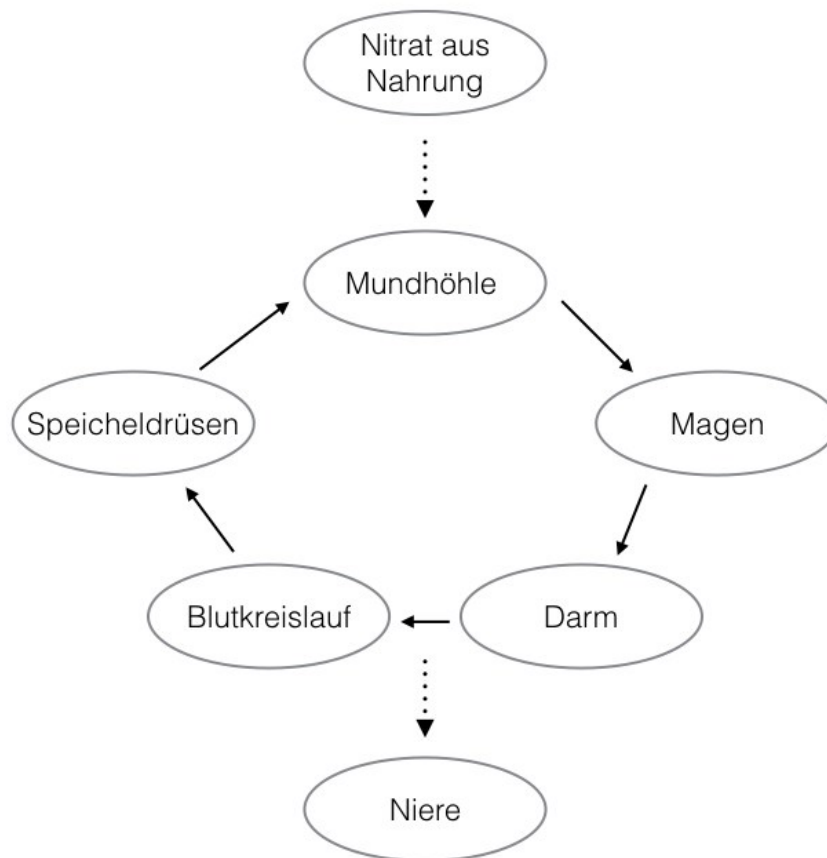


Abbildung 2: Der Entero-Orale-Nitratkreislauf nach Lundberg et al. [15]

## 2.4.2 NO-Bildung

Die körpereigene Synthese von Stickstoffmonoxid wurde bereits in den 1980er Jahren von Robert Furchgott beobachtet, auch wenn er den vom Gefäßendothelium produzierten Stoff noch unter dem Namen „EDRF“ - Endothelium Derived Releasing Factor festhielt. In den folgenden Jahren konnte gezeigt werden, dass EDRF mit NO identisch ist und auf gleichem Wege wirkt, wie die schon seit Langem bekannten Pharmaka mit vasodilatierenden Eigenschaften aus der Gruppe der Nitroverbindungen [16]. Nach und nach konnte der Mechanismus der Vasodilatation weiter entschlüsselt werden und zusätzlich entdeckte man weitere Wirkorte von Stickstoffmonoxid, wie z. B. das zentrale und periphere Nervensystem. Inzwischen sind zwei verschiedene Wege der endogenen NO Produktion bekannt, zum einen über die Stickstoffmonoxid-Synthasen und zum anderen über einen Weg, der unabhängig von diesen ist. Diese Syntheseformen werden nachfolgend beschrieben.

### **2.4.2.1 NO-Synthase abhängige Produktion von Stickstoffmonoxid**

Die Stickstoffmonoxid-Synthasen sind eine Gruppe von Enzymen, die ausgehend von der Aminosäure L-Arginin sauerstoff- und calciumabhängig NO bilden. Zurzeit unterscheidet man drei verschiedene Isoformen der NO-Synthasen, die an unterschiedlichen Orten im menschlichen Körper vorkommen [7, 17].

#### Die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase

In den Endothelzellen von Blut- und Lymphgefäßen befindet sich die endotheliale NO-Synthase oder auch eNOS. Durch Scherstress an der Gefäßwand werden Calcium-Kanäle geöffnet, die einen Anstieg der Calciumkonzentration bewirken und damit zu einer Aktivierung der eNOS führen. Das produzierte Stickstoffmonoxid bindet an das Eisen in der prosthetischen Häm-Gruppe der löslichen Guanylylcyclase (sGC). sGC katalysiert in den dem Endothel anliegenden Zellen der glatten Gefäßmuskulatur die Reaktion von Guanosintriphosphat (GTP) zu zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP), einem Second Messenger und sorgt für einen Anstieg der cGMP Konzentration. Die von diesem Second Messenger abhängige Protein-kinase-G vermittelt schließlich die Gefäßrelaxation. Das durch die eNOS gebildete NO kann zusätzlich Einfluss nehmen auf die Thrombozytenadhäsion und -aggregation sowie die Proliferation glatter Muskelzellen [7, 17].

#### Die neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase

Sowohl im zentralen als auch im peripheren Nervensystem ist die neuronale NO-Synthase zu finden. Nach Entdeckung im Zentralnervensystem (ZNS) wurde zunächst vermutet, dass NO hier eine Rolle als Neurotransmitter innehatte. Inzwischen geht man aber davon aus, dass Stickstoffmonoxid nur an der langfristigen Modulation von synaptischer Transmission beteiligt ist. Im peripheren Nervensystem (PNS) dagegen nimmt es die Rolle eines atypischen Neurotransmitters ein, mit Wirkung auf einen intrazellulären Enzymrezeptor anstelle eines Membranrezeptors. NO vermittelt auf diesem Weg die reflektorische Erweiterung des Magens auf Speise, die Relaxation bei der peristaltischen Welle und hemmt so zusätzlich den Tonus von Gefäßen [7, 17].

## Die induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase

In Immunzellen wie Makrophagen und Granulozyten kann die induzierbare NO-Synthase (iNOS) NO produzieren. Zytokine oder bakterielle Lipopolysaccharide können zur Expression der iNOS führen, welches große Mengen NO bildet zur Abtötung von intrazellulären Bakterien, parasitären Protozoen, Pilzen, Würmern und bestimmten Tumorzellen. Das geschieht durch das Binden und blockieren lebenswichtiger eisenhaltiger Enzyme oder durch direktes desaminieren der DNA. Ungewollt treten diese Effekte bei Autoimmun- und Immunkomplexerkrankungen, wie Diabetes mellitus Typ 1, chronischen Arthritiden, Nephritiden und Vaskulitiden auf. Die für diese Erkrankungen typische hohe Anzahl an Makrophagen im betroffenen Gewebe bilden viel NO, das zur Schädigung gesunder Zellen in der Nähe führen kann und chronische Entzündungen hervorruft [7, 17].

Neben den drei genannten NO-Synthasen wird auch noch die Existenz einer vierten, der mitochondrialen Stickstoffmonoxid-Synthase (mtNOS) diskutiert. Die Studienlage dazu ist jedoch nicht eindeutig und das Vorhandensein der mtNOS wird hinterfragt [18].

Da es sich bei Stickstoffmonoxid um ein Radikal handelt, reagiert es sehr schnell mit anderen Stoffen. Im Körper wird es zu den biologisch bis zu 1000-fach weniger wirksamen Stoffen Nitrit und Nitrat metabolisiert, welche als oxidativ inerte Endprodukte galten, weshalb diese auch in sehr viel höheren Konzentrationen im Blut vorkommen als NO [7]. Früher dachte man, dass dies die endgültige Inaktivierung darstellt und die Stoffe danach nur noch ausgeschieden würden. Inzwischen ist bekannt, dass neben dem von NO-Synthasen abhängigen Weg der NO Produktion noch ein zweiter Weg zur Bildung dieses Radikals besteht.

### **2.4.2.2 NO-Synthase unabhängige Produktion von Stickstoffmonoxid**

Neben der Produktion von NO über die Gruppe der NO-Synthasen ist in den letzten zwanzig Jahren noch ein weiterer Bildungsweg von Stickstoffmonoxid über Nitritreduktasen entdeckt worden, der den sauerstoffabhängigen Weg komplementiert und vorrangig unter sauren und sauerstoffarmen Bedingungen stattfindet [13]. Zunächst

beschränkte sich das Forschungsfeld auf den Bereich des Magens und die intragastrische Entstehung durch die Protonierung von Nitrit, da schon früh die Entstehung von Nitrit im Speichel bekannt war [19, 20]. Nach und nach sind aber überall im Körper eigene Nitritreduktasen beschrieben worden. Zu den heute bekannten Nitritreduktasen im menschlichen Körper zählen z. B. Hämoproteine wie Desoxyhämoglobin, Desoxymyoglobin, Desoxycytoglobin und Desoxyneuroglobin. Nitrit bindet dabei an das Eisen in der prosthetischen Häm-Gruppe und wird reduziert zu Stickstoffmonoxid, während das vorher zweiwertige Eisen in seine dreiwertige Form übergeht und im Fall von z. B. Hämoglobin Methämoglobin bildet [15].

Auch molybdänhaltige Enzyme wie Xanthinoxidase (XO), Aldehydoxidase (AO) und Sulfitoxidase (SO) können die Reduktion von Nitrit zu NO bewirken, wobei der genau zugrunde liegende Mechanismus noch nicht vollständig geklärt ist. Bekannt ist nur, dass Nitrit an den Kofaktor Molybdän bindet und reduziert wird [13]. Sogar die Reduktion von Nitrat selber zu Nitrit konnte bei XO schon gezeigt werden [21].

Des Weiteren sind auch Komponenten der Elektronentransportkette in der Mitochondrienmembran dazu in der Lage, Nitrit zu reduzieren. Dazu zählen neben Komplex III und IV auch Cytochrom C. Voraussetzungen dafür sind aber auch hier ein niedriger pH und hypoxische Bedingungen [13, 22, 23]. Die Entdeckung eines Weges vom Nitrat über Nitrit zurück zu dem bioaktiven Molekül NO unabhängig von den NO-Synthasen legt nahe, dass sowohl Nitrat als auch Nitrit als endokrin wirkende Verbindungen in Betracht gezogen werden können. NO reagiert durch seine hohe Reaktivität schnell mit anderen Stoffen weiter und ist so nur in der Lage als autokrines und parakrines Signalmolekül zu wirken. Die Oxidation zu Nitrit und Nitrat, zwei stabilere Verbindungen, ermöglicht eine Wirkung auch an anderen Orten im Körper [15].

Die Bildung von Stickstoffmonoxid durch Nitritreduktasen ist neben einer nitratreichen Diät auch abhängig von verschiedenen anderen Faktoren. Wie bereits erwähnt gehört dazu ein sauerstoffarmes, saures Milieu in dem die Reduktasen ihre Aktivität optimieren können. Körperliche Betätigung führt ebenfalls zu einem starken Anstieg der Produktion [24], was diese Bedingungen begünstigen kann. Aber auch weitere Nahrungsbestandteile wie z. B. Polyphenole oder Ascorbat können zu einer vermehrten Bereitstellung führen. Dies konnte bereits mit Äpfeln, Rotwein und Granatapfelsaft gezeigt werden [6, 25, 26]. Polyphenole haben dabei nicht nur die NO-

Bioverfügbarkeit durch die Hemmung der Nitrosierung und Nitrifizierung erhöht, sondern auch die Bioaktivität gesteigert. Zusätzlich kann die metabolische Aktivität von Bakterien im Gastrointestinaltrakt während einer Infektion die NO-Bildung deutlich ansteigen lassen [6].

## **2.5 WHO-Richtlinien**

Mit der zunehmenden Nutzung als Düngemittel und dem Bekanntwerden von möglichen negativen Effekten von Nitraten in Trinkwasser, begann sich die World Health Organization mit dem Thema auseinanderzusetzen. Erstmals wurde ein Richtwert für die kurzzeitige Einnahme von Nitrat 1958 in den WHO International Standards for Drinking-water eingeführt. Der Wert betrug 50 – 100 mg/l und hatte den Hintergrund, dass die Organisation fürchtete eine höhere Menge könne zu Methämoglobinämie bei Neugeborenen unter einem Jahr führen. 1963 wurden die Richtwerte auf 45 mg/l herabgesetzt und 1971 in einer neuen Version beibehalten, hier erstmals mit dem Hinweis Nitrate könnten zur Bildung von gesundheitsschädlichen Nitrosaminen führen. 1984, in der ersten Version der Guidelines for Drinking-water Quality, wurde der Richtwert auf 10 mg/l Nitrat-Stickstoff festgelegt, was den heute gültigen 50 mg/l Nitrat entspricht. Dieser Wert wurde in der zweiten (1993) und der heute gültigen dritten Edition (2004) der Guidelines übernommen. 1993 wurde zusätzlich zu dem Richtwert für Nitrat einer für Nitrit von 3 mg/l hinzugefügt, um die ebenfalls im Boden entstehenden schädlichen Stickstoffdioxide zu adressieren. In einem Anhang im Jahr 1998 kam eine zusätzliche Empfehlung zur Beschränkung für die langzeitige Aufnahme von Nitrat-Ionen durch Trinkwasser hinzu von 0,2 mg/l [27].

Neben der WHO haben sich weitere Organisationen, wie zum Beispiel die European Food Safety Authority mit der Aufnahme von Nitraten beschäftigt. Die EFSA hat dabei ein großes Augenmerk auf die Aufnahme durch Gemüse gelegt. Die WHO empfiehlt einen Gemüse und Obst Verzehr von 400g pro Person pro Tag, was den Berechnungen der EFSA zur Folge etwa 157 mg Nitrat pro Tag entspricht, sofern dieser Verzehr nur durch Gemüse abgedeckt wird. Ein Großteil der Bevölkerung nimmt den Berechnungen der Gesundheitsorganisationen zur Folge jedoch mindestens 200g Obst zu sich, welches im Schnitt weniger Nitrat enthält. Sie gehen dabei von 10 mg Nitrat pro kg Obst aus. Zusammengerechnet kommen sie damit auf eine

Nitrataufnahme durch Obst und Gemüse von 81 - 106 mg/Tag, was unter dem Acceptable Daily Intake (ADI) der WHO von 222 mg pro Tag für eine 60 kg schwere Person liegt. Der ADI wird seit 1990 empfohlen und entspricht 3,7 mg/kg KG [3]. Kontrovers ist bei der Empfehlung zum reichlichen Verzehr von Obst und Gemüse der WHO, um der Entstehung von Krebs und Herz-Kreislauf-Erkrankungen vorzubeugen allerdings, dass sie eine erhöhte Nitrataufnahme mit gesundheitlich schädlichen Effekten assoziieren. Festzuhalten ist, dass der ADI von Nitrat bereits durch einen Salat mit nur 47 g Rucola überschritten werden kann [3]. Darüber hinaus führt eine bestimmte Auswahl an Obst und Gemüse im Rahmen der DASH-Diät (Dietary Approaches to Stop Hypertension), eine Ernährungsempfehlung zum Entgegenwirken von Bluthochdruck, ausgegeben von einer Abteilung der US-amerikanischen Gesundheitsbehörde, zu einem Überschreiten des ADI eines 60 kg schweren Menschen um bis zu 550% [6].

## **3 Gesundheitsaspekte der Nitratsupplementierung**

### **3.1 Gesundheitsschädliche Effekte**

#### **3.1.1 Geschichte**

Der erste Zusammenhang zwischen möglichen schädlichen Wirkungen von nitrat-haltigen Stoffen und dem Menschen geht bereits auf das Jahr 1793 zurück. Im Jahre 1895 werden dann Nitratvergiftungen bei Tieren beobachtet, bevor 1945 die erste Verbindung zwischen nitrathaltigem Brunnenwasser und Methämoglobinämie beim Säugling hergestellt wird [28]. Diese Entdeckungen führen schließlich zu den 1958 erstmals festgelegten Richtwerten der WHO für Nitrate in Trinkwasser (s. Kap. 2.5). 1977 kam die „National Academy of Sciences“ zu dem Schluss, dass in Bezug auf die Methämoglobinämie, die maximale, nicht schädliche Konzentration von Nitrat im Trinkwasser 45 mg/l beträgt [28].

Durch die vermehrte Nutzung von nitrathaltigen Düngemitteln nimmt die Konzentration an Stickstoff im Grundwasser nun seit 1950 stark zu und veranlasste die genaue Revision der möglichen negativen Effekte, die mit ihm in Verbindung gebracht werden im Jahr 2005 [5].

Heutzutage sind die beiden am häufigsten assoziierten negativen Effekte von Nitraten auf die Gesundheit die Kanzerogenität, speziell in Bezug auf den Verdauungstrakt, und die Bildung einer Methämoglobinämie bei Säuglingen unter drei Monaten.

#### **3.1.2 Auszug negativer Effekte**

##### **3.1.2.1 Kanzerogenität**

Die Wissenschaft verbindet N-Nitroso-Verbindungen schon seit über 30 Jahren mit mutagenen Eigenschaften in Tiermodellen. Sie haben sich in jeder getesteten Tierart als krebserregend erwiesen, daher werden beim Menschen ähnliche Effekte in Betracht gezogen [5, 29]. Die beiden Hauptgruppen der Verbindungen sind dabei Nitrosamine und Nitrosamide. Sie gelten damit als Präkanzerosen [28].

In den menschlichen Organismus gelangen die beiden Verbindungen entweder auf direktem Wege über die Nahrung, also exogen, oder aber über die endogene Bildung selbst. Bei beiden Wegen sind Nitrate und Nitrite beteiligt.

Die Hauptnahrungsquellen für die exogene Zufuhr von N-Nitroso-Verbindungen findet man in gepökeltem Fleisch und Fisch, Bier und Tabakprodukten. Die Ausgangsstoffe sind dabei Nitrate, beziehungsweise Nitrite und sekundäre Amine, die dann durch weitere Behandlung, im Fall von Fleisch und Fisch zum Beispiel braten, weiterreagieren und die Präkanzerosen bilden [5]. Eine weitere mögliche Quelle sind Pestizide und Pflanzenwachstumsmittel, die ebenfalls mit Nitrit zu Nitrosaminen reagieren können [28].

Auf dem endogenen Weg können auch im Körper selbst auf verschiedene Arten N-Nitroso-Verbindungen entstehen. Nitrit kann über die Aufnahme von Nitrat aus der Nahrung oder Trinkwasser und dem Entero-oralen Kreislauf in das Magenlumen gelangen oder direkt im Essen enthalten sein und so den Weg in den Magen finden. Unter den sauren Bedingungen im Magenlumen wird Nitrit protoniert und bildet Salpetrige Säure ( $\text{HNO}_2$ ), welche wiederum spontan zu Distickstofftrioxid ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ), Stickstoffmonoxid ( $\text{NO}$ ) und Stickstoffdioxid ( $\text{NO}_2$ ) weiterreagiert.  $\text{N}_2\text{O}_3$  ist ein stark nitrosierend wirkendes Agens und kann durch Abgabe eines  $\text{NO}^+$ -Ions an sekundäre und tertiäre Amine potentiell krebserregende Nitrosamine formen. Des Weiteren kann über die Protonierung von  $\text{HNO}_2$   $\text{H}_2\text{NO}_2^+$  entstehen, welches mit Amiden zu Nitrosamiden reagiert [5].

Die Entstehung dieser Stoffe ist allerdings stark von den weiteren Bestandteilen der Nahrung und den anderen im Magen vorkommenden Substanzen abhängig. Begünstigt wird sie z. B. durch die im Tabakrauch enthaltenen Thiocyanate und einen niedrigen pH-Wert, wie man ihn normalerweise durch die Magensäure vorfindet. Auch das reichliche Vorkommen der nitrosierbaren Vorstufen der Präkanzerosen in der Nahrung spielt eine wichtige Rolle. Besonders rotes und gepökeltes Fleisch ist reich an diesen Stoffen [5]. Willett et al. zeigen 1990 in ihrer Studie erstmals eine Verbindung zwischen rotem, gepökeltem Fleisch und der Entstehung von Darmkrebs, nicht aber mit Fisch oder weißem Fleisch, z. B. von Hühnern. Sie assoziieren diesen Zusammenhang u.a. mit einer vermehrten Nitrosaminbildung im menschlichen Körper [30]. Demgegenüber stehen Stoffe, die die Nitrosierung hemmen. Beispiele dafür sind Vitamin C und E, Betelnuss Extrakte, Ferulasäure, Kaffeesäure, Kaffee, Knoblauch und die im grünen Tee enthaltenen Polyphenole [5].

Die Hypothese zur Entstehung von Magenkrebs sieht so aus, dass die mutagenen N-Nitroso-Verbindungen, die im Magenlumen entstehen, mit den Epithelzellen der Magenschleimhaut reagieren. Es kommt zu einer Metaplasie vom intestinalen Typ.

Die dadurch veränderte Mukosabarriere führt zu einem höheren pH-Wert und Nitrat-reduzierende Bakterien können verstärkt proliferieren, was wiederum die Nitritkonzentration erhöht. Daraus resultieren mehr N-Nitroso-Verbindungen, bis schließlich ein Magenkarzinom entsteht. Als weitere mögliche Orte der Krebsentstehung aufgrund von erhöhter Nitrat- oder Nitritaufnahme werden der Darm, Ösophagus und die Harnblase diskutiert [28].

### **3.1.2.2 Methämoglobinämie**

Die Methämoglobinämie ist die Ursache für die erste Reglementierung der Nitratzufuhr beim Menschen. Die seit 1958 bestehenden Grenzen zur Nitrataufnahme wurden, wie bereits erwähnt (s. Kap. 2.5), zum Schutz von Neugeborenen vor diesem Symptom, auch „Blue-Baby-Syndrome“ genannt, eingeführt [27]. Beim Blue-Baby-Syndrome liegt ein Teil des im Blut vorhandenen Hämoglobins als Methämoglobin vor. Dieses enthält Eisen in dreiwertiger, statt der für Hämoglobin typischen zweiwertigen Form. Dies hat zur Folge, dass Sauerstoff nicht mehr gebunden und transportiert werden kann. Sofern über zehn Prozent des Gesamthämoglobins als Methämoglobin vorliegt wird das klinisch sichtbar, bei über 35 Prozent auch in Form von klinischen Symptomen. Unter allen Substanzen, die Methämoglobinämie verursachen können, gehört Nitrat zu den am meisten berichteten. Wie bereits erläutert wird Nitrat durch verschiedene Mechanismen zu Nitrit reduziert. Nitrit reagiert im Blut mit Hämoglobin und oxidiert das darin enthaltene zweiwertige zu dreiwertigem Eisen. Weitere Ursachen für diese Erkrankung sind außerdem Diarrhö mit Azidose und angeborene Defizite wie z. B. ein Mangel an Met-Hb-Reduktase oder Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase [31].

Auffällig häufig sind Neugeborene mit einem Alter unter drei Monaten von einer Methämoglobinämie betroffen. Auch ältere Kinder und Erwachsene können das Symptom entwickeln, jedoch ist es sehr viel unwahrscheinlicher. Für diesen Umstand werden mehrere Ursachen in Betracht gezogen. Zum einen scheint die Aktivität des Enzyms zum Abbau von Met-Hb zu Hämoglobin, die Met-Hb-Reduktase (Cytochrom-b5-Reduktase), bei Säuglingen unter drei Monaten noch nicht voll ausgeprägt zu sein. Zum anderen steigt die Azidität des Magensaftes mit zunehmendem Alter, was die Anzahl der Nitrit bildenden Bakterien immer mehr reduziert. Weitere mögliche Erklärungen sind die höhere Affinität von fetalem Hämoglobin zu Nitrit und

die höhere Wasseraufnahme im Vergleich zum Körpergewicht bei Säuglingen [5, 28].

Die ersten Fälle von Methämoglobinämie bei Säuglingen sind im Rahmen von mit Muttermilchersatz gesäugten Neugeborenen bekannt geworden. Zum Mischen des Ersatzes verwendete man Brunnenwasser aus ländlichen Regionen, in denen ein hoher Gehalt an Nitraten vorkam. In 97 Prozent der Fälle des Blue-Baby-Syndroms überstieg der Nitratgehalt in diesem Wasser 44,3 mg pro Liter [27].

### **3.1.2.3 Weitere gesundheitsschädliche Aspekte**

Neben den beiden häufigsten mit Nitraten assoziierten Nebenwirkungen, Kanzerogenität und Methämoglobinämie, gibt es zahlreiche andere Theorien zu potentiell schädigenden Wirkungen. Dazu zählen Effekte auf den Atmungsapparat, die Schilddrüse, den Zuckerstoffwechsel und die Schwangerschaft.

#### Atmungsapparat

In zwei verschiedenen Veröffentlichungen aus dem Jahr 2007 weisen die Autoren und Autorinnen auf eine mögliche Verbindung von gepökeltem Fleisch und der Entstehung von COPD, der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung, hin [32, 33]. Ji-ang nennt die schädigende Wirkung von Nitrit, bzw. dessen Folgestufen, auf das Bindegewebe als Ursache für die Lungenschädigung und die Folge COPD, auch wenn der genaue Mechanismus weiterhin ungeklärt ist. Bei beiden Veröffentlichungen handelt es sich um retrospektive Studien, die sich auf Fragebögen zur Häufigkeit des Verzehrs von gepökeltem Fleisch aus den Jahren 1988 - 1994 [32] bzw. 1986 - 1998 [33] stützen.

#### Schilddrüse

Nitrat gilt als ein Hemmer der Jodaufnahme in der Schilddrüse. Der vermutete Mechanismus liegt in einer Hemmung des Natrium-Jod-Symporters auf der Oberfläche der Follikelepithelzellen. Mögliche Folgen sind die Schilddrüsenhyperplasie, auch Struma genannt und dadurch auch ein erhöhtes Risiko von Schilddrüsenkrebs [34].

Auch beim Menschen konnte ein Zusammenhang gezeigt werden [35]. In ihrer Studie weisen Ward et al. allerdings darauf hin, dass sich der Zusammenhang nicht auf Nitrat in Trinkwasser bezieht, sondern zu dem aus der Nahrung aufgenommenen hergestellt wurde. Da es in der Nahrung viele verschiedene Quellen von Nitrat gibt (s. Kap. 2.2) bleibt die Relevanz der Ergebnisse unklar. Zudem weist die WHO in ihren Richtlinien darauf hin, dass die Folge der Schilddrüsenhyperplasie nur unter sehr hoher Nitrataufnahme und bei gleichzeitigem Jodmangel auftritt [27].

## Diabetes

Nachdem bei Ratten und Mäusen ein toxischer Effekt von N-Nitroso-Verbindungen auf beta-Zellen im Pankreas nachgewiesen werden konnte, versuchte man diese als eine mögliche Ursache für Typ-1-Diabetes bei Kindern zu identifizieren. Die Studienlage dazu ist aber unklar und konnte nicht eindeutig bewiesen werden [36].

## Schwangerschaft

Auch bezüglich der Fortpflanzung sind verschiedene Untersuchungen zur Schädlichkeit von Nitraten auf Schwangere durchgeführt worden. Zu den beobachteten möglichen Folgen zählen Fehl-, Tot- und Frühgeburten, sowie intrauterine Wachstumsverzögerungen und kongenitale Malformationen [5]. Gegen den vermuteten Zusammenhang spricht die Inkonsistenz in den Ergebnissen und die unterschiedlichen Nitratquellen. Meistens kam es nur zu einem bis zwei der genannten Folgen. Darüber hinaus variieren sowohl die Nitratkonzentrationen in dem genutzten Wasser, als auch die Orte mit ihren Kofaktoren, was einen kausalen Bezug zu den Nitraten kaum zulässt. Zudem sagt auch die WHO, dass die Evidenzlage den Zusammenhang nicht unterstützt [27].

### **3.1.3 Neueste Erkenntnisse**

Die vielseitigen potentiell schädlichen Wirkungen von Nitraten auf den menschlichen Organismus haben zu einem stark negativen Bild von Nitraten als Bestandteil von Lebensmitteln geführt, welches auch in Lehrbüchern der Medizin fortgetragen wird. Im Gegensatz dazu stehen immer mehr Forscher und Forscherinnen, die eine

Reevaluation der bisherigen Grenzen zur Nitrataufnahme fordern. Das führte zur Empfehlung der International Society for Environmental Epidemiology die bestehenden Grenzwerte beizubehalten und die Grenzen zur Nitrataufnahme weiter zu untersuchen [5]. Entsprechend dauern die Diskussionen zu diesem Thema weiter an, eine abschließende Bewertung liegt noch nicht vor [37, 38].

Betrachtet man die Studienlage zum Thema Kanzerogenität, so geht der Ursprung der Diskussion auf Tierstudien zurück, in denen verschiedene Nitroso-Verbindungen zu Magenkrebs geführt haben [28]. Nach dieser Erkenntnis wurden viele epidemiologische Studien zu diesem Thema durchgeführt, um eine mögliche Verbindung auch beim Menschen nachzuweisen. Dabei griffen die Untersuchenden auf Fall-Kontroll-Studien und Kohortenstudien zurück. Die Ergebnisse dazu waren aber sehr inkonstant. Ward et al. vergleichen in ihrem Review von 2005 mehrere epidemiologische Studien von 1986 bis 2004 und können keinen klaren Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Nitraten durch Wasser und der Entstehung von Krebs entdecken [5]. Problematisch an diesen Untersuchungen war, dass zumeist versucht wurde, einen direkten Zusammenhang zwischen der Aufnahme von nitrathaltigem Grundwasser beziehungsweise rotem gepökelttem Fleisch und der Entstehung von Krebs im Gastrointestinaltrakt herzustellen. Die Umsetzung von Nitraten über dessen Zwischenstufen bis möglicherweise Krebs daraus entsteht ist allerdings von so vielen Kofaktoren abhängig, dass sich eine so einfache Verbindung nicht sicher ziehen lässt. Auch die EFSA sieht die kanzerogene Wirkung als fragwürdig an und empfiehlt daher weiterhin eine Diät, die reich an Obst und Gemüse ist, da dessen positive Auswirkungen auf den Organismus trotz des hohen Nitratgehalts überwiegen [3].

Die Methämoglobinämie betreffend sind die Gesundheitsorganisationen wesentlich konservativer mit ihren Richtlinien und halten an ihrem ersten Grenzwert fest. Dabei scheint Nitrat selber nicht der unmittelbare Auslöser einer Methämoglobinämie zu sein. Vielmehr treten Methämoglobinämien bei Neugeborenen häufig im Rahmen einer Gastroenteritis auf, einer Entzündung des Gastrointestinaltrakts. Die damit einhergehende Erhöhung der iNOS im Darm führt zu vermehrter NO Produktion, welches dann im Blut zu einer Oxidation von zweiwertigem zu dreiwertigem Eisen führt. In den ersten Studien wurde notiert, dass die Wasserquellen, mit dem die Neugeborenen versorgt wurden, mit Bakterien verseucht waren und sich in unmit-

telbarer Nähe zu Abfällen und Bauernhöfen befanden, was Magen-Darm-Erkrankungen begünstigt. Darüber hinaus konnte schon 1948 in einer Folgestudie gezeigt werden, dass selbst relativ große Mengen zugeführten Nitrats alleine keine Methämoglobinämie auslöst [38].

In Bezugnahme auf die Untersuchung des Effekts von Nitraten auf die Leistungsfähigkeit im Sport ist festzuhalten, dass es sich bei den in den Tests verwendeten Nitratquellen um pflanzliche Quellen, wie z. B. Rote-Bete-Saft handelt, oder um Nitrat in reiner Form, ohne potentiell nitrosierbare Vorstufen von N-Nitroso-Verbindungen bzw. rotes gepökeltes Fleisch. Auch die aufgenommenen Mengen entsprechen nicht den Konzentrationen, die die Testtiere zu sich nehmen mussten. Des Weiteren wurden gesunde, erwachsene Probanden und Probandinnen gewählt, die somit keine Risikofaktoren für eine mögliche Methämoglobinämie hatten.

## **3.2 Gesundheitsfördernde Effekte**

### **3.2.1 Auszug Positiver Effekte**

#### **3.2.1.1 Gefäße**

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen die häufigste Todesursache weltweit dar. Unter ihnen wird der Bluthochdruck mit zwei Drittel aller Schlaganfälle und ein Drittel aller ischämischen Herzerkrankungen in Verbindung gebracht. Zusammen sind das in etwa 13% aller Todesfälle weltweit [39]. Die Prävalenz von Bluthochdruck steigt dabei mit zunehmendem Alter an. Mit einem Alter von 60 bis 69 Jahren kann bei mehr als der Hälfte aller Menschen Bluthochdruck nachgewiesen werden. Ab einem Alter von 70 Jahren liegt dieser Anteil sogar bei ca. 75%. Besonderes Augenmerk ist dabei auf den systolischen Blutdruck zu legen, denn während der diastolische Blutdruck ab einem Lebensalter von 50 Jahren dazu neigt gleich zu bleiben oder sogar wieder etwas zu fallen und bis zu diesem Zeitpunkt auch allein oder in Kombination mit einem systolischen Bluthochdruck vorkommt, steigt der der systolische Blutdruck auch nach dem 50. Jahr weiter an und ist die häufigste Form des Bluthochdrucks über diesem Alter. Das Lebenszeitrisiko an Bluthochdruck zu erkranken liegt für nicht-hypertensive Männer und Frauen im Alter von 55 beziehungsweise 65 Jahren bei 90%. Beginnend bei einem Blutdruck von 115/75 mmHg verdoppelt sich das Risiko von kardiovaskulären Erkrankungen um jeden Schritt von 20/10 mmHg.

Darüber hinaus haben Menschen mit einem Blutdruck zwischen 130-139/85-89 mmHg ein doppelt so hohes Risiko kardiovaskuläre Erkrankungen wie Schlaganfall oder ischämische Herzerkrankungen zu erleiden wie Menschen mit einem Blutdruck unter 120/80 mmHg [40]. Die Einführung der antihypertensiven Medikation hat die negativen Auswirkungen von zu hohem Blutdruck zwar abgeschwächt, optimale Blutdruckwerte werden aber nur in etwa 50% der Fälle erreicht [39]. Das Ziel der antihypertensiven Medikation ist ein Blutdruck unter 140/90 mmHg. Ab einem prähypertensiven Blutdruck (systolisch 120-139 mmHg oder diastolisch 80-89 mmHg) sind gesundheitsfördernde Lebensstilmodifikationen indiziert, um ein weiteres Ansteigen des Blutdrucks zu vermeiden. Zu diesen Modifikationen zählen Gewichtsverlust, Ernährungsumstellungen und sportliche Aktivität. Es konnte gezeigt werden, dass eine Ernährungsumstellung nach dem DASH-Diätansatz den systolischen Blutdruck im Durchschnitt um 8 bis 14 mmHg senkt und somit ähnlich effektiv zur Blutdrucksenkung beiträgt, wie eine einzelne antihypertensive Medikation. Bereits eine Senkung um 5 mmHg kann ausreichen, um das Risiko eines Todes durch Schlaganfall um bis zu 14% und das Risiko von kardiovaskulären Erkrankungen um bis zu 9% zu verringern [6, 40]. Die DASH-Diät ist ein Ernährungsplan reich an Obst und Gemüse und kann bei einer bestimmten Auswahl von diesen einen sehr hohen Nitratgehalt aufweisen [6].

Cosby et al. konnten in ihrer Studie aus dem Jahr 2003 nachweisen, dass Nitrit über die Reduktion durch Nitritreduktasen im Blut zu Stickstoffmonoxid umgewandelt wird und vasodilatierend auf die Arterien wirkt [41]. Der gleichzeitige Anstieg von Nitrit und cGMP verdeutlicht dabei, dass der vasodilatierende Effekt wieder auf der Aktivität von NO beruht und auf gleichem Wege stattfindet, wie es auch bei der eNOS der Fall ist [42].

Der erste Versuch, der den Effekt von anorganischem Nitrat auf den Blutdruck beim Menschen untersuchte, war der von Larsen et al. im Jahr 2006 [43]. Unter Nutzung einer doppelblinden Crossover-Studie bekamen 17 gesunde Probanden und Probandinnen 0,1 mmol Natriumnitrat/kg KG/Tag über einen Zeitraum von drei Tagen. Mit der Intervention simulierte man einen Nitratkonsum, der ungefähr in 150 bis 250 g nitratreichem Gemüse gefunden werden kann. Auch wenn in den Ergebnissen kein Unterschied in der Herzfrequenz oder dem systolischen Blutdruck gefunden werden konnte, erniedrigte sich der diastolische Blutdruck im Durchschnitt um 3,7 mmHg und der mittlere arterielle Druck um 3,2 mmHg. Bis zu diesem Punkt wurde

immer vermutet, es sei eine Summe von Faktoren, die den Blutdruck senkenden Effekt der DASH-Diät ausmachen. Durch die Intervention mit Nitrat alleine konnte erstmalig ein einzelner Inhaltsstoff mit dieser Wirkung hervorgehoben werden.

Der Fund von Larsen et al. konnte zwei Jahre später von Webb et al. bestätigt und zusätzlich um vasoprotektive Eigenschaften erweitert werden [44]. In ihrer Studie bekamen 14 Personen 0,5 l Rote-Bete-Saft mit einem Nitratgehalt von ca. 45,0 mmol/l oder Wasser. Die Blutdruckmessungen starteten eine Stunde vor der Intervention mit Rote-Bete-Saft, wurden zunächst alle 15 Minuten gemessen bis drei Stunden nach Intervention, dann stündlich bis sechs Stunden nach Intervention und endeten mit einer finalen Messung nach 24 Stunden. In der Studie konnte der systolische Blutdruck 2,5 Stunden und der diastolische Blutdruck 3 Stunden nach der Einnahme von Rote-Bete-Saft maximal gesenkt werden. Der Blutdruckabfall begann bereits eine Stunde nach der Intervention und hielt bis zu fünf Stunden an. Die Senkungen korrelierten damit mit den größten Anstiegen der Nitritkonzentrationen im Blut und es konnten Werte von ca. 10,4 mmHg systolisch und ca. 8,1 mmHg diastolisch beobachtet werden. Darüber hinaus demonstrierten Webb et al. einen vasoprotektiven Effekt von Nitrat nach Ischämie-Reperfusionverletzungen in der Oberarmarterie. Die normalerweise auftretende endotheliale Dysfunktion mit ausbleibender Dilatation der Arterien nach Ischämie konnte durch  $\text{NO}_3^-$ -Gabe verhindert werden. Zusätzlich wies die Forschungsgruppe ex-vivo einen Plättchenaggregations-hemmenden Effekt nach, der ebenfalls mit der höchsten Nitritkonzentration nach 2,5 Stunden korrelierte. Weiterführend konnten all diese Wirkungen von Rote-Bete-Saft in einer Ko-Studie mit 6 Probanden und Probandinnen verhindert werden, wenn sie den Speichel für drei Stunden nach der Aufnahme ausspuckten. Dabei stieg die Nitratkonzentration im Blut zwar an, jedoch blieb die Nitritkonzentration konstant niedrig, was wiederum die Wichtigkeit der auf der Zunge befindlichen anaeroben Bakterien zur Umwandlung von Nitrat in Nitrit hervorhebt.

Zwei Jahre später veröffentlichten Kapil et al. im Jahr 2010 eine Studie, in der sie nicht nur die positiven Eigenschaften auf Blutdruck und Vasoprotektion nachwiesen, sondern auch einen Vergleich von Nitratsalzen zu diätischem Nitrat aus Nahrungsquellen (z. B. Rote-Bete-Saft, grünes Gemüse) untersuchten. Außerdem unterschieden sie bei ihren Untersuchungen verschiedene Mengen Nitrat und stellten eine Dosis-Wirkungs-Beziehung auf [42]. Die Versuchspersonen nahmen das Nit-

ratsalz in den Mengen von 4, 12 und 24 mmol in Wasser gelöst zu sich. Das diätische Nitrat wurde in Form von konzentriertem Rote-Bete-Saft mit einem Nitratgehalt von 5,5 mmol aufgenommen. Die Nitrat- und Nitritkonzentrationen stiegen dosisabhängig unterschiedlich stark an, erreichten ihr Maximum aber, wie in vorherigen Studien gezeigt, nach 2,5 Stunden (4 und 12 mmol, 5,5 mmol aus Rote-Bete-Saft) beziehungsweise 3 Stunden (24 mmol) und blieben bis zu 24 Stunden lang erhöht. Mit den Nitritkonzentrationen im Blut einhergehend stiegen auch die cGMP Konzentrationen an und der Blutdruck fiel zeitgleich und dosisabhängig ab, wobei 24 mmol Nitrat den größten Effekt hatte und den systolischen Blutdruck um maximal etwa 9,4 mmHg und den diastolischen um etwa 6,0 mmHg senkte. Die Versuche zeigen, dass unabhängig von der Art der Nitrataufnahme, die Nitrat- und Nitritkonzentrationen im Blut dosisabhängig gleichwertig ansteigen und gleiche Effekte erzielen. Unabhängig von der Dosis verhinderten alle Interventionen die endotheliale Dysfunktion nach Ischämie. Als neuen Aspekt merkte die Forschungsgruppe erstmals an, geschlechtsbezogene Unterschiede der Nitratwirkung zu beobachten, wobei die Nitratkonzentrationen zwar gleichwertig anstiegen, die Nitritkonzentrationen bei Frauen jedoch etwas höher waren (4-facher Anstieg im Vergleich zu 3-fachem Anstieg bei den Männern). Trotzdem entfaltete die Intervention bei Männern, bezogen auf den Blutdruck, eine größere Wirkung. Die Autoren und Autorinnen vermuten, dass dies möglicherweise mit unterschiedlichen bakteriellen Stämmen im Mund zwischen Frauen und Männern zusammenhängt und einer damit verbundenen anderen NO<sub>x</sub>-Verarbeitung.

An die Versuche von Kapil et al. anknüpfend untersuchten Wylie et al. 2013 die Dosis-Wirkungs-Beziehungen in alleinigem Bezug auf Rote-Bete-Saft [45]. Die Dosen umfassten dabei ca. 4,2, 8,4 oder 16,8 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. An der ausgewogenen Crossover-Studie nahmen zehn gesunde Männer teil. Auch hier zeigten sich dosisabhängige Steigerungen der Nitrat- und Nitritkonzentrationen im Blut mit einem maximalen Nitratanstieg nach einer Stunde (4,2 und 8,4 mmol) beziehungsweise zwei Stunden (16,8 mmol) und einem maximalen Nitritanstieg nach zwei Stunden (4,2 und 8,4 mmol) bzw. drei Stunden (16,8 mmol). Die Anstiege der Konzentrationen korrelieren mit denen aus dem Versuch von Kapil et al. und weisen ebenfalls darauf hin, dass kein Unterschied in der Art der Nitrataufnahme besteht. Der Blutdruck senkte sich ebenfalls dosisabhängig und zeitgleich mit den höchsten Nitritkonzentrationen, wobei der systolische Blutdruck einen Abfall von etwa 5, 10 und 9 mmHg

verzeichnete (4,2, 8,4 und 16,8 mmol), der mittlere arterielle Druck von ca. 2, 5 und 5 mmHg und der diastolische von 3 bzw. 4 mmHg (8,4 bzw. 16,8 mmol). In diesem Versuch reichten 4,2 mmol nicht aus um den diastolischen Blutdruck zu senken.

Ein weiterer für die Medizin interessanter Aspekt ist die bisher in den Studien ausbleibende Toleranzbildung der anorganischen Nitrate. Der vasodilatative Effekt der anorganischen Nitrate bleibt auch über längere Zeiträume und Mengen bestehen, im Gegensatz zu den bisher in der Medizin viel genutzten organischen Nitraten, wie z. B. Nitroglycerin. Zwar besitzen die organischen Nitrate eine sehr viel höhere vasoaktive Potenz, jedoch müssen auch sie über Enzyme wie die Aldehyd-Dehydrogenase bioaktiv wirksam gemacht werden. Diese Gruppe von Enzymen ist allerdings bei chronischem Gebrauch von Nitroglycerin dazu geneigt eine Toleranz demgegenüber zu entwickeln. Nitrit kann diesen Weg der Aktivierung umgehen und so möglicherweise über lange Zeiträume und Mengen wirksam sein [15].

### **3.2.1.2 Weitere gesundheitsfördernde Aspekte**

Nach der Erkennung der positiven Aspekte von NO sind nach und nach immer mehr Studien zu verschiedenen gesundheitsfördernden Auswirkungen auf den menschlichen Organismus veröffentlicht worden. Im Gastrointestinaltrakt scheint Nitrit nicht nur Pathogene abzutöten [19], sondern auch die Schleimhautdurchblutung der Magenwand zu verbessern und eine Verdickung der protektiven Schleimschicht an der Mageninnenwand zu fördern [46]. Beide Forschungsgruppen geben das reduktive, saure Milieu des Magens als Aktivator des Nitrits an, welches über die verschiedenen Zwischenstufen schließlich Stickstoffmonoxid bildet und dann direkt an den angegebenen Orten wirksam werden kann. Aber nicht nur im Magen macht sich der Körper die antimikrobiellen Eigenschaften des NO zu nutzen. Auch die Haut als saure Umgebung profitiert von diesen Eigenschaften durch das mit dem Schweiß ausgeschiedene  $\text{NO}_2^-$  und kann so auf der Oberfläche der Haut befindliche Erreger abtöten [47]. Des Weiteren kann es auch auf die das Zahnfleisch angreifenden Keime unter bestimmten Umständen antimikrobiell wirken, vermutet die Forschungsgruppe um Allaker et al. [48]. Weitere untersuchte, mögliche positive Effekte sind eine Verbesserung des metabolischen Syndroms [49] und die kardioprotektive Wirkung nach Minderdurchblutung des Herzens [50] bzw. Schutz vor Ischämie-Reperfusionsschäden [13, 51].

## 4 Nitratsupplementierung im Sport

### 4.1 Einführung

Während des Sports durchläuft der Körper viele kardiovaskuläre und metabolische Anpassungen. An einer Vielzahl derer spielen Stickstoffmonoxid und seine Stoffwechselprodukte eine wichtige Rolle. Angefangen mit der Erweiterung der Gefäße, um den aufkommenden erhöhten Sauerstoffbedarf in den Muskeln zu decken, bis hin zur Modulation der Muskelkontraktion und der Glukosehomöostase sind NO-Moleküle beteiligt [52]. Mit Entdeckung des Nitrat-Nitrit-NO-Weges und der damit verbundenen Erkenntnis, dass es einen NO-Synthase unabhängigen Weg der Stickstoffmonoxidproduktion im Körper gibt, kamen die ersten Ideen zur diätischen Nitratzufuhr um sich die positiven Effekte zu nutzen zu machen [15].

Die erste Studie, die einen möglichen ergogenen Effekt von Nitratsupplementationen festgehalten hat, war die von Larsen et al. im Jahr 2007 [1]. Dabei konnten sie durch eine Intervention mit nur 0,1 mmol/kg KG  $\text{NaNO}_3$  täglich über drei Tage nicht nur die Nitritkonzentration im Blut um 82% heben und den Blutdruck um 8 (systolisch) bzw. 6 mmHg (diastolisch) senken, sie verringerten auch den Sauerstoffverbrauch im submaximalen Belastungsbereich (45-80%  $\text{VO}_2\text{max}$ ) im Vergleich zur Placebogruppe um 5%. Die Laktatkonzentration blieb unverändert während des Versuchs, was auf eine effizientere Energieproduktion hinweist. Das Interessante an diesem Ergebnis war, dass man bis zu diesem Zeitpunkt davon ausgegangen ist, dass die Sauerstoffkosten für eine Person bei submaximalem Training mit gleicher Belastung unveränderlich sind, unabhängig vom Alter, Trainingszustand und Gesundheit, sowie nicht beeinflussbar durch physische, diätische oder pharmakologische Einflüsse [53]. Die verwendete Nitratmenge entsprach allerdings nicht mehr als der, die auch in 150-250g  $\text{NO}_3^-$  reichem Gemüse vorhanden ist. Ausgehend von dieser Studie folgten in den kommenden Jahren zahlreiche Studien, die die genauen Umstände der Effekte von Nitratsupplementationen im Sport beleuchteten und die folgend diskutiert werden.

## **4.2 Methoden**

Der Hauptteil dieser Arbeit befasst sich mit Literatur zu den Wirkungen von Nitraten im sportlichen Kontext. Es wurde eine systematische Literaturrecherche auf PubMed ausgeführt, um Studien zu finden, die die Effekte einer Nitratsupplementierung und dessen Wirkung auf den menschlichen Organismus während einer sportlichen Aktivität untersuchten. Als Zeitraum wurden die Jahre 2007, in dem die erste Publikation zum Thema erschien [1], bis zum August 2015 gewählt. Als Schlagwörter in der Suche dienten die Begriffe „Exercise“, „Performance“, „Oxygen Uptake“ und „Oxygen Consumption“ in Zusammenhang mit „Nitrate Supplementation“, „Dietary Nitrate“ und „Beetroot Juice“.

Zu den Einschlusskriterien zählte, dass die Versuche mit gesunden menschlichen Probanden und Probandinnen ausgeführt wurden, die eine alleinige Supplementierung mit einem Nitratsalz oder Rote-Bete-Saft erfahren haben, bevor sie eine sportliche Aktivität absolvierten. Darüber hinaus mussten die Versuche zumindest eine Kontrollgruppe beinhalten, die ein nitratarmes Placebo bekamen. Zusätzlich wurde darauf geachtet, dass kein weiteres Nahrungsergänzungsmittel außer diesen beiden Supplementen gleichzeitig genommen wurde.

Die Suche ergab insgesamt 289 Ergebnisse, von denen nach den Einschlusskriterien noch 43 übrig blieben. Die Studien umfassten insgesamt 515 Teilnehmer und Teilnehmerinnen.

## **4.3 Sauerstoffutilisation und aerobe Leistungsfähigkeit**

Von den 36 verwendeten Studien, die unter anderem auch die Sauerstoffutilisation in Normoxie (20,9% O<sub>2</sub> in Luft) untersuchten, wiesen 27 eine signifikante Verbesserung nach. Dies geschieht in Form eines geringeren Sauerstoffverbrauchs [1, 45, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63], einer unveränderten VO<sub>2</sub> und VO<sub>2</sub>max bei erhöhter Leistung [64, 65, 66, 67], eines geringeren VO<sub>2</sub>max bei gleicher Leistung [57, 68], einer verbesserten VO<sub>2</sub>-Kinetik [55, 63, 69, 70, 71], verbesserter Muskeloxygenierung oder -kontraktilität [55, 70, 71, 72, 73, 74, 75] oder effizienterer Mitochondrien [59].

Die Studie von Larsen et al. aus dem Jahr 2007 war die erste Studie die auf einen ergogenen Effekt einer Nitratsupplementierung im Allgemeinen hinwies [1]. In ihrer

Studie wurden neun gut trainierte Personen nach einer dreitägigen Interventionsphase mit 0,1 mmol/kg KG NaNO<sub>3</sub> täglich oder einem Placebo dazu aufgefordert, bei submaximaler Intensität angefangen bis hin zu maximaler an einem Fahrradergometer Tests zu absolvieren. Ab einer Auslastung von 45% VO<sub>2</sub>max bis zu 80% VO<sub>2</sub>max waren die Sauerstoffkosten niedriger und der Wirkungsgrad (berechnet aus geleisteter Arbeit geteilt durch den Energieverbrauch) höher im Vergleich zur Placebogruppe. Ab einer Belastung von 85% VO<sub>2</sub>max waren die Ergebnisse allerdings ohne signifikante Veränderung. Keinen Einfluss hatte die Intervention während aller Intensitätsbereiche auf die VO<sub>2</sub>max, Herzfrequenz (HF), Laktatkonzentration im Blut, Ventilation der Lunge (VE) und den respiratorischen Quotienten (RQ). An diese Ergebnisse anschließend veröffentlichten Bailey et al. zwei Jahre später eine Studie, in der sie acht Personen 500 ml Rote-Bete-Saft täglich (ca. 5,6 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) oder 500 ml schwarzen Johannisbeersaft als Placebo über 6 Tage verabreichten [54]. Ziel ihres Versuches war es, die Effekte von natürlichem Nitrat, hier in Form der roten Bete, auf den Sauerstoffverbrauch unter verschiedenen Belastungsstufen auf einem Fahrradergometer zu beobachten. An den Tagen 4-6 der Supplementation fanden jeweils zwei Tests statt, die durch eine 25-minütige Erholungspause voneinander getrennt waren. Die Belastungen begannen auch hier bei moderater Intensität (80% der „Gas Exchange Threshold“ [GET]<sup>2</sup>) und stiegen bis zu hoher Intensität (70% der Differenz zwischen GET und VO<sub>2</sub>max). Der letzte Test an Tag 6 wurde bei hoher Intensität bis zur Erschöpfung fortgeführt, um die sportliche Belastbarkeit zu ermitteln. Auch hier verbrauchten die Probanden und Probandinnen ca. 5% weniger Sauerstoff im Vergleich zur Placebogruppe bei moderater Belastung. Darüber hinaus wies die Forschungsgruppe eine signifikante Senkung der langsamen Komponente der VO<sub>2</sub>-Amplitude um 23% nach, sowie eine 16%-ige Verlängerung der Zeit bis zur Erschöpfung, was einherging mit einem späteren Erreichen der VO<sub>2</sub>max. Unverändert blieben hingegen die Herzfrequenz, Laktatkonzentration im Blut, Ventilation der Lunge und der respiratorische Quotient.

Nur ein Jahr später, 2010, publizierten wiederum Bailey et al. zu dem Thema und nutzten, wie in den beiden Studien zuvor, einen randomisierten, doppelblinden

---

<sup>2</sup> Die Gas Exchange Threshold ist eine Messgröße ähnlich der anaeroben Schwelle und wird gemessen über den Anstieg des CO<sub>2</sub> in der ausgeatmeten Luft.

Crossover-Versuchsansatz mit sieben Probanden und Probandinnen, um die mechanistischen Hintergründe der reduzierten Sauerstoffkosten zu erforschen [55]. Wie bereits in ihrem ersten Versuch bekamen die Personen auch hier 500 ml Rote-Bete-Saft (5,1 mmol  $\text{NO}_3^-$ ) oder schwarzen Johannisbeersaft täglich über einen Zeitraum von sechs Tagen, wobei an den Tagen 4-6 die sportlichen Tests, hier in Form einer schrittweise, von der Belastung her gesteigerten beidbeinigen Kniestreckung stattfanden. In ihren Ergebnissen bestätigten sie den reduzierten Sauerstoffverbrauch, die Senkung der langsamen Komponente der  $\text{VO}_2$ -Amplitude unter submaximaler Belastung und die verlängerte Zeit bis zur Erschöpfung (hier um 25% gesteigert) bei hoher Intensität. Außerdem wiesen sie einen geringeren Phosphokreatinabbau nach, sowohl bei geringer (36% niedriger) als auch bei hoher Belastung (59% niedriger). Dieser stand in direkter Korrelation mit einem gesenkten ATP-Verbrauch. Die Autoren und Autorinnen vermuten daher, dass eine  $\text{NO}_3^-$ -Supplementation die  $\text{O}_2$ -Kosten senkt. Dies könnte durch einen geringeren ATP-Verbrauch der Muskelkraftherzeugung verursacht werden.

Im gleichen Jahr veröffentlichten Larsen et al. eine weitere Studie, in der sie mit einer Intervention von  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mmol/kg KG/Tag) über drei Tage eine Gruppe von 9 Testpersonen an einer kombinierten Arm- und Beinkurbel untersuchten [57]. Neben den schon gezeigten Senkungen der Sauerstoffkosten im submaximalen Bereich (45-85%  $\text{VO}_2\text{max}$ ) wurde erstmals auch eine Senkung der  $\text{VO}_2\text{max}$  selber bei maximaler Belastung beobachtet. Einhergehend mit diesem Effekt war eine Verlängerung der sportlichen Belastbarkeit um 7%. Dies lag zwar unter den bisher beobachteten Steigerungen [54, 55], jedoch weist die Forschungsgruppe darauf hin, dass eine niedrigere  $\text{VO}_2\text{max}$  normalerweise eine Verkürzung der Zeit bis zur Erschöpfung nach sich zieht, sofern die anaerobe Energiegewinnung nicht erhöht ist. Die Laktatkonzentration im Blut blieb jedoch unverändert, genau wie die maximale Herzfrequenz, die Ventilation der Lunge und der respiratorische Quotient. Sie vermuten deshalb eine gesteigerte Muskeleffizienz als Ursache für ihre Funde.

Bis zu diesem Zeitpunkt umfasste das Interventionsschema der  $\text{NO}_3^-$ -Supplementation meist einen 3-tägigen Zeitraum, der gefolgt wurde von sportlicher Aktivität. Jedoch war nicht bekannt, wie sich eine kürzere oder längere Nitratzufuhr auf die errogenen Effekte ausüben würde. Diesen Aspekt untersuchten Vanhatalo et al. mit ihrem Versuch [56]. Über einen Zeitraum von 15 Tagen nahmen 8 Probanden und Probandinnen 500 ml Rote-Bete-Saft (ca. 5,2 mmol pro Tag) oder ein Placebo zu

sich. 2,5 Stunden nach der ersten Einnahme, sowie 5 und 15 Tage danach absolvierten die Testpersonen bei moderater Intensität (90% GET) eine sportliche Aktivität an einem Fahrradergometer, gefolgt von einem schrittweise in der Wattzahl steigendem Test (1 Watt alle 2 Sekunden) bis zur Erschöpfung. Die Ergebnisse zeigten eine signifikante Reduktion der O<sub>2</sub>-Kosten bei moderater Belastung schon nach den ersten 2,5 Stunden mit 4%. Dieser Wert wurde sowohl nach 5 Tagen als auch nach 15 Tagen wiederholt, was bedeutet, dass die positiven Effekte der Nitrate auch akut auftreten und über einen Zeitraum von mindestens zwei Wochen aufrechterhalten werden können, wenn die Supplementation fortgeführt wird. Unverändert blieb die Zeit bis zur Erschöpfung zu allen Zeitpunkten, auch wenn die maximale Leistung und die Leistung an der GET nach 15 Tagen höher waren.

Die bisher genannten Nitratquellen bestanden entweder aus einem Nitratsalz oder Rote-Bete-Saft. Die positiven Auswirkungen auf den Sauerstoffverbrauch waren in beiden Fällen im gleichen Bereich, jedoch war unklar, ob die positiven Effekte des Rote-Bete-Saftes nicht auch durch andere darin enthaltenen Stoffe ausgelöst werden könnten. Lansley et al. gingen dieser Frage 2011 genauer nach [58]. Neun Probanden und Probandinnen unterzogen sich in der randomisierten, doppelblinden Crossover-Studie sportlichen Tests (Laufband, Kniestreckung) bei submaximaler (6-minütig, 80% GET) und maximaler (bis zur Erschöpfung) Intensität. Als Intervention dienten 500 ml nitratreicher (ca. 6,2 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup> pro Tag) oder nitratarmer (ca. 0,0034 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup> pro Tag) Rote-Bete-Saft, der über 6 Tage eingenommen wurde. Ab dem vierten Tag begannen die sportlichen Übungen. Im Vergleich zur Placebogruppe erhöhte sich der Nitritgehalt im Blut um 105%, senkte den Blutdruck (systolisch 5 mmHg) und blieb konstant an den Tagen 4, 5 und 6. Die O<sub>2</sub>-Kosten waren sowohl beim Gehen (12%) als auch bei submaximaler und maximaler Intensität (beide ca. 7%) signifikant niedriger als in der Gruppe mit dem nitratarmen Saft. Beim Laufen in hoher Intensität zeigte sich auch eine 15% verlängerte Zeit bis zur Erschöpfung. Die längere sportliche Belastbarkeit machte sich auch bei der schrittweise schwerer werdenden Kniestreckung bemerkbar, die etwa 5% länger war im Vergleich zur Kontrollgruppe und der Placebogruppe. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die positiven Effekte des Rote-Bete-Saftes hauptsächlich auf den Nitratgehalt an sich zurückzuführen sind.

Weitere zwei Jahre später veröffentlichten Wylie et al. 2013 die erste Studie, die die Dosis-Wirkungs-Beziehung genauer eruierte [45]. Lagen die früher gegebenen Nitratmengen stets in einem Bereich von etwa 5-9 mmol pro Tag, so bekamen die zehn Testpersonen in ihrem Versuch ~4, ~8 oder ~17 mmol Nitrat in Form eines Rote-Bete-Saftkonzentrats 2,5 Stunden vor einem sportlichen Test verabreicht. Die Rote-Bete erhöhte den Nitrat- und Nitritgehalt im Blut dosisabhängig um 334, 778 und 1556 bzw. 121, 218 und 338 Prozent unmittelbar vor Beginn der körperlichen Aktivität. Die Sauerstoffkosten bei submaximaler Intensität blieben unverändert für die geringste Dosis, jedoch verringerten sie sich bei 8,4 mmol (ca. 30 ml/min) und 16,8 mmol (ca. 50 ml/min). Während maximaler Belastung zeigte sich ebenfalls keine Beeinflussung auf die sportliche Belastbarkeit bei 4,2 mmol im Vergleich zum Placebo, aber mit 8,4 mmol verlängerte sie sich um 14% und mit 16,8 mmol um 12%. Die Zeit bis zur Erschöpfung korrelierte signifikant mit den Nitritkonzentrationen im Blut. Aufgrund ihrer Ergebnisse gehen die Autoren und Autorinnen davon aus, dass zwar eine gewisse Mindestdosis nötig ist, um signifikante Effekte zu erzielen, aber ab einem bestimmten Wert keinerlei weitere Verbesserungen oder neue Wirkungen akut stattfinden. Die Forschungsgruppe weist zusätzlich auf die Möglichkeit von „Respondern“ und „Nonrespondern“ hin, etwas was auch schon vorher beobachtet wurde [65]. Unter den Probanden und Probandinnen befanden sich drei Personen, bei denen erst eine höhere Nitratmenge zu den positiven Effekten geführt hat, obwohl die Nitrat- und Nitritkonzentrationen im Blut die selben Konzentrationen erreichten, wie bei den anderen. So gab es drei Nonresponder unter der Gruppe mit 4 mmol, zwei unter der mit 8 mmol und nur einen unter der mit knapp 17 mmol, wobei diejenigen, die bei geringerer Supplementation nicht ansprachen bei Steigerung der Dosis reagierten.

Zeitgleich erforschten Breese et al. die Einflüsse von konzentriertem Rote-Bete-Saft (8 mmol  $\text{NO}_3^-$  pro Tag über sechs Tage) auf die Kinetik der Sauerstoffaufnahme beim Übergang von nahezu unbelasteter (15 W, 3 Minuten) zu submaximaler (4 Minuten) und unmittelbar daran anschließend submaximaler zu maximaler Intensität (6 Minuten) an einem Fahrradergometer [70]. Wie auch schon in anderen Versuchsprotokollen begannen die sportlichen Untersuchungen an Tag vier der Supplementation und wurden an den Tagen fünf und sechs wiederholt, wobei am letzten Tag die maximale Belastung fortgesetzt wurde bis zur Erschöpfung. Neben dem Gasaustausch über die Lunge untersuchten die Forscher und Forscherinnen mittels

NIRS (Nahinfrarotspektroskopie) auch die Muskeloxygenierung über die Messung der Konzentration von Oxyhämoglobin und Desoxyhämoglobin im Musculus vastus lateralis im Oberschenkel (Repräsentativ für die Balance der Sauerstoffnutzung und der O<sub>2</sub>-Zufuhr im Muskel). Während der Übergang von unbelasteter zu submaximaler Intensität unverändert blieb, beschleunigte Nitrat die VO<sub>2</sub> und Muskel-Desoxyhämoglobin-Kinetik beim Wechsel von submaximaler zu maximaler Intensität. Außerdem verzeichneten sie eine etwa 21% längere Zeit bis zur Erschöpfung.

#### 4.3.1 Mögliche Mechanismen

Aufgrund der zahlreichen physiologischen Aufgaben von Stickstoffmonoxid im menschlichen Körper gibt es viele verschiedene Theorien, um die geringeren Sauerstoffkosten oder auch die verlängerte Zeit bis zur Erschöpfung nach Nitratsupplementation zu erklären. Genauer untersucht wurden drei Mechanismen: 1) Eine gesteigerte Muskeffizienz, 2) eine gesteigerte mitochondriale Effizienz und 3) eine verbesserte Muskeloxygenierung.

Schon im Jahr 2010 hatten Bailey et al. nach den ersten erschienenen Studien zu den ergogenen Effekten von Nitraten die Idee, den mechanistischen Hintergründen auf der Muskelebene auf den Grund zu gehen [55]. Sie nutzten <sup>31</sup>P-Magnetresonanzspektroskopie zur Bestimmung der Konzentrationen von Phosphokreatin (PCr), Adenosindiphosphat (ADP) und anorganischem Phosphat (P<sub>i</sub>) im beanspruchten Musculus vastus lateralis nach einer sechs Tage andauernden Intervention mit Rote-Bete-Saft (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Gehalt 5,1 mmol pro Tag). Auch pH-Veränderungen im Muskel wurden aufgezeichnet, um eine mögliche anaerobe Energiegewinnung aufzuzeichnen. Die sportlichen Kniestreckungstests in geringer und hoher Intensität fanden an den Tagen 4-6 statt. In ihrer Analyse zeigte sich eine signifikante Reduktion des [P<sub>i</sub>]- und [ADP]-Anstiegs, sowie ein geringerer PCr-Verbrauch im Vergleich zur Placebogruppe. Diese Funde korrelierten mit einem gesenkten pulmonalen Sauerstoffverbrauch und einem geringeren errechnetem ATP-Verlust für die gleiche geleistete Arbeit, ohne Hinweise auf eine anaerobe Glykolyse. Die Autoren und Autorinnen vermuten als Ursache für die verbesserte Muskeffizienz einen Effekt von NO auf die Myosin-ATPase oder die sarkoplasmatische Retikulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase, da diese hauptsächlich für den ATP-Verbrauch in kontrahierenden Muskelzellen

verantwortlich sind. Des Weiteren wies die Forschungsgruppe eine um 25% verlängerte Zeit bis zur Erschöpfung nach. Sie weisen darauf hin, dass eine verringerte Nutzung des begrenzten PCr-Speichers im Muskel in Zusammenhang mit der geringeren Anhäufung von anorganischem Phosphat und ADP eine längere sportliche Belastbarkeit zulässt und die Muskelermüdung verlangsamt, da es genau diese Faktoren seien, die sich bei Ermüdung akkumulieren.

Eine verbesserte Handhabung der Energie konnte von Haider et al. in einer 2014 veröffentlichten Studie bestätigt werden [74]. In ihrem Versuch bekamen 19 gesunde Probanden und Probandinnen ca. 9,7 mmol  $\text{NO}_3^-$  pro Tag über 7 Tage. Nach der letzten Dosis mussten sie gewollte und ungewollte (elektrisch stimuliert) Kniestreckungsübungen ausführen. Die Ergebnisse zeigten eine gesteigerte muskuläre Kontraktibilität, bei der im Vergleich zur Placebogruppe eine 5-10%-ige Steigerung der elektromechanischen Kopplung während niedriger Stimulationsfrequenzen (1-20 Hz) zu beobachten war. Die explosive Kraftproduktion konnte ebenfalls um 3-15% gesteigert werden bei niedrigen (1 Hz) und hohen (300 Hz) Frequenzen.

Larsen et al. nahmen sich 2011 der gesteigerten mitochondrialen Effizienz in ihrem Versuch an [59]. 14 Testpersonen bekamen  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mmol/kg  $\text{NO}_3^-$  pro Tag) oder ein Placebo über 3 Tage verabreicht. Danach entnahmen sie dem Musculus vastus lateralis eine Probe und die Personen absolvierten Tests an einem Fahrradergometer. In den Resultaten wurde gezeigt, dass die Sauerstoffkosten bei der körperlichen Aktivität signifikant gesenkt wurden. Darüber hinaus zeigte sich ein geringerer Protonenverlust über die innere Mitochondrienmembran, indiziert durch die abgeschwächte Expression der Adenin-Nukleotid-Translokase (ANT). Die ANT gilt als wichtiger Faktor für den Protonenleitwert und eine geringere Konzentration von diesem Protein in den Mitochondrien deutet auf eine effizientere oxidative Phosphorylierung hin. Des Weiteren verbesserte sich das P/O-Verhältnis ( $\text{O}_2$ -Verbrauch pro produziertem ATP) um 19%. Das gesteigerte P/O-Verhältnis korrelierte mit der Gesamtkörper-Reduktion der  $\text{VO}_2$  bei submaximaler Intensität und führte zu einer Erhöhung der maximalen ATP-Produktionsrate um 23%.

Zusätzlich zu den intrazellulären Effekten zeigen sich auch Effekte auf die Blutverteilung und Muskeloxygenierung bei körperlicher Aktivität nach Nitratzufuhr. Erst kürzlich veröffentlichten Bailey et al. eine Studie, in der sie die Muskeloxygenierung genauer untersuchten [71]. Angetrieben von einer Tierstudie, die eine verbesserte

Wirkung von Nitraten auf Typ-II-Muskulatur nachwies [76], erforschten sie die unterschiedlichen Effekte von Rote-Bete-Saft (8 Tage, 8,4 mmol  $\text{NO}_3^-$ /Tag) auf Probanden und Probandinnen bei niedrigen (35 Umdrehungen pro Minute, U/min) und hohen Trittfrequenzen (115 U/min) an einem Fahrradergometer. Die unterschiedlichen Frequenzen wurden dabei gewählt, um die unterschiedlichen Muskelfasertypen anzusprechen. Mittels NIRS maß die Forschungsgruppe Oxyhämoglobin- und Desoxyhämoglobinkonzentrationen im Musculus vastus lateralis und ermittelten so die Oxygenierung. Im Gegensatz zur Testgruppe mit niedriger Trittfrequenz, bei der sich keinerlei ergogenen Einflüsse nachweisen ließen, verbesserte sich die Muskeloxygenierung, Phase-II  $\text{VO}_2$ -Kinetik und die Zeit bis zur Erschöpfung bei der Testgruppe mit hoher Trittfrequenz. Die verbesserte Muskeloxygenierung und die schnellere Phase-II  $\text{VO}_2$ -Kinetik korrelierten dabei miteinander. Die Autoren und Autorinnen vermuten daher, dass  $\text{NO}_3^-$  die aufkommende Diskrepanz von Sauerstoffverbrauch bei Beginn der Aktivität bis zur erhöhten Sauerstoffzufuhr in den Muskel überbrückt und so die Vorgänge beschleunigt. Auch der Blutfluss zum Muskel selber wird durch Vasodilatation beschleunigt, wie sie noch einmal hervorheben, denn besonders bei Typ-II-Muskulatur erreicht die Mikrozirkulation schneller hypoxische, saure Bereiche. Unter diesen Umständen wird die Reduktion von  $\text{NO}_2^-$  zu NO begünstigt und Stickstoffmonoxid kann vasodilatierend wirksam werden.

#### **4.4 Einfluss auf die sportliche Leistung**

Seit dem Beginn der Forschung zum Thema Nitratsupplementation und dessen ergogenem Effekt auf den menschlichen Organismus sind in vielen verschiedenen Studien positive Einflüsse auf den Metabolismus festgehalten und dokumentiert worden (s. Kap. 4.3). In der Tat wiesen einige einen positiven Effekt auf den Sauerstoffverbrauch bei submaximaler Intensität oder eine längere Zeit bis zur Erschöpfung nach (z. B. [1, 54, 55]), jedoch ist es schwer, diese Verbesserungen 1-zu-1 in Leistungsverbesserungen von Athleten und Athletinnen umzurechnen. Die Leistung bei Wettkämpfen verlangt normalerweise, eine bestimmte Strecke in so kurzer Zeit wie möglich hinter sich zu bringen (auch Time-Trial oder kurz TT genannt). Deshalb ist es von großer Relevanz die erbrachte sportliche Leistung in Versuchen zu dokumentieren.

Die in dieser Arbeit diskutierten 43 Studien, enthielten 14, die in ihrem Versuchsaufbau die sportlichen TT-Leistungen in Normoxie genauer untersuchten. Nur in 6 Versuchen verzeichneten die Forschungsgruppen eine signifikante Verbesserung der Leistung [60, 63, 64, 77, 78, 79], wohingegen in 8 kein positiver Zusammenhang erkennbar ist [61, 65, 80, 81, 82, 83, 84, 85]. Zu den untersuchten Sportarten gehörten Fahrradfahren, Laufen, Langlauf-Ski, Rudern, Kajakfahren und Teamsport-spezifische Tests. Die gegebenen Nitrat-Dosen schwankten von 4,1 mmol pro Tag [85] bis hin zu akuten Dosen von 19,5 mmol [84].

Der erste Time-Trial-Versuch wurde von Lansley et al. im Jahr 2011 unternommen [64]. Neun gut trainierte Fahrradfahrer und Fahrradfahrerinnen bekamen die Aufgabe, eine 4 km und eine 16,1 km lange Strecke mit dem Fahrrad so schnell wie möglich zu absolvieren. 2,5 Stunden vor dem jeweiligen Test bekamen sie 500 ml Rote-Bete-Saft ( $\text{NO}_3^-$ -Gehalt 6,2 mmol) oder einen Placebo verabreicht. Die Forscher und Forscherinnen untersuchten die Faktoren Sauerstoffverbrauch, vollbrachte Leistung pro aufgenommenem Liter  $\text{O}_2$  pro Minute (Watt/Liter/Minute) und die Zeit bis zum Erreichen des Zieles. Im Gegensatz zur Placebogruppe, in der keine Veränderung in einer der untersuchten Kategorien zu vernehmen war, verbesserten sich die Zeitfahrleistungen bei der Nitratgruppe um 2,8% (4 km) bzw. 2,7% (16,1 km). Damit einhergehend verbesserte sich die vollbrachte Leistung pro aufgenommenem Liter  $\text{O}_2$  um 7-11%, wobei sich die aufgenommene Menge Sauerstoff nicht unterschied von der in der Placebogruppe. Sie zeigten mit ihrem Versuch, dass Nitrat die Leistung beim Radfahren über einen kurzen Zeitraum (ca. 5-30 Minuten) signifikant verbessern kann.

Cermak et al. bestätigten die positiven Funde mit ihrem Versuch eines Zeitfahrens über 10 km nur ein Jahr später [60]. Sie testeten 12 Fahrradfahrer und Fahrradfahrerinnen mit einer Nitratmenge von 8 mmol täglich, allerdings über einen Zeitraum von 6 Tagen. Am sechsten Tag begannen sie mit einem 60-minütigen Test bei submaximaler Intensität (45% und 65%  $W_{\text{max}}$  für jeweils 30 Minuten), gefolgt von einem 10 km langen Zeitfahren. Während der submaximalen Testphase senkte sich der Sauerstoffverbrauch der Probanden und Probandinnen um 3,5% bzw. 5,1% (45% bzw. 65%  $W_{\text{max}}$ ). Wie schon im Versuch von Lansley et al. [64] verbesserten sich auch hier die Zeitfahrleistung und die geleistete Arbeit, ohne Veränderung der Sauerstoffaufnahme. Sie wiesen eine 1,2%-ige Steigerung der 10 km Zeitfahrleistung

mit Nitrat nach, was immer noch einer Verbesserung von etwa 12 Sekunden entsprach, im Vergleich zum Placebo (~953 s vs. ~965 s). In diesem Versuchsaufbau wurde die Leistung allerdings durch die 60-minütige Zwischenphase erst später abgerufen, was zeigt, dass die Nitratwirkung auf die TT-Leistung auch über einen Zeitraum von zumindest 75 Minuten anhalten kann. Weder bei diesem Versuch, noch bei dem von Lansley et al. [64] unterschieden sich die Konzentrationen von Glukose, Laktat oder Insulin im Blut von der der Testpersonen mit Placeboeinnahme. Auch Bond et al. konnten eine Verbesserung des 500-Meter-Zeitfahrens bei Ruderern und Ruderinnen nachweisen [77]. In ihrem Studienprotokoll nahmen 14 Sportler und Sportlerinnen 5,5 mmol Nitrat oder ein Placebo pro Tag über sechs Tage hinweg ein. Anschließend absolvierten sie 6 maximale 500-Meter Leistungen auf einem Ruderergometer, unterbrochen von 90-sekündigen Pausen und die jeweiligen Zeiten wurden gemessen. Die durchschnittliche Zeit der 6 Leistungen verkürzte sich um 0,4% verglichen zur Placebogruppe und die Zeit der Wiederholungen 4-6 sogar um 1,7%. Die größere Verbesserung bei den späteren Tests kann dabei in Verbindung stehen mit den zu diesem Zeitpunkt saureren und hypoxischeren Zuständen im Organismus, die die NO-Bildung zusätzlich fördern.

In einem weiteren Versuch im Jahr 2013 erforschten Wylie et al. die Teamsport-spezifische Leistung von 14 Freizeitsportlern und Freizeitsportlerinnen [78]. Über zwei Tage bekamen die Testpersonen hohe Dosen Nitrat verabreicht (1. Tag 16,4 mmol  $\text{NO}_3^-$ , 2. Tag 12,3 mmol  $\text{NO}_3^-$ ), gefolgt von intermittierenden, hoch-intensiven Läufen. Wie auch viele andere ähnliche Versuche maßen sie die Konzentration von Nitrit im Blut, allerdings nicht nur vor der sportlichen Aktivität, sondern auch währenddessen und danach. Die gelaufene Distanz in diesen Läufen verbesserte sich um 4,2%. Die Nitritkonzentration im Blut nach dem Sporttest war 54% niedriger in der Nitratgruppe und 20% niedriger in der Placebogruppe. Die Autoren und Autorinnen vermuten deshalb, dass Nitrit als Substrat für die NO-Produktion gedient haben könnte.

Den akuten Effekt von verschiedenen Dosen Nitrat auf die sportliche Leistung prüften erstmals Hoon et al. an 10 trainierten Ruderern und Ruderinnen über einen TT-Versuch von 2000 Metern [79]. Zwei Stunden vor der sportlichen Aktivität tranken die Probanden und Probandinnen einen Placebo oder ein Rote-Bete-Saftkonzentrat mit einem  $\text{NO}_3^-$ - Gehalt von 4,2 oder 8,4 mmol. Ähnlich wie schon Wylie et al. bei

ihrem Versuch [45], in dem sie keinen Effekt von 4,2 mmol auf den Sauerstoffverbrauch und die sportliche Belastbarkeit nachwies, konnten auch Hoon et al. keine Steigerung im Bezug auf die sportliche Leistung feststellen. Die doppelte Dosis hingegen verkürzte die 2000 m Ruderleistung im Vergleich zum Placebo um 0,42% (~1,6 s).

Obwohl die bis hier genannten Studien alle auf eine Steigerung der sportlichen Leistungsfähigkeit im Radfahren [60, 64], Rudern [77, 79], Laufen [63] und Teamsport [78] hindeuten und Leistungsverbesserungen von 1,2% [60] bis 4,2% [78] nachweisen, gibt es auch eine Vielzahl von Versuchen, die keinerlei Zusammenhang feststellen konnten.

Wilkerson et al. interessierte im Jahr 2012 der mögliche Einfluss von 500 ml Rote-Bete-Saft (6,2 mmol  $\text{NO}_3^-$ , 2,5 Stunden vor Aktivität) oder einem Placebo über einen längeren Zeitraum [65]. Zu diesem Zweck fuhren 8 Radfahrer und Radfahrerinnen eine Strecke von ca. 80 km. Die Dauer bis zum Ziel blieb in beiden Testgruppen annähernd identisch und erreichte keine statistische Signifikanz (Rote-Bete-Saft: ~136,7 min vs. Placebo: ~137,9 min;  $P > 0,05$ ), auch wenn die Nitratgruppe im Durchschnitt 0,8% schneller und die für die letzten 10 km benötigte Zeit signifikant geringer war. Darüber hinaus wiesen die Autoren und Autorinnen auf den Umstand hin, dass 3 der Probanden und Probandinnen einen geringeren bis keinen Anstieg der Nitritkonzentration im Blut zeigten. Schließt man diese von den Ergebnissen aus, so wäre der Unterschied zur Absolvierung der 80 km 2% und würde auch statistische Signifikanz erreichen. Die Theorie der „Responder“ und „Nonresponder“ wurde oben bereits angesprochen (s. Kap. 4.3). Ebenso zeigten Cermak et al. in einer weiteren Studie mit 20 Radfahrern und Radfahrerinnen und einer Intervention mit 8,7 mmol Nitrat 2,5 Stunden vor einem einstündigen TT-Versuch keine Verbesserung der Leistung [80]. Sie vermuten, dass die geringere Intensität und/oder die lange Dauer der Versuche von sich und auch Wilkerson et al. [65] verantwortlich für das Ausbleiben der ergogenen Effekte sein können, da hier vornehmlich Typ-I-Muskelfasern angesprochen werden und diese möglicherweise ein geringeres Ansprechen auf Nitrate zeigen (s. Kapitel 4.3.1). Gegen diese Theorie sprechen zwei weitere Versuche, die im selben Jahr stattgefunden haben, in denen die Testpersonen kürzerer sportlicher Belastung ausgesetzt waren. Peacock et al. erforschten den Einfluss von 614 mg  $\text{KNO}_3$  (~10 mmol) verglichen mit einem Placebo [81]. Zehn Langlauf Skifahrer und Skifahrerinnen nahmen die Supplementation 2,5 Stunden

vor einer submaximalen Testphase und einem 5 km langen TT-Versuch ein. Die Forscher und Forscherinnen konnten weder eine Reduzierung des Sauerstoffverbrauchs, noch eine schnellere Absolvierung der 5 km nachweisen. Auch der Versuch von Bescós et al., die zurückgelegte Distanz von Radfahrern und Radfahrerinnen nach 40 Minuten mit NaNO<sub>3</sub> (10 mg/kg KG täglich über 3 Tage) zu verlängern blieb ohne Erfolg [82].

Weitere mögliche Ursachen für das Ausbleiben ergogener Effekte in manchen Studien können auch die gewählten Versuchsabläufe, Sportarten und Nitratmengen gewesen sein. So analysierten Muggeridge et al. den Effekt einer akuten Dosis Rote-Bete-Saft (5,0 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) auf den Sauerstoffverbrauch bei submaximaler Intensität und die 1 km TT-Leistung von Kajakfahrern und Kajakfahrerinnen [61]. Zwar verringerten sich die O<sub>2</sub>-Kosten bei 60% HFmax um 3,1% und auch während des Zeitfahrens waren sie signifikant niedriger, allerdings hatte das keinen Einfluss auf die Endzeiten. Die Autoren und Autorinnen vermuten, dass die relativ kleine angesprochene Muskelmasse beim Kajakfahren nicht ausreicht, um den ergogenen Effekt von Nitrat auf so kurze Strecken zu zeigen. Ein Jahr später, 2014, testeten Hoon et al. an 26 Radfahrern und Radfahrerinnen, wie sich unterschiedliche Zeitpunkte der akuten Zufuhr (75 min, 150 min vor sportlicher Belastung; 150 min mit Zwischendosis nach erstem Zeitfahren) auf das Zeitfahren bei hoher Intensität auswirken [85]. Die Testpersonen durchliefen zwei Zeitfahrversuche, die durch eine 75-minütige Pause voneinander getrennt waren. Die aufgenommene Nitratdosis betrug 4,1 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup> und die Zwischendosis in der Gruppe, die das Nitrat schon 150 Minuten vor der Aktivität zu sich nahm ca. 2 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Die Ergebnisse der verschiedenen Tests blieben ohne signifikante Veränderungen im Vergleich zur Placebogruppe und auch untereinander. Betrachtet man die bisherigen Studien, die zur Dosis-Wirkungs-Beziehung durchgeführt wurden [45, 79], ist es allerdings nicht verwunderlich, dass die hier verwendeten Nitratdosen ohne ergogene Effekte blieben.

Es bleibt festzuhalten, dass die Sachlage zur Förderung der sportlichen Leistung durch Nitrate nicht eindeutig ist. In den Studien gibt es starke Unterschiede zwischen den getesteten Nitratmengen, Supplementationsdauern, Fitnessleveln der Probanden und Probandinnen und der Dauer der einzelnen TT-Versuche. Vor allem die Dauer der Supplementation und das Fitnesslevel der Sportler und Sportlerinnen könnte einen großen Einfluss auf die Wirksamkeit der Nitrate zu haben, weshalb im Folgenden noch genauer darauf eingegangen wird.

#### **4.5 Einfluss von Leistung unter hypoxischen Bedingungen**

Das die Bildung von Stickstoffmonoxid aus Nitrat bzw. Nitrit von sauren, hypoxischen Bedingungen im Blut begünstigt wird, wurde in dieser Arbeit bereits beschrieben (s. Kapitel 2.4). Im menschlichen Organismus werden diese Bedingungen durch Sport bei submaximaler bis hoher Intensität schneller erreicht. Einen ähnlichen Effekt haben ein verminderter Luftdruck, wie man ihn in großer Höhe vorfindet und auch komplette Apnoe beim Tauchen oder Luftanhalten. Motiviert durch die Vermutung, die Supplementation von diätischem  $\text{NO}_3^-$  könnte die sportliche Ausdauer und Leistungsfähigkeit in großer Höhe oder auch unter Wasser verbessern und vielleicht sogar eine noch größere Wirkung als unter normalen Sauerstoffbedingungen entfalten, gibt es eine Reihe von Studien die auf diesen möglichen Effekt genauer eingehen. Von den in dieser Arbeit verwendeten Studien untersuchten acht den Effekt von sportlicher Aktivität unter sauerstoffarmen Bedingungen. Ein positiver Einfluss konnte in sechs Studien festgehalten werden [66, 75, 86, 87, 88, 89], wohingegen zwei Studien keine positiven Veränderungen feststellten [90, 91].

Vanhatalo et al. waren im Jahr 2011 die ersten, die in ihrem Versuch 9 Testpersonen einer hypoxischen Umgebung aussetzten mit einem Sauerstoffanteil in der Atemluft von nur 14,5%  $\text{O}_2$  [86]. Die Atemluft wurde über eine Gesichtsmaske eingeatmet und so genau kontrolliert. Vor dem sportlichen Test, in Form einer beidseitigen Kniestreckung an einem Ergometer, wurden die Probanden und Probandinnen gebeten 750 ml Rote-Bete-Saft mit einem Nitratgehalt von 9,3 mmol oder ein Placebo über 24 Stunden verteilt einzunehmen. Zusätzlich zu den Tests in Hypoxie mussten alle Testgruppen die gleichen Versuche zur Kontrolle auch einmal in Normoxie absolvieren. Ähnlich wie bei dem Versuch von Bailey et al. [55] in Normoxie untersuchte die Forschungsgruppe auch hier den Effekt von körperlicher Betätigung auf den Muskelmetabolismus und die Sauerstoffutilisation mittels  $^{31}\text{P}$ -Magnetresonanzspektroskopie. Übereinstimmend mit der Ausgangshypothese, Nitrat könne den Muskelmetabolismus und die sportliche Belastbarkeit in Hypoxie verbessern, erreichten die Probanden und Probandinnen signifikante Veränderungen in den Tests. Während die Testpersonen unter dem Placebo eine deutliche Abnahme der sportlichen Belastbarkeit in Hypoxie im Vergleich zu den Versuchen in Normoxie erfuhren, blieb sie unverändert für die Rote-Bete-Gruppe und erreichte die gleichen Werte. Verglichen zur Placebogruppe entspricht dies einer Verlängerung der Zeit bis zur Erschöpfung um ~21%. Des Weiteren zeigte die Nitratgruppe

nicht nur einen geringeren PCr-Verbrauch während der Aktivität, sondern auch eine um ~16% schnellere [PCr]-Resynthese unmittelbar nach der Belastung. Diese Verbesserungen geschahen alle ohne Anzeichen einer vermehrten anaeroben Glykolyse. Das bedeutet, dass nicht nur die Muskelermüdung gesenkt wurde, was sich auch unmittelbar in der längeren Belastbarkeit bemerkbar machte, auch die Erholung der Muskulatur konnte bei den Personen beschleunigt werden. In einem weiterführenden Versuch im Jahr 2014 untersuchte die selbe Forschungsgruppe die möglichen mechanistischen Hintergründe für die gefundenen Ergebnisse mit einem ähnlichen Versuchsaufbau [75]. Zusätzlich zu den Parametern aus dem ersten Experiment zeichneten sie allerdings auch den Blutfluss in die betroffenen Muskeln auf mittels T2-gewichteter Magnetresonanz-Darstellung. Ihre Hypothese war, dass eine vermehrte Durchblutung der Muskulatur und/oder eine schnellere Anpassung der Durchblutung an den gesteigerten Stoffwechsel unter Belastung ursächlich für die kürzere [PCr]-Erholung unter Nitratzufuhr ist. Übereinstimmend mit dieser Theorie wiesen sie eine gesteigerte Durchblutung der betroffenen Muskeln unmittelbar nach der Aktivität nach, welche mit der Erholungsrate der PCr-Konzentration korrelierte. In Normoxie hingegen blieb die Erholung der PCr-Konzentration ohne signifikante Veränderungen. Die Autoren und Autorinnen führen das auf den geringeren Sauerstoffgradienten zwischen der Mikrozirkulation und den Myozyten in Hypoxie zurück. Sie vermuten, dass Stickstoffmonoxid den O<sub>2</sub>-Gradienten durch einen erhöhten Druck von O<sub>2</sub> in die Zellen anpasst und an normoxische Bedingungen heranzuführt. Dadurch kann die mitochondriale ATP-Synthese schneller ablaufen und die [PCr]-Erholung beschleunigt sich.

Masschelein et al. gingen mit ihren Versuchen in Hypoxie noch weiter [87]. Für die sportlichen Tests simulierten sie eine Höhe von 5000 m (11% O<sub>2</sub>) und untersuchten 15 Probanden und Probandinnen auf die Oxygenierung der Arterien, Muskeln und des Gehirns, sowie auf Zeichen der akuten Höhenkrankheit und die Zeit bis zur Erschöpfung. Über einen sechstägigen Zeitraum konsumierten die Testpersonen Rote-Bete-Saft (0,07 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg KG/Tag) oder ein Placebo. Danach absolvierten sie Fahrradergometer-Tests in Normoxie und Hypoxie, bei submaximaler (45% VO<sub>2</sub>max, 20 min) Intensität gefolgt von einem Test bis zur Erschöpfung. Im Gegensatz zu den Studien von Vanhatalo et al. [86] konnte Rote-Bete-Saft die sportlichen Leistungen nicht auf die gleichen erreichten Werte unter Normoxie steigern. Die Zeit

bis zur Erschöpfung verringerte sich in der Placebogruppe um 36% und in der Nitratgruppe um 31% in Hypoxie im Vergleich zur Belastung unter normalen Sauerstoffbedingungen. Die Sauerstoffsättigung konnte sowohl in den Arterien (2,7% bei 45%  $\text{VO}_2\text{max}$ ) als auch in den Muskeln (~4-5% bei submaximaler und maximaler Intensität) erhöht werden, jedoch blieb sie unverändert für das Gehirn. In Bezug auf die Symptome akuter Höhenkrankheit gab es keine Unterschiede zwischen den beiden Testgruppen. Mit der besseren Oxygenierung einhergehend war ein um ~4% geringerer Sauerstoffverbrauch bei submaximaler Belastung. Zusammengefasst schließen die Verfasser der Studie aus diesen Funden, dass die durch Hypoxie hervorgerufene Hemmung der oxidativen Energieproduktion in den Muskeln durch Nitratsupplementation vor dem Sport zum Teil rückgängig gemacht werden kann, auch in Höhen von bis zu 5000 m.

Den nächsten Schritt in der Untersuchung von dem Nitrategieffekt auf sportliche Leistung in Hypoxie gingen Muggenridge et al. im Jahr 2014 [88]. Ihnen ging es um den akuten Effekt (3 Stunden vor Aktivität) einer einzelnen Dosis Rote-Bete-Saft (5,0 mmol  $\text{NO}_3^-$ ) auf den Sauerstoffverbrauch bei submaximaler Belastung und die 16,1 km Zeitfahrleistung in simulierter Höhe (2500 m, 15%  $\text{O}_2$ ). Dazu wiesen sie neun Probanden und Probandinnen an, zunächst 15 min bei submaximaler Intensität an einem Fahrradergometer zu fahren. Nach einer fünfminütigen Pause folgte der 16,1 km lange Zeitfahrversuch. Verglichen zur Placebogruppe senkte sich der Sauerstoffverbrauch während der 15 min bei 60%  $W_{\text{max}}$  und die TT-Leistung verbesserte sich um ~2,2% (1702±15 s vs 1664±14 s).

Einen vollkommen neuen Aspekt der Nitratwirkung untersuchten Puype et al. in ihrer Studie aus dem Jahr 2015 [91]. In dem bisher längsten Supplementationschema, unabhängig von der Sauerstoffumgebung, gaben sie 22 Personen Rote-Bete-Saft (0,07 mmol/kg KG/Tag) oder ein Placebo über einen Zeitraum von sechs Wochen, um den Effekt auf die Trainingsleistung zu bestimmen. Vier Tage nach Beginn der Supplementationschema unterzogen sich die Probanden und Probandinnen einem Prätest, um die akuten Effekte der Nitrate zu eliminieren. Anschließend folgte ein Trainingsprogramm auf einem Fahrradergometer in hypoxischer Umgebung (~4000 m Höhe, 12,5%  $\text{O}_2$ , 6 Wochen, 5x30 min/Woche bei 4-6 mmol/l Blutlaktat). Die Forschungsgruppe vermutete, Nitrat könnte durch den geringeren Sauerstoffverbrauch und die gesteigerte sportliche Belastbarkeit in Höhe, ohne Veränderung des Laktatwertes, die Trainingsleistung verbessern, die Personen zu intensiveren Trainingseinheiten

führen und dadurch den positiven Effekt im abschließenden Posttest unter normalen Sauerstoffbedingungen steigern. Entgegen ihrer Erwartungen gab es keine Unterschiede in der Steigerung der Leistung beim TT-Versuch, der anaeroben Grenze und der  $VO_2\text{max}$  zwischen der Placebogruppe und der Nitratgruppe nach der sechswöchigen Trainingsphase. Puype et al. vermuten, dass die gegebenen Dosen nicht ausreichten, um einen Effekt auf das tägliche Training zu haben, da die  $NO_3^-$ -Menge immer über die drei Mahlzeiten verteilt wurde. Beim durchschnittlichen Gewicht der Probanden und Probandinnen von ca. 72 kg ergibt das eine akute Dosis von 1,68 mmol  $NO_3^-$ , was weit unter den sonst üblichen 5-8 mmol liegt.

Eine andere Möglichkeit, die Auswirkungen von Nitraten unter Hypoxie zu testen, ist die komplette Apnoe durch Luftanhalten oder Tauchen. 2012 untersuchten Engan et al. diesen Umstand an zwölf Personen 2,5 Stunden nach einer  $NO_3^-$ -Dosis von 5,0 mmol [66]. Getestet wurde die arterielle Sauerstoffsättigung bei mehreren 2-minütigen Phasen des Luftanhaltens, unterbrochen von 3-minütigen Pausen. Anschließend absolvierten sie einen maximalen Apnoeversuch. Die Sättigung während der submaximalen Phasen erhöhte sich und die Dauer des maximalen Luftanhalteversuchs verlängerte sich um ca. 11% im Vergleich zur Placebogruppe ( $250\pm 58$  s vs  $278\pm 64$  s). Als Begründung führten die Forscher und Forscherinnen eine gesenkte Stoffwechselrate an, bedingt durch geringeren  $O_2$ -Konsum der Mitochondrien. Ein späterer Versuch diese Ergebnisse in einem ähnlichen Ansatz zu reproduzieren schlug jedoch fehl und wirkte sich sogar negativ auf die Sauerstoffsättigung und die maximale Apnoedauer in Ruhe und Belastung aus [90]. In Anbetracht der Messunsicherheit erscheint die Signifikanz einer verlängerten Apnoedauer fraglich.

Zusammengenommen umfassten die positiven Effekte von Nitrat auf den aktiven Körper in Hypoxie ein ähnliches Spektrum wie das in Normoxie. Die gegebenen  $NO_3^-$ -Mengen reichten von ~5 mmol [66] bis hin zu 9,3 mmol [86]. Das Interventionschema erfolgte dabei teilweise mit akuten (höchstens 24 Stunden vor Aktivität, [66, 86, 88]) und teilweise mit chronischen Dosen (3 Tage und mehr, [75, 87, 89, 90, 91]), ohne erkennbare Unterschiede in der Wirkung. Die getesteten sportlichen Aktivitäten umfassten die Kniestreckung, Fahrradfahren und Luftanhalten. Die maximale Verbesserung der sportlichen Belastbarkeit reichte bis zu 21% [86] und der Zeitfahrversuch ermittelte eine Verkürzung der Zeit um 2,2% verglichen mit der Pla-

cebogruppe [88]. Auffallend ist, dass sich in den Versuchen, die einen direkten Vergleich der Wirkung von Nitrat zwischen Normoxie und Hypoxie zogen, die sportliche Belastbarkeit, Muskelregeneration und der Sauerstoffverbrauch nur in Hypoxie verbesserten, nicht aber in Normoxie [75, 89]. Da es sich bei diesen positiven Auswirkungen aber um Effekte handelt, die vorher bereits auch unter normalen Sauerstoffbedingungen nachgewiesen wurden [1, 55], gilt es die genauen Hintergründe dafür in weiteren Versuchen genauer zu eruieren.

## ***4.6 Einnahmeprotokolle, Dauer, Dosen und Art der Nitratsupplementation***

### **4.6.1 Dauer**

Eine der größten Variablen in den verwendeten Studien war die verwendete Dauer der Nitratsupplementation. Zeitlich kann man diese in akute (innerhalb von 24 Stunden vor der sportlichen Aktivität) und chronische Einnahmen einteilen (mehrere Dosen über einen Zeitraum von mehr als 24 Stunden). Von den 43 hier untersuchten Studien nutzten 21 eine akute Dosis, etwa 75-180 Minuten vor dem Test und 25 mehrere Dosen über zwei oder mehr Tage verteilt. In beiden Fällen gab es fünf Studien, die keine ergogenen Effekte von Nitrat zeigen konnten, was bedeutet, dass es rein statistisch gesehen eine gewisse Tendenz dazu gibt, die Supplementation über einen längeren Zeitraum mit mehreren Dosen durchzuführen. Drei der Studien verglichen die Dauer unmittelbar miteinander und supplementierten  $\text{NO}_3^-$  über einen Zeitraum von bis zu 15 Tagen [56, 72, 84]. In den Versuchen wurde gezeigt, dass die Nitritkonzentration im Blut nach der akuten Gabe über 15 Tage hinweg auf einem konstanten Level gehalten werden kann [56, 72]. Die Nitratkonzentration hingegen war am Ende der Tests noch einmal höher als noch am ersten Testtag [56, 84]. Vanhatalo et al. zeigten zusätzlich einen größeren Effekt auf den Organismus nach 15 Tagen, allerdings konnte das in den anderen beiden Studien nicht bestätigt werden. Puype et al. unternahmen den bisher längsten Suppletionsversuch mit einer Dauer von sechs Wochen [91]. Zwar konnten auch sie die Nitratkonzentration über die gesamte Zeit konstant erhöhen, jedoch blieb dies ohne signifikante Auswirkungen auf ihre Versuchsergebnisse.

#### 4.6.2 Dosen

Neben der Dauer der Supplementation gab es auch in der Nitratmenge große Unterschiede. Die einzelnen Dosen reichten von 2,58 bis hin zu 19,5 mmol  $\text{NO}_3^-$ . Zwei Studien erforschten den direkten Vergleich unterschiedlicher akuter Mengen [45, 79]. Sie kamen beide zu dem Erkenntnis, dass eine gewisse Mindestmenge Nitrat notwendig ist, um eine ergogene Wirkung zu erzielen. In beiden Versuchen reichten 4,2 mmol  $\text{NO}_3^-$  nicht aus, um die sportlichen Leistungen der Probanden und Probandinnen signifikant zu verbessern. Erst bei einer Verdopplung der Dosis auf 8,4 mmol zeigten sich positive Effekte. Wylie et al. untersuchten außerdem die Wirkung noch höherer Mengen von bis zu 16,8 mmol, konnten aber keine zusätzlichen Effekte nachweisen [45]. Nur vier der in dieser Arbeit untersuchten Studien nutzten weniger als 5 mmol  $\text{NO}_3^-$  für ihre Versuche. In keiner einzigen zeigten sich ergogene Effekte. Größere Mengen als 9 mmol  $\text{NO}_3^-$  wurden in 12 Studien verabreicht, in 3 dieser Studien wurde keine ergogene Wirkung des Nitrats gefunden. Von den 31 Studien die Nitrat-Dosen zwischen 5 und 9 mmol verwendeten, zeigten nur 5 Studien keinen Effekt der Supplementation an. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass der optimale Bereich einer Nitratsupplementation zwischen 5 und 9 mmol liegt. Das entspricht den Mengen, die auch schon in einem Großteil der Studien verwendet wurden und die durch ein nitratreiches Essen erreicht werden können.

#### 4.6.3 Art der Supplementation

Um den alleinigen Effekt von Nitrat auf die sportliche Leistung zu untersuchen, umfassten gerade zu Beginn der Forschung einige Studien Nitratsalze wie  $\text{NaNO}_3$  oder  $\text{KNO}_3$  als Quelle von  $\text{NO}_3^-$  [1, 57, 59, 68]. Diese Suppletionsform entspricht aber nicht der Situation in Wirklichkeit, weil es ein pharmazeutisches Produkt ist. Natürliche Nitratquellen für die  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr sind vor allem nitratreiches Gemüse. Da es sich dabei um ein natürliches Produkt handelt, wechselten die Forscher und Forscherinnen schnell zu Rote-Bete-Saft als Nitratquelle. Besonders als durch Lansley et al. gezeigt wurde, dass der Nitratgehalt des Saftes selber für die positiven Effekte verantwortlich ist und nicht die weiteren darin enthaltenen Stoffe, stand dieser Suppletionsform nichts mehr entgegen [58]. Bezüglich der Wirksamkeit der unterschiedlichen Applikationsformen gibt es eine Tendenz, dass Rote-Bete-Saft effektiver sein könnte als ein Nitratsalz. Nur 8 der in dieser Arbeit verwendeten Studien

nutzten ein Salz für ihre Versuche. 3 von ihnen blieben ohne jegliche Effekte auf den menschlichen Organismus beim Sport. Diese stehen im Vergleich zu den restlichen 35 Versuchen, bei denen nur 6 ohne Wirkung blieben.

#### **4.7 Nitrate und Doping**

Nitrate stehen bislang noch nicht auf der aktuellen Liste der untersagten Mittel der Welt-Anti-Doping-Agentur [92]. Eine offizielle Meinung unter verschiedenen Anti-Doping-Agenturen existiert noch nicht, einzig die Stiftung Antidoping Schweiz klassifiziert Nitrate und Rote-Bete-Saft unter der Klasse B:

Supplemente, die im Sport Interesse geweckt haben. Bisher veröffentlichte Studien lassen aber keine Zuordnung in die Kategorie A, C oder D zu. Eine Einnahme sollte nur zu Forschungszwecken und/oder bei Beratung durch eine unabhängige Fachperson erfolgen. (Zitat nach [93]).

Damit stellen sie nach aktueller Rechtslage ein legales Nahrungsergänzungsmittel dar und dürfen sowohl im Amateur- als auch im Profi- und Leistungsbereich verwendet werden.

## 5 Diskussion

Diese Literaturstudie zeigt, dass in einer großen Mehrzahl der Untersuchungen (>80%) nitrathaltige Nahrungsergänzungsmittel eine potentiell gesundheitsfördernde und ergogene Wirkung haben. Zu den am häufigsten beobachteten Wirkungen zählen die Blutdrucksenkung, eine verbesserte Sauerstoffutilisation während des Sports, die gesteigerte sportliche Belastbarkeit und eine verbesserte sportliche Leistung in Normoxie und unter hypoxischen Bedingungen. Die positiven Effekte wirken dabei auf Sportarten wie Laufen, Radfahren, Rudern, Team- und Kraftsport.

### Einnahmeprotokolle

Das optimale Einnahmeprotokoll in den Studien umfasste einen Dosisbereich von 5 bis 9 mmol, ohne Effekt bei einer geringeren Dosis und ohne zusätzlichen ergogenen Effekt bei größeren Mengen. Derzeit gibt es keine Versuche, die darauf hindeuten, dass Mengen außerhalb dieses Bereiches vorteilhaft für den Sport sein könnten. Wylie et al. diskutieren in ihrer Studie zum Dosis-Wirkungs-Verhältnis sogar die Möglichkeit eines nitrosativen Stresses, ausgelöst durch eine zu große Menge Nitrat [45]. Sie führen das auf eine nitrataabhängige elektromechanische Kopplung der Muskeln zurück, welche durch zu hohe Dosen negativ beeinträchtigt werden könnte. Diese Theorien benötigen allerdings eine genauere Abklärung und sind bisher rein spekulativ.

Die Dauer der Supplementation zeigt eine Tendenz zur Bevorzugung einer chronischen Einnahme (mehrere Dosen über einen Zeitraum von mehr als 24 Stunden) gegenüber einer akuten Gabe (innerhalb von 24 Stunden vor der sportlichen Aktivität). Vanhatalo et al. gehen so weit zu sagen, man müsse akute und chronische Effekte in ihrer Wirkungsweise unterscheiden [56]. So kann der Blutdruck beispielsweise akut gesenkt werden, durch eine NO-vermittelte Vasodilatation [42]. Darüber hinaus führt die Vasodilatation im Sport zu einer schnelleren und besseren Sauerstoffversorgung im Muskelgewebe und ermöglicht so eine beschleunigte Anpassung an sportliche Belastungen [70, 71]. Zu den Effekten der chronischen Nitrategie zählen die verbesserte elektromechanische Kopplung und die Effizienzsteigerung der Mitochondrien [55, 59]. Dies wird dadurch deutlich, dass Auswirkungen, wie maximale Krafterzeugung und erhöhter  $VO_{2max}$ , erst nach 5-15 Tagen zu beobachten waren [56]. Vanhatalo et al. geben als möglichen Grund dafür an, dass

eine erhöhte NO-Verfügbarkeit die mitochondriale Genese und die Transkription von bestimmten Proteinen anregt, dies aber Zeit benötigt um wirksam zu werden. Bezüglich der Art der Nitrataufnahme könnte die natürliche Nitratsubstitution mit Rote-Bete-Saft eine leicht vorteilhafte Wirkung auf den menschlichen Körper haben, im Vergleich zu den Nitratsalzen. Wie bereits in Kapitel 2.4.2 beschrieben, wird die Bildung von Stickstoffmonoxid aus Stickstoffdioxid durch Nahrungsbestandteile wie z. B. Polyphenole gefördert. Diese sind in natürlichen Nitratquellen reichlich vorhanden und können so die Wirkungen verbessern. Darüber hinaus schützen sie den Körper durch die Hemmung der Nitrosaminbildung im Magenlumen nach der Aufnahme (s. Kapitel 3.1.2).

### Profitierende Sportbereiche

Wie in Kapitel 3.2.1 erläutert, korreliert die maximale Blutdrucksenkung mit der größten Konzentration von Nitrit im Blut nach etwa 2,5 bis 3 Stunden. Aufgrund dieser Tatsache nutzten ein Großteil der Sportstudien mit akutem Interventionsschema Zeitpunkte, die etwa in dem gleichen Bereich lagen, um die maximale akute Wirkung erzielen zu können. Auch bei chronischer Einnahme lag die Gabe der letzten Supplementation meist 2,5 Stunden vor dem sportlichen Test. Wo der Effekt bezüglich der Blutdrucksenkung jedoch über eine Dauer von bis zu fünf Stunden anhielt [44], blieb der positive Effekt auf den Sport meist auf einen Zeitraum von 5-30 Minuten beschränkt [1, 54, 60, 64]. Bisher blieben die Versuche über längere Zeitspannen ohne Erfolg [65, 80, 82]. Möglicherweise liegt das daran, dass die Intensität eines längeren Versuches geringer ist und die damit verbundene Blutumverteilung zum Ausgleich des Perfusionsdefizits über einen längeren Zeitraum ablaufen kann. Bei kurzen, intensiven sportlichen Belastungen werden hypoxische, saure Bedingungen in der Mikrozirkulation hingegen schnell erreicht, womit eine beschleunigte Anpassung an diese Umstände von Vorteil sein kann. Unterstützt wird diese These von zwei Studien, die zeigen, dass Nitrat vor allem auf Typ-II-Muskulatur wirkt und die  $VO_2$ -Kinetik beschleunigt [70, 71].

Für den akuten Anwendungsbereich ist daher denkbar, dass z. B. Läufer und Läuferinnen von Mitteldistanzstrecken zwischen 800 und 10000 Metern von einer Nitratsupplementierung profitieren könnten. Auch Ruderer und Ruderinnen, die ihre olympische Distanz über 2000 Meter absolvieren, könnten ihre Zeitfahrleistungen

möglicherweise entscheidend verbessern. Wie bereits von Hoon et al. angedeutet, sind Verbesserungen von bis zu 0,4% möglich, was ungefähr 1,6 Sekunden entspricht und im Rudern den Unterschied zwischen Sieg und Niederlage bedeuten kann [79]. Für Radfahrer und Radfahrerinnen lagen die Verbesserungen bei Zeitfahrversuchen zwischen 1,2 und 2,7% bei Strecken zwischen 4 und 16,1 km [60, 64]. Wie sich eine langzeitige, chronische Einnahme, mit den Effekten eines geringeren Sauerstoffverbrauches und einer verlangsamten Muskelermüdung und der damit verbundenen verlängerten sportlichen Belastbarkeit in einem Trainingsprogramm und im Wettkampf bemerkbar macht, muss noch genauer evaluiert werden. Der bisher einzige Versuch, Nitrate in einem 6-wöchigen Trainingsplan zu supplementieren und dadurch die Leistung zu verbessern blieb jedoch ohne Erfolg [91]. Auch die genauen Anwendungsbereiche in Hypoxie bedürfen noch einer genaueren Aufklärung in Bezug auf das genaue Ausmaß der Leistungssteigerungen und inwiefern eine Nitratsupplementierung beim Bergsteigen, Berglaufen und Radfahren profitabel sein könnte, da diese Belastungen die optimale Wirkungszeitspanne von 5-30 Minuten in Normoxie überschreiten. Die maximale Steigerung der sportlichen Belastbarkeit erreichte hier etwa 21% [86] und die größte Verbesserung eines Zeitfahrversuchs im Radfahren lag bei 2,2% über eine Strecke von 16,1 km [88].

## Zielgruppen

Fasst man die Studien aus dem Hauptteil und ihre Versuchsgruppen zusammen, so wurden insgesamt 515 Personen getestet. Es wurde deutlich, dass die Wirkung von Nitrat beeinflussbar ist durch Alter, Gesundheit, Ernährung und Fitnesszustand der Probanden und Probandinnen. Besonders die Fitness scheint einen großen Einfluss auf den Wirkungsgrad der Nitratsupplementierung zu haben. Eine Forschungsgruppe um Porcelli et al. testete erst kürzlich den Effekt einer sechstägigen Nitratsupplementierung ( $5,5 \text{ mmol NO}_3^-$ ) auf die Leistung von 21 Sportlern und Sportlerinnen mit unterschiedlichen Fitnessleveln [63]. Damit wollten sie aufklären, warum gerade Elite-Athleten und -Athletinnen nicht von den positiven Effekten von Nitraten profitieren. Dafür teilten sie die Versuchspersonen, gemessen an ihrer  $\text{VO}_2\text{peak}$ , in gering trainierte ( $\text{VO}_2\text{peak} < 45 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ), moderat trainierte ( $\text{VO}_2\text{peak} < 60 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) und gut trainierte Sportler und Sportlerinnen ( $\text{VO}_2\text{peak} \geq 60$

ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>) in drei Gruppen ein. Anschließend mussten die Testpersonen verschiedene Lauffests absolvieren, darunter ein schrittweise in der Intensität ansteigender Test bis zur Erschöpfung, vier 6-minütige Tests bei submaximaler Intensität (80% GET) und ein Zeitlauf über 3 km. Übereinstimmend mit den bisherigen Beobachtungen, nur gering bis moderat trainierte Sportler und Sportlerinnen profitieren von einer Nitratsupplementierung, senkte sich nur bei diesen der Sauerstoffverbrauch bei submaximaler Intensität. Zudem war die prozentuale Senkung des O<sub>2</sub>-Verbrauchs bei den gering trainierten größer als bei den moderat trainierten (7-13% vs 7-10%). Auch das Zeitlaufen über 3 km verbesserte sich bei den weniger trainierten Gruppen um 1-4%, wogegen es in der am besten trainierten Gruppe keine Unterschiede gab. Unterstützt wird dieses Ergebnis von der Tatsache, dass das durchschnittliche aerobe Fitnesslevel der Testpersonen in sieben von acht Studien, die keine positiven Effekte von Nitrat auf die sportliche Leistung feststellen konnten (s. Kapitel 4.4), über 60 ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> lag [65, 80, 81, 82, 83, 84, 85].

Der Grund dafür, dass gut trainierte Ausdauersportler und Ausdauersportlerinnen wenig bis keine positiven Wirkungen von Nitrat zeigen, ist weiterhin unklar und muss noch weiter untersucht werden. Bekannt ist jedoch, dass Elite-Athleten und -Athletinnen durch das Training über ein dichteres Kapillarnetz in ihren Muskeln verfügen [94]. Dieser Umstand kann dafür sorgen, dass die Mikrozirkulation bei sportlicher Belastung später in hypoxische, saure Bedingungen übergeht und die NO-Bildung über den NOS-unabhängigen Weg gehemmt wird. Darüber hinaus besitzen Sportler und Sportlerinnen eine größere eNOS Aktivität, die dafür sorgen könnte, dass der NO<sub>3</sub><sup>-</sup> → NO<sub>2</sub><sup>-</sup> → NO Bildungsweg an Bedeutsamkeit verliert [95]. Ein weiterer Aspekt, der eine mögliche Rolle spielt, ist die Muskelfasertyp-Spezifität. Wie schon erwähnt gibt es Hinweise darauf, dass Nitrat besser auf Typ-II-Muskulatur wirkt [70, 71]. Da bei Ausdauersportlern und Ausdauersportlerinnen aber das Verhältnis von Typ-I zu Typ-II-Muskulatur zugunsten ersterer verschoben ist, kann Nitrat hier nicht die gleiche Wirksamkeit auf den gesamten Organismus zeigen.

In Bezug auf die Fitness sollte in zukünftigen Studien untersucht werden, ob größere Dosen oder langfristige Supplementationsansätze einen Effekt bei gut trainierten Sportlern und Sportlerinnen auslösen können. Bis jetzt untersuchte eine Studie diese Aspekte, konnte aber auch mit Dosen bis zu 19 mmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup> oder einer 8-tägigen Einnahme keine Wirkung erzielen [84]. Auch Hypoxie-Bedingungen können

möglicherweise die Wirkungen signifikant hervorheben, die einzigen beiden Versuche mit Elite-Athleten und -Athletinnen in sauerstoffarmer Umgebung kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen [87, 91].

Die weiteren Einflussfaktoren auf die Nitratwirkung sind Alter, Gesundheitszustand und Ernährung. Das Alter ist insofern wichtig, da die NO-Bildung über den NOS → NO Weg durch eine geringere Verfügbarkeit von L-Arginin zunehmend gehemmt ist. Die einzige Studie zu diesem Thema wies abgesehen von einem gesenkten Blutdruck und verbesserter VO<sub>2</sub>-Kinetik aber keine positiven Einflüsse auf die Leistung nach [69]. Die Ernährung betreffend gab es bei den Rahmenbedingungen der Supplementation in fast allen Studien die Bedingungen, antibakterielle Mundspülungen, Alkohol und Koffein zu vermeiden, um die alleinige Wirkung von Nitrat beurteilen zu können. Unterschiede gab es lediglich in der Restriktion von Nitraten während des Untersuchungszeitraums durch das täglich aufgenommene Essen. Während die Nitrataufnahme in manchen Studien durch spezielle Essenspläne verboten war, um die genauen Dosen beurteilen zu können, gab es auch viele Versuche ohne Beschränkungen. Wie Lansley et al. in ihrer Studie anmerken, kann es ohne Restriktionen dazu kommen, dass NO<sub>3</sub> eine geringere Wirkung erzielt [58]. Es bleibt allerdings weiterhin unklar, wie sehr sich der beschriebene Effekt auf die Leistungen genau auswirkt und wieso dies der Fall ist.

#### Individuelle Unterschiede im Ansprechen auf Nitrate

Immer wieder kommt es in der Literatur zur Erwähnung von einem unterschiedlichen individuellen Ansprechen auf die Nitratsupplementation, also von Respondern und Nonrespondern [45, 61, 65, 82, 83, 84, 88]. Wilkerson et al. waren 2012 die ersten, denen Differenzen im Ansprechen auf Nitrate in ihrer Studie auffielen [65] (s. Kap. 4.4). Sie definierten „Responder“ und „Nonresponder“ als einen Plasmanitrit Anstieg von > 30% bzw. < 30%. Auch Bescós et al. teilten die Teilnehmer und Teilnehmerinnen ihres Versuchs nach dieser Definition in „Low-Responder“ und „High-Responder“ ein [82]. Während Wilkerson et al. dadurch aber entscheidende Unterschiede in der Zeitfahrleistung von Radfahrern und Radfahrerinnen über ca. 80 km festhielten, waren bei ihnen keine entscheidenden Differenzen zwischen den beiden Gruppen zu sehen. Wylie et al. machten ebenfalls die Beobachtung individueller Unterschiede beim Ansprechen auf Nitrat [45]. In ihren Untersuchungen war der

Plasmanitrit Spiegel allerdings auch nicht entscheidend für die beobachteten Unterschiede, vielmehr änderte sich das Ansprechen mit einer Steigerung der gegebenen  $\text{NO}_3^-$ -Dosis. Die Supplementationsdauer scheint hingegen keinen Effekt auf das Auftreten von Nonrespondern zu haben, wie Boorsma et al. in ihrer Studie zeigen [84]. Zumindest ein 8-tägiger Versuchsansatz blieb hier ohne Einfluss auf die Probanden und Probandinnen, denn sowohl akut als auch nach acht Tagen konnten bei den gleichen 2 der insgesamt 8 Läufer und Läuferinnen Verbesserungen der Testläufe erzielt werden. Wie schon Boorsma et al. ( $\text{VO}_{2\text{max}} > 80 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) kamen auch bei Christensen et al. nur Elite-Athleten und -Athletinnen zum Einsatz ( $\text{VO}_{2\text{max}} > 70 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) [83]. Mit ihren Ergebnissen unterstützen sie die Beobachtungen von Boorsma et al. insofern, als dass eine Nitratsupplementation zwar bei einem Großteil der gut trainierten Sportler und Sportlerinnen nicht profitabel ist, sich ein kleiner Anteil aber entscheidende Vorteile verschaffen könnte.

Die Gründe für die individuellen Unterschiede sind bisher nicht zu erklären. In zukünftigen Versuchen sollte auf das Auftreten von Respondern und Nonrespondern geachtet werden, um genauere Hintergründe und Mechanismen darlegen zu können.

## 6 Fazit

Abschließend kann man festhalten, dass Nitrate einen potentiell ergogenen Effekt auf den menschlichen Organismus während des Sports ausüben. Das aus den Studien hervorgehende optimale Einnahmeschema besteht bisher aus einer Dosis von 5-9 mmol  $\text{NO}_3^-$ , eingenommen akut oder über einen Zeitraum von bis zu 15 Tagen, mit der letzten Dosis ca. 2,5 Stunden vor der sportlichen Aktivität. Diese Aktivität sollte in einem Zeitrahmen von 5-30 Minuten liegen und bei submaximaler Intensität stattfinden. Die Zielgruppen mit dem größten Effekt stellen wenig bis moderat trainierte Personen dar. Unklar ist weiterhin der genaue Effekt auf Elite-Athleten und -Athletinnen, das Auftreten von Respondern und Nonrespondern, sowie die Wirkung auf das tägliche Training und die Supplementation über einen Zeitraum von mehreren Wochen oder Monaten. Auch die optimalen Intensitätsbereiche und die Wechselwirkungen mit anderen ergogenen Stoffen wie z. B. Koffein sind noch am Anfang der Forschung und sollten noch genauer untersucht werden. Zuletzt muss noch darauf hingewiesen werden, dass obwohl bisher keine Studie negative Auswirkungen auf den Organismus, gesundheitlich oder beim Sport, festgehalten hat, die Versuche alle nur über kurze Zeiträume stattfanden. Gerade mit der steigenden Popularität von Nitraten als ergogenes Hilfsmittel und der möglicherweise großen Zielgruppe dürfen die Langzeitwirkungen nicht außer Acht gelassen werden.

## 7 Literaturverzeichnis

- [1] Larsen FJ, Weitzberg E, Lundberg JO, Ekblom B. Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. *Acta Physiol (Oxf)*. 2007 Sep;191(1):59–66.
- [2] Mortimer CE, Müller U. 27. In: *Chemie*. 10. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2010. S. 431–444.
- [3] Panel E. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission to perform a scientific risk assessment on nitrate in vegetables. *The EFSA Journal*. 2008;689:1–79.
- [4] Campbell NA, Reece JB. 55. In: Kratochwil A, Scheibe R, Wieczorek H, editors. *Biologie*. 8. Aufl. München: Pearson Studium; 2011. S. 1663–1666.
- [5] Ward MH, deKok TM, Levallois P, Brender J, Gulis G, Nolan BT, et al. Workgroup report: Drinking-water nitrate and health—recent findings and research needs. *Environ Health Perspect*. 2005 Nov;113(11):1607–1614.
- [6] Hord NG, Tang Y, Bryan NS. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *Am J Clin Nutr*. 2009 Jul;90(1):1–10.
- [7] Aktories K, Forth W, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K, Henschler D, et al. 18. In: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 11. Aufl. München: Elsevier; 2013. S. 446–450.
- [8] Spiegelhalder B, Eisenbrand G, Preussmann R. Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: possible relevance to in vivo formation of N-nitroso compounds. *Food Cosmet Toxicol*. 1976 Dec;14(6):545–548.
- [9] Archer DL. Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. *J Food Prot*. 2002 May;65(5):872–875.
- [10] Qin L, Liu X, Sun Q, Fan Z, Xia D, Ding G, et al. Sialin (SLC17A5) functions as a nitrate transporter in the plasma membrane. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Aug;109(33):13434–13439.
- [11] Lundberg JO, Govoni M. Inorganic nitrate is a possible source for systemic generation of nitric oxide. *Free Radic Biol Med*. 2004 Aug;37(3):395–400.
- [12] Huppelsberg J, Walter K. 7. In: *Kurzlehrbuch Physiologie*. 3. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2009. S. 143.
- [13] Shiva S. Nitrite: A Physiological Store of Nitric Oxide and Modulator of Mitochondrial Function. *Redox Biol*. 2013;1(1):40–44.
- [14] Kapil V, Haydar SMA, Pearl V, Lundberg JO, Weitzberg E, Ahluwalia A. Physiological role for nitrate-reducing oral bacteria in blood pressure control. *Free Radic Biol Med*. 2013 Feb;55:93–100.

- [15] Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2008 Feb;7(2):156–167.
- [16] Ignarro LJ. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol.* 2002 Dec;53(4 Pt 1):503–514.
- [17] Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med.* 1993 Dec;329(27):2002–2012.
- [18] Lacza Z, Pankotai E, Csordás A, Gero D, Kiss L, Horváth EM, et al. Mitochondrial NO and reactive nitrogen species production: does mtNOS exist? *Nitric Oxide.* 2006 Mar;14(2):162–168.
- [19] Benjamin N, O’Driscoll F, Dougall H, Duncan C, Smith L, Golden M, et al. Stomach NO synthesis. *Nature.* 1994 Apr;368(6471):502.
- [20] Lundberg JO, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Intragastric nitric oxide production in humans: measurements in expelled air. *Gut.* 1994 Nov;35(11):1543–1546.
- [21] Millar TM, Stevens CR, Benjamin N, Eisenthal R, Harrison R, Blake DR. Xanthine oxidoreductase catalyses the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. *FEBS Lett.* 1998 May;427(2):225–228.
- [22] Basu S, Azarova NA, Font MD, King SB, Hogg N, Gladwin MT, et al. Nitrite reductase activity of cytochrome c. *J Biol Chem.* 2008 Nov;283(47):32590–32597.
- [23] Nohl H, Staniek K, Sobhian B, Bahrami S, Redl H, Kozlov AV. Mitochondria recycle nitrite back to the bioregulator nitric monoxide. *Acta Biochim Pol.* 2000;47(4):913–921.
- [24] Allen JD, Cobb FR, Gow AJ. Regional and whole-body markers of nitric oxide production following hyperemic stimuli. *Free Radic Biol Med.* 2005 May;38(9):1164–1169.
- [25] Peri L, Pietraforte D, Scorza G, Napolitano A, Fogliano V, Minetti M. Apples increase nitric oxide production by human saliva at the acidic pH of the stomach: a new biological function for polyphenols with a catechol group? *Free Radic Biol Med.* 2005 Sep;39(5):668–681.
- [26] Gago B, Lundberg JO, Barbosa RM, Laranjinha J. Red wine-dependent reduction of nitrite to nitric oxide in the stomach. *Free Radic Biol Med.* 2007 Nov;43(9):1233–1242.
- [27] World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality. Switzerland: World Health Organization; 2008 [Stand 16.11.2015]. URL: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/fulltext.pdf?ua=1](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/fulltext.pdf?ua=1).

- [28] Bruning-Fann CS, Kaneene JB. The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on human health: a review. *Vet Hum Toxicol.* 1993 Dec;35(6):521–538.
- [29] de Kok TMCM, Engels LGJB, Moonen EJ, Kleinjans JCS. Inflammatory bowel disease stimulates formation of carcinogenic N-nitroso compounds. *Gut.* 2005 May;54(5):731.
- [30] Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med.* 1990 Dec;323(24):1664–1672.
- [31] Herold G. 2. In: *Innere Medizin.* Köln: Herold, G; 2014. S. 148–149.
- [32] Jiang R, Paik DC, Hankinson JL, Barr RG. Cured meat consumption, lung function, and chronic obstructive pulmonary disease among United States adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007 Apr;175(8):798–804.
- [33] Varraso R, Jiang R, Barr RG, Willett WC, Camargo CA Jr. Prospective study of cured meats consumption and risk of chronic obstructive pulmonary disease in men. *Am J Epidemiol.* 2007 Dec;166(12):1438–1445.
- [34] Lang F. 9. In: *Taschenatlas Pathophysiologie.* 3. Aufl. Stuttgart: Stefan Silber-nagl, Florian Lang; 2009. S. 302–303.
- [35] Ward MH, Kilfoy BA, Weyer PJ, Anderson KE, Folsom AR, Cerhan JR. Nitrate intake and the risk of thyroid cancer and thyroid disease. *Epidemiology.* 2010 May;21(3):389–395.
- [36] van Maanen JM, Albering HJ, de Kok TM, van Breda SG, Curfs DM, Vermeer IT, et al. Does the risk of childhood diabetes mellitus require revision of the guideline values for nitrate in drinking water? *Environ Health Perspect.* 2000 May;108(5):457–461.
- [37] L'hirondel JL, Avery AA, Addiscott T. Dietary nitrate: where is the risk? *Environ Health Perspect.* 2006 Aug;114(8):A458–459; author reply A459–461.
- [38] Powlson DS, Addiscott TM, Benjamin N, Cassman KG, de Kok TM, van Grins-ven H, et al. When does nitrate become a risk for humans? *J Environ Qual.* 2008;37(2):291–295.
- [39] Siervo M, Lara J, Ogbonmwan I, Mathers JC. Inorganic nitrate and beetroot juice supplementation reduces blood pressure in adults: a systematic review and meta-analysis. *J Nutr.* 2013 Jun;143(6):818–826.
- [40] Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension.* 2003 Dec;42(6):1206–1252.
- [41] Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, Patel RP, Reiter CD, Martyr S, et al. Nitrite

reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med*. 2003 Dec;9(12):1498–1505.

- [42] Kapil V, Milsom AB, Okorie M, Maleki-Toyserkani S, Akram F, Rehman F, et al. Inorganic nitrate supplementation lowers blood pressure in humans: role for nitrite-derived NO. *Hypertension*. 2010 Aug;56(2):274–281.
- [43] Larsen FJ, Ekblom B, Sahlin K, Lundberg JO, Weitzberg E. Effects of dietary nitrate on blood pressure in healthy volunteers. *N Engl J Med*. 2006 Dec;355(26):2792–2793.
- [44] Webb AJ, Patel N, Loukogeorgakis S, Okorie M, Aboud Z, Misra S, et al. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension*. 2008 Mar;51(3):784–790.
- [45] Wylie LJ, Kelly J, Bailey SJ, Blackwell JR, Skiba PF, Winyard PG, et al. Beetroot juice and exercise: pharmacodynamic and dose-response relationships. *J Appl Physiol* (1985). 2013 Aug;115(3):325–336.
- [46] Björne H H, Petersson J, Phillipson M, Weitzberg E, Holm L, Lundberg JO. Nitrite in saliva increases gastric mucosal blood flow and mucus thickness. *J Clin Invest*. 2004 Jan;113(1):106–114.
- [47] Weller R, Price RJ, Ormerod AD, Benjamin N, Leifert C. Antimicrobial effect of acidified nitrite on dermatophyte fungi, *Candida* and bacterial skin pathogens. *J Appl Microbiol*. 2001 Apr;90(4):648–652.
- [48] Allaker RP, Silva Mendez LS, Hardie JM, Benjamin N. Antimicrobial effect of acidified nitrite on periodontal bacteria. *Oral Microbiol Immunol*. 2001 Aug;16(4):253–256.
- [49] Carlström M, Larsen FJ, Nyström T, Heze IM, Borniquel S, Weitzberg E, et al. Dietary inorganic nitrate reverses features of metabolic syndrome in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Oct;107(41):17716–17720.
- [50] Gonzalez FM, Shiva S, Vincent PS, Ringwood LA, Hsu LY, Hon YY, et al. Nitrite anion provides potent cytoprotective and antiapoptotic effects as adjunctive therapy to reperfusion for acute myocardial infarction. *Circulation*. 2008 Jun;117(23):2986–2994.
- [51] Webb A, Bond R, McLean P, Uppal R, Benjamin N, Ahluwalia A. Reduction of nitrite to nitric oxide during ischemia protects against myocardial ischemia-reperfusion damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Sep;101(37):13683–13688.
- [52] Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev*. 2001 Jan;81(1):209–237.
- [53] Jones AM. Dietary nitrate supplementation and exercise performance. *Sports Med*. 2014 May;44 Suppl 1:S35–45.

- [54] Bailey SJ, Winyard P, Vanhatalo A, Blackwell JR, DiMenna FJ, Wilkerson DP, et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O<sub>2</sub> cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2009 Oct;107(4):1144–1155.
- [55] Bailey SJ, Fulford J, Vanhatalo A, Winyard PG, Blackwell JR, DiMenna FJ, et al. Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2010 Jul;109(1):135–148.
- [56] Vanhatalo A, Bailey SJ, Blackwell JR, DiMenna FJ, Pavey TG, Wilkerson DP, et al. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010 Oct;299(4):R1121–1131.
- [57] Larsen FJ, Weitzberg E, Lundberg JO, Ekblom B. Dietary nitrate reduces maximal oxygen consumption while maintaining work performance in maximal exercise. *Free Radic Biol Med*. 2010 Jan;48(2):342–347.
- [58] Lansley KE, Winyard PG, Fulford J, Vanhatalo A, Bailey SJ, Blackwell JR, et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O<sub>2</sub> cost of walking and running: a placebo-controlled study. *J Appl Physiol* (1985). 2011 Mar;110(3):591–600.
- [59] Larsen FJ, Schiffer TA, Borniquel S, Sahlin K, Ekblom B, Lundberg JO, et al. Dietary inorganic nitrate improves mitochondrial efficiency in humans. *Cell Metab*. 2011 Feb;13(2):149–159.
- [60] Cermak NM, Gibala MJ, van Loon LJC. Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2012 Feb;22(1):64–71.
- [61] Muggeridge DJ, Howe CCF, Spendiff O, Pedlar C, James PE, Easton C. The effects of a single dose of concentrated beetroot juice on performance in trained atwater kayakers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2013 Oct;23(5):498–506.
- [62] Bond V Jr, Curry BH, Adams RG, Millis RM, Haddad GE. Cardiorespiratory function associated with dietary nitrate supplementation. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014 Feb;39(2):168–172.
- [63] Porcelli S, Ramaglia M, Bellistri G, Pavei G, Pugliese L, Montorsi M, et al. Aerobic Fitness Affects the Exercise Performance Responses to Nitrate Supplementation. *Med Sci Sports Exerc*. 2015 Aug;47(8):1643–1651.
- [64] Lansley KE, Winyard PG, Bailey SJ, Vanhatalo A, Wilkerson DP, Blackwell JR, et al. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. *Med Sci Sports Exerc*. 2011 Jun;43(6):1125–1131.
- [65] Wilkerson DP, Hayward GM, Bailey SJ, Vanhatalo A, Blackwell JR, Jones AM.

- Influence of acute dietary nitrate supplementation on 50 mile time trial performance in well-trained cyclists. *Eur J Appl Physiol*. 2012 Dec;112(12):4127–4134.
- [66] Engan HK, Jones AM, Ehrenberg F, Schagatay E. Acute dietary nitrate supplementation improves dry static apnea performance. *Respir Physiol Neurobiol*. 2012 Jul;182(2-3):53–59.
- [67] Kelly J, Vanhatalo A, Wilkerson DP, Wylie LJ, Jones AM. Effects of nitrate on the power-duration relationship for severe-intensity exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2013 Sep;45(9):1798–1806.
- [68] Bescós R, Rodríguez FA, Iglesias X, Ferrer MD, Iborra E, Pons A. Acute administration of inorganic nitrate reduces  $\dot{V}O_{2peak}$  in endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 2011 Oct;43(10):1979–1986.
- [69] Kelly J, Fulford J, Vanhatalo A, Blackwell JR, French O, Bailey SJ, et al. Effects of short-term dietary nitrate supplementation on blood pressure,  $O_2$  uptake kinetics, and muscle and cognitive function in older adults. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2013 Jan;304(2):R73–83.
- [70] Breese BC, McNarry MA, Marwood S, Blackwell JR, Bailey SJ, Jones AM. Beetroot juice supplementation speeds  $O_2$  uptake kinetics and improves exercise tolerance during severe-intensity exercise initiated from an elevated metabolic rate. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2013 Dec;305(12):R1441–1450.
- [71] Bailey SJ, Varnham RL, DiMenna FJ, Breese BC, Wylie LJ, Jones AM. Inorganic nitrate supplementation improves muscle oxygenation,  $O_2$  uptake kinetics, and exercise tolerance at high but not low pedal rates. *J Appl Physiol* (1985). 2015 Jun;118(11):1396–1405.
- [72] Fulford J, Winyard PG, Vanhatalo A, Bailey SJ, Blackwell JR, Jones AM. Influence of dietary nitrate supplementation on human skeletal muscle metabolism and force production during maximum voluntary contractions. *Pflugers Arch*. 2013 Apr;465(4):517–528.
- [73] Thompson KG, Turner L, Prichard J, Dodd F, Kennedy DO, Haskell C, et al. Influence of dietary nitrate supplementation on physiological and cognitive responses to incremental cycle exercise. *Respir Physiol Neurobiol*. 2014 Mar;193:11–20.
- [74] Haider G, Folland JP. Nitrate supplementation enhances the contractile properties of human skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc*. 2014 Dec;46(12):2234–2243.
- [75] Vanhatalo A, Jones AM, Blackwell JR, Winyard PG, Fulford J. Dietary nitrate accelerates postexercise muscle metabolic recovery and  $O_2$  delivery in hypoxia. *J Appl Physiol* (1985). 2014 Dec;117(12):1460–1470.
- [76] Hernández A, Schiffer TA, Ivarsson N, Cheng AJ, Bruton JD, Lundberg JO, et

- al. Dietary nitrate increases tetanic  $[Ca^{2+}]_i$  and contractile force in mouse fast-twitch muscle. *J Physiol*. 2012 Aug;590(Pt 15):3575–3583.
- [77] Bond H, Morton L, Braakhuis AJ. Dietary nitrate supplementation improves rowing performance in well-trained rowers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2012 Aug;22(4):251–256.
- [78] Wylie LJ, Mohr M, Krustup P, Jackman SR, Ermidis G, Kelly J, et al. Dietary nitrate supplementation improves team sport-specific intense intermittent exercise performance. *Eur J Appl Physiol*. 2013 Jul;113(7):1673–1684.
- [79] Hoon MW, Jones AM, Johnson NA, Blackwell JR, Broad EM, Lundy B, et al. The effect of variable doses of inorganic nitrate-rich beetroot juice on simulated 2,000-m rowing performance in trained athletes. *Int J Sports Physiol Perform*. 2014 Jul;9(4):615–620.
- [80] Cermak N M, Res P, Stinkens R, Lundberg JO, Gibala MJ, van Loon LJC. No improvement in endurance performance after a single dose of beetroot juice. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2012 Dec;22(6):470–478.
- [81] Peacock O, Tjønnå AE, James P, Wisløff U, Welde B, Böhlke N, et al. Dietary nitrate does not enhance running performance in elite cross-country skiers. *Med Sci Sports Exerc*. 2012 Nov;44(11):2213–2219.
- [82] Bescós R, Ferrer-Roca V, Galilea PA, Roig A, Drobnic F, Sureda A, et al. Sodium nitrate supplementation does not enhance performance of endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 2012 Dec;44(12):2400–2409.
- [83] Christensen PM, Nyberg M, Bangsbo J. Influence of nitrate supplementation on  $VO_2$  kinetics and endurance of elite cyclists. *Scand J Med Sci Sports*. 2013 Feb;23(1):e21–31.
- [84] Boorsma RK, Whitfield J, Spriet LL. Beetroot juice supplementation does not improve performance of elite 1500-m runners. *Med Sci Sports Exerc*. 2014 Dec;46(12):2326–2334.
- [85] Hoon MW, Hopkins WG, Jones AM, Martin DT, Halson SL, West NP, et al. Nitrate supplementation and high-intensity performance in competitive cyclists. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014 Sep;39(9):1043–1049.
- [86] Vanhatalo A, Fulford J, Bailey SJ, Blackwell JR, Winyard PG, Jones AM. Dietary nitrate reduces muscle metabolic perturbation and improves exercise tolerance in hypoxia. *J Physiol*. 2011 Nov;589(Pt 22):5517–5528.
- [87] Masschelein E, Van Thienen R, Wang X, Van Schepdael A, Thomis M, Hespel P. Dietary nitrate improves muscle but not cerebral oxygenation status during exercise in hypoxia. *J Appl Physiol (1985)*. 2012 Sep;113(5):736–745.
- [88] Muggeridge DJ, Howe CCF, Spendiff O, Pedlar C, James PE, Easton C. A single dose of beetroot juice enhances cycling performance in simulated altitude.

Med Sci Sports Exerc. 2014 Jan;46(1):143–150.

- [89] Kelly J, Vanhatalo A, Bailey SJ, Wylie LJ, Tucker C, List S, et al. Dietary nitrate supplementation: effects on plasma nitrite and pulmonary O<sub>2</sub> uptake dynamics during exercise in hypoxia and normoxia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014 Oct;307(7):R920–930.
- [90] Schiffer TA, Larsen FJ, Lundberg JO, Weitzberg E, Lindholm P. Effects of dietary inorganic nitrate on static and dynamic breath-holding in humans. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013 Jan;185(2):339–348.
- [91] Puype J, Ramaekers M, Van Thienen R, Deldicque L, Hespel P. No effect of dietary nitrate supplementation on endurance training in hypoxia. *Scand J Med Sci Sports*. 2015 Apr;25(2):234–241.
- [92] World Anti-Doping Agency. The 2015 Prohibited List International Standard; 2014 [Stand 05.11.2015]. URL: <https://wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/wada-2015-prohibited-list-en.pdf>.
- [93] Stiftung Antidoping Schweiz. Nitrat und Randensaft; 2013 [Stand 05.11.2015]. URL: [http://www.antidoping.ch/sites/default/files/downloads/2014/130326\\_fb\\_nitrat\\_und\\_randensaft.pdf](http://www.antidoping.ch/sites/default/files/downloads/2014/130326_fb_nitrat_und_randensaft.pdf).
- [94] Jensen L, Bangsbo J, Hellsten Y. Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2004 Jun;557(Pt 2):571–582.
- [95] McAllister RM, Laughlin MH. Vascular nitric oxide: effects of physical activity, importance for health. *Essays Biochem*. 2006;42:119–131.