

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Professor Dr. Matthias Graw

Ascorbylradikale und oxidativer Stress unter oraler, bolusartiger Alkoholbelastung beim Menschen mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von dem Arzt
Michael Karrer
aus Ebingen (Albstadt)

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: apl. Professor Dr. med. Thomas Gilg

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Markus Backmund
Professor Dr. Michael Soyka
Professor Dr. Horst Zitzelsberger

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Professor Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 06.10.2011

Meinen Eltern
gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	6
2. Grundlagen	9
2.1 Reaktive Sauerstoffspezies (Reactive Oxygen Species, ROS), allgemeine Aspekte	9
2.2 Radikalfänger, speziell Ascorbylradikale	11
2.3 ROS, Radikalfänger und Alkohol.....	13
3. Material und Methode.....	14
3.1 Material und Studienaufbau.....	14
3.2 Methoden	19
3.2.1 Elektronenspinresonanz (ESR) oder Electron Paramagnetic Resonance (EPR)	19
3.2.2 Blutalkoholanalyse (BAK-Analyse), Begleitstoffmethode	22
3.2.3 Rechnerische, graphische und statistische Auswertung und Darstellung	22
4. Ergebnisse.....	24
4.1 Normalwerte / Nullwerte Ascorbylradikale.....	24
4.2 Ascorbylradikale nach O ₂ -angereichertem Wasser / Sauerstoffwasser ohne Alkohol.....	24
4.3 Ascorbylradikale und BAK nach Alkoholaufnahme in Form von Bier, Rotwein, Wodka und Obstbranntwein, jeweils mit normalem Mineralwasser und mit O ₂ -angereichertem Wasser, Einzelbeispiele mit absoluten Ascorbylradikalkonzentrationen	27
4.3.1 Bier (6 Versuchspersonen, Abb.9-14)	32
4.3.2 Wein (6 Versuchspersonen, Abb. 15 – 20).....	39
4.3.3 Wodka (6 Versuchspersonen, Abb. 21-26).....	46
4.3.4 Obstbranntwein (6 Versuchspersonen, Abb. 27-32).....	53
4.4 Inter- und intraindividuelle Vergleiche.....	59
5. Diskussion.....	62

6. Zusammenfassung	67
7. Abkürzungsverzeichnis.....	69
8. Versuchsprotokoll.....	71
9. Literaturverzeichnis	72
10. Danksagung	76

1. Einleitung

Nach dem Energy Drink Red Bull kam Ende der 1990er Jahre Sauerstoffwasser aus Österreich auf den deutschen Markt. Nachdem in Österreich kein konkretes Gesundheitsrisiko belegt war, musste Deutschland das Produkt „dulden“, allerdings nur mit einer befristeten Ausnahmegenehmigung für neun Jahre. Wenn bis dahin kein wissenschaftlicher Nachweis eines ernährungsphysiologischen Vorteils des Sauerstoffzusatzes erbracht wird, könnte das das Aus am deutschen Markt bedeuten. Allerdings waren zumindest 2010 noch entsprechende Getränke der Firma Adelholzener auf dem Markt.

Seither findet man in den Regalen von Supermärkten und Tankstellen Getränke mit Sauerstoffanreicherung und Sauerstoffgehalten zwischen 40 und 200 mg pro Liter, laut Etikett, garantiert jeweils bis zum Mindesthaltbarkeitsdatum. Ansonsten kommt es wegen der Flüchtigkeit des Sauerstoffs selbst in verschlossenen, angebrochenen Flaschen zu Verlusten bis zur Hälfte (vgl. Stiftung Warentest 5/2003).

Das neue „Wundermittel“ sollte nach Herstellerangaben neben einer Stärkung des Immunsystems, gesteigerter Durchblutung und höherer Leistungsfähigkeit auch eine Optimierung des Stoffwechsels ermöglichen.

Piantadosi (2006) bezweifelte einen Anstieg des Sauerstoffpartialdrucks in der Leber, während Forth et al. (2001) davon ausgingen, dass eine Sauerstoffanreicherung über den Gastrointestinaltrakt in der Leber erfolgt, da ein Anstieg des O₂-Partialdrucks in der Bauchhöhle und der Pfortader nachweisbar war. Berücksichtigt man, dass ein normaler Atemzug von 500 ml bei 20,9 % O₂-Gehalt der Luft 100 ml O₂ enthält, so ist angesichts der Konzentrationsverhältnisse im Vergleich zur physiologischen Sauerstoffaufnahme über die Lunge (ca. 20 – 500 g pro Stunde gegenüber maximal 24 – 226 mg über einen Liter O₂-Wasser) nicht von einer relevanten systemischen Wirkung auszugehen (Hampson 2003, Leibetseder 2005, Piantadosi 2006). Hampson et al (2003) stellten keine signifikanten Unterschiede bei cardiopulmonalen Belastungen mit und ohne oxygeniertem Wasser fest. Arnaud (2006) diskutiert darüber hinaus mögliche Risiken durch die Sauerstofferhöhung in der Pfortader und der Leber, die sorgfältig überprüft werden sollten.

Vorstellbar erscheint, dass – insbesondere sauerstoffabhängige - Stoffwechselvorgänge in der Leber beeinflusst werden, wie z.B. beim Alkoholabbau (Stowell und Crow, 1985) oder auch bei hepatischen Perfusionsstörungen. Neben Metabolismusbeschleunigungen kommt allerdings auch eine vermehrte Bildung von Radikalen durch eine Sauerstoffgabe in Betracht.

Erhöhte Radikalkonzentrationen („oxidativer Stress“) können generell durch eine Reihe von Belastungen auftreten und beispielsweise gastrische Läsionen verursachen, an der Pathogenese von toxischen und kanzerogenen Veränderungen am Ösophagus und Intestinaltrakt beteiligt sein und zur Entstehung einer Leberzirrhose beitragen (Albano 1996, 2006, Reinke 1997). Auch an der Entstehung von Autoimmunerkrankungen bei alkoholkranken Patienten scheinen Radikale für die Genese von Autoantikörpern

mitverantwortlich zu sein, ebenso bei anderen Erkrankungen (Bagenholm et al. 1997, Halliwell und Gutteridge 1989, Masumizu et al. 2005, Pietri et al. 1990).

Inzwischen besteht eine Vielzahl von Publikationen über Bildung und Auswirkungen von Sauerstoffradikalen. Auch über Radikalbildungen nach Alkoholeinwirkung und mögliche, toxische Wirkungen wurde berichtet (Albano und Clot 1996, Albano 1996, Cederbaum 1989, Reinke und Moore 1997, Moore et al. 1995), meistens jedoch nach chronischer Alkoholbelastung und in Tierversuchen. Bereits 1890 sollen oxygenierte Absinthgetränke gesundheitliche Vorteile gehabt haben und wie nach Versuchen in den 1920/30er Jahren Symptome einer Alkoholintoxikation abgeschwächt haben. Versuche mit Rattenleberscheiben hätten positive Zusammenhänge zwischen Sauerstoffsättigung und Alkoholelimination gezeigt (Übersicht bei Lachenmeier und Rehm 2010).

1978 berichteten Hyvärinen et al. über einen beschleunigten Ethanolabbau bei drei Makaken, denen zusätzlicher Sauerstoff über entsprechend angereicherte Getränke zugeführt wurde. Im Humanversuch konnten diese Ergebnisse nach Aufnahme von 200ml oxygeniertem Wasser allerdings nicht bestätigt werden (Laakso et al. 1979, Maring und von Wartburg 1980). Die Arbeit von Baek et al. (2010) beschreibt eine beschleunigte Ethanolelimination und Reduktion von hangover, weist jedoch erhebliche Mängel auf, die in einem kritischen Leserbrief von Lachenmeier und Rehm 2010 dargestellt werden und auch durch die Antwort der Autoren nicht hinreichend entkräftet werden.

Jedoch stellt sich die Frage inwieweit bereits eine bolusartige Einnahme von Ethanol ohne Sauerstoffanreicherung die Bildung von Sauerstoffradikalen beeinflusst und welchen Einfluss sauerstoffangereichertes Wasser im Vergleich zu normalem Wasser in Verbindung mit Alkohol hat.

Ergebnisse aus Humanversuchen über die Auswirkungen kurzzeitiger, bolusartiger Alkoholbelastung beim Menschen auf den Metabolismus von Sauerstoffradikalen waren nicht auffindbar, speziell nicht im Hinblick auf Pharmakokinetik und eine Differenzierung nach verschiedenen alkoholischen Getränken mit unterschiedlichen Begleitstoffspektren und Auswirkungen auf den Radikalstoffwechsel (z.B. mögliche Wirkung von Radikalfängern in Rotwein). Die kürzliche Mitteilung von Baek et al. (2010) über eine raschere Alkoholelimination unter Einfluss von Sauerstoffwasser stützt sich nicht auf Alkoholabbauwerte, sondern lediglich auf das Erreichen des Endpunkts der Alkoholelimination bzw. das Erreichen von „0,00“, mit nicht überzeugenden Differenzen und auf einem ungeeigneten Konzept basierend (vgl. auch Lachenmeier und Rehm 2010).

Zu einer Vielzahl von Antioxidantien bzw. „Radikalfängern“ wie Enzymen (Superoxiddismutasen, Glutathionperoxidasen u.a) und Substanzen wie Glutathion u.a. zählen auch Vitamin E und Vitamin C bzw. Ascorbinsäure. Der Nachweis einer vermehrten Bildung von Ascorbylradikalen widerspiegelt zwar nicht den gesamten oxidativen Stresstatus, gilt jedoch als entsprechender Marker (Ashton et al. 1999, Buettner 1993, Halliwell 1989, Pietri 1990, 1994, Roginsky 1994).

Schoenberg et al. konnten 2002 im Humanversuch bei regelmäßiger Aufnahme von Sauerstoff-angereichertem Wasser (ab 30 mg Sauerstoff/Liter) eine zeitlich begrenzte, geringe Erhöhung der Serumkonzentration des Ascorbylradikals nachweisen. Gruber et al.

(2005) berichten über eine Erhöhung von Ascorbylradikalen beim Menschen von 48 auf 65 nmol / L ab einem Sauerstoffzusatz von 30 mg/L im Wasser.

Systematische Trinkversuche mit Alkohol, mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser, zur Frage eines oxidativen Stress mit möglichen Auswirkungen auf den Stoffwechsel von Ethanol und Begleitstoffen wurden nach der verfügbaren Literatur bisher offenbar nicht durchgeführt. Die vorliegende Arbeit soll als Teil einer umfassenderen Untersuchung diese Problematik über eine Analyse und Auswertung von Ethanol und Ascorbylradikalen als Indikator einer Radikalbildung bzw. von oxidativem Stress erhellen (Ethanolmetabolismus und Begleitstoffe wurden in zwei weiteren Arbeiten getrennt untersucht).

2. Grundlagen

Oxidativer Stress wird als Missverhältnis zwischen Prooxidantien und Antioxidantien definiert, wobei Prooxidantien wie reaktive Sauerstoffspezies (ROS) überwiegen. Wesentliche Ursachen für die Bildung von ROS sind Veränderungen im Bereich der Elektronentransportkette in den Mitochondrien, im Rahmen des Alterungsprozesses, sowie bei allen Zuständen, die mit einem Ischämie/Reperfusion-Phänomen einhergehen (z.B. Organtransplantationen, vgl. Gößling 2007). Allgemein sind Radikale Verbindungen mit einem ungepaarten und dadurch sehr reaktiven Elektron (vgl. Übersicht über die ansonsten komplexen Verhältnisse bei Wingler und Schmidt 2009).

2.1 Reaktive Sauerstoffspezies (Reactive Oxygen Species, ROS), allgemeine Aspekte

Reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) – auch oft ungenau als „Sauerstoffradikale“ bezeichnet – sind für den Organismus schädliche Formen des Sauerstoffs, die bei oxidativem Stress und damit bei verschiedensten Erkrankungen sowie beim Alterungsprozess eine wesentliche pathophysiologische Rolle spielen. Reaktive Sauerstoffspezies bewirken u.a. Oxidationen von Proteinen und Lipiden.

Zu den ROS gehören zum einen freie Radikale wie das Hyperoxid-Anion $O_2^{\cdot-}$ (alte Bezeichnung: Superoxid-Anion) das hochreaktive Hydroxyl-Radikal OH^{\cdot} , das Peroxylradikal ROO^{\cdot} und das Alkoxyradikal RO^{\cdot} von Lipiden, zum anderen stabile molekulare Oxidantien wie Wasserstoffperoxid H_2O_2 , Hydroperoxid $ROOH$, Ozon O_3 und das Hypochlorit-Anion OCl^- sowie angeregte Sauerstoffmoleküle (Singulett-Sauerstoff 1O_2).

ROS in einer Übersicht (aus <http://www.wikipedia.de>):

Formelzeichen	Bezeichnung	Anmerkung
$O_2^{\cdot-}$	Hyperoxid-Anion	freies Radikal, Second Messenger, alte Bezeichnung: Superoxid-Anion
HO^{\cdot}	Hydroxyl-Radikal	freies Radikal, hochreaktiv
HOO^{\cdot}	Perhydroxyl-Radikal	freies Radikal
ROO^{\cdot}	Peroxylradikal	freies Radikal
RO^{\cdot}	Alkoxyradikal	freies Radikal, bei Lipiden
H_2O_2	Wasserstoffperoxid	Edukt zur Bildung anderer ROS, Second Messenger
$ROOH$	Hydroperoxid	

O_3	Ozon
OCl^-	Hypochlorit-Anion
1O_2	Singulett-Sauerstoff angeregtes Sauerstoffmolekül

Im Organismus entstehen reaktive Sauerstoffspezies in den Mitochondrien als Nebenprodukt der Zellatmung (durch Monoaminoxidasen und im Rahmen der Atmungskette an Komplex I und an Komplex III), aber auch durch Entzündungszellen, um so Viren und Bakterien zu schädigen. ROS (vor allem Wasserstoffperoxid und Stickstoffmonoxid) kommen auch bei der pflanzlichen Abwehr von Pathogenen zum Einsatz. Umweltgifte sowie Zigarettenrauch und Alkohol sind weitere bedeutende Quellen für die Bildung von ROS.

Durch die Reaktion des Hyperoxid-Anions $O_2^{\cdot-}$ mit Stickstoffmonoxid NO entsteht zudem Peroxynitrit $ONOO^-$, das mit Stickstoffmonoxid zusammen als Reaktive Stickstoffspezies (RNS) bezeichnet wird und eine ebenfalls hochreaktive Verbindung darstellt (allerdings kein freies Radikal ist). ROS und RNS sind somit wichtige Oxidantien, denen im Körper die Antioxidantien entgegenwirken (vgl. Abb.1).

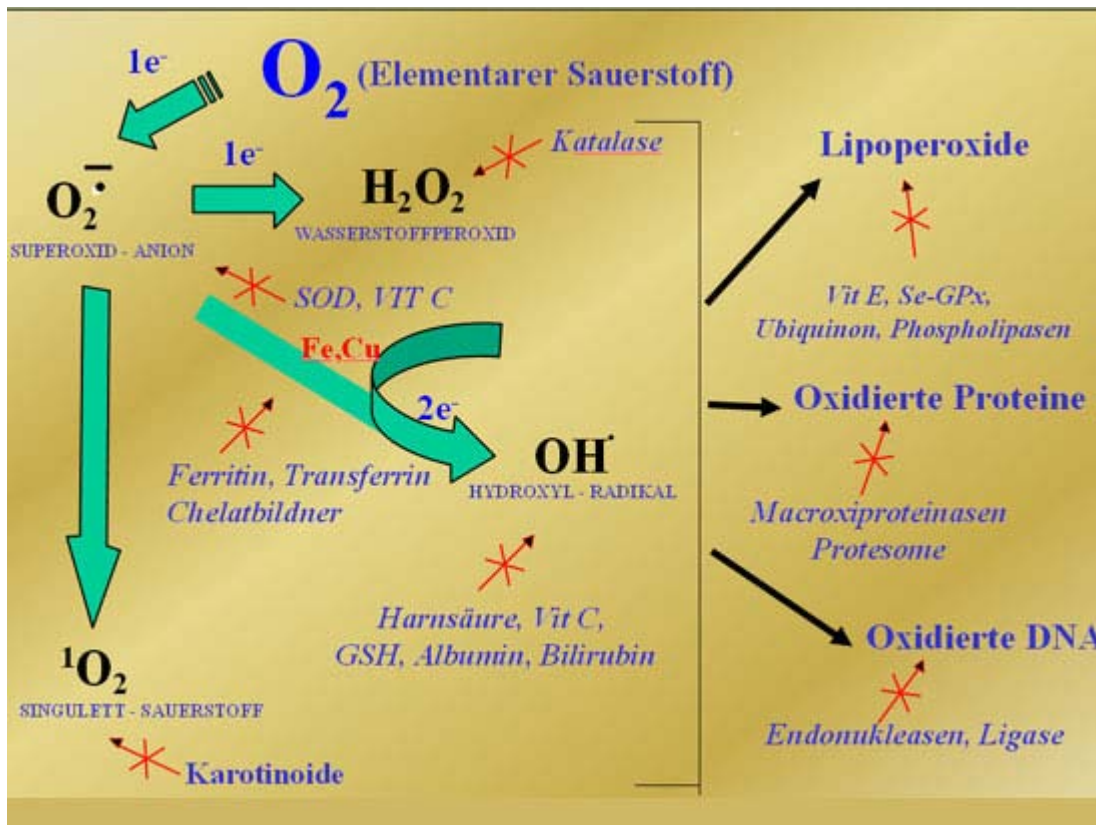


Abb. 1: O_2 , Radikale und Oxidationswege / Produkte (aus <http://www.probiox.com>)

Zitierte, neuere Studien schreiben ROS wie dem Hydroperoxid und dem Wasserstoffperoxid neben der Generierung oxidativen Stresses eine wichtige Signalfunktion (Rhee et al. 1999, Kishida 2007) z.B. im Gehirn bei der Signalübertragung, der synaptischen Plastizität und der Gedächtnisbildung zu. Sie wirken dort zudem stark vasodilatierend (gefäßerweiternd) und scheinen daher wichtig für die Steigerung des zerebralen Blutflusses und des zerebrovaskulären Tonus zu sein.

2.2 Radikalfänger, speziell Ascorbylradikale

Wichtigste Bestandteile eines antioxidativen Schutzsystems sind Enzyme wie Katalasen, Superoxid-Dismutasen und Glutathionperoxidase bzw. das Glutathion-System, daneben antioxidativ wirksame Moleküle wie das Tripeptid Glutathion, Ubichinon, Carotinoide und Vitamin C und Vitamin E.

Während Vitamin E ein hydrophobes, membrangebundenes Antioxidans ist, ist Ascorbinsäure (Vitamin C) ein wasserlösliches Vitamin und Antioxidans in der hydrophilen Phase. Unter physiologischen Bedingungen ist es an einer Vielzahl von Hydroxylierungen als Reduktionspartner und Elektronendonator beteiligt, wie z.B. im Rahmen der Biosynthese von Kollagen, Carnithin, Katecholaminen und Peptidneurohormonen. Durch antioxidative Reaktionen oder innerhalb der Biosynthese kann Ascorbinsäure zum Intermediat Ascorbyl-Radikal und weiter zur Dehydroascorbinsäure oxidiert und durch die Dehydroascorbatdehydrogenase in Ascorbinsäure umgewandelt werden (Plecko et al. 1998, Wilson 2002). Ascorbylradikale sind – neben anderen Parametern - natürliche Indikatoren und Schutzfaktoren für oxidativen Stress (Roginsky et al. 1994). Eine Induktion der Bildung von Ascorbylradikalen erfolgt beispielsweise durch Eisen.

Vitamin C (Ascorbinsäure, $C_6H_8O_6$) wird nicht vom Körper synthetisiert, der tägliche Bedarf liegt bei etwa 75-100mg. Seine Plasmakonzentration hängt stark von der Ernährung und von Änderungen des Blutflusses in der Leber ab (z.B. nach körperlicher Belastung). Vitamin C ist ein ausgezeichneter ROS-Fänger und kann unterschiedliche biologische Substrate (Proteine, Fettsäuren, DNA) vor einer Oxidation schützen. In physiologischen Konzentrationen ist Vitamin C in der Lage, die durch verschiedene ROS-Bildungssysteme (aktivierte neutrophile Granulozyten, aktivierte Endothelzellen, Myeloperoxidase) verursachte LDL-Oxidation zu verhindern. Bei seiner Oxidation zu Dehydroascorbinsäure nimmt Vitamin C vorübergehend eine intermediäre Radikalform an (Ascorbyl-Radikal), die in der Regenerierungs-Kaskade von Vitamin E aus oxidiertem Vitamin eine wichtige Rolle spielt (Abb.2, aus: <http://www.probiox.com>). Dehydroascorbinsäure wird über eine Redoxreaktion mit Glutathion wieder zu Vitamin C regeneriert.



Abb.2: Zusammenhänge zwischen Vitamin C, Ascorbylradikal, Vitamin E

Bei der Wechselwirkung zwischen Lipid-Radikalen und Vitamin E wird Vitamin E in das Tocopheryl-Radikal umgewandelt. Vitamin C ermöglicht die Regenerierung des gebildeten Tocopheryl-Radikals (oxidiertes Vitamin E) in aktives Vitamin E. Nach einer "Ein-Elektron Oxidation" wird Ascorbinsäure zum Ascorbylradikal, das mittels ESR im Plasma nachgewiesen werden kann (Methode z.B. bei Masumizu et al. 2005, Mouithys-Mickalad et al. 1997).

Bei oxidativem Stress wird Vitamin C verbraucht. Nach mehreren Studien wie u.a. von Gey et al. (1987) sollen Vitamin-C-Werte unterhalb von $4 \mu\text{g/ml}$ mit einem erhöhten Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebserkrankungen einhergehen.

Trotz seiner Instabilität kann Vitamin C bei sofortiger und angemessener Behandlung der Blutprobe routinemäßig bestimmt werden, normale Konzentrationen im Blutplasma liegen im Bereich von $30 - 60 \mu\text{mol/l}$.

Normwerte der Plasmakonzentrationen werden wie folgt angegeben: $6,21 - 15,18 \mu\text{g/ml}$ bzw. mg/l (Männer); $8,6 - 18,8 \mu\text{g/ml}$ (Frauen), aus: <http://www.probiox.com>. Schönberg et al. (2002) fanden $12,4 \pm 5,1 \text{ mg/l}$ bzw. $\mu\text{g/l}$, bei Referenzwerten von $5 - 15 \text{ mg/l}$.

2.3 ROS, Radikalfänger und Alkohol

Alkohol wirkt als oxidativer Stressfaktor. Im Rahmen des Ethanolmetabolismus zu Acetaldehyd entsteht ein unpaares Elektron bzw. ist eine Bildung von 1-Hydroxyethylradikalen bei Ratten in in vivo Versuchen nach Alkoholgabe nachgewiesen (Moore et al. 1995, Stoyannovski und Cederbaum 1998). Möglicherweise bestehen Zusammenhänge zwischen dem im Rahmen der Radikalbildung entstehenden Wasserstoffperoxid H_2O_2 und dem Katalase vermittelten Ethanolabbau (der eigentlich sonst beim Ethanolabbau kaum eine Rolle spielt, vgl. Lieber 1999, 2005, Pagliaro 1992, Seitz 2000). Auch über Cytochrom P450 2E1, das ggf. bei Alkoholmissbrauch induziert ist, kann oxidativer Stress mit ggf. erhöhten ROS bzw. Wasserstoffperoxiden oder Acetyl- und Methylradikalen resultieren, mit möglicher Zellschädigung (Kovacic 2005, Koop 2006).

Eventuell können antioxidierende Eigenschaften beispielsweise von (Rot)Wein wie über Polyphenole eine Rolle spielen (Sato 1996, Jamroz 2001). Polyphenole wie in roten Trauben oder in dunkler Schokolade stimulieren die NO- bzw. Stickoxydproduktion und hemmen NADPH-Oxidasen, während ROS direkt oder indirekt NO-Aktivitäten schädigen können. Entsprechende Effekte könnten die beschriebenen kardioprotektiven Wirkungen eines moderaten Rotweinkonsums erklären (Wingler und Schmidt 2009).

3. Material und Methode

3.1 Material und Studienaufbau

Nach Zusage auf einen Antrag zur Gewährung von Fördermitteln aus der Stiftung der MMW wurde die Studie mit 7500 € unterstützt (Entschädigungen für Versuchspersonen, allg. Sachkosten: ca. 600 Radikalbestimmungen, ca. 1500 Blutuntersuchungen auf Alkohol und 1500 auf Begleitstoffe). Die Studie erfolgte unter 3 Aspekten bzw. Zielsetzungen:

1. Verhalten von Ethanol und Acetaldehyd mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser
2. Verhalten von Begleitstoffen
3. Verhalten von Ascorbylradikalen (vorliegende Arbeit)

Durchgeführt wurden 4 Versuchsreihen mit je 6 gesunden Versuchspersonen und an je 2 Samstagen im Wochenabstand, somit insgesamt 24 Versuche. Je Versuchsreihe wurden als alkoholisches Getränk Rotwein, Wodka, Bier und Obstbranntwein verabreicht. Je Versuchstag wurde innerhalb jeder Versuchsreihe randomisiert, placebokontrolliert und doppelblind eine zusätzliche Aufnahme von Wasser mit O₂-Anreicherung oder mit normalem O₂-Gehalt durchgeführt. Zusätzlich wurde eine weitere Versuchsreihe an nur einem Versuchstag ohne Alkoholeinnahme unter alleiniger Aufnahme von sauerstoffangereichertem Wasser festgelegt. Diese Versuchsreihe diente als Kontrollgruppe um den alleinigen Einfluss von sauerstoffangereichertem Wasser gegenüber der bolusartigen Einnahme von Alkohol auf die Bildung von Ascorbylradikalen einschätzen zu können.

Die Versuche wurden mit 21 gesunden freiwilligen Personen durchgeführt, davon 20 männlichen im Alter von 17 bis 28 Jahren sowie einer weiblichen im Alter von 25 Jahren. Alle Probanden wurden mit einem Aufklärungsbogen und mündlich über den Versuchsablauf informiert und aufgeklärt und nahmen nach Zustimmung freiwillig teil, bei einer Aufwandsentschädigung von 50 € je Versuchstag. Den Probanden stand es frei, ihre Teilnahme ohne Angabe von Gründen jederzeit abzubrechen. Keine der Versuchspersonen machte von dieser Möglichkeit Gebrauch. Drei der männlichen Versuchspersonen nahmen an zwei Experimenten, zwei der männlichen Versuchspersonen nahmen an drei Experimenten teil, zwei Versuchsteilnehmer hatten Restalkohol an einem Versuchstag, ein Versuchsteilnehmer musste wegen Übelkeit und Erbrechen den Versuch abbrechen. Einzelne Vorversuche bzw. erste Versuche waren wegen Ausfall der Kühlzentrifuge hinsichtlich der dann zu niedrigen und nicht plausiblen Ascorbylradikalwerte nicht verwertbar und wurden wiederholt. Insgesamt standen 24 gültige Versuche zur Auswertung zur Verfügung.

Eine eventuell kurzfristige Einnahme von Radikalfängern, die Einnahme von Medikamenten und das Vorliegen von chronischen Erkrankungen, insbesondere Stoffwechselerkrankungen wurden abgefragt. Sämtliche Probanden waren gesund, hatten keine Stoffwechselerkrankungen und nahmen keine Dauermedikation ein.

Zum Ausschluss einer Leberfunktionsstörung wurden bei allen Versuchspersonen GOT, GPT und γ -GT überprüft. Die vor Versuchsbeginn ermittelten Leberwerte lagen im Normbereich.

GOT 28–50	U/L	(Referenzbereich	männlich	28-50,	weiblich	10-35	U/L)
GPT 13-44	U/L	(Referenzbereich	männlich	10-50,	weiblich	10-35	U/L)
γ -GT 9-46	U/L	(Referenzbereich	männlich	< 66,	weiblich	< 39	U/L)

Versuchsperson	Alter/ Geschlecht	KG(kg)/ KL(cm)	BMI	redezuiertes KG (kg), bei r=0,7	Ethanol bei 1g / kg (KG)	Alkoholart	Trinkmenge 1g/kg KG gerundet	Theor. Cmax nach Widmark	Trinkgewohnheiten
V/8	24 / m	83 / 190	23	58,1	83	Obstler 38,0%	280 ml	1,47‰	10-12 Bier/Woche
V/4	28 / m	91 / 187	26	63,7	91	Bier 5,6%	2250 ml	1,58‰	8-10 Bier/Woche
V/2	26 / m	71 / 184	21	49,7	71	Bier 5,6%	1750 ml	1,58‰	12-14 Bier/Woche
IV/5	24 / m	85 / 193	23	59,5	85	Rotwein 12,0%	850 ml	1,37‰	gelegentlich
IV/3	28 / m	74 / 179	23	51,8	74	Rotwein 12,0%	740 ml	1,37‰	1 Bier/Tag
V/3	26 / m	90 / 185	26	63	90	Weissbier 4,8%	2500 ml	1,52‰	gelegentlich
V/5	24 / m	68 / 175	22	47,6	68	Obstler 38,0%	220 ml	1,44‰	gelegentlich
III/2	17 / m	74 / 180	23	51,8	74	Weissbier 4,8%	1950 ml	1,48‰	1 Bier/Tag
IV/2	17 / m	75 / 180	23	52,5	75	Rotwein 12,0%	750 ml	1,37‰	1 Bier/Tag
III/1	23 / m	83 / 179	26	58,1	83	Weissbier 4,8%	2000 ml	1,45‰	2 Bier/Tag
IV/4	23 / m	82 / 179	26	57,4	82	Rotwein 12,0%	820 ml	1,37‰	2 Bier/Tag
V/9	23 / m	80 / 182	24	56	80	Obstler 38,0%	260 ml	1,41‰	6 Bier/Woche
IV/1	19 / m	70 / 178	22	49	70	Rotwein 12,0%	700 ml	1,37‰	2 Bier/Woche
III/3	27 / m	93 / 186	27	65,1	93	Weissbier 4,8%	2500 ml	1,47‰	2 Bier/Tag
V/6	27 / m	93 / 186	27	65,1	93	Obstler 38,0%	300 ml	1,40‰	2 Bier/Tag
II/5	23 / m	60 / 176	19	42	60	Rotwein 12,0%	630 ml	1,44‰	3-4 Bier/Woche
V/1	23 / m	70 / 192	19	49	70	Obstler 38,0%	240 ml	1,47‰	10 Bier/Woche
V/7	25 / w	63 / 171	22	37,8 (r=0,6)	63	Obstler 38,0%	180 ml	1,43‰	10-12 Bier/Woche
III/4	23 / m	65 / 179	20	45,5	65	Wodka 40,0%	200 ml	1,41‰	1-2 Bier/Tag
III/5	28 / m	74 / 179	23	51,8	74	Wodka 40,0%	230 ml	1,42‰	1 Bier/Tag
II/3	24 / m	74 / 184	22	51,8	74	Wodka 40,0%	230 ml	1,42‰	gelegentlich
II/2	25 / m	73 / 182	22	51,1	73	Wodka 40,0%	220 ml	1,38‰	1 Bier/Tag
II/1	21 / m	92 / 187	26	64,4	92	Wodka 40,0%	280 ml	1,39‰	2 Bier/Tag
II/4	23 / m	84 / 188	24	58,8	84	Wodka 40,0%	260 ml	1,41‰	2 Bier/Tag

1g Ethanol /kg KG ergibt nicht 1‰ BAK als Maximalwert, sondern aufgrund des Verteilungsraums / Widmarkfaktors bei r=0,7 entspricht dies 1,428‰

Tab. 1

Die Alkoholversuche fanden an 2 aufeinanderfolgenden Samstagen statt, mit einer Ausnahme: Da ein Proband am 2. Versuchstag mit Restalkohol im Blut erschien, wurde der 2. Versuchstag in der darauffolgenden Woche wiederholt. Nach diesen Versuchen erhielten drei Personen an einem letzten Versuchstag nur O₂-angereichertes Wasser ohne Alkohol. Nur an diesem Versuchstag wussten Untersucher und Probanden, dass ausschließlich O₂-angereichertes Wasser getrunken wurde.

Die Versuchspersonen wurden in vier Gruppen eingeteilt, wobei jede Gruppe ein alkoholhaltiges Getränk zugewiesen bekam. Es wurden Versuche mit Rotwein (Affaltracher Dornfelder 12 %vol), Bier (Unertl Weißbier 4,8 %vol und Augustiner Edelstoff 5,6 %vol, je drei Mal), Obstbranntwein (Obstwässerli August Kranz 38 %vol) und Wodka (Moskovskaya 40 %vol) durchgeführt. In der Gruppe mit Obstbranntwein hatten 2 der 6 Versuchspersonen Restalkohol an einem Versuchstag, die Ergebnisse wurden bei entsprechender kritischer Beurteilung mit einbezogen.

Die Versuchspersonen erhielten die Auflage, gegen 8 Uhr ein normales (kontinentales) Frühstück zu sich zu nehmen und ab dann Nahrungskarenz einzuhalten, der Versuchsbeginn war für 11 Uhr angesetzt. Erst nach Abschluss der Alkoholresorption (2 Stunden nach Trinkende) wurden belegte Brötchen zum Verzehr gereicht.

Die orale Alkoholbelastung betrug bei den männlichen Versuchspersonen innerhalb einer Stunde 1,0 g Alkohol/kg Körpergewicht, bei weiblichen 0,9 g Alkohol/kg Körpergewicht, entsprechend einer Ziel-BAK von 1,0 bis 1,2 ‰. Begleitend zur Alkoholaufnahme mussten die Probanden an den beiden Versuchstagen je einmal sauerstoffangereichertes Wasser und einmal normales Wasser trinken, in zufällig festgelegter Reihenfolge und zwar 0,3 Liter Wasser zu Beginn des Trinkversuches und alle 30 Minuten bis Trinkende, sowie dann mindestens 0,3 Liter Wasser jede weitere Stunde, ad libidum, d.h. ohne Beschränkung der Wasseraufnahme. Bis zum Zeitpunkt nach der Auswertung der Daten hatten weder die Probanden noch die Untersucher eine Information über die Art des zugeführten Mineralwassers. Das Design der Studie war deshalb doppelblind, kontrolliert und gekreuzt.

Das sauerstoffangereicherte Wasser war von der Firma Adelholzener, Marke O₂ Active, damals in 0,5 Liter Glasflaschen, und enthielt nach Herstellerangaben physikalisch gelöst mindestens 60, durchschnittlich aber 90mg O₂/Liter Wasser. Das normale Wasser, das 4 – 7mg O₂/Liter Wasser enthält, wurde von der Herstellerfirma in die gleichen Flaschen abgefüllt und dann von einem Dritten (Frau Schönberg) mit roter bzw. grüner Farbe markiert, so dass weder die Probanden noch die Versuchsleiter den Inhalt der Flaschen kannten. Aktuell werden 2010 von Adelholzener 5 verschiedene Arten in 0,75 Liter Kunststoffflaschen angeboten, mit dem 25fachen O₂-Gehalt gegenüber normalem Mineralwasser, also mindestens 40mg/L gegenüber normal 2,5mg/L. Getrunken wurde meist direkt aus den Glasflaschen, die danach per Aluminiumschraubverschluss verschlossen wurden. Die Abgabemengen an Wasser und Alkohol wurden auch zeitlich protokolliert. Die Trinkmengen an Wasser lagen bei mindestens 4,0 Liter bis zu 9,5 Liter über mindestens 6 Stunden (die einzige Frau hatte als Mindesttrinkmenge 2,5 Liter bzw. 3,5 Liter). Dies entspricht bei mindestens 60 mg O₂ pro Liter nach Herstellerangabe (s.o.) einer Sauerstoffbelastung von mindestens 240 – 570 mg bzw. bei maximal möglichen 90 mg O₂ pro Liter Sauerstoffbelastungen von maximal 360 bis 855 mg. Durchschnittlich wurden 6,2 Liter getrunken, entsprechend ca. 360 bis 540 mg O₂.

Bevor mit der Alkoholaufnahme begonnen wurde, wurde den Versuchspersonen durch den betreuenden Anästhesisten und Verfasser der Dissertation zur Blutentnahme ein peripher-venöser Zugang in die Cubital- oder eine großkalibrige Unterarmvene gelegt. Sodann wurde die Null-Blutprobe entnommen, außerdem wurde eine Atemalkoholprobe zur Verifizierung der Alkoholnüchternheit durchgeführt. Die Blutproben wurden nach Trinkbeginn für 3 Stunden alle 30 Minuten entnommen, dann alle 60 Minuten, insgesamt bis zu acht Stunden nach Trinkbeginn, insgesamt im Laufe der zwei Versuchstage 48 Blutproben. Zu jedem Zeitpunkt wurden je zwei Proben direkt hintereinander entnommen. Pro Blutentnahme (BE) wurden etwa je 6 ml (EDTA), in Sarstedt Monovetten, abgenommen. Insgesamt wurden zweimal je 12 Blutproben pro Versuchstag, entsprechend 144 ml Blut abgenommen.

Die 1. Blutprobe war für die Bestimmung des Ascorbylradikals und der Begleitstoffe. Die Blutprobe wurde sofort auf Eis verbracht, dann in der Kühlzentrifuge über 3 Minuten bei 4°C und zwischen 3500 bis 5000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma sofort abpipettiert und umgehend bei mindestens -18°C eingefroren. Der Transport des Plasmas zum Speziallabor für die Messungen des Ascorbylradikals erfolgte in flüssigem Stickstoff.

Bei einer Pilotuntersuchung hatten sich – bei defekter Kühlzentrifuge – keine verwertbaren bzw. deutlich erniedrigte und im gleichen Bereich befindliche Werte ergeben (vgl. teils entsprechend auffällige Werte und Verläufe wie z.B. in Abb. 16, Abb. 22 und Abb. 23).

Die 2. Blutprobe unmittelbar danach erfolgte für die Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) und zu einer weiteren Begleitstoffanalyse. Nach routinemäßiger Kühlschrankschlagerung bei 4°C erfolgten die Analysen innerhalb von zwei Tagen. Dies entspricht Routineverhältnissen, eine Veränderung der BAK ist dabei nicht gegeben bzw. gegenüber einer enzym- und abbauhemmenden Vorbehandlung mit Eis und Kühlzentrifuge konzentrationsmässig und analysenbedingt nicht abgrenzbar. Im Gegensatz dazu sind auf Grund der hohen Empfindlichkeit der Begleitstoffmethode eventuelle Veränderungen bzw. in vitro und ggf. enzymatisch bedingte Abnahmen der Ethanol- und Begleitstoffkonzentrationen erfassbar.

Die quantitative Bestimmung des Ascorbylradikals erfolgte mittels Elektron-Spin-Resonance-Technik aus dem tiefgekühltem Plasma, entsprechend der Routinemethode wie bei der Nachfolgefirma Synotexx (<http://www.synotexx.de>, vgl. auch Beschreibung in Schoenberg et al. 2002 und Gruber et al. 2005).

Die Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) erfolgte nach den Richtlinien zur Feststellung des Alkohols im Blut für forensische Zwecke, jede Probe wurde jeweils zweifach mittels validierter ADH-Methode und Head-Space-Gaschromatographischer Methode im Institut für Rechtsmedizin der LMU München untersucht. Der aus diesen vier Werten berechnete Mittelwert wurde dann für die weiteren Berechnungen verwendet. Zur Bestimmung einer möglichen enzymatischen in vitro Abbaukapazität von Alkohol durch ADH (vgl. Meier-Tackmann et al. 1981) wurden Acetaldehyd als erstes Alkoholabbauprodukt sowie die Serumalkoholkonzentration (SAK) mitbestimmt. Die Acetaldehyd- sowie die SAK-Werte wurden über die Begleitstoffmethode ermittelt. In einer anderen Auswertung (Dissertation Julia Döring) wurden die Alkohol-

Abbaugeschwindigkeiten und das Verhalten von Acetaldehyd mit und ohne sauerstoffangereichertes Wasser verglichen. Dazu wurden BAK-Werte verwendet, die mindestens 0,15 ‰ betragen (der Umschlagspunkt zwischen linearem und exponentiellem Abbau liegt in der Regel unter einer BAK von 0,1‰, Mattern et al.1983, Wolf 1982) und aus Blutproben mindestens zwei Stunden nach Trinkende stammen oder früher, wenn aus dem individuellen Kurvenverlauf eindeutig zu entnehmen ist, dass die Resorption sicher abgeschlossen ist. Die angelegten BAK-Kurven zeigen in diesem Bereich einen nahezu linearen Rückgang der BAK.

Die Studie wurde als randomisierte, placebokontrollierte Doppelblindstudie angelegt. Die Zielsetzung waren Untersuchungen zum Verhalten von Sauerstoffradikalen unter bolusartiger Alkoholbelastung über die Bestimmung von Ascorbyl-Radikalen, mit und ohne Gabe von sauerstoffangereichertem Wasser.

3.2 Methoden

3.2.1 Elektronenspinresonanz (ESR) oder Electron Paramagnetic Resonance (EPR)

Die paramagnetische Elektroresonanz (EPR) ist die Technik der Wahl für die direkteste Visualisierung der freien Radikale, die möglich ist. Freie Radikale besitzen ein ungepaartes Elektron, das sich wie ein Kreisel um sich selbst dreht und dabei ein magnetisches Feld induziert. Wird das freie Radikal in ein durch zwei starke Magneten gebildetes Magnetfeld platziert, kommt es zur Absorption von Energie, die sich als Spektrum optisch darstellen lässt. Das auf diese Weise erhaltene Signal ist dann eine Art Fingerabdruck für jeden Radikal-Typ (vgl. Abb.3).

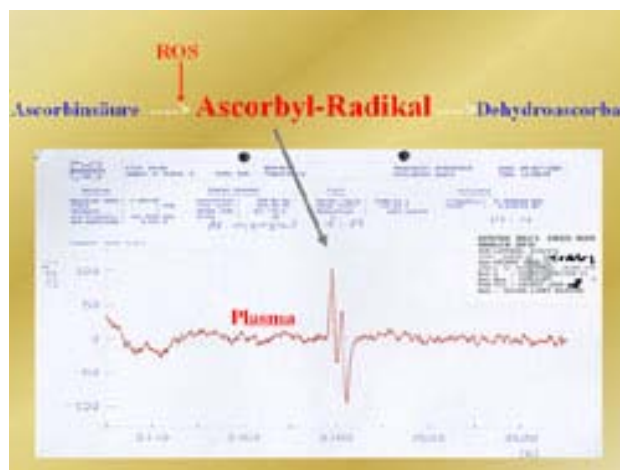


Abb. 3: ESR/EPR Beispiel (aus: <http://www.probiox.com>)

Die Intensität des Signals ist der Menge an freien Radikalen in der untersuchten biologischen Probe direkt proportional, so dass eine quantitative Bestimmung der Bildung an freien Radikalen möglich ist. Unter Einsatz einiger technischer Raffinessen (sog. spin traps) lässt sich die EPR in der klinischen Routine zum Nachweis z.B. des Superoxid-Anions in Plasmaproben nutzen.

Mit Hilfe der EPR lässt sich auch das Ascorbyl-Radikal im Plasma nachweisen. Dabei handelt es sich um eine radikalische Intermediärform zwischen Ascorbinsäure und ihrem oxidierten Endprodukt, der Dehydroascorbinsäure. Die Bestimmung des Ascorbyl-Radikals ist insofern interessant, da sie die Unterscheidung ermöglicht, ob niedrige Vitamin-C-Spiegel durch eine unzureichende Zufuhr des Antioxidantiums über die Nahrung oder durch oxidativen Stress verursacht sind. Gehen niedrige Vitamin-C-Plasmaspiegel mit normalen Werten für den Quotienten Vit.C/Ascorbyl-Radikal einher, weist dies auf eine geringe Vitaminzufuhr hin. Dagegen weisen (selbst normale) Vitamin-C-Spiegel im Zusammenhang mit einem niedrigen Quotienten aus Vit.C/Ascorbyl-Radikal auf das Vorliegen von oxidativem Stress hin.

Normwerte der Plasmakonzentrationen des Ascorbyl-Radikals werden bei Probiox angegeben: 0,28 - 0,44 „willkürliche Einheiten“.

Normwerte für das Verhältnis Vit.C/Ascorbyl-Radikal im Plasma:
20,73 - 39,29 (Bestimmung mit einem Jeol FR300).

Eine gute Beschreibung des Status Quo bzgl. der Testverfahren und der Beurteilung bietet die homepage der Firma Probiox:

„ ...Derzeit gibt es mehr als 80 potentiell nutzbare Testverfahren, aber nur gut 30 von ihnen sind für die klinische Routine geeignet. Jede dieser Methoden hat ihre eigenen Besonderheiten und Grenzen. Aus diesem Grund ist es utopisch, oxidativen Stress auf der Grundlage eines einzigen Tests nachweisen zu wollen, auch wenn dieser aufgrund seiner schnellen Durchführbarkeit auf attraktive Weise beworben wird. Es ist wichtig, den in der Vergangenheit bei der MDA-Bestimmung begangenen Fehler nicht noch einmal zu machen.

Um die Untersuchungsmethoden kritisch bewerten zu können, ist demnach eine eingehende Kenntnis der wissenschaftlichen Literatur erforderlich. Die korrekte Beurteilung von oxidativem Stress ist damit nur auf der Grundlage einer ganzen Batterie von Tests möglich, die sich gegenseitig ergänzen. Die Hauptuntersuchungsachsen beziehen sich auf:

1. Die Analyse der Antioxidantien
2. Die Bestimmung von Spurenelementen
3. Den Nachweis oxidativer Schäden an Lipiden, Proteinen, Lipoproteinen, DANN und Glukose
4. Den Eisenstoffwechsel

Es ist heute anerkannt, dass ROS ausgeprägte Zellschäden hervorrufen, die zu Funktionseinbußen von Organen führen können. Vor diesem Hintergrund wird der oxidative Stress immer mehr mit dem Alterungsprozess, dem Auftreten klinischer Komplikationen sowie der Entstehung von Erkrankungen des Alters (Atherosklerose, Krebs, neurodegenerative Erkrankungen) in Zusammenhang gebracht. Mit der Diagnostik von oxidativem Stress und therapeutischen Maßnahmen zur Begrenzung seiner schädlichen Auswirkungen eröffnet sich ein wichtiges neues Forschungsgebiet. Angemessen angewandt sollte diese neue Disziplin die Medizin von Morgen revolutionieren und große wirtschaftliche Auswirkungen für die Gesundheitsversorgung haben. Dafür sind

leistungsfähige und spezifische Analysemethoden erforderlich. Während die ersten Laboruntersuchungen zum oxidativen Stress allein auf der Bestimmung von Malonaldehyd als *In-vivo*-Marker der Lipidperoxidation basierten, konnten wir in den letzten fünf Jahren eine wahre Explosion von Methoden erleben, die eine Beurteilung des oxidativen Stress-Status bei einer Person in der klinischen Routine ermöglichen. Alle diese Methoden weisen ohne Ausnahme Begrenzungen auf und lassen allein keine Aussagen über den oxidativen Stress-Status zu. Aus diesem Grund ist es erforderlich, Testbatterien einzusetzen, die jedoch geeignet zusammengestellt sein müssen, da sich oxidativer Stress je nach der angetroffenen physiologischen oder pathologischen Situation unterschiedlich manifestiert. Vor diesem Hintergrund hat PROBIOX SA Beurteilungsprofile für den oxidativen Stress patentiert, die an diese Situationen angepasst sind. Darüber hinaus achten die Wissenschaftler von PROBIOX SA besonders auf die Entnahme und Behandlung der Blutproben, da die meisten der untersuchten Substanzen nur wenig stabil sind. Die sofortige Zentrifugation der Blutproben nach der Entnahme, aber auch der Erhalt der Kühlkette für Plasma und Seren bis zur Analyse der Proben sind zwei (erfüllbare) Erfordernisse und die wichtigsten Garanten für qualitativ hochwertige Ergebnisse (siehe Probiox-Qualitätscharta). Auf diese Weise wird eine bestmögliche Interpretation der Ergebnisse ermöglicht, in die über 20 Jahre akademischer wissenschaftlicher Erfahrung auf dem Gebiet des oxidativen Stresses einfließen.

Die hier vorgestellte wissenschaftliche Methode wird Ärzten und verwandten Berufsgruppen zum Beispiel den Nachweis möglicher Abweichungen der Antioxidantien-Konzentrationen von den Normwerten erlauben. Diese Abweichungen können dann über eine gesündere Ernährung oder geeignete Supplementierung korrigiert werden. Die modernen Techniken der Genomik und Proteomik, mit denen sich die F&E-Abteilung von PROBIOX SA beschäftigt, werden unser Wissen über den oxidativen Stress vertiefen und sollten bessere und individuellere Korrekturen ermöglichen, durch die sich die schädlichen Auswirkungen des oxidativen Stresses vermindern lassen.“ (aus: <http://www.probiox.com>).

Pietri et al. konnten 1990 und 1994 den engen Zusammenhang zwischen den nachgewiesenen Mengen an Ascorbylradikal und der Messung anderer Plasmamarker für oxidativen Stress nachweisen. Sie kamen zu der Konklusion, dass die EPR eine große klinische Bedeutung und Anwendbarkeit besitzt. Neben anderen konnten auch Buettner et al. 1993 den Stellenwert des Ascorbylradikals als einen Marker des oxidativen Stresses belegen.

Die Methode zur Analyse des Ascorbylradikals wurde u.a. auch von Bagenholm et al. 1997 beschrieben.

Eigene Analysen

Im Rahmen unserer Untersuchung wurden die Analysen von einem Vorgänger der Firma Synotexx durchgeführt, mit einer Methode wie von Bagenholm et al. 1997 beschrieben (vgl. Schönberg 2002). Die Signalintensität des Ascorbylradikals wurde mit einem Bruker ECS 106 EPR Spektrometer bei Raumtemperatur, nach Auftauen der Proben gemessen. Die Einstellungen des Spektrometers waren folgende:

Field center 3491,3 G; sweep width 10,0 Gauss; modulation amplitude 1,0 Gauss; microwave power 10 mW; modulation frequency 50,0 kHz; receiving gain 5×10^5 ; conversion time 10,24 ms; time constant 81,9 ms.

Die Intensität des Signals wird als Signalstärke Unit dargestellt und ist proportional zur Ascorbylkonzentration der zu analysierenden Plasmaprobe. Die Signalstärke Units wurden in Konzentrationseinheiten umgewandelt indem sie mit einer standardisierten Probe mit bekannter Konzentration eines stabilen Radikals verglichen wurden. Die Menge des Ascorbylradikals bzw. Semidehydroascorbylradikals wurde daraufhin in der Einheit: Nanomol/Liter Plasma angegeben. Die Bestimmungsgrenze liegt nach Laborangaben bei 1 nmol/L.

3.2.2 Blutalkoholanalyse (BAK-Analyse), Begleitstoffmethode

Die Blutalkoholanalysen erfolgten nach forensischen Kriterien im Serum (je 2 Einzelwerte nach der zwar alkoholspezifischen, jedoch nicht ethanolspezifischen ADH-Methode und je 2 Einzelwerte nach der absolut ethanolspezifischen Head-Space-Gaschromatographie, Bildung des ungerundeten Mittelwerts aus den 4 Einzelwerten, nach Umrechnung der Serumspiegel auf Vollblutwerte bzw. BAK-Werte durch Division mit 1,236, entsprechend dem Verteilungsverhältnis von Ethanol in Serum zu Vollblut). Analysiert wurde jeweils im sofort eisgekühlten und per Kühlzentrifuge erhaltenen Serum wie auch zu Vergleichszwecken in einer nach üblicher Kühlschrankschlagerung, Tage später nach Zentrifugation, erhaltenen Serumprobe.

Daneben wurden im Übrigen Begleitstoffe nach der Routinemethode ermittelt, Details sind in einer entsprechenden, getrennten Auswertung aufgeführt.

3.2.3 Rechnerische, graphische und statistische Auswertung und Darstellung

Die Individualanstiege wurden über Normierung ermittelt, d.h. die Ausgangswerte wurden von den jeweiligen Messwerten abgezogen. Der Vorteil liegt darin, dass intraindividuelle tages- und situationsbedingte Unterschiede der Ascorbylradikalkonzentration sowie eine interindividuelle Varianz eliminiert werden. Somit erreichen wir eine bessere intra- und interindividuelle Vergleichbarkeit von Verläufen resp. Anstiegen. Tages- und situationsbedingte Schwankungen werden reduziert.

Die rechnerische und graphische Auswertung und Darstellung erfolgte über das PC Programm Fig P (Figure P, Version 2.98), von Biosoft (ursprünglich), jetzt Figpsoft / Figp Software Incorporated.

AUC-Berechnungen (area under curve) erfolgten nach der Trapezregel bzw. trapezoidal.

Mittelwertsvergleiche wurden über Fisher´s t-test durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1 Normalwerte / Nullwerte Ascorbylradikale

In den Nüchternserumproben der 24 Versuchspersonen vor Beginn beider Versuche, also in 48 Leerproben, lagen die Ascorbylradikalkonzentrationen im Durchschnitt bei 28,3 nmol/L. (MW 28,29 nmol/L, $sm \pm 0,45$, $sd \pm 3,14$, Bereich: 21,44 – 38,24 nmol/L).

Die zwei Fälle mit positiven Atemalkoholwerten und „Restalkohol“ (vgl. Abb. 27 und 32) bei Versuchsbeginn von 0,46 bzw. 0,48 ‰ wurden mit einbezogen, da die absoluten Werte mit 28,3 bzw. 26,8 nmol/L gegenüber den jeweiligen Vergleichswerten der beiden korrespondierenden Versuche nicht erhöht bzw. völlig vergleichbar waren.

Insgesamt lagen die Nullwerte etwas unter den Werten von Gruber et al. (2005) und Schoenberg et al. (2002) mit 41 bzw. 46 nmol/L.

4.2 Ascorbylradikale nach O₂-angereichertem Wasser / Sauerstoffwasser ohne Alkohol

Ein möglicher Einfluss eines Effektes von Sauerstoffwasser ohne Alkoholeinfluss über den Trinkverlauf wurde in einem abschliessenden Versuch bei 3 männlichen Personen aus früheren Versuchen mit Alkohol untersucht. Es war der einzige Versuchstag an dem sowohl den Probanden, wie auch den Versuchsleitern bekannt war, dass sauerstoffangereichertes Wasser aufgenommen wurde. Die drei 0-Proben bzw. Ausgangswerte vor Beginn der Aufnahme des Sauerstoffwassers liegen bei $23,8 \pm 4,2$ nmol/L und sind vergleichbar mit den 0-Proben der vorangegangenen Alkoholversuche. Wie in Abb.4 erkennbar, sind über einen Trinkzeitraum von 6 Stunden bei durchschnittlich $26,7 \pm 5,6$ nmol/L keine relevanten Veränderungen und insbesondere keine Anstiege der Ascorbylradikalkonzentrationen wie in den Alkoholversuchen abgrenzbar.

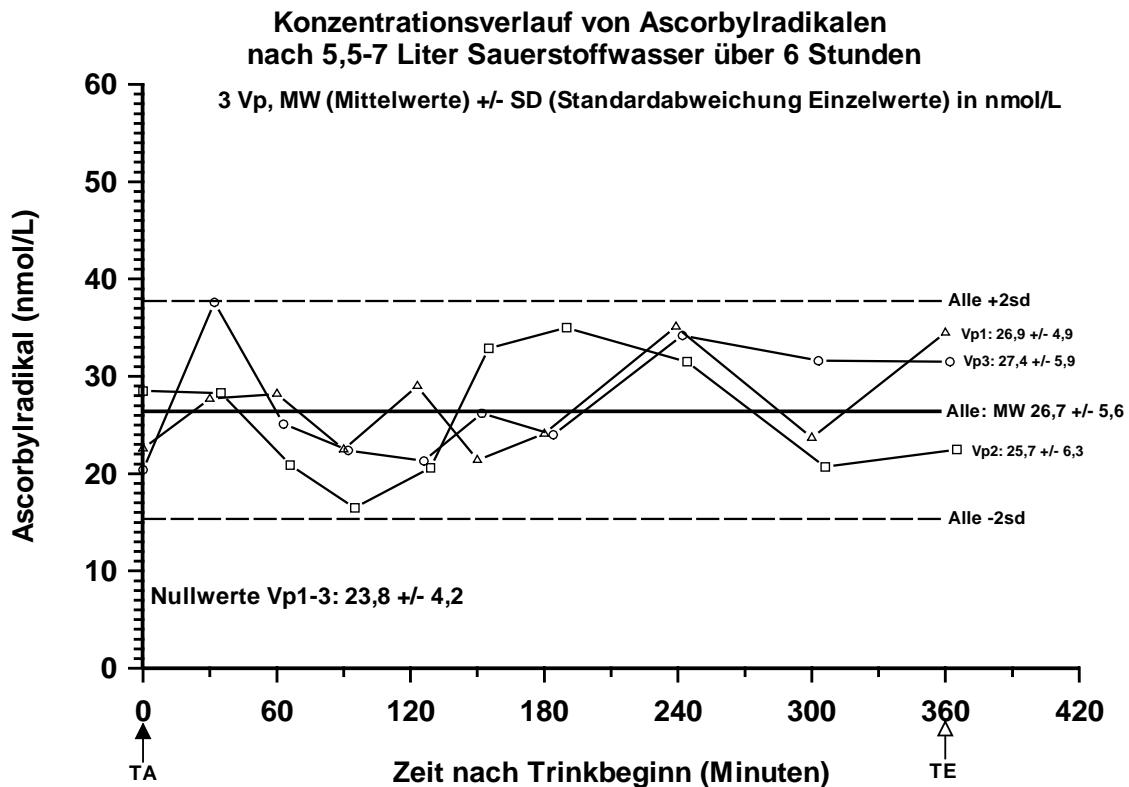


Abb. 4

Die alleinige Einnahme von sauerstoffangereichertem wie auch normalem (Mineral)Wasser, auch in größeren Mengen und über Stunden, führt also zu keiner Veränderung der Ascorbylradikalkonzentrationen im Blut.

Erst die bolusartige Aufnahme von alkoholischen Getränken führte in allen Fällen zu einer regelhaften deutlichen Veränderung im Verhalten des Ascorbylradikals. Generell kam es sowohl mit normalem wie auch sauerstoffangereichertem Wasser zu deutlichen Anstiegen der Ascorbylradikalkonzentrationen im Blut, mit charakteristischen Verläufen, die im folgenden für die einzelnen Alkoholarten beschrieben werden. Die Aufnahmemengen an Wasser lagen bei 5,5 bis 7,0 Liter bzw. umgerechnet mindestens 330 – 420 mg O₂-Belastung bei einem Mindestgehalt von 60 mg O₂ pro Liter laut Herstellerangabe bzw. bis zu 495 – 630 mg O₂-Belastung bei einem möglichen Maximalgehalt von 90 mg O₂ pro Liter. Die einzige Ausnahme mit einer geringeren Trinkmenge von Wasser war die weibliche Probandin mit 2,5 und 3,5 Liter.

Die Abbildungen 5 bis 8 zeigen zunächst beispielhaft für einzelne Versuchspersonen den Verlauf der absoluten Ascorbylradikalwerte (ohne Normalisierung bzw. Nullbezug) unter Alkoholeinfluss mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser.

Nachdem erste graphische Darstellungen der Ascorbylradikalverläufe Ähnlichkeiten mit typischen BAK-Kurven aufwiesen, wurden zum Vergleich die Konzentrations-Zeitverlaufskurven der BAK also die BAK-Kurven in die Auswertung mit einbezogen.

Insbesondere vergleichende Untersuchungen und Auswertungen im Hinblick auf Gipfelwerte, Zeitpunkte und ggf. unterschiedliche Eliminationen erschienen vielversprechend.

Details der Alkoholkurven wie mögliche Unterschiede der β - 60 bzw. Alkoholeliminationswerte in Verbindung mit den Acetaldehydverläufen werden in der Arbeit von Döring dargestellt.

Die BAK-Achse wurde zur besseren Differenzierung der Kurvenverläufe von der Zeitachse abgehoben, TA = Trinkanfang Alkohol, TE = Trinkende. BAK-Werte als Sterne, Radikalwerte als Quadrate. Offene Symbole und Graphen in Grün: mit O₂-Wasser. Geschlossene Symbole und Graphen in Rot: ohne O₂-Wasser.

4.3 Ascorbylradikale und BAK nach Alkoholaufnahme in Form von Bier, Rotwein, Wodka und Obstbranntwein, jeweils mit normalem Mineralwasser und mit O₂-angereichertem Wasser, Einzelbeispiele mit absoluten Ascorbylradikalkonzentrationen

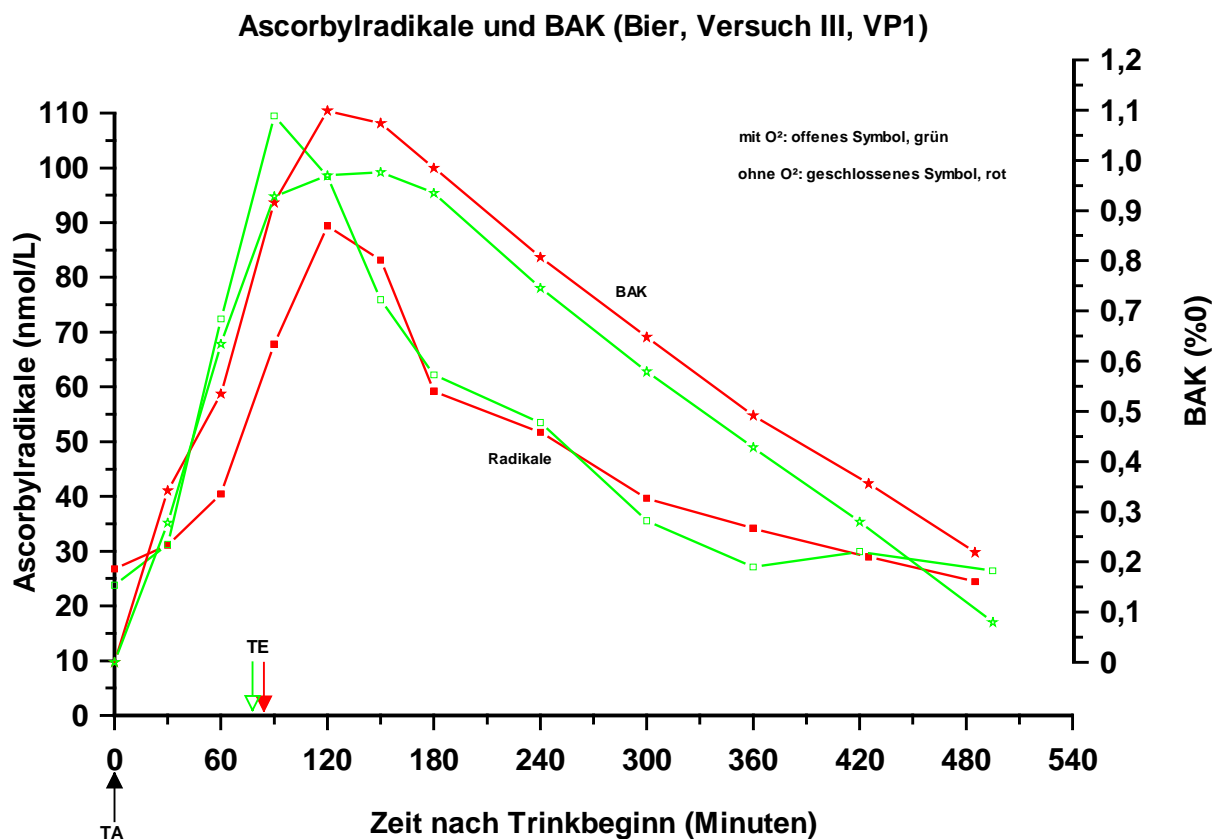


Abb. 5: Verlauf der Blutalkoholkonzentration und der absoluten Konzentrationen von Ascorbylradikalen ohne Normalisierung in einem Bierversuch. Offene Symbole und Graphen in Grün: mit O₂-Wasser, geschlossene Symbole und Graphen in Rot: ohne O₂-Wasser

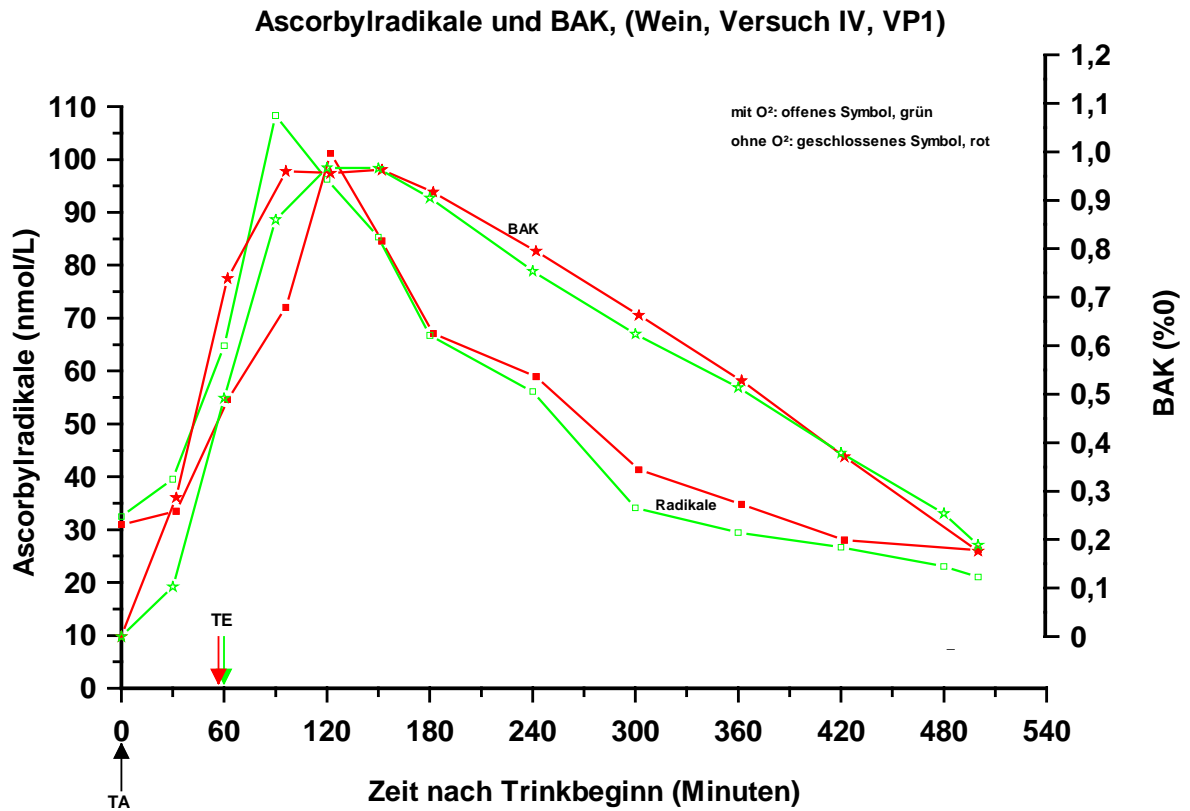


Abb. 6: Verlauf der Blutalkoholkonzentration und der absoluten Konzentrationen von Ascorbylradikalen ohne Normalisierung in einem Weinversuch. Offene Symbole und Graphen in Grün: mit O₂-Wasser, geschlossene Symbole und Graphen in Rot: ohne O₂-Wasser

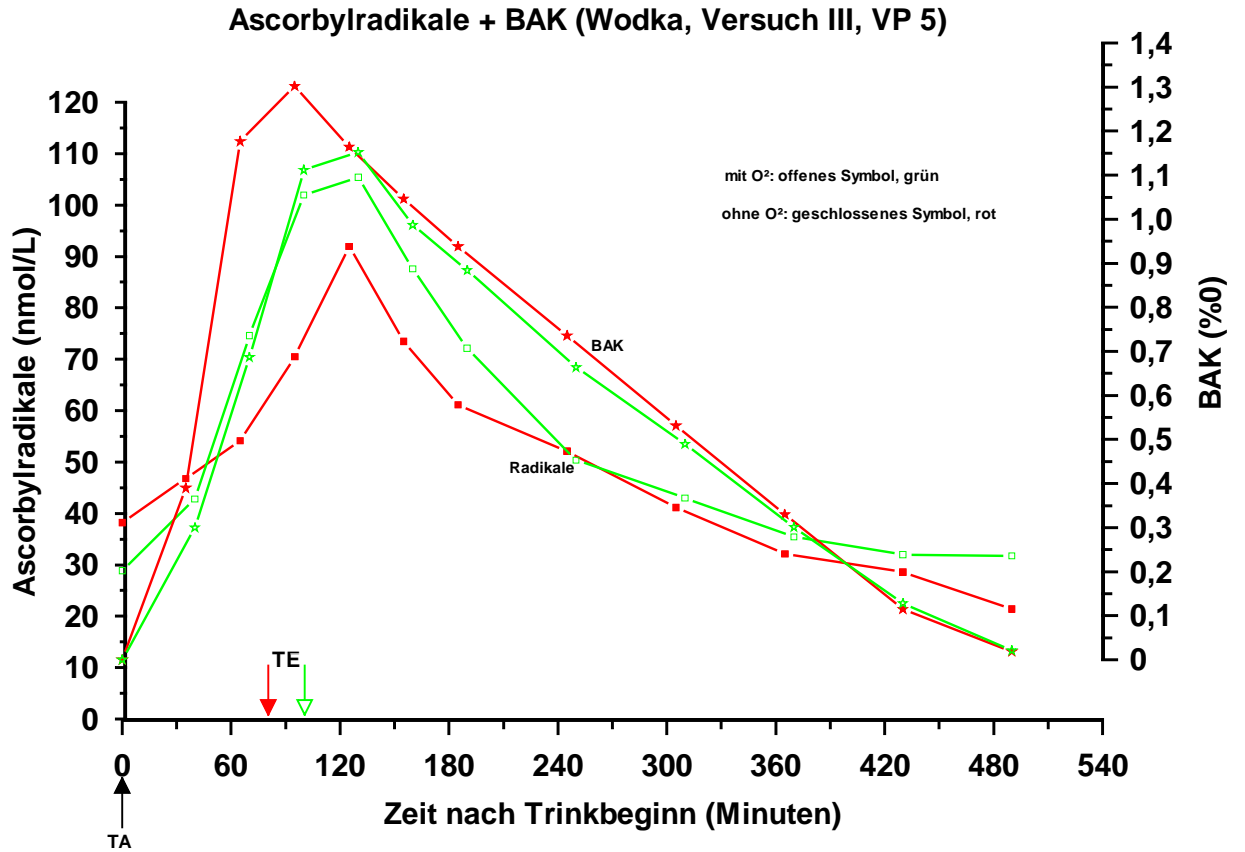


Abb. 7: Verlauf der Blutalkoholkonzentration und der absoluten Konzentrationen von Ascorbylradikalen ohne Normalisierung in einem Wodkaversuch. Offene Symbole und Graphen in Grün: mit O₂-Wasser, geschlossene Symbole und Graphen in Rot: ohne O₂-Wasser

Ascorbylradikale und BAK (Obstbranntwein, Versuch V, VP1)

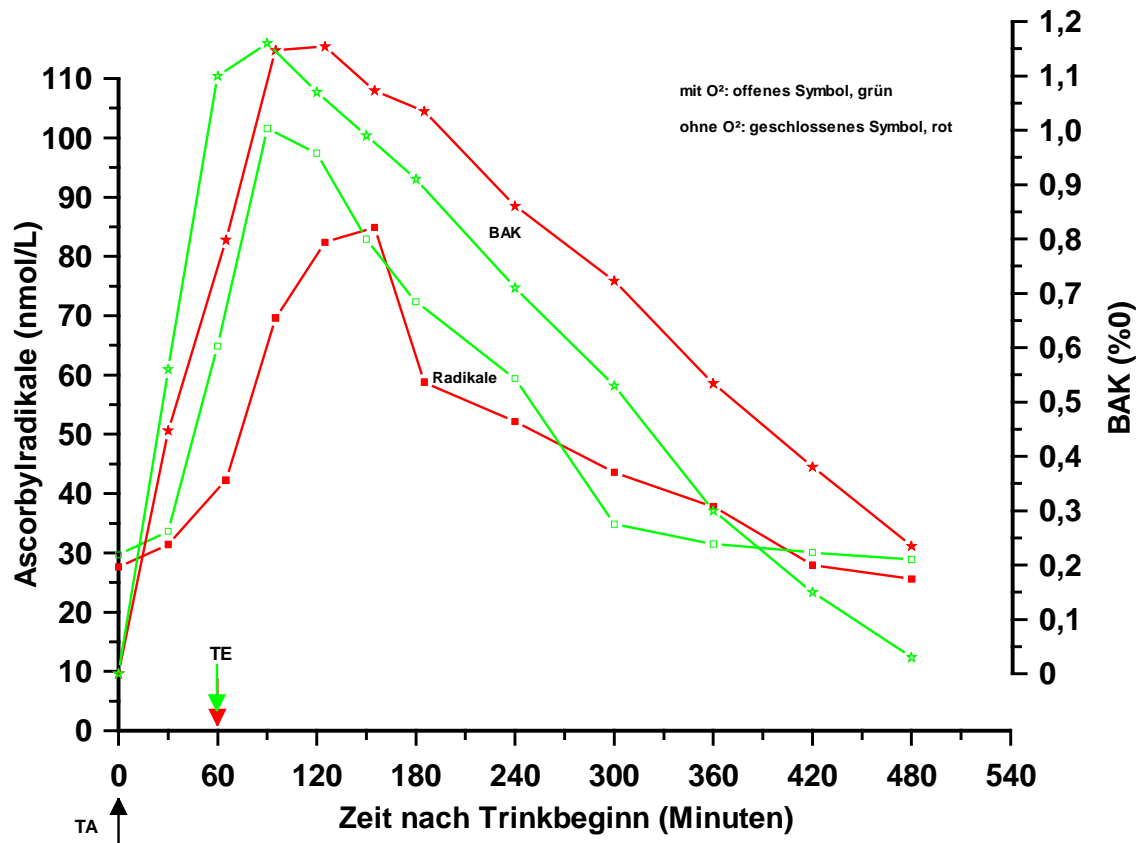


Abb. 8: Verlauf der Blutalkoholkonzentration und der absoluten Konzentrationen von Ascorbylradikalen ohne Normalisierung in einem Bierversuch. Offene Symbole und Graphen in Grün: mit O₂-Wasser, geschlossene Symbole und Graphen in Rot: ohne O₂-Wasser

Auffallend war von vorneherein, dass die Gipfelwerte der Ascorbylradikale mit O₂-Wasser meist höher lagen und früher erreicht wurden als mit normalem Wasser, häufiger wurden die Gipfelwerte erst nach dem höchsten BAK-Wert erreicht.

Die BAK-Kurven in der Eliminationsphase des Alkohols sind typisch pseudo-rektilinear wie bei maximaler Enzym-Substratsättigung des ADH / NAD-Komplexes, während die Ascorbylradikale eher exponentiell abfallen, wie bei einer Bateman-Funktion.

Die Bateman-Funktion ist eine mathematische Beziehung, die ein vereinfachtes Modell der Aufnahme und Elimination eines Stoffes in Abhängigkeit von der Zeit beschreibt. Bei der Bateman-Funktion wird angenommen, dass der Stoff sich in nur einem Kompartiment verteilt und die Aufnahme und Elimination einer Reaktion erster Ordnung folgt. Es wird vorausgesetzt, dass Aufnahme und Elimination nur von der Stoffkonzentration und damit von der Diffusionskonstanten abhängt. Aktive Prozesse zum Stofftransport oder die unterschiedliche Verteilung und Anreicherung z. B. durch die Hydrophobie des Stoffes bleiben unberücksichtigt (Garrett E.R., 1994).

Die Ausgangswerte der Ascorbylradikale werden etwa bei Annäherung an 0,0 ‰ erreicht.

Trotz der relativ engen Bandbreite der Ausgangswerte wurde zum besseren intra- und interindividuellen Vergleich des Verlaufs der Ascorbylradikalwerte während der Alkoholbelastung eine Normalisierung durchgeführt, d.h. die Ausgangswerte wurden von den jeweiligen Messwerten abgezogen, so dass Konzentrationsveränderungen besser und interindividuell vergleichbar werden. Die Achsenskalierung der Ascorbylradikalkonzentrationen wurde bis -10 gesetzt, da teilweise gegen Versuchsende Werte unterhalb der Ausgangs- bzw. Nullwerte auftraten, die sich jedoch im Rahmen üblicher Bandbreiten bewegten.

Im Folgenden werden die Einzelkurven nach Normalisierung der Ascorbylradikalwerte für die jeweils 6 Versuchspersonen für Bier, Rotwein, Wodka und Obstbranntwein dargestellt und im Hinblick insbesondere auf zeitliche Abfolgen und Verhältnisse sowie die AUC (area under curve) bezüglich Ascorbylradikalen ausgewertet und abschließend diskutiert.

4.3.1 Bier (6 Versuchspersonen, Abb.9-14)

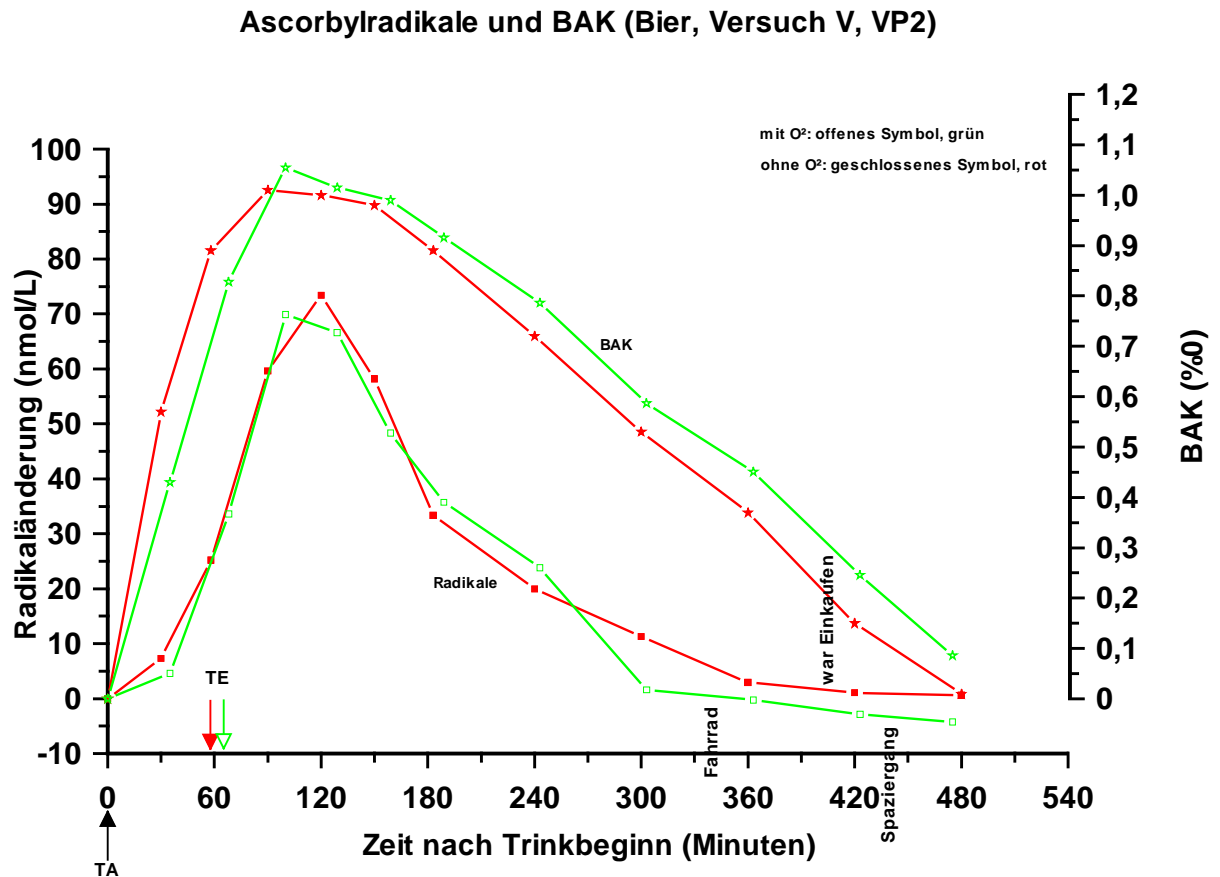


Abb. 9: (Bierversuch 1)

Hier zeichnen sich 2 jeweils sehr ähnliche Kurvenverläufe ab. Die BAK-Verläufe sind kaum unterschiedlich, mit gering steilerer Resorption (eigentlich: Absorption) und etwas niedrigerem Maximalwert ohne Sauerstoffwasser bei dann paralleler, jedoch insgesamt etwas niedriger liegender Eliminationskurve bei praktisch gleicher stündlicher Elimination (vgl. Detailauswertung bei Döring). Körperliche Aktivitäten lassen keine Auswirkungen erkennen. Der Spitzenwert des Ascorbylradikals für O₂-angereichertes Wasser beträgt 69,9 nmol/L nach 100 Min., nach Aufnahme normalen Mineralwassers 73,4 nmol/L nach 120 Minuten. Die AUC der Ascorbylradikale ohne Sauerstoffwasser beträgt 292,7 nmol x min/L, mit Sauerstoffwasser: 279,0 nmol x min/L.

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 69,9 nmol/L nach 100 Min, AUC 279,0 nmol x min/L

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 73,4 nmol/L nach 120 Min., AUC 292,7 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Bier, Versuch III, VP3)

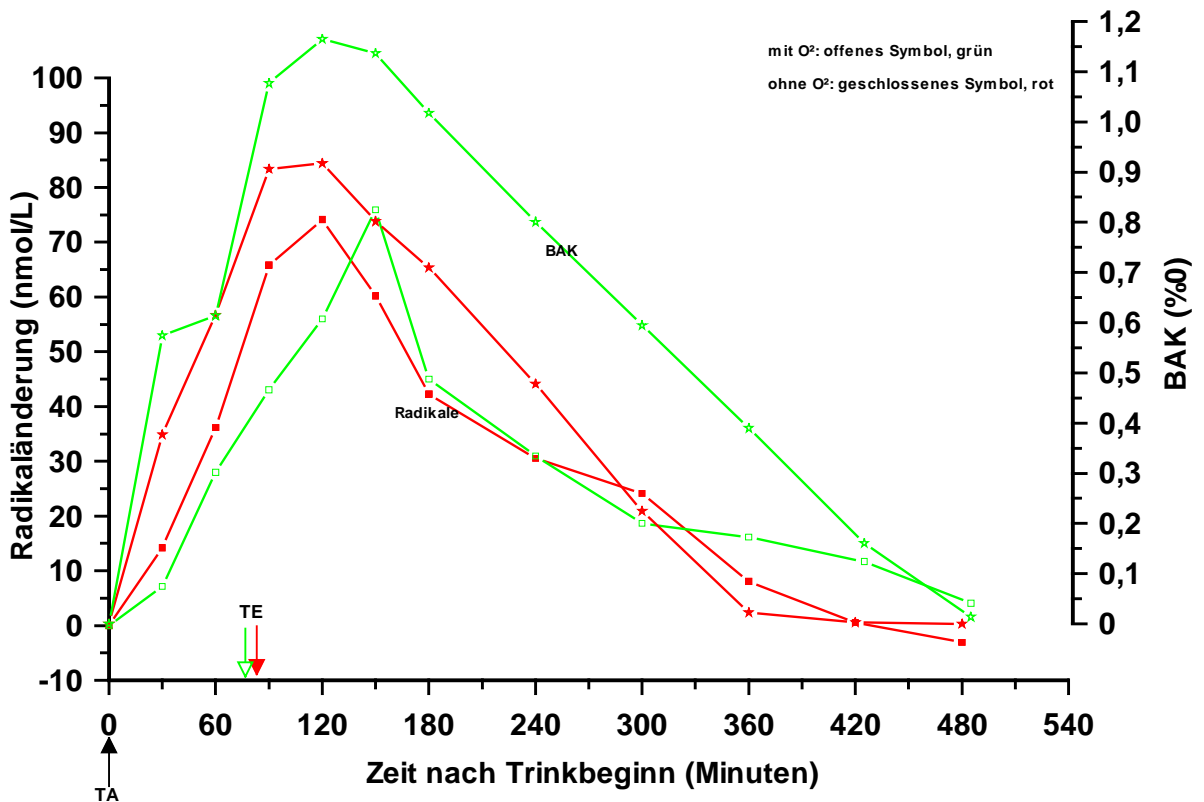


Abb. 10: (Bierversuch 2)

Der Spitzenwert für Ascorbylradikale nach Aufnahme natürlichen Wassers von 74,1 nmol/L wird nach 120 Min erreicht, somit etwas früher als bei Sauerstoffwasser mit einem höchsten Ascorbylradikalwert von 75,9 nmol/L nach 150 Min. AUC der Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: 355,7 nmol x min/L, mit O₂: 326,8 nmol x min/L. Allerdings wurde offenbar im Normalwasserversuch nicht die berechnete Alkoholmenge aufgenommen.

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 75,9 nmol/L nach 150 Min, AUC 326,8 nmol x min/L

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 74,1 nmol/L nach 120 Min., AUC 355,7 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Bier, Versuch III, VP2)

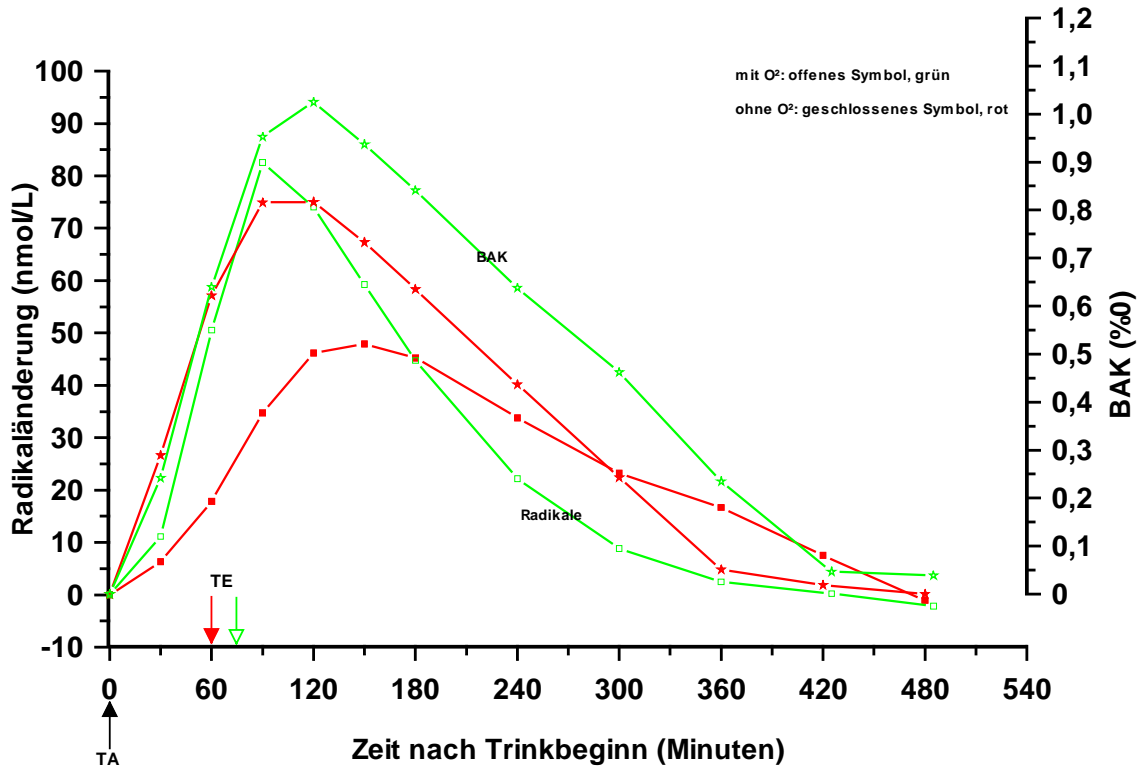


Abb. 11: (Bierversuch 3)

Wie im Bierversuch 2 offenbar im Versuch mit Normalwasser geringere Alkoholaufnahme. Deutlich steilerer Anstieg der Ascorbylradikale mit O₂-Wasser mit einem wesentlich höheren Spitzenwert von 82,6 nmol/L, nach 90 Min, gegenüber einem Höchstwert von 47,9 nmol/L nach 150 Min. bei normalem Wasser.

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 82,6 nmol/L nach 90 Min, AUC 355,9 nmol x min/L

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 47,9 nmol/L nach 150 Min., AUC 275,6 nmol x min/L

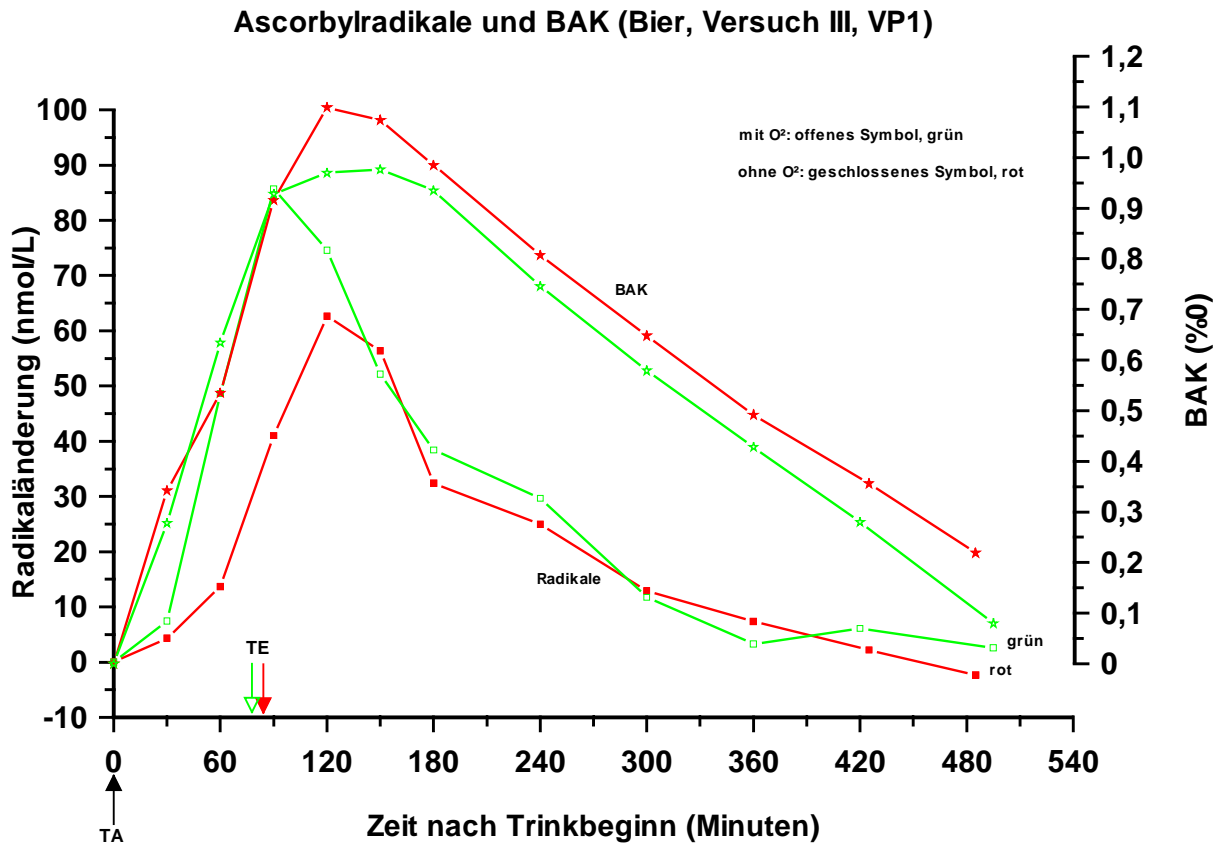


Abb. 12: (Bierversuch 4)

Im Versuch mit O₂-Wasser entstehen höhere Ascorbylradikalwerte von 85,7 nmol/L versus 62,6 nmol/L mit normalem Wasser. Der Spitzenwert wird mit O₂-Wasser bereits nach 90 Minuten erreicht, versus 120 Minuten.

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 85,7 nmol/L nach 90 Min, AUC 354,7 nmol x min/L

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 62,6 nmol/L nach 120 Min., AUC 256,8 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Bier, Versuch V, VP4)

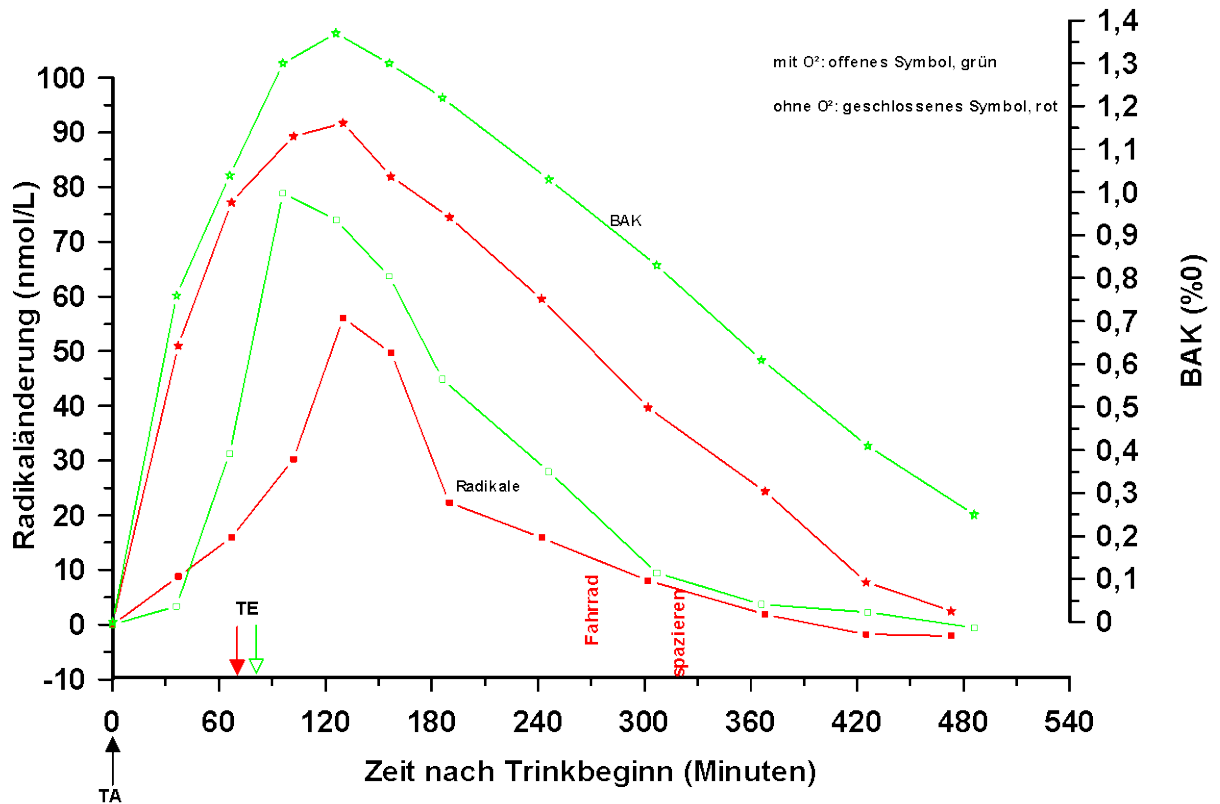


Abb. 13: (Bierversuch 5)

Auch in dieser Graphik zeigt sich eine höhere Radikalbildung unter O₂-Wasser als bei normalem Wasser. Allerdings fand auch eine größere Alkoholaufnahme mit O₂-Wasser statt. Körperliche Aktivität zeigt erneut keinen Einfluss auf die quantitative Bildung von Ascorbylradikalen.

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 56,1 nmol/L nach 130 Min., AUC 206,3 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 78,9 nmol/L nach 102 Min, AUC 339,3 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Bier, Versuch V, VP3)

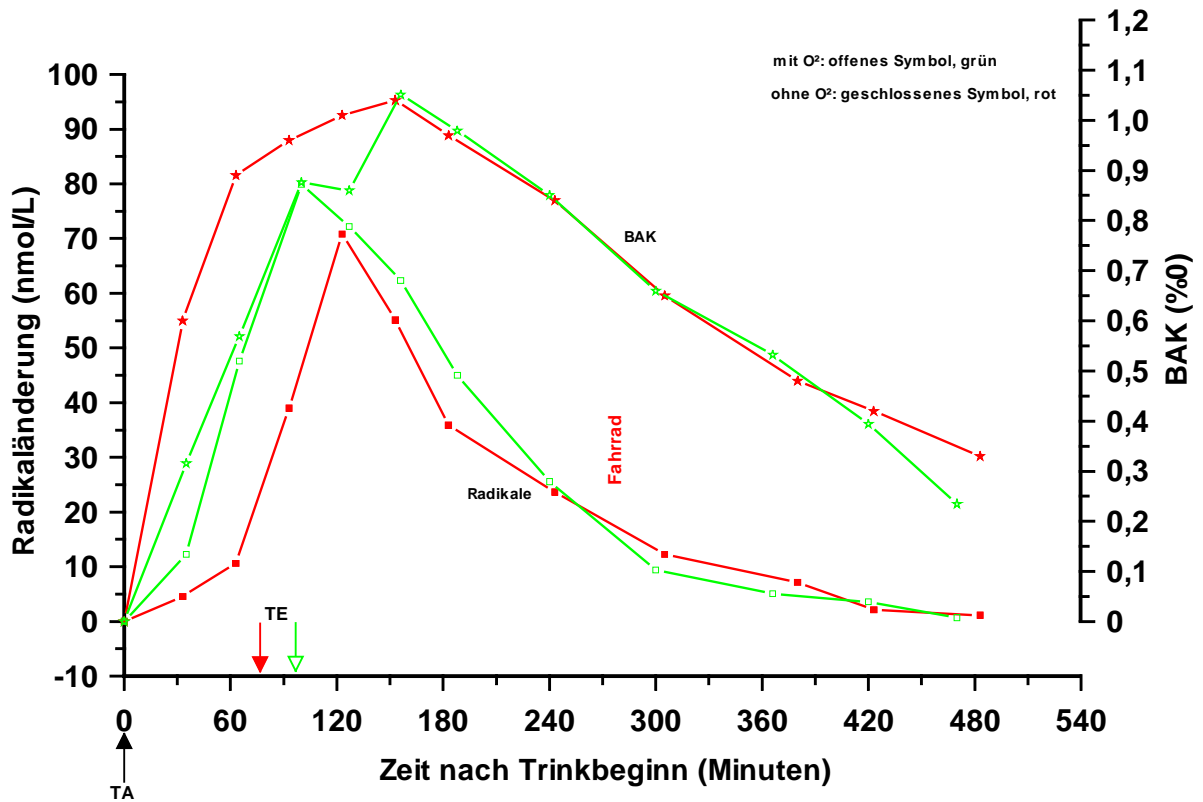


Abb. 14: (Bierversuch 6)

Sehr gute Übereinstimmung der BAK-Werte bei verzögerter Resorption im O₂-Versuch. Erneut kein Einfluss der körperlichen Aktivität auf das Ascorbylradikal.

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 70,8 nmol/L nach 123 Min., AUC 261,6 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 80,0 nmol/L nach 93 Min, AUC 363,3 nmol x min/L

Insgesamt erreichen 4 der 6 Probanden der Versuchsreihe mit Bier höhere Ascorbylradikal-Spitzenwerte nach Einnahme von O₂-angereichertem Wasser und früher als bei normalem Wasser.

Im Durchschnitt ergeben sich beim Bierversuch folgende Spitzenwerte an Ascorbylradikalen:

Mit O₂-Wasser: MW 78,8 nmol/l ± 2,2 sm, 104,3 min ± 9,3 nach TA

Ohne O₂-Wasser: MW 64,2 nmol/l ± 4,3 sm, 127,2 min ± 4,8 nach TA

p = 0,013 (p < 0,02)

p = 0,026 (p < 0,05)

AUC mit O₂-Wasser: MW: 336,5 nmol x min/L ± 12,7 sm

AUC ohne O₂-Wasser: MW: 274,8 nmol x min/L ± 20,0 sm

p = 0,0264 (p < 0,05)

4.3.2 Wein (6 Versuchspersonen, Abb. 15 – 20)

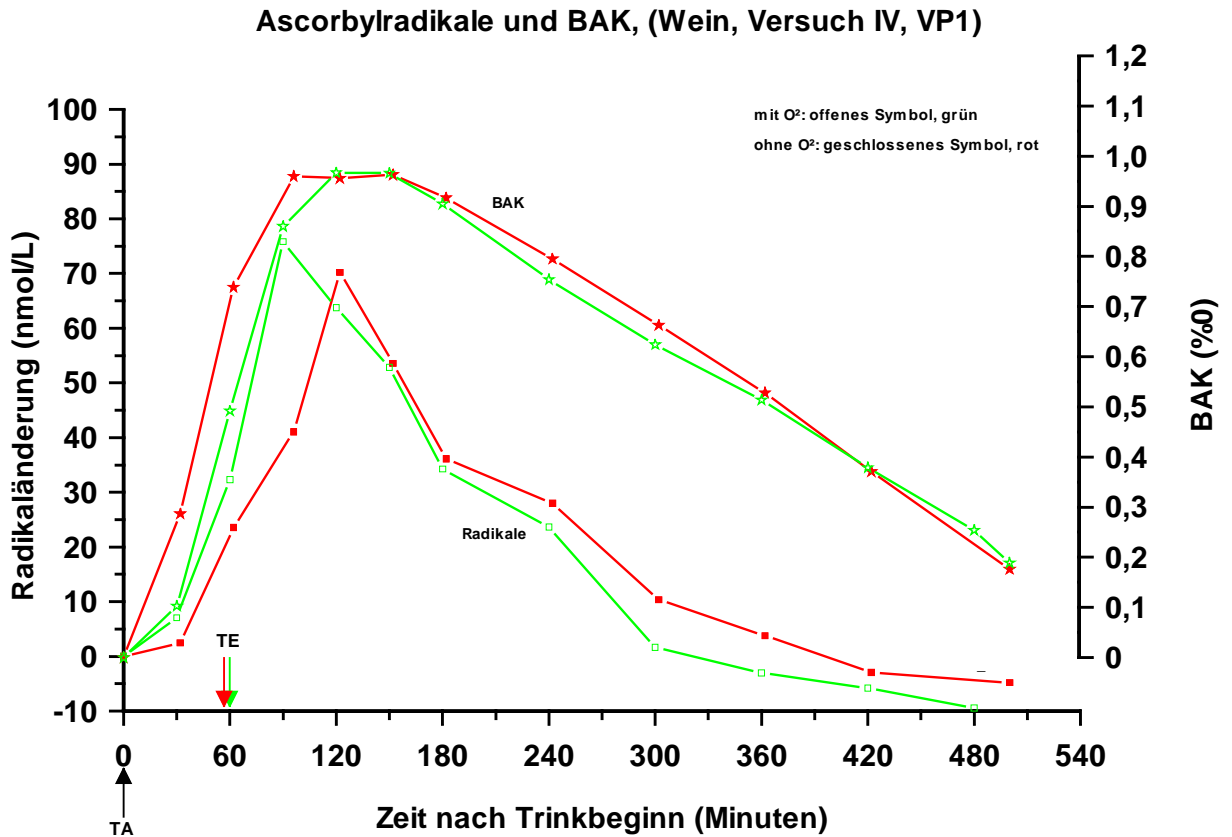


Abb. 15: (Weinversuch 1)

Nahezu identische Kurvenverläufe, bei früherem Erreichen eines Ascorbylradikalmaximums mit O₂-Wasser.

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 70,2 nmol/L nach 122 Min., AUC 263,8 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 75,8 nmol/L nach 96 Min, AUC 277,9 nmol x min/L

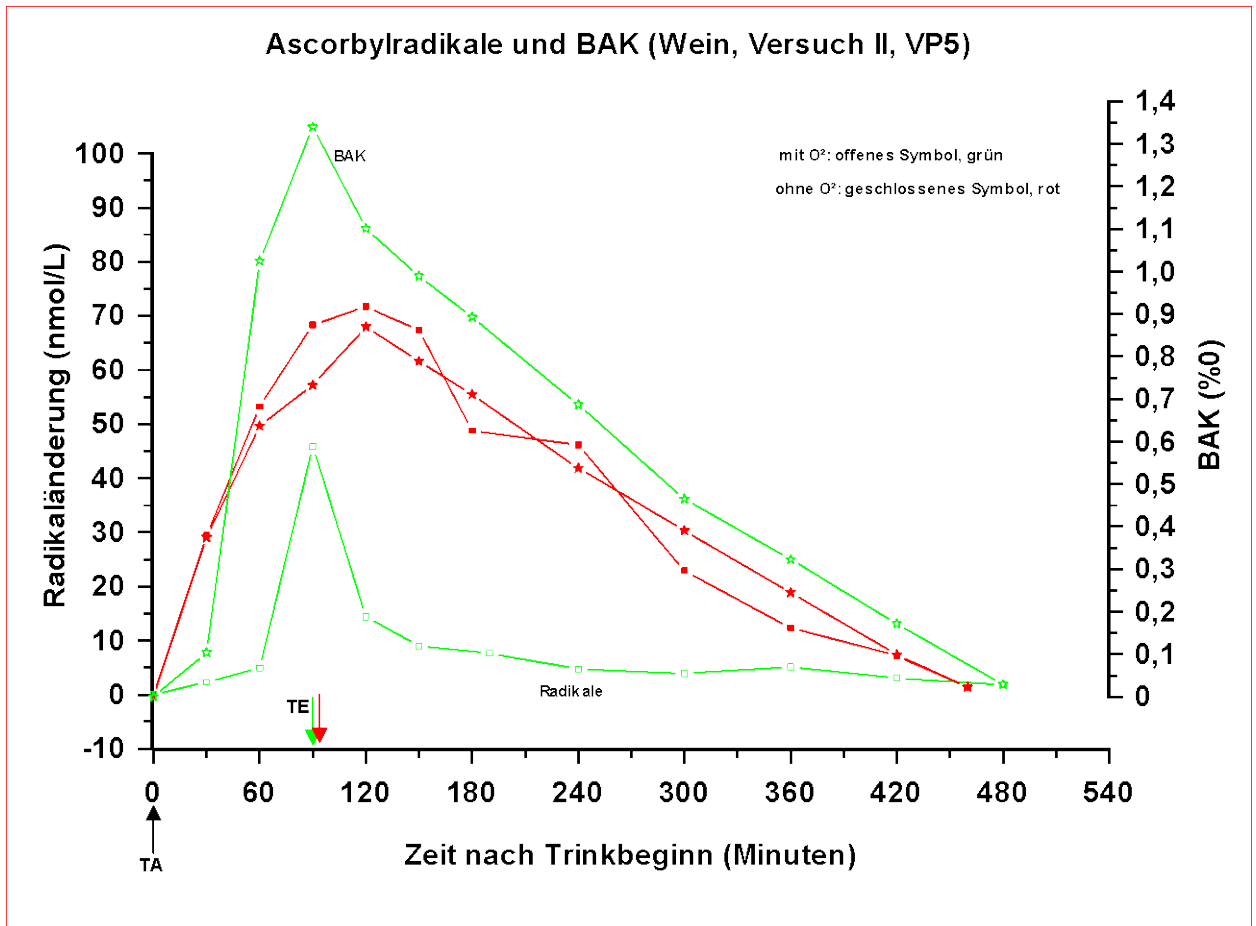


Abb. 16: (Weinversuch 2)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 71,7 nmol/L nach 120 Min., AUC 428,3 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 45,9 nmol/L nach 90 Min, AUC 101,8 nmol x min/L

Raschere Alkoholresorption im O₂-Versuch.

Ascorbylwerte im O₂-Versuch ab 120 Minuten unrealistisch niedrig, offenbar Proben nicht stabil, wie bei nicht sofortiger Analyse / Verarbeitung. Siehe Kommentar Seite 14; 3.1: Material und Studienaufbau.

Ascorbylradikale und BAK (Wein, Versuch IV, VP 5)

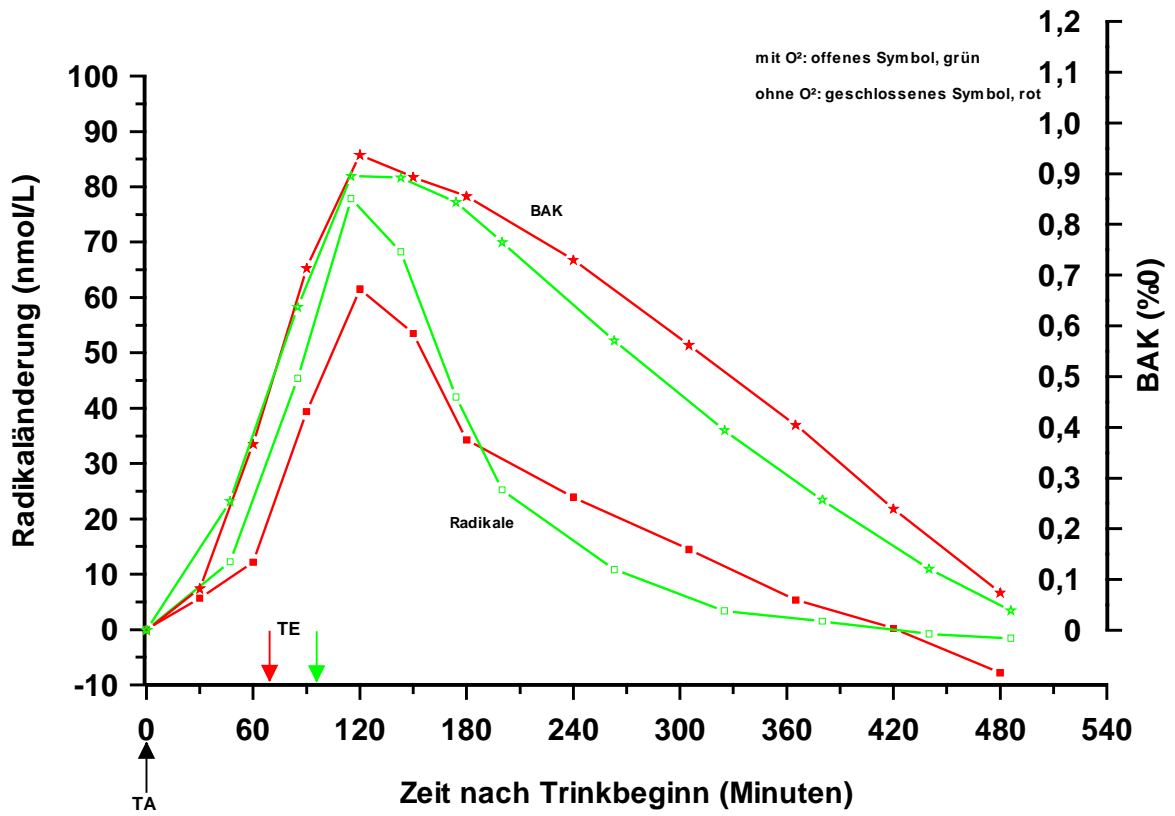


Abb. 17: (Weinversuch 3)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 61,5 nmol/L nach 120 Min., AUC 246,5 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 77,9 nmol/L nach 90 Min, AUC 285,2 nmol x min/L

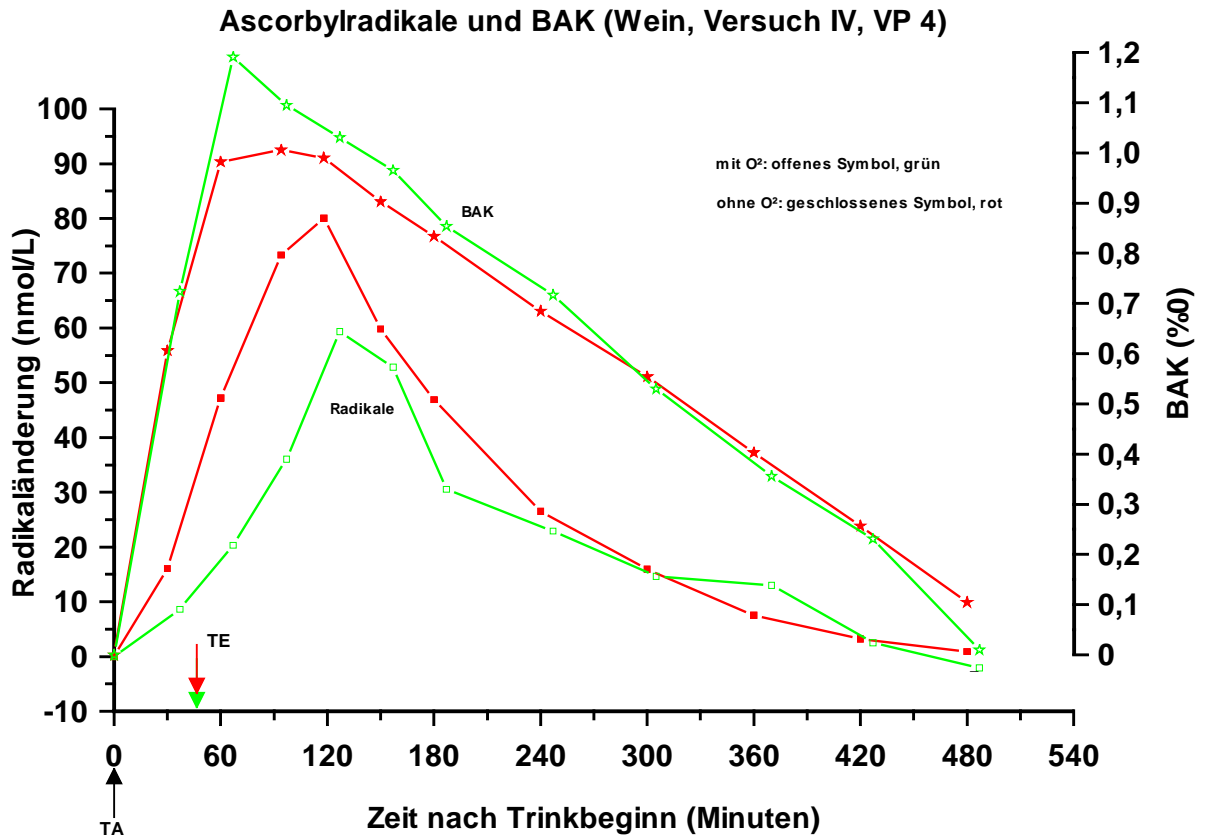


Abb. 18: (Weinversuch 4)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 80,0 nmol/L nach 118 Min., AUC 377,1 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 59,3 nmol/L nach 118 Min., AUC 259,7 nmol x min/L

Vermutlich nicht mehr überprüfbare falsche Zuordnung der Ascorbylsäureproben (bei Übermittlung, im Labor?), wesentlich plausibler wären umgekehrte Zuordnungen.

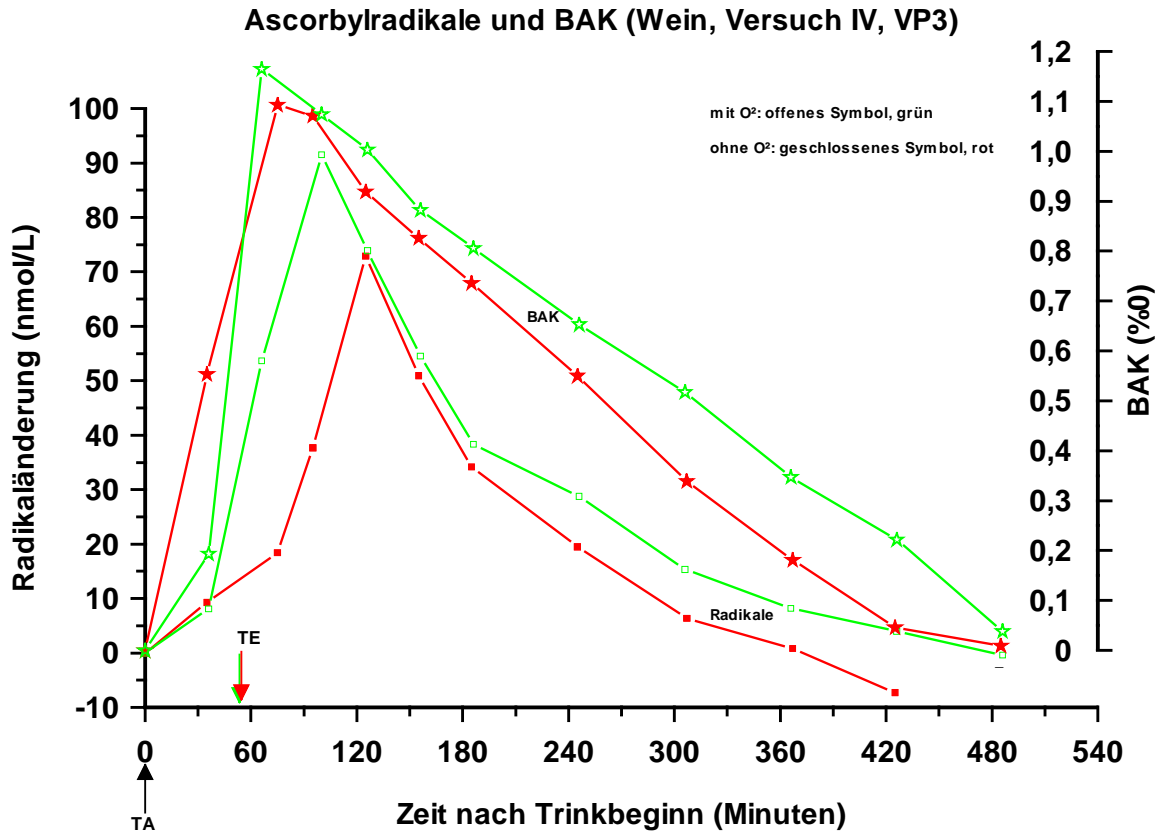


Abb. 19: (Weinversuch 5)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 72,9 nmol/L nach 125 Min., AUC 237,1 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 91,5 nmol/L nach 95 Min, AUC 376,1 nmol x min/L

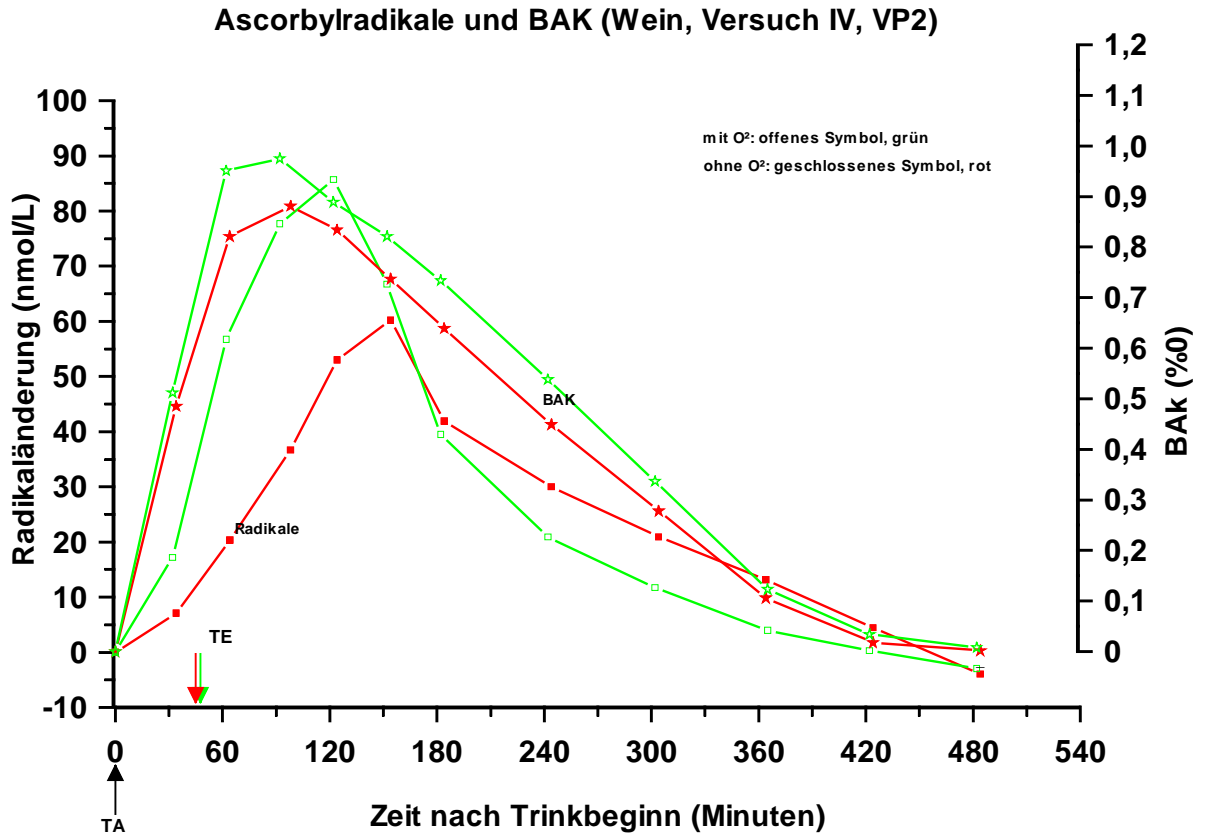


Abb. 20: (Weinversuch 6)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 60,2 nmol/L nach 154 Min., AUC 285,9 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 85,7 nmol/L nach 124 Min, AUC 379,0 nmol x min/L

Es erreichen 4 der 6 Probanden der Versuchsreihe mit Wein frühere und höhere Ascorbylradikal-Spitzenwerte nach Einnahme von O₂-angereichertem Wasser, als bei normalem Wasser. Von den beiden Probanden, die mit normalem Wasser frühere und höhere Ascorbylradikal-Spitzenwerte erreichten, waren bei einem Probanden die Proben offenbar nicht stabil. Bei dem Zweiten liegt möglicherweise eine falsche Zuordnung der Ascorbylradikalproben vor.

Insgesamt ergeben sich beim Weinversuch folgende Spitzenwerte an Ascorbylradikalen:

Mit O ₂ -Wasser:	MW 72,7 nmol/l ± 7,0 sm,	107,3 min ± 6,6 nach TA
Ohne O ₂ -Wasser:	MW 69,4 nmol/l ± 3,0 sm,	126,5 min ± 5,6 nach TA
	n.s.	n.s.
AUC mit O ₂ -Wasser:	MW: 279,0 ± 41,3 sm	
AUC ohne O ₂ -Wasser:	MW: 306,5 ± 31,9 sm	
	n.s.	

Lässt man den wohl irregulären Weinversuch 2 (Abb. 16) weg und vertauscht Weinversuch 4 (Abb. 18) hinsichtlich der Ascorbylradikalwerte, so ergeben sich folgende Wert (n=5):

Mit O ₂ -Wasser:	MW 82,2 nmol/l ± 2,9 sm,	104,6 min ± 6,8 nach TA
Ohne O ₂ -Wasser:	MW 64,8 nmol/l ± 2,8 sm,	127,8 min ± 6,7 nach TA
	.p < 0,01	.p < 0,02
AUC mit O ₂ -Wasser:	MW: 339,1 nmol x min/L ± 23,5 sm	
AUC ohne O ₂ -Wasser:	MW: 253,2 nmol x min/L ± 4,9 sm	
	.p < 0,05	

4.3.3 Wodka (6 Versuchspersonen, Abb. 21-26)

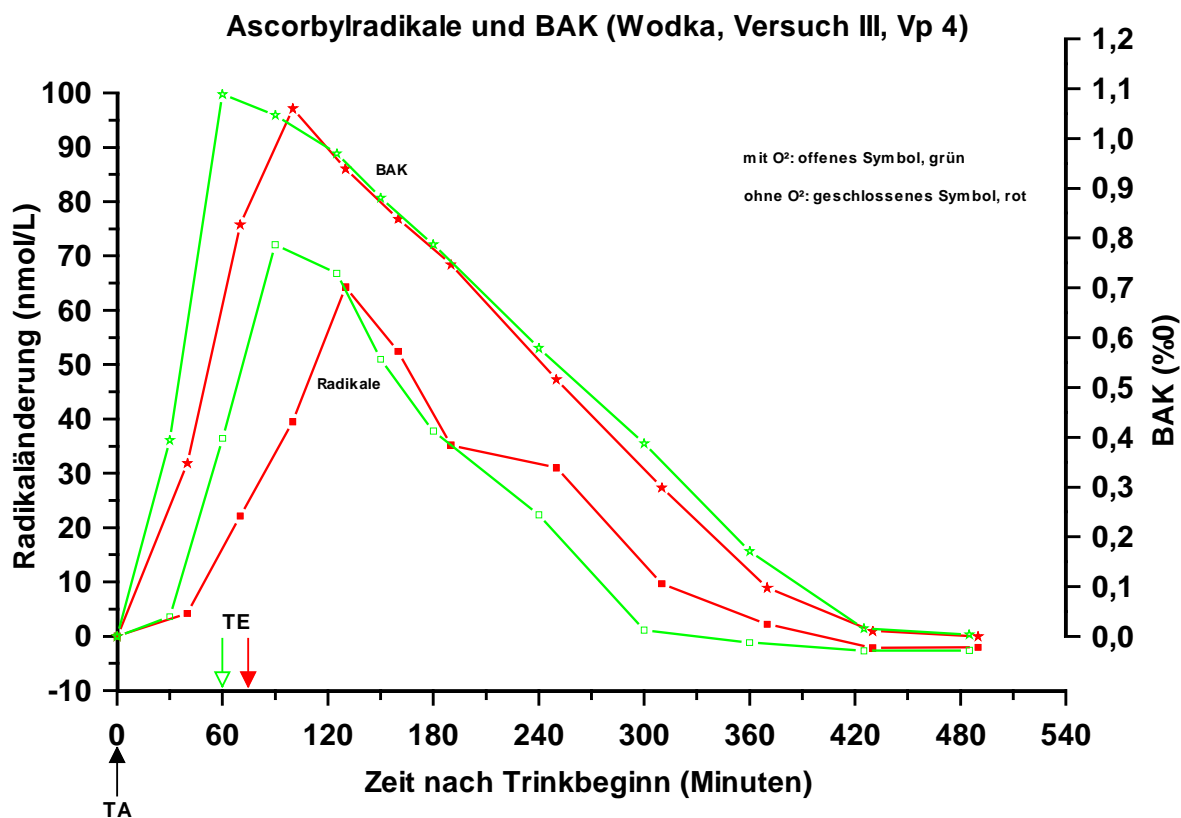


Abb. 21: (Wodkaversuch 1)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 64,3 nmol/L nach 130 Min., AUC 257,4 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 72,1 nmol/L nach 100 Min, AUC 285,9 nmol x min/L

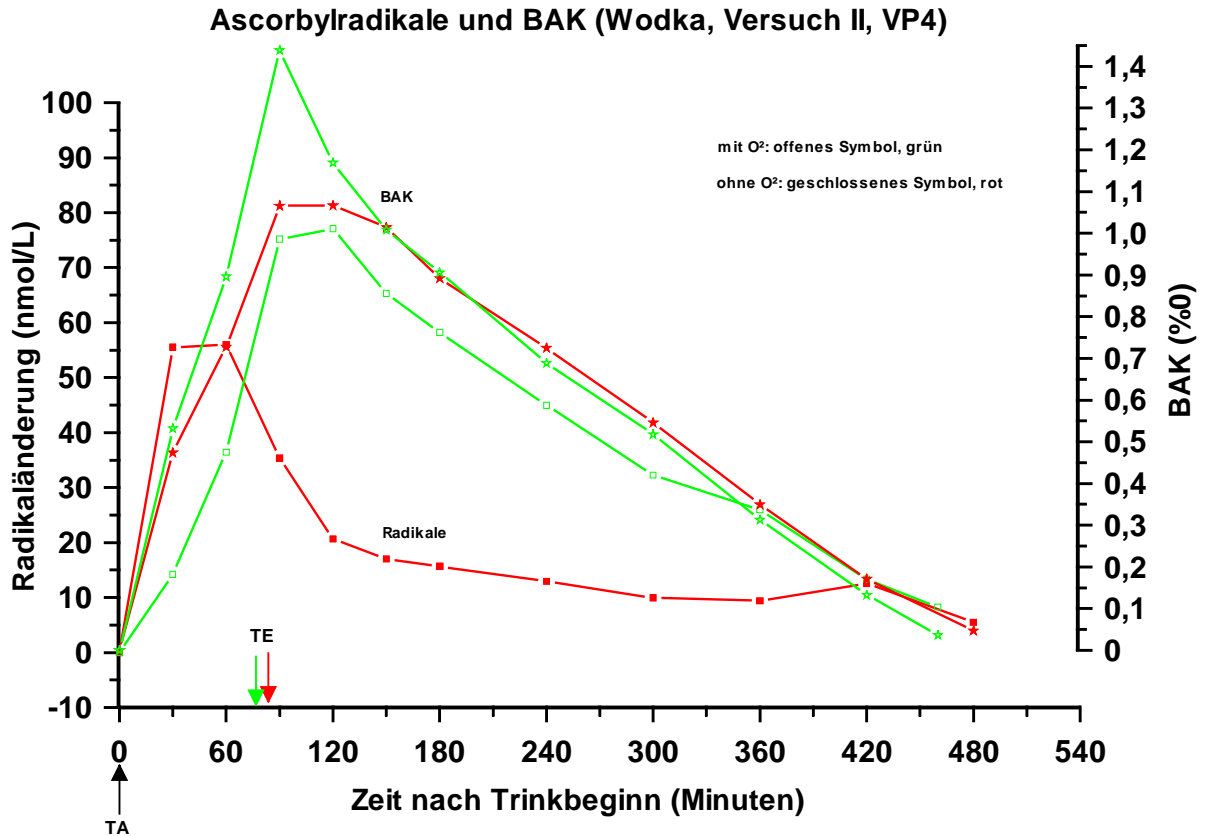


Abb. 22: (Wodkaversuch 2)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 56,0 nmol/L nach 60 Min., AUC 247,8 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 77,1 nmol/L nach 120 Min, AUC 447,1 nmol x min/L

Die Ascorbylradikalwerte erreichen deutlich höhere quantitative Werte nach Trinken von O₂-angereichertem Wasser. Jedoch sind die Ascorbylradikalwerte nach Mineralwasser ab 120 Minuten unrealistisch niedrig. Möglicherweise waren die Proben nicht stabil, wie bei nicht sofortiger Analyse/Verarbeitung.

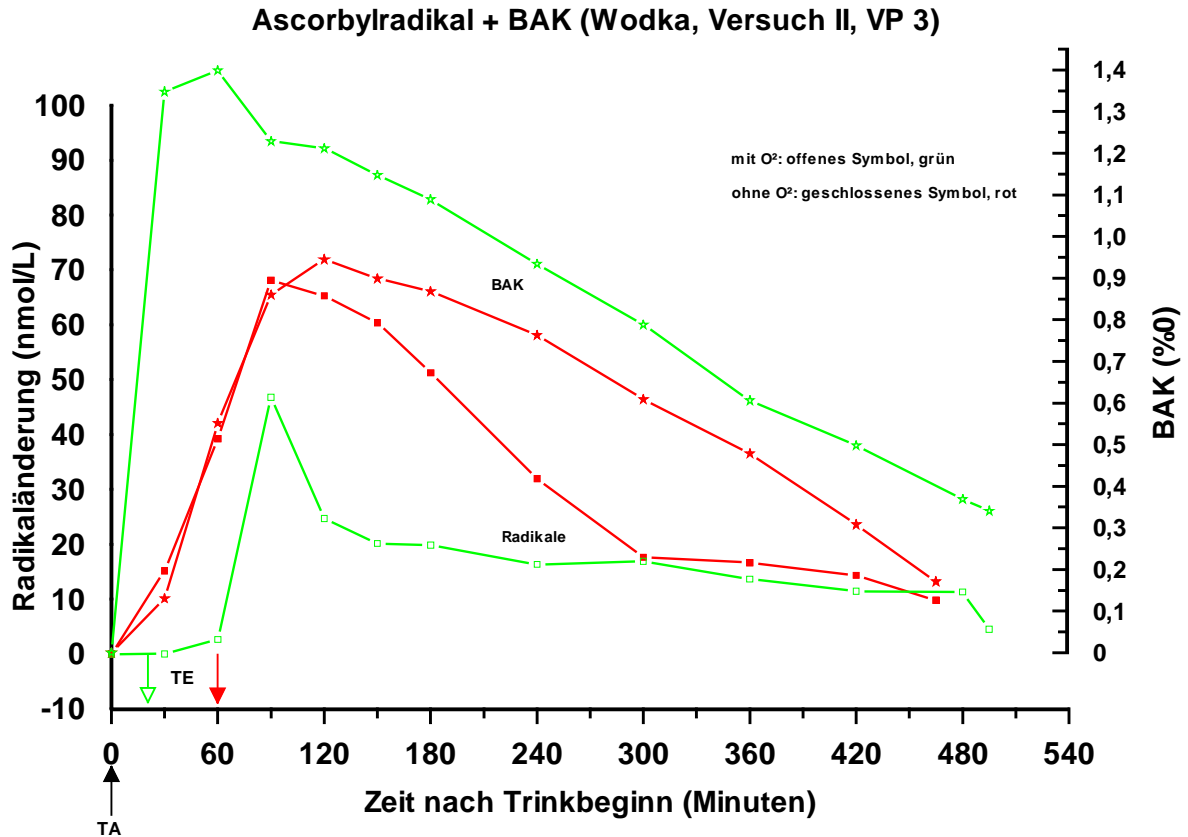


Abb. 23: (Wodkaversuch 3)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 68,1 nmol/L nach 90 Min., AUC 384,8 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 46,8 nmol/L nach 90 Min, AUC 178,1 nmol x min/L

Unter O₂-angereichertem Wasser sehr hohe BAK von ca. 1,4%. Trotzdem niedriger Ascorbylradikalwert von 46,8 nmol/L nach 90 Minuten. Ab 120 Minuten unrealistisch niedriger Wert. Möglicherweise waren die Proben nicht stabil, wie bei nicht sofortiger Analyse/Verarbeitung.

Ascorbylradikale und BAK (Wodka, Versuch II, VP2)

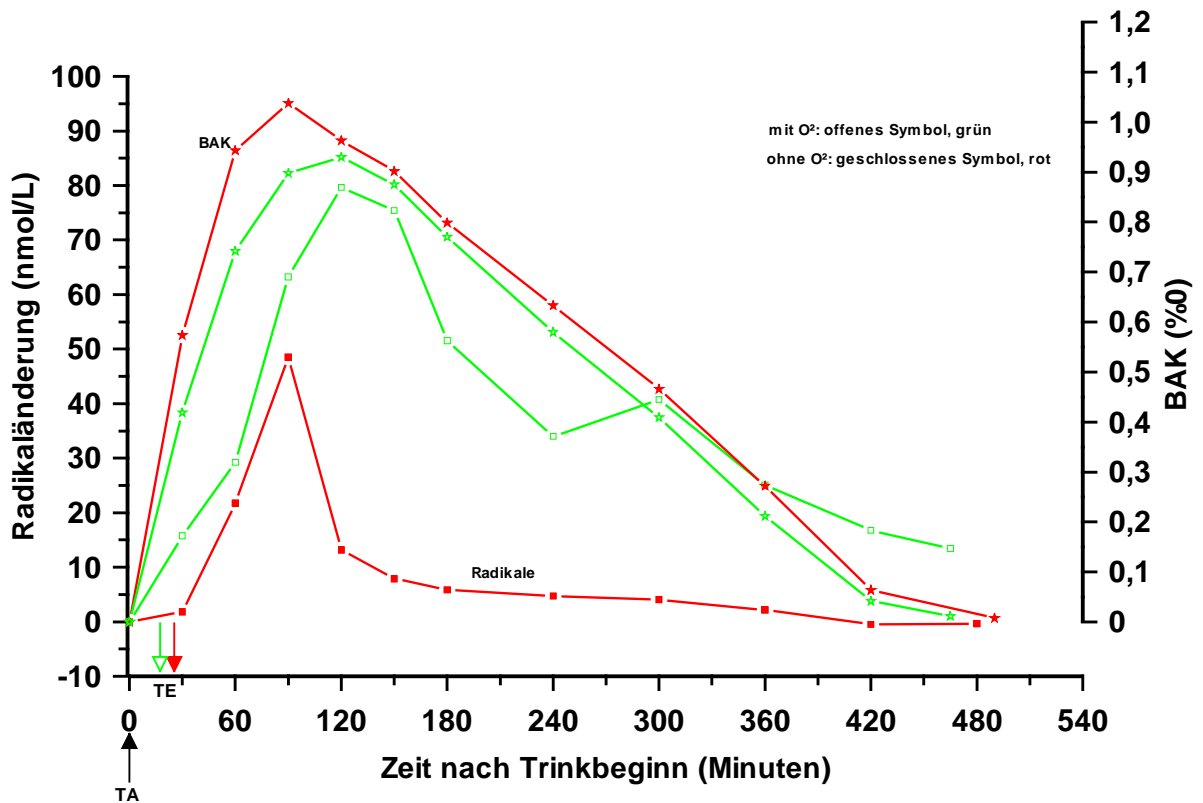


Abb. 24: (Wodkaversuch 4)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 48,5 nmol/L nach 90 Min., AUC 109,3 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 79,6 nmol/L nach 120 Min., AUC 438,0 nmol x min/L

Die Ascorbylradikalwerte nach Mineralwasser zeigen hier nach 120 Minuten sehr niedrige Werte. Möglicherweise waren die Proben nicht stabil, wie bei nicht sofortiger Analyse/Verarbeitung. Vergleiche Abb. 22 und Abb. 23.

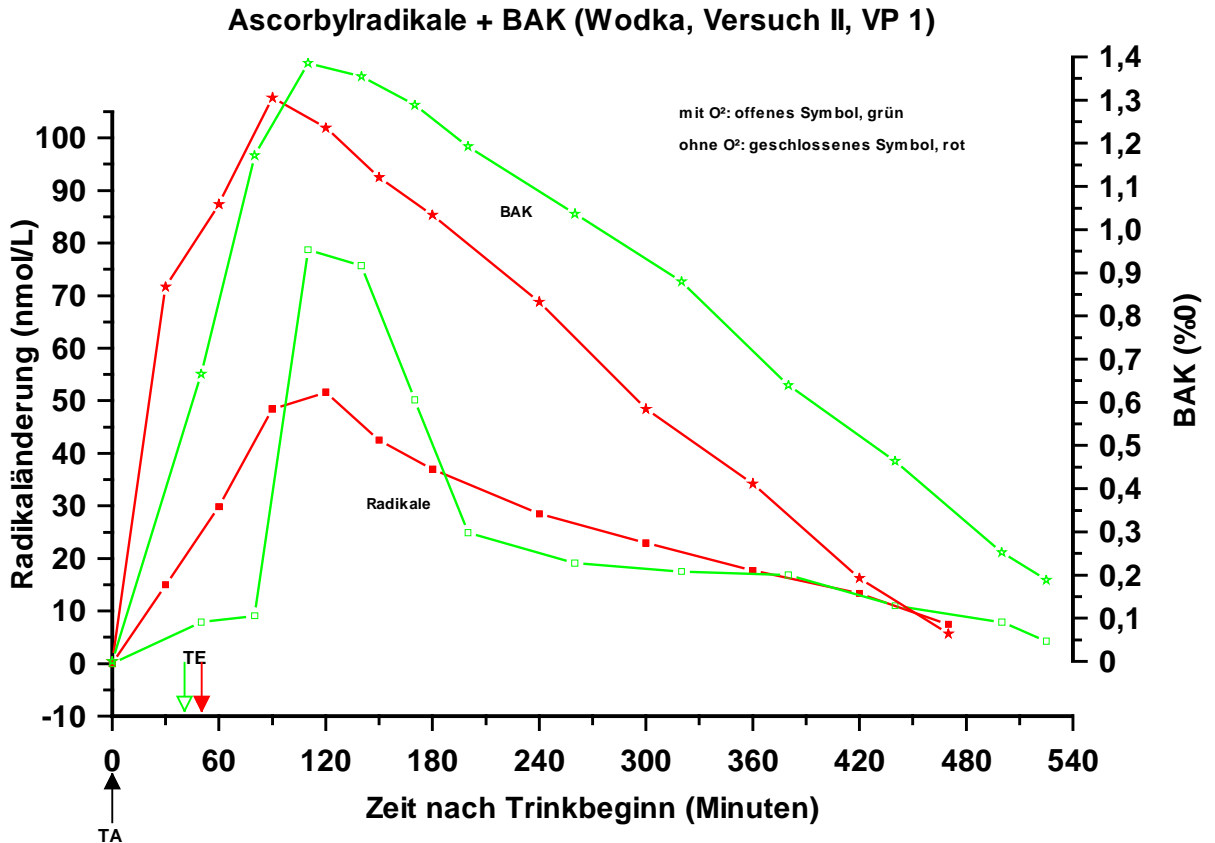


Abb. 25: (Wodkaversuch 5)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 51,6nmol/L nach 120 Min., AUC 310,6 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 78,7 nmol/L nach 90 Min., AUC 314,9 nmol x min/L

Niedriger Peak des Ascorbylradikals für normales Mineralwasser. Nach 180 bis 210 Minuten für beide Wasserarten niedrige Ascorbylwerte. Möglicherweise waren die Proben, wie schon beschrieben, nicht stabil.

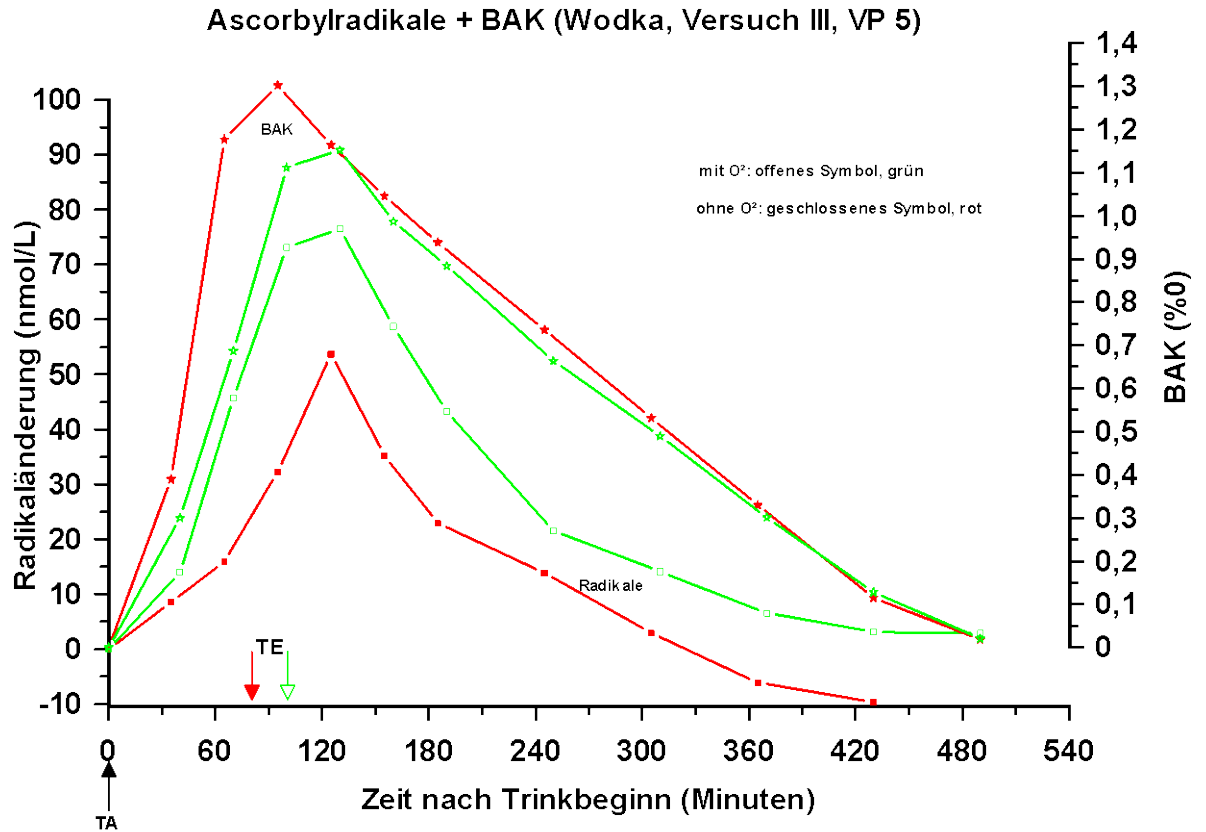


Abb. 26: (Wodkaversuch 6)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 53,7 nmol/L nach 125 Min., AUC 161,2 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 76,5 nmol/L nach 130 Min., AUC 358,1 nmol x min/L

Es erreichen 5 der 6 Probanden der Versuchsreihe mit Wodka höhere Ascorbylradikal-Spitzenwerte nach Einnahme von O₂-angereichertem Wasser, als bei normalem Wasser. Allerdings erreichten nur 2 Probanden die Spitzenwerte zu einem früheren Zeitpunkt. Die 3 weiteren Probanden erzielten den Spitzenwert entweder zeitgleich oder später als Probanden mit normalem Wasser. Für das späte Erreichen der Spitzenwerte könnte eine gewisse Instabilität der Proben verantwortlich gewesen sein.

Insgesamt ergeben sich beim Wodkaversuch folgende Spitzenwerte an Ascorbylradikalen:

Mit O₂-Wasser: MW 71,8 nmol/l ± 5,1 sm, 106,7 min ± 7,6 nach TA

Ohne O₂-Wasser: MW 57,0 nmol/l ± 3,1 sm, 100,8 min ± 10,4 nach TA

.p = 0,033 (p < 0,05) .p = 0,659, n.s.

AUC mit O₂-Wasser: MW: 337,0 nmol x min/L ± 41,3 sm

AUC ohne O₂-Wasser: MW: 245,2 nmol x min/L ± 40,6 sm

n.s.

Vier der sechs Wodkaversuche zeigen auffällig niedrige Werte des Ascorbylradikals und einen auffälligen Kurvenverlauf, mit einem abgeflachten Peak und/oder sehr schnell abfallenden Ascorbylwerten. Wir müssen hier möglicherweise einen Fehler in der Kühlkette des Plasmas und Seren postulieren. Möglicherweise waren die Proben nicht stabil.

4.3.4 Obstbranntwein (6 Versuchspersonen, Abb. 27-32)

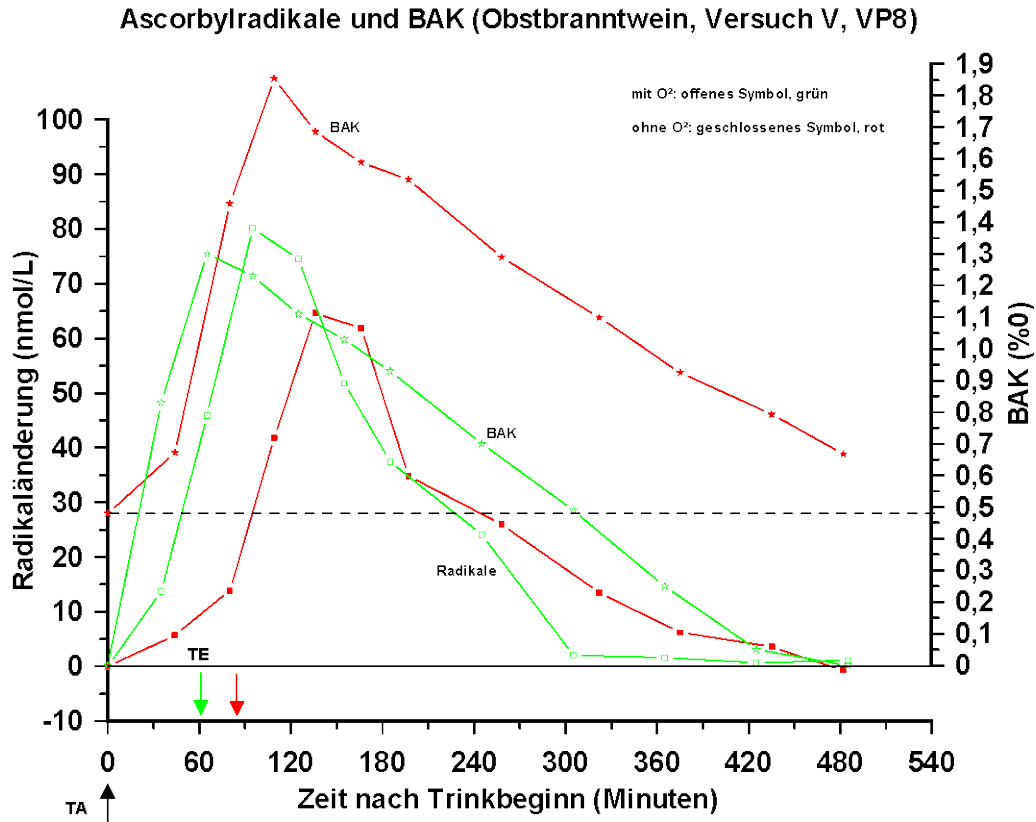


Abb. 27: (Obstbranntweinversuch 1)

Versuchsperson mit Restalkohol von 0,48 ‰ beim Versuch mit normalem Wasser, trotzdem Ascorbylradikalwert absolut 26,8 nmol/L, fast identisch mit dem Ausgangswert ohne Restalkohol im O₂-Versuch von 27,7 nmol/L. Eigentlich wäre bei bolusartiger Alkoholbelastung im Eliminationsverlauf bei etwa 0,5 ‰ noch ein etwas erhöhter Ascorbylradikalwert zu erwarten (wie hier im Versuch mit Sauerstoffwasser ohne Restalkohol). Wegen des Restalkohols wurden BAK-Werte < 0,6 ‰ nicht mehr erfasst, gleichwohl waren trotz deutlicher BAK-Werten bis knapp 0,7 ‰ keine Ascorbylradikalerhöhungen feststellbar.

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 64,6 nmol/L nach 136 Min., AUC 271,6 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 80,2 nmol/L nach 109 Min., AUC 332,3 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Obstbranntwein, Versuch V, VP7)

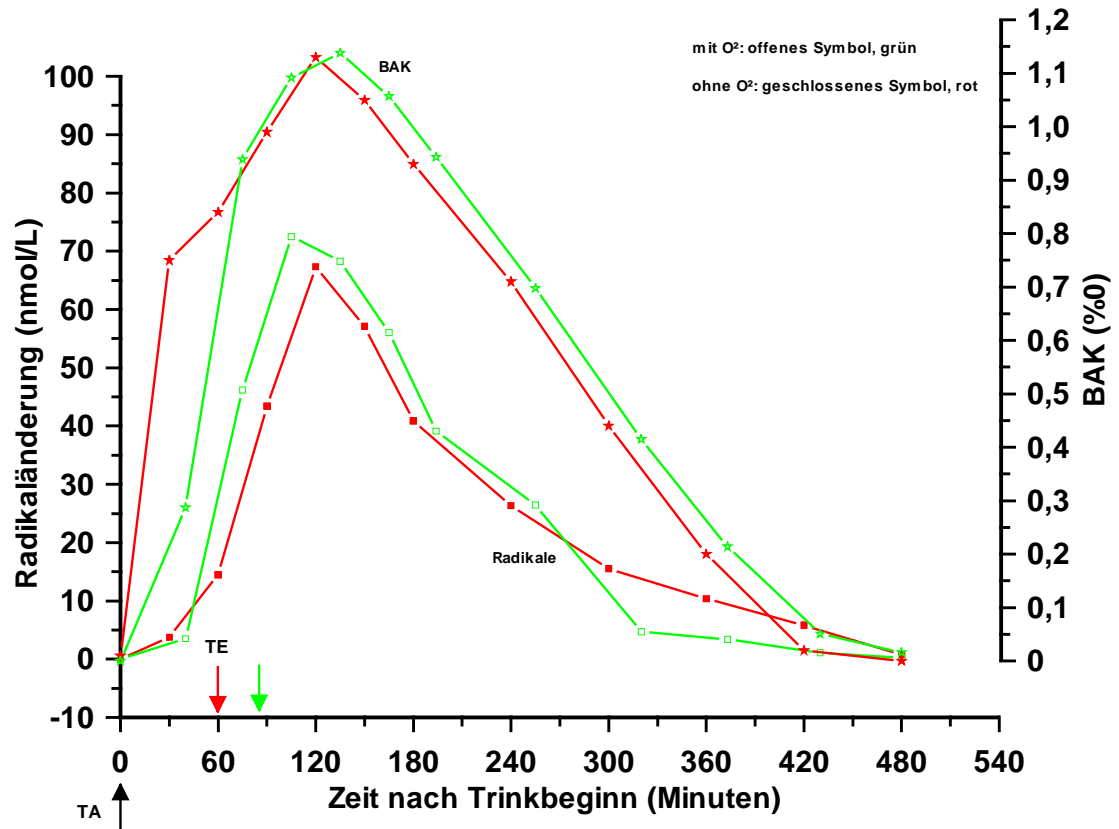


Abb. 28: (Obstbranntweinversuch 2, einzige weibliche Versuchsperson)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 67,3 nmol/L nach 120 Min., AUC 285,4 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 72,5 nmol/L nach 90 Min, AUC 321,5 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Obstbranntwein, Versuch V, VP6)

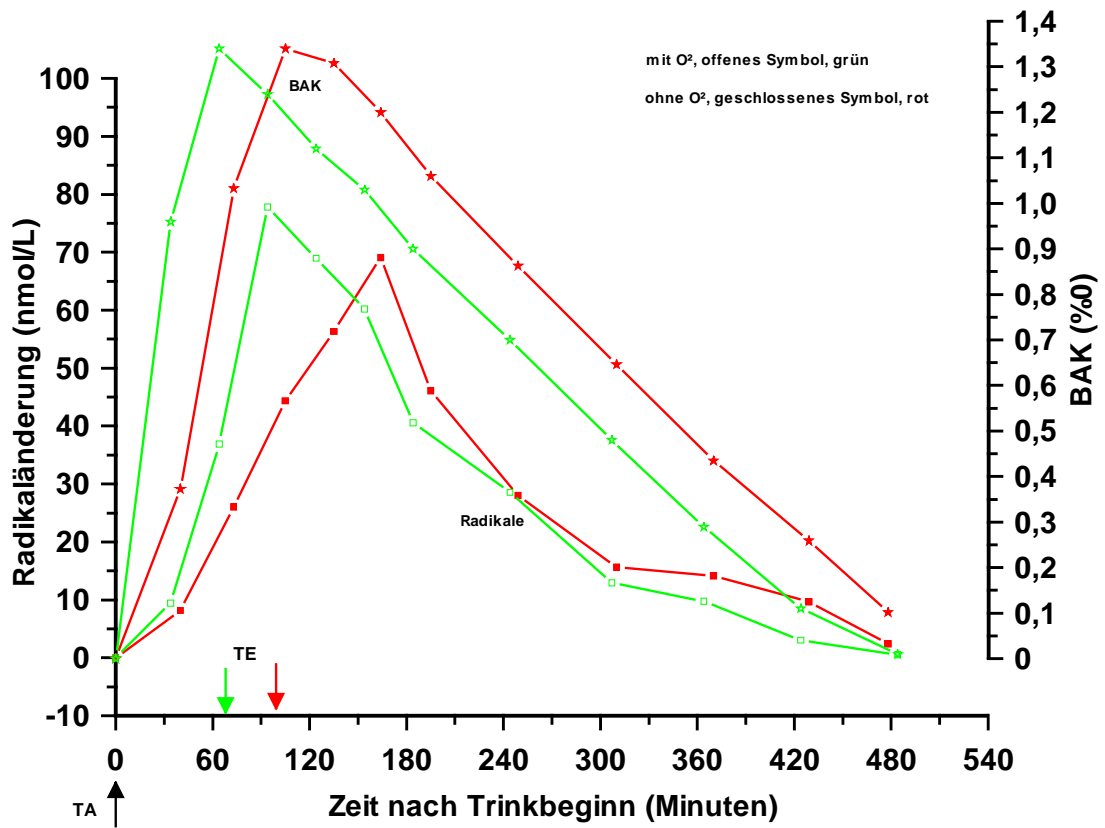


Abb. 29: (Obstbranntweinversuch 3)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 69,1 nmol/L nach 164 Min., AUC 318,8 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 77,8 nmol/L nach 105 Min, AUC 348,4 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Obstbranntwein, Versuch V, VP5)

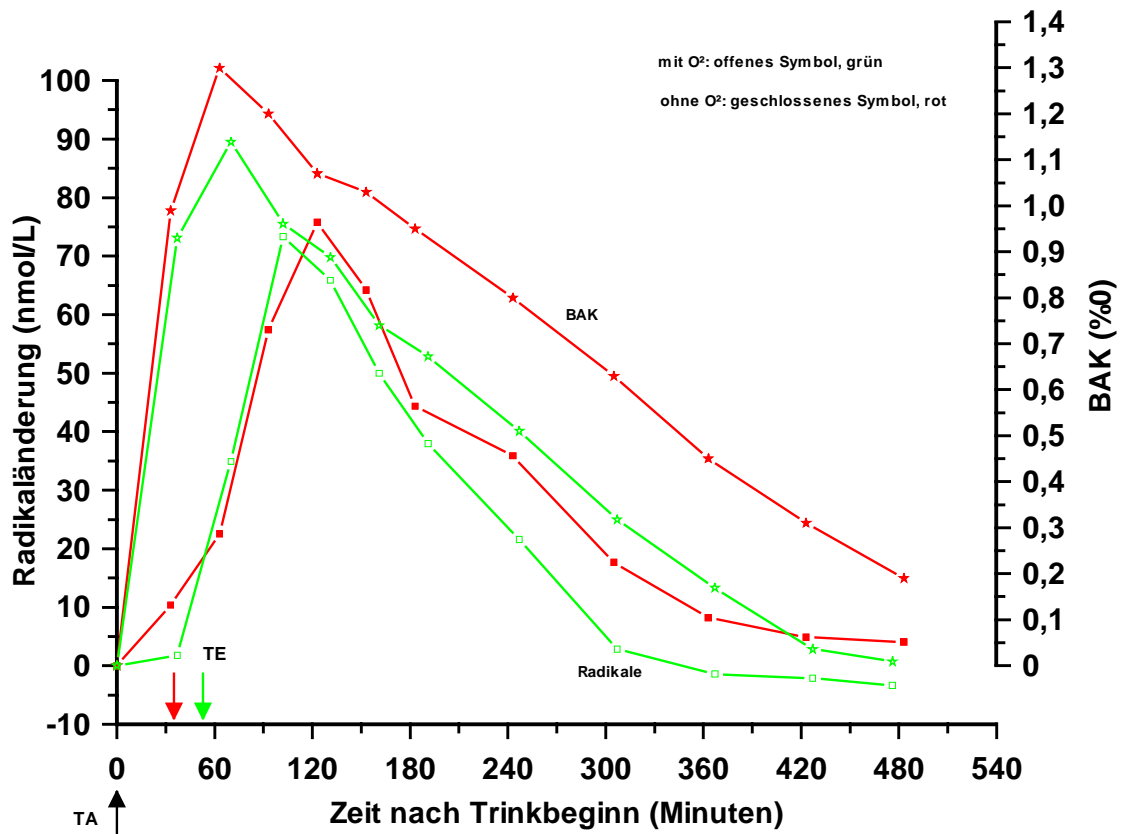


Abb. 30: (Obstbranntweinversuch 4)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 75,8 nmol/L nach 123 Min., AUC 343,3 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 73,3 nmol/L nach 93 Min, AUC 282,9 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Obstbranntwein, Versuch V, VP1)

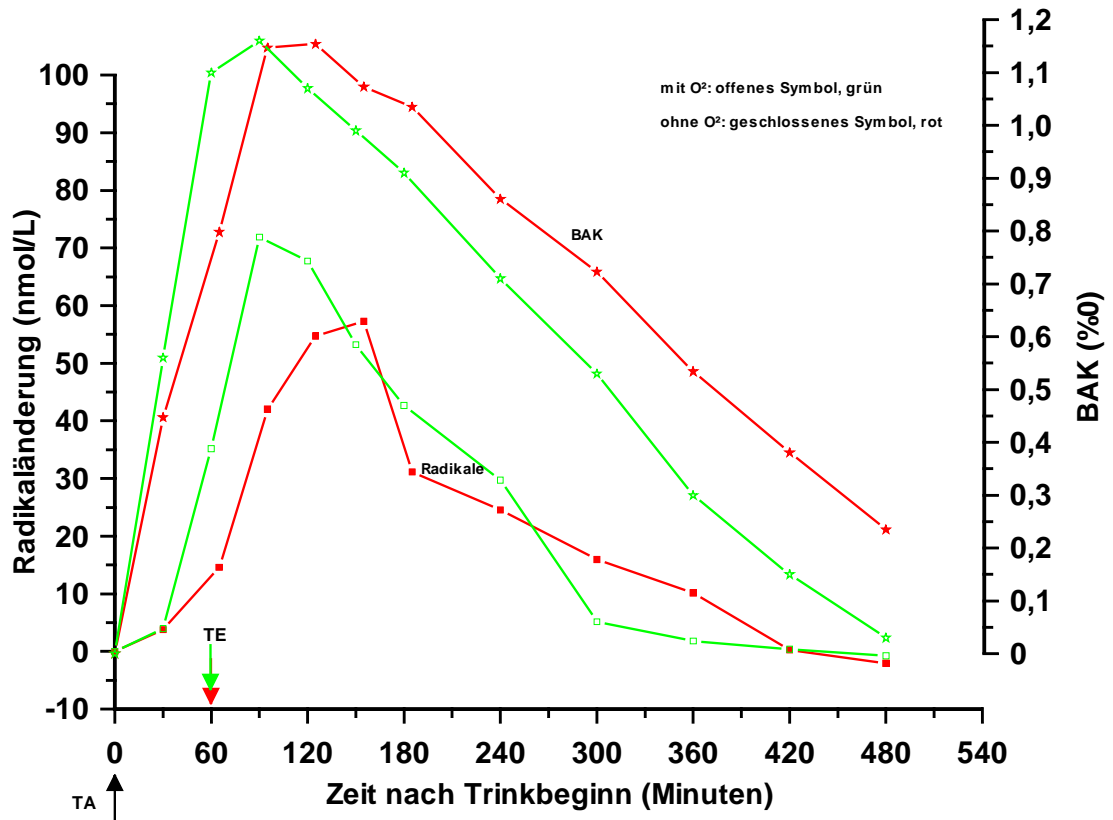


Abb. 31: (Obstbranntweinversuch 5)

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 57,3 nmol/L nach 155 Min., AUC 253,5 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 71,9 nmol/L nach 95 Min, AUC 311,4 nmol x min/L

Ascorbylradikale und BAK (Obstbranntwein, Versuch V, VP9)

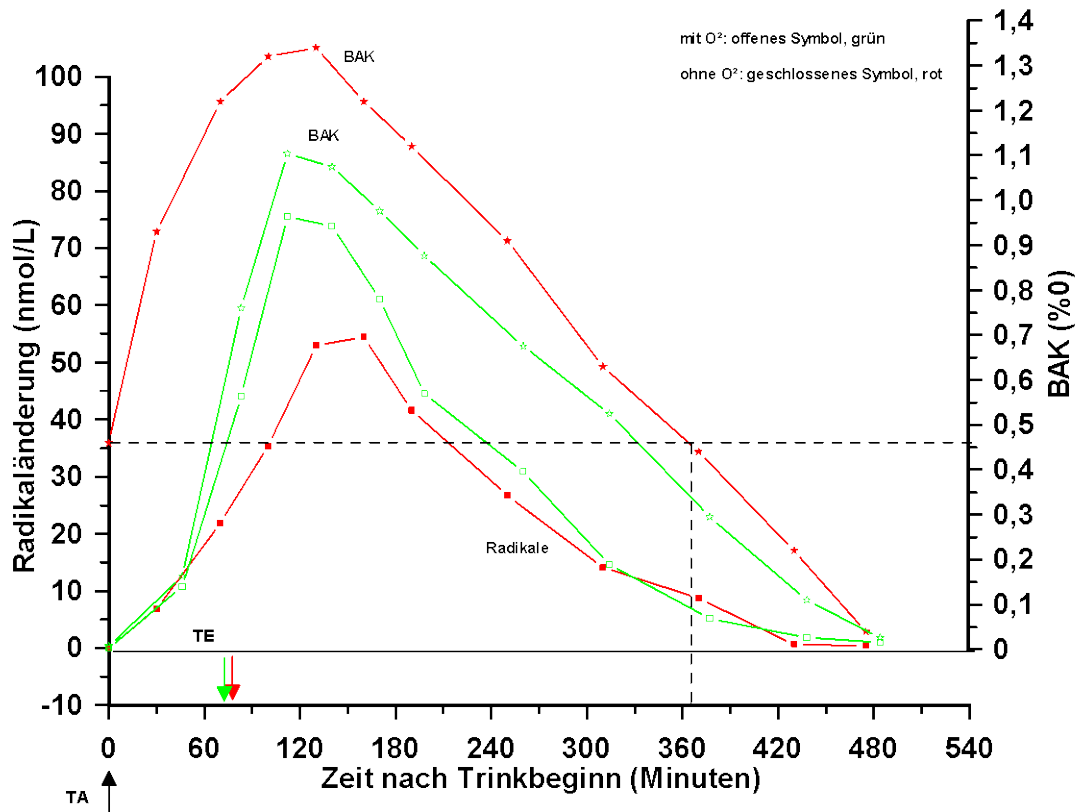


Abb. 32: (Obstbranntweinversuch 6)

Die Versuchsperson hatte bei Trinkanfang im Versuch ohne O₂-Wasser noch Restalkohol entsprechend 0,46 ‰, bei einem Ascorbylradikalspiegel zu diesem Zeitpunkt von absolut 28,3 nmol/L. Dieser Wert war trotz 0,46 ‰ – in der Alkoholeliminationsphase - nahezu identisch mit dem Wert von 28,5 nmol/L im O₂-Versuch alkoholnüchtern. Nach weiterer Alkoholaufnahme und nachfolgendem Abbau bis auf einen vergleichbaren Wert von etwa 0,5 ‰ liegt der Ascorbylradikalspiegel etwa 10 nmol/L höher als beim Restalkohol.

Ascorbylradikale ohne O₂-Wasser: max. 54,5 nmol/L nach 160 Min., AUC 263,6 nmol x min/L

Ascorbylradikale mit O₂-Wasser: max. 75,5 nmol/L nach 100 Min, AUC 362,7 nmol x min/L

Es erreichen 5 der 6 Probanden der Versuchsreihe mit Obstbranntwein höhere Ascorbylradikal-Spitzenwerte nach Einnahme von O₂-angereichertem Wasser, als bei normalem Wasser. Sechs der Probanden erzielen die Ascorbylradikal-Spitzenwerte früher unter Trinken von O₂-angereichertem Wasser.

Insgesamt ergeben sich beim Obstlerversuch folgende Spitzenwerte an Ascorbylradikalen:

Mit O ₂ -Wasser:	MW 75,2 nmol/l ± 1,3 sm,	99,7 min ± 3,3 nach TA
Ohne O ₂ -Wasser:	MW 64,8 nmol/l ± 3,2 sm,	143,0 min ± 7,9 nach TA
	.p = 0,013 (p < 0,02)	.p = 0,0005 (p < 0,001)
AUC mit O ₂ -Wasser:	MW: 326,5 nmol x min/L ± 11,5 sm	
AUC ohne O ₂ -Wasser:	MW: 289,4 nmol x min/L ± 14,2 sm	
	n.s.	

4.4 Inter- und intraindividuelle Vergleiche

Grundsätzlich war in allen Fällen einer Alkoholbelastung ein Anstieg der Ascorbylradikalkonzentrationen (nach Normalisierung, d.h. Abzug der Nüchternausgangswerte) ab Alkoholtrinkbeginn eindeutig nachweisbar, als Ausdruck eines Abfangens gebildeter Radikale. Eine Aufnahme selbst großer Mengen und sogar sauerstoffangereicherten Wassers allein führte zu keinen Radikalerhöhungen. Insofern führt eine Alkoholbelastung, zumindest in der gewählten, bolusartigen Form, also eindeutig zu einer oxidativen Stressbelastung.

Dies kommt auch im ähnlichen Kurvenverlauf der BAK-Werte und der Ascorbylradikalwerte zum Ausdruck, wobei der Anstieg der BAK-Kurve in der Resorptionsphase eher steiler verläuft als die Kurve der wohl endogenen Ascorbylradikalbildung. In der Eliminationsphase verläuft die BAK-Werte-Kurve dann typisch quasi-rektilinear, während Ascorbylradikale eher exponentiell abfallen bzw. eliminiert werden. Insgesamt entspricht der Kurvenverlauf bei den Ascorbylradikalen eher einer Bateman-Funktion, ohne dass bei Schwankungen exakte pharmakokinetische Parameter abzuleiten sind. Die jeweiligen Maximalwerte werden in engeren Zeiträumen zusammen erreicht. Der Abfall der Ascorbylradikal Kurve erfolgt rascher und die Ausgangswerte der Ascorbylradikale werden sowohl bei O₂-angereichertem Wasser als auch unter natürlichem Mineralwasser früher erreicht als ein BAK-Wert von 0 bzw. < 0,3 ‰.

Durchschnittswerte der Gipfelzeiten und Spitzenwerte von Ascorbylradikalen aller 24 Versuche (ohne korrigierte Rechnung beim Wein):

Mit O₂-Wasser: MW 74,6 nmol/l ± 2,2 sm, 104,5 min ± 3,4 nach TA

Ohne O₂-Wasser: MW 63,8 nmol/l ± 1,9 sm, 124,4 min ± 4,7 nach TA

p = 0,00047 (p < 0,001) p = 0,0012 (p < 0,002)

AUC mit O₂-Wasser: MW: 320,0 nmol x min/L ± 15,0 sm

AUC ohne O₂-Wasser: MW: 278,9 nmol x min/L ± 14,1 sm

p = 0,0523, n.s.

Darüber hinaus werden unter sauerstoffangereichertem Wasser allgemein durchschnittlich etwa um 10 nmol/L höhere Ascorbylradikalwerte erreicht als unter normalem Wasser, durchschnittlich auch um etwa 20 Minuten früher. Insofern ist davon auszugehen, dass sauerstoffangereichertes Wasser neben Alkohol zu einer zusätzlichen oxidativen Belastung führt.

	Ascorbylradikale (nmol/L)		Zeitpunkt Maximum nach TB (min)		AUC (nmol x min/L)	
	Mit O ₂	Ohne O ₂	Mit O ₂	Ohne O ₂	Mit O ₂	Ohne O ₂
Wasser						
Bier	78,8±2,2	64,2±4,3	104,3±9,3	127,2±4,8	336,5±12,7	274,8±20,0
Rotwein (korrig.)	82,2±2,9	64,8±2,8	104,6±6,8	127,8±6,7	339,1±23,5	253,2±4,9
Wodka	71,8±5,1	57,0±3,1	106,7±7,6	100,8±10,4	337,0±41,3	245,2±40,6
Obstbrand	75,2±1,3	64,8±3,2	99,7±3,3	143,0±7,9	326,5±11,5	289,4±14,2
Alle(n=24)	74,6±2,2	63,8±1,9	104,5±3,4	124,4±4,7	320,0±15,0	278,9±14,1

Tab. 2: Zusammenstellung und Übersicht über die Mittelwerte MW ± sm von maximal erreichten Ascorbylradikalkonzentrationen in den Getränkegruppen aus je 6 Versuchen, von Zeitpunkten des Maximums nach Trinkbeginn und von AUC (area under curve), jeweils nach Aufnahme von normalem und sauerstoffangereichertem Wasser.

In Tab. 2 sind die Ergebnisse der jeweiligen Gruppen zusammengefasst. Berechnungen zu eventuell signifikanten Mittelwertsunterschieden innerhalb der verschiedenen Getränkegruppen sind im Ergebnisteil ausgeführt. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Getränkegruppen lagen nicht vor. Insbesondere unterscheidet sich Rotwein bei möglichem Gehalt an Radikalfängern wie Polyphenolen u.a. bei vergleichbarer Bildung von Ascorbylradikalen nicht von den anderen, auch hochprozentigen Getränken.

5. Diskussion

Dass insbesondere chronischer Alkoholkonsum zu einer Bildung von ROS bzw. reaktiven Sauerstoffspezies führt ist aus Human- und Tierversuchen bekannt. Untersuchungen zum Stoffwechsel von ROS und Ethanol bei bolusartigem Alkoholkonsum waren in der verfügbaren Literatur nicht auffindbar, vor allem auch nicht über Auswirkungen einer zusätzlichen Aufnahme von sauerstoffangereichertem Wasser und normalem Mineralwasser.

Zur Erfassung eines oxidativen Stress wurden in der vorliegenden Untersuchung von den möglichen, gebildeten Radikalen und ROS zwar lediglich Ascorbylradikale im Plasma analysiert, was zwar nicht den gesamten, komplexen Radikalstoffwechsel erfasst, jedoch nach übereinstimmenden Angaben in der Literatur durchaus als sensibler und aussagekräftiger Marker anzusehen ist.

Auf eine Analyse initialer Vitamin C bzw. Ascorbinsäurespiegel wurde im Hinblick auf die Untersuchungen von Schoenberg et al. 2002 verzichtet. Dort bestimmte Vitamin C-Spiegel lagen sämtlich im Normbereich. Nachdem unsere Versuche mit 21 gesunden freiwilligen Personen im Alter von 18 bis 28 Jahren durchgeführt wurden, war davon auszugehen, dass kein Vitamin C- bzw. Ascorbinsäuremangel vorlag. Nachdem ohnehin relativ geringe anteilige Mengen an Ascorbylradikalen gebildet und diese regeneriert werden, erschien der Verzicht auf eine aufwändige, zusätzliche Messung von Vitamin C bzw. Ascorbinsäure vertretbar.

Bei der Versuchsreihe **ohne Alkoholaufnahme** – zur Absicherung der Anstiege von Ascorbylradikalen unter Alkohol - wurde ausschließlich oxigeniertes Wasser mit einer Konzentration von ca. 90 mg/L getrunken. Die Trinkmengen betragen 5,5 bis 7,0 Liter innerhalb von 6 Stunden. Damit wurden wesentlich größere Mengen an Sauerstoff und über kürzere Zeit aufgenommen als in sämtlichen früheren Untersuchungen (bis zu 630 mg O₂ in 6 Stunden). Auffallend ist, dass im Gegensatz zu Schönberg selbst bei der vielfach höheren Sauerstoffbelastung eine abgrenzbare Erhöhung von Ascorbylradikalen nicht nachweisbar war (vgl. Abb. 4, S. 23). Vielmehr blieben die Ascorbylradikalwerte über 6 Stunden im Bereich der Ausgangs/Mittelwerte von $26,7 \pm 5,6$ nmol/L, gegenüber einem Anstieg bei Schönberg von einem Median von 48 auf 65 nmol/L nach 300 ml Wasser mit mindestens 30 mg O₂/L. Insgesamt erscheinen die Veränderungen bei Schönberg relativ gering und teilweise uneinheitlich, mit z.T. erheblich unterschiedlichen Ausgangswerten von Ascorbylradikalen bei der Placebo- und Verumgruppe.

Gruber et al. 2005 berichten über eine Zunahme an Ascorbylradikalen von ca. 48 nmol/L auf ca. 57 nmol/L (nach 14 Tagen) und von ca. 50 nmol/L auf ca. 59 nmol/L (nach 21 Tagen), nach täglichem Trinken von 1,5 L (180 mg O₂/L) oxigeniertem Wasser nach 14 und 21 Tagen. Diese Zunahme soll signifikant sein, inwieweit die geringen Unterschiede angesichts von Streuungen bereits der Ausgangswerte abgrenzbar und relevant sind, erscheint zumindest diskutabel. Gruber erwähnt frühere Studien in denen keine Proportionalität zwischen Sauerstoffmengen und -konzentration und der Ascorbylkonzentration im Serum bestand. Als Erklärung wird die mögliche Existenz eines Signalphänomens in der Darmmukosa im Sinne einer Signaltransduktion diskutiert.

Generell fallen bei den Arbeitsgruppen von Gruber und Schönberg bei eigentlich gleicher Analytik höhere Ausgangswerte von 41 bzw. 46 nmol/L auf, gegenüber $28,3 \text{ nmol/L} \pm 3,1 \text{ sd}$ (alle 24 Versuchspersonen resp. 48 Versuche). Möglicherweise sind diese Unterschiede durch die sensible Präanalytik bedingt. Beispielsweise können Verzögerungen bei der sofortigen Kühlung und Störungen der Kühlzentrifuge zu deutlichen Verlusten der sehr reaktionsfähigen Radikale führen, wie sich bei ersten (Vor)Versuchen mit defekter Kühlzentrifuge ergeben hatte. Bei gleicher Analytik im selben Labor waren bei den gegenständlichen Untersuchungen als Vorgabe 3 Minuten Kühlzentrifuge gegenüber früher 10 für ausreichend erachtet worden, ferner eine Probenlagerung bei mindestens -18°C mit Transport zum Labor in flüssigem Stickstoff gegenüber sofortigem flüssigem Stickstoff. Für die vergleichende Verlaufsbeurteilung spielt dies letztlich keine Rolle.

Festzuhalten bleibt, dass die alleinige Aufnahme von sauerstoffangereichertem Wasser, auch in größeren Mengen und über Stunden zu keiner Veränderung der Ascorbylradikalkonzentration im Blut führte, während die Alkoholisierung mit und ohne Sauerstoffwasser zu regelmässigen, eindeutigen Anstiegen führte. Die im Trinkverlauf mit der BAK zunehmenden Konzentrationen an Ascorbylradikalen erreichten bei simultaner Aufnahme von sauerstoffangereichertem Wasser gegenüber normalem Mineralwasser im Durchschnitt um etwa 10 nmol/L höhere Gipfelwerte und um durchschnittlich etwa 20 Minuten früher. Auch wenn dieses Ergebnis sich nicht in allen Versuchen darstellt, sind die Unterschiede statistisch signifikant (vgl. Tab. 2).

Bei sämtlichen Alkoholversuchen ähnelt der Anstieg und Verlauf der Ascorbylradikalkonzentrationen der Blutalkoholkurve, jedoch mit verzögertem Anstieg, früherem Erreichen des Gipfelwertes und rascherem Abfall. Während die Blutalkoholkurven in der Elimination typisch quasi – rektilinear wie bei maximaler Enzym-Substratsättigung nach Michaelis-Menten verliefen, ähneln die Verläufe der Ascorbylradikalkonzentrationen eher einer Bateman-Funktion, wie bei einem Ein-Kompartimentmodell mit der "Ab/Resorption" einer wasserlöslichen Substanz wie Vitamin C = Ascorbinsäure bzw. Ascorbylradikal und einer Elimination 1. Ordnung, aber ohne eindeutige "Resorptionskomponente". Dies entspricht am ehesten einer endogenen Bildung von Radikalen. Die Bestimmung von Charakteristika einer Bateman-Funktion erschien bei den uneinheitlichen Verläufen nicht vielversprechend.

Bestimmten Alkoholarten wie Wein oder Bier wird eine antioxidative Fähigkeit nachgesagt. Im Wein, insbesondere im Rotwein, finden sich Polyphenole, Bier enthält Flavonoide, die aus dem Hopfen bzw. den Bitterstoffen stammen. Dies sind bioaktive Substanzen, wie Farbstoffe (Flavonoide, Anthocyane), Geschmacksstoffe und Tannine. Insbesondere die Flavonoide, Anthocyane und Tannine sind antioxidativ aktive Substanzen. Satoh et al. hatten 1996 über antioxidative Eigenschaften und Wirkungen von Polyphenolen bei Untersuchungen mittels der Bestimmung von Ascorbylradikalen berichtet, dabei sollten Polyphenole wie in (Rot)Wein Ascorbylradikale abfangen. Obstbranntwein enthält mit die höchsten Mengen und Konzentrationen an Fuselölen bzw. Begleitstoffen, während Wodka im Wesentlichen Ethanol enthält und bei beiden Getränken eine antioxidative Wirkung nicht anzunehmen ist. Zur differenzierenden Beurteilung waren deshalb von vorneherein diese 4 repräsentativen Alkoholarten gewählt. Unsere Ergebnisse geben weder Hinweise auf nachweisbare Wirkungen von antioxidativen Begleitsubstanzen bei Rotwein oder Bier, noch dass sich eine Alkoholart durch einen individuellen Einfluss

auf Ascorbylradikale auszeichnet, weder bei Aufnahme von normalem Wasser noch bei sauerstoffangereichertem Wasser. Ein quantitativer oder qualitativer Unterschied bei der Entstehung der Konzentration oder dem Kurvenverlauf des Ascorbylradikals war nicht feststellbar.

Insgesamt entspricht der Konzentrations-Zeitverlauf der Ascorbylradikale einem oxidativen Stress während einer Alkoholisierungsphase, Unterschiede hinsichtlich der Getränkeart wie z.B. Wein mit Antioxidantien oder hochprozentigen Getränken waren nicht abgrenzbar.

Bei der Auswertung unserer Ergebnisse erstaunte uns das Ergebnis zweier Probanden, die mit einem Restalkohol entsprechend einer BAK von 0,46 ‰ (Abb. 32) und 0,48 ‰ (Abb. 27) zum Trinkversuch erschienen waren und eigentlich nach dem vorgegebenem Auswahlkriterium der Alkoholfreiheit bei Versuchsbeginn nicht berücksichtigt werden sollten. In den Nüchternserumproben der 24 Versuchspersonen vor Beginn beider Versuche, also in 48 Leerproben, lagen die Ascorbylradikalkonzentrationen im Durchschnitt bei 28,3 nmol/L. (MW 28,29 nmol/L, $sm \pm 0,45$, $sd \pm 3,14$, Bereich: 21,44 – 38,24 nmol/L). Die zwei Teilnehmer mit „Restalkohol“ bei Versuchsbeginn von 0,46 resp. 0,48 ‰ zeigten völlig vergleichbare Werte gegenüber den jeweiligen 0-Werten aller anderen Teilnehmer. Die absoluten Werte dieser beiden Probanden waren 28,27 bzw. 26,78 nmol/L. Da alle Probanden mit einem Anstieg der Ascorbylradikale auf die Einnahme von Alkohol reagierten, erwarteten wir eher einen erhöhten Basiswert. Möglicherweise entstehen Radikale vor allem im Zuge eines aktuellen, zunehmenden Ethanolmetabolismus, mit erhöhten Ascorbylradikalkonzentrationen als Ausdruck einer oxidativen Stresssituation des Organismus bei akuter, erheblicherer Alkoholaufnahme und Ethanolmetabolisierung. Wie von Albano 2006 diskutiert, kann es im Rahmen des Ethanolmetabolismus zu einer Bildung von ROS über die mitochondriale Elektronentransportkette kommen, wie auch zur Bildung von HER (Hydroxyethyl free radicals) über Cytochrome P 450 (CYP) 2E1. Nachdem dieser MEOS – abhängige Stoffwechselweg eher erst bei höheren BAK – Werten einsetzt, könnte dies eine Erklärung für höhere Ascorbylradikalwerte im Zuge der akuten Alkoholisierung bieten, während es bei längeren Trink/Alkoholisierungsphasen möglicherweise zu einer Abschwächung kommt. Möglicherweise ist auch Alkohol an sich nicht alleine verantwortlich, sondern der (Stress)Zustand, in den der Organismus in der Phase der Alkoholanflutung versetzt wird, mit weiteren, indirekten Stoffwechsellwirkungen. Möglicherweise resultiert bei längeren Trinkphasen ohne eine bolusartige Alkoholbelastung und bei chronischer Alkoholeinnahme wie bei Spiegeltrinkern zwar – wie in der Literatur beschrieben – durchaus eine Radikalbelastung, die jedoch geringer ausfallen könnte als bei kurzzeitiger, erheblicherer Alkoholbelastung. Insofern ergeben sich Hinweise, dass oxidativer Stress hauptsächlich bei und im Verlauf akuter Alkoholaufnahme auftritt, sich bei längeren Trinkphasen jedoch deutlich geringer manifestieren könnte.

Eine genaue Beurteilung von oxidativem Stress ist eigentlich nur auf der Grundlage einer ganzen Serie von Tests möglich, wobei diese in Hauptuntersuchungsgebiete einteilbar sind. Diese sind die Analyse der Antioxidantien, die Bestimmung von Spurenelementen, der Nachweis oxidativer Schäden an Lipiden, Proteinen, Lipoproteinen, DNA und Glukose, und die Evaluierung des Eisenstoffwechsels (www.probiox.com). Das Ziel unserer Untersuchungen war nicht die spezifische quantitative und qualitative Erfassung eines

oxidativen Schadens durch Alkohol, sondern einen möglichen Zusammenhang zwischen bolusartigem Trinken von Alkohol und oxidativem Stress nachzuweisen.

Zusätzlich untersuchten wir einen möglichen, generellen oxidativen Einfluß von intestinal resorbiertem Sauerstoff. Die Angaben inwieweit Sauerstoff intestinal resorbierbar ist und welche Wirkungen möglich sind, divergieren. O₂ löst sich eigentlich schlecht in Wasser und Plasma, insofern ist zunächst fraglich, wie viel O₂ tatsächlich aufgenommen wird und zumindest in der Leber noch Wirkung haben kann. Zumindest Adam und Forth (2001) konnten an Kaninchen eine erhöhte O₂-Konzentration in der Bauchhöhle und der Pfortader nach intragastraler Gabe von sauerstoffangereichertem Wasser nachweisen. Unsere Ergebnisse, die eine signifikante Erhöhung des Ascorbylradikals beim Trinken von Alkohol zusammen mit oxigeniertem Wasser gegenüber der Kontrollgruppe mit normalem Mineralwasser nachweisen, sprechen zumindest für eine intestinale und wohl auch hepatische Sauerstoffresorption und Stoffwechselwirkung.

Allerdings ist die Produktion von ROS, hier durch das Ascorbylradikal dargestellt, in erster Linie durch die bolusartige Alkoholbelastung verursacht. Wie bereits erwähnt konnten wir bei Aufnahme selbst erheblicher Mengen an O₂ Wasser ohne Alkohol keinen Effekt auf die Produktion von Ascorbylradikalen feststellen.

Mit dieser Pilotstudie konnten wir einen Anstieg der Ascorbylradikale als Ausdruck eines Abfangens gebildeter ROS bei bolusartiger Alkoholeinnahme nachweisen. Allerdings wirft diese Studie Fragenstellungen mit bisher weniger beachteten Perspektiven auf.

Die toxische Wirkung eines chronischen Alkoholabusus ist allgemein bekannt. Die Auswirkungen von bolusartigen Alkoholexzessen auf die Bildung von ROS und deren möglicherweise toxischen Langzeitwirkungen sind wenig erforscht. Bisher wird angenommen, dass kurzfristige, nicht habituelle bolusartige Alkoholeinnahmen keine bleibenden Schäden hinterlassen. Jedoch sollten wir diese Annahme, in Anbetracht der ausgeprägten und in unseren Versuchen immer reproduzierbaren Bildung von Sauerstoffradikalen, hinterfragen. Hier sind zusätzliche Studien möglicherweise weiterführend.

Problematisch erscheint, dass sauerstoffangereichertes Wasser zumindest bei bolusartiger Alkoholbelastung zu Radikalbelastung führt. Inwieweit dieser Effekt bei regelmäßigem moderaten Alkoholenuss, wie er in unserer abendländischen Kultur sozial akzeptiert ist, zum tragen kommt, oder bei massivem Alkoholmissbrauch, im Sinne von Alkoholismus, sich noch stärker auswirkt, sollte in nachfolgenden Studien geklärt werden.

Desweiteren kann die Untersuchung des Einflusses der Alkoholeinnahme bei Alkoholkranken auf die Bildung von ROS uns weitere Hinweise liefern zum Verständnis der Organschädigung bei chronischem Alkoholabusus. Albano (2006) beschreibt in seiner Arbeit, dass die Mechanismen durch die oxidativer Stress zu Alkoholtoxizität führt, noch nicht vollständig verstanden werden. Sind ROS als Mitauslöser bzw. Mitursache für eine erhöhte Krebsrate bei chronischem Alkoholismus anzusehen (Teschke, 2005)?

Inwieweit geringere oder noch höhere Radikalbelastungen bei moderatem Alkoholkonsum oder chronischem Alkoholkonsum gegeben sind ist in vergleichenden Studien zu klären.

Letztendlich können wir durch die Ergebnisse unserer Pilotstudie, nämlich ein eindeutiger Nachweis einer Bildung von Sauerstoffradikalen nach bolusartiger Einnahme von Ethanol, nicht auf die toxischen Wirkungen und deren Relevanz schliessen. Da unsere Versuche eine signifikante Erhöhung des Ascorbylradikals beim Trinken von Alkohol zusammen mit oxigeniertem Wasser gegenüber der Kontrollgruppe mit normalem Mineralwasser nachweisen, stellt sich die Frage inwieweit die Einnahme von sauerstoffangereichertem Wasser während einer Alkoholisierungsphase besser zu meiden ist.

6. Zusammenfassung

Zahlreiche Publikationen berichten über Bildung und Auswirkungen von Sauerstoffradikalen bzw. reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) als Ausdruck einer oxidativen Stressreaktion durch Alkohol, meist nach chronischer Alkoholbelastung und in Tierversuchen. Systematische Untersuchungen zur Bildung und zum Stoffwechsel von Radikalen bei Humantrinkversuchen mit bolusartiger Alkoholaufnahme waren in der Literatur nicht auffindbar, insbesondere nicht zur Frage einer möglicherweise differentiellen Wirkung verschiedener Alkoholika wie z.B. Rotwein mit diskutierte(n), antioxidativen Bestandteilen gegenüber nahezu begleitstoff- bzw. fuselölfreiem Wodka.

Im Rahmen einer mit Fördermitteln der MMW unterstützten Studie tranken jeweils 6 gesunde, junge Versuchspersonen an je 2 Samstagen im Wochenabstand innerhalb einer Stunde Bier, Rotwein, Wodka oder Obstbranntwein entsprechend einer Ethanolbelastung von 1,0 g /kg KG und einer Ziel - BAK von bis zu 1,2 ‰. Zusätzlich wurden definierte Mindestmengen an normalem Mineralwasser oder an sauerstoffangereichertem Mineralwasser der Firma Adelholzener ad libitum getrunken, bei doppelblindem, kontrolliertem und gekreuztem Design der Studie bezüglich des Mineralwassers. Insgesamt wurden somit 24 Versuche durchgeführt. Zur Vergleichskontrolle tranken 3 Versuchspersonen ausschließlich Sauerstoffwasser. Die Trinkmengen an Wasser lagen bei durchschnittlich 6,2 Liter (4 bis 9,5 Liter) über mindestens 6 Stunden, entsprechend durchschnittlich ca. 360 – 540 mg Sauerstoffaufnahme bei Sauerstoffwasser.

Von Trinkbeginn bis zum mutmasslichen Endabbau des Ethanols nach 8 Stunden wurden konsekutiv Doppelblutentnahmen aus peripher venösen Zugängen durchgeführt. Eine Probe wurde sofort kühlzentrifugiert, das Plasma eingefroren und ein Teil auf Begleitstoffe analysiert, der andere Teil in Flüssigstickstoff zum Labor überführt und dann auf Ascorbylradikale untersucht. Die zweite, simultan entnommene Blutprobe wurde routinemässig am Folgetag auf Ethanol und wiederum Begleitstoffe analysiert.

Neben der vorliegenden Auswertung zum Verhalten der Ascorbylradikale erfolgten getrennte Untersuchungen zum Stoffwechsel von Ethanol und Acetaldehyd sowie von Begleitstoffen.

Die (Nüchtern)Ausgangswerte der Ascorbylradikalkonzentrationen der 24 Versuchspersonen vor Beginn beider Versuche, also in 48 Leerproben, lagen im Durchschnitt bei 28,3 nmol/L. (MW 28,29 nmol/L, sd \pm 3,14, Bereich: 21,44 – 38,24 nmol/L).

Im Ergebnis war in allen Fällen ein Anstieg der Ascorbylradikale als Ausdruck eines Abfangens gebildeter Radikale nachweisbar, wie es in dieser Form in der Literatur bisher nicht beschrieben oder untersucht wurde. Die Kurvenverläufe der BAK und der Ascorbylradikale sind insbesondere in der Resorptionsphase ähnlich, mit einem durchschnittlichen Anstieg der Ascorbylradikale auf Peakwerte von 74,6 nmol/L mit Sauerstoffwasser und 63,8 nmol/L bei Mineralwasser ohne Sauerstoffanreicherung. Dabei wurden die Maximalwerte mit Sauerstoffwasser bei 104,5 Minuten nach Trinkbeginn früher erreicht als bei normalem Wasser mit 124,4 Minuten. Auch die Gesamtbelastung mit

Ascorbylradikalen war bei Sauerstoffwasser entsprechend einer area under curve von 320 nmol x min/L gegenüber 278,9 bei normalem Wasser erhöht. Die Unterschiede sind signifikant. Eindeutige Unterschiede innerhalb der Getränkegruppen waren nicht abgrenzbar, d.h. beispielsweise ein antioxidativer Effekt von Rotwein oder andere getränkearttypische Auswirkungen waren nicht abgrenzbar. In der Eliminationsphase verlief die BAK-Kurve typisch quasi - rektilinear wie bei maximaler Enzym - Substrathemmung und Michaelis - Mentenkinetik, während die Elimination der Ascorbylradikale eher exponentiell verlief und die Kurvenverläufe insgesamt eher einer Bateman - Funktion entsprechen.

2 Versuchspersonen hatten bei Versuchsbeginn Restalkohol von knapp 0,5 ‰ bei absoluten Ascorbylradikalwerten wie alkohalnüchtern, während im Bolusversuch in der Eliminationsphase erhöhte Ascorbylradikalwerte bestanden. Insofern erhebt sich die Frage, inwieweit ein oxidativer Stress hauptsächlich bei und im Verlauf akuter Alkoholaufnahme und Ethanolmetabolisierung auftritt, als Ausdruck einer Bildung auch von HER (Hydroxyethyl free radicals) während des akuten Ethanolmetabolismus und u.U. über Cytochrome P 450 (CYP) 2E1, während es bei längeren Trink/Alkoholisierungsphasenphasen möglicherweise zu einer Abschwächung kommt.

Nach Aufnahme von sauerstoffangereichertem Wasser ohne Alkohol selbst in großen Mengen blieben die (absoluten) Ascorbylradikalwerte mit durchschnittlich $26,7 \pm 5,6$ sd im Ausgangsbereich. Entgegen der Langzeitbelastungen wie bei Schönberg et al. war somit kein Effekt bzw. eine Erhöhung von Ascorbylradikalen durch Sauerstoffwasser abgrenzbar.

Dies bedeutet, dass eine entsprechende Alkoholaufnahme mit einer deutlichen oxidativen Stressreaktion einhergeht, die bei Anwesenheit von enteralem Sauerstoff durch gleichzeitige Aufnahme von sauerstoffangereichertem Wasser eher noch etwas ausgeprägter wird.

7. Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area under the curve
ADH	Alkoholdehydrogenase
BAK	Blutalkohol
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EPR	Electron Paramagnetic Resonance
ESR	Elektronenspinresonanz
HER	Hydroxy – Ethyl - Radical
H ₂ O ²	Wasserstoffperoxid
LDL	Low Density Lipoprotein
MEOS	Mischfunktionelles, ethanoloxidierendes System
MW	Mittelwert
NO	Stickstoffmonoxid
n.s.	nicht signifikant
O ²	Sauerstoff
O ³	Ozon
O ²⁻	Hyperoxid-Anion, früher Superoxid-Anion
¹ O ²	Singulett-Sauerstoff = angeregtes Sauerstoffmolekül
O Cl	Hypochlorit Anion
OH	Hydroxylradikal
ONOO-	Peroxynitrit
RNS	Reaktive Stickstoffspezies

ROS	Reaktive Oxigen Spezies
RO	Alkoxyradikal
ROO	Peroxyradikal
ROOH	Hydroperoxid
SAK	Serumalkoholkonzentration
SD	Standardabweichung Einzelwerte
Se (sd):	Standardabweichung Einzelwerte (standard error / deviation)
Sm (sem):	Standardabweichung Mittelwert (standard error of mean)
TA	Trinkanfang Alkohol (Abb. 4 ohne Alkohol)
TE	Trinkende Alkohol (Abb. 4 ohne Alkohol)
VP	Versuchsperson

8. Versuchsprotokoll

Alkoholelimination und Radikale nach oraler Alkoholbelastung mit und ohne sauerstoffangereichertes Wasser

Versuchsprotokoll vom (Samstag, Tag

Versuchsperson : Kg Kl..... **NR:**

Frühstück: Vit.C, Radikalfänger

Alkohol-Trinkgewohnheiten:

Alkoholbelastung: 1g/kg KG bei Männern, 0,9g/kg KG bei Frauen (Ziel-BAK: ca. 1-1,1 ‰)

Rotwein Bier.....

Wodka..... Obstbranntwein.....

Menge:

Trinkzeit sollte 60-90 Minuten sein

O₂-Wasser Adelhölzener (90mg O₂/l) oder Mineralwasser (4-7mg /l).....(blinded)

Farbmarkierung des Wassers: Temperatur.....

Menge: 0,3 Liter vor Alkohol, dann alle 30 Minuten 0,3 Liter bis Alkoholtrinkende, dann alle 60 Minuten oder frei

Protokoll Alkohol (Zeit, Gläser):
zu 0,2 L
.....

Protokoll Wasser (Zeit, Gläser):
zu 0,2 L
.....

Blutentnahmen (Uhrzeit):

0-Probe/Trinkanfang(TA):..... 1. BE (30 min nach TA):..... 2. BE (60 in):.....

3. BE (90min):..... 4. BE (120min):..... 5. BE 50min):.....

6. BE (180min):..... 7. BE (240min):..... 8. BE 00min):.....

9. BE (360min):..... 10. BE (420min):..... 11. BE 80min):.....

Entnahmeröhrchen: EDTA, je 2, über Vacutainer:

1. 5ml für Radikalbestimmung (Ascorbylradikal), sofort auf Eis, in Kühlzentrifuge 0°C, Plasma abpipettiert, eingefroren bei -18°C für Radikalbestimmung, Transport zum Labor in flüssigem Stickstoff. Rest für Begleitstoffe bei -18°C.

2. 7ml EDTA-Blut, im Verlauf Kühlschranksklagerung, für Ethanolanalyse (forensisch, 4x) und Begleitstoffe.

9. Literaturverzeichnis

Albano E, Clot P. Free radicals and ethanol toxicity. In: Alcohol and the gastrointestinal tract. Ed by Preedy VR and Watson RR. 1996; CRC Press, Boca Raton

Albano E. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. Proc of the Nutrition Soc 2006; 65:278-290

Arnaud MJ. Does oxygenated water support aerobic performance and lactate kinetics? Letter to the editor. Int J Sports Med 2006; 27(9): 759 (vgl. Leibetseder et al. 27(3):232-5)

Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, Peter JR. Elektron spin resonance spectroscopic detection of oxygen centred radicals in human serum following exhaustive exercise. 1998; Eur J Appl Physiol 77:498-502

Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, Peter JR. Elektron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. J Appl Physiol 1999; 87(6): 2032-2036

Baek In-hwan, Lee Byung-yo, Kwon Kwang-il. Influence of dissolved oxygen concentration on the pharmacokinetics of alcohol in humans. Alcoholism: Clinical & Experimental Research; 2010; 34(5): 834-839. (vgl. letters to the editor: Does oxygenated alcohol reduce hangover? Lachenmeier DW, Rehm J, sowie Antwort der Autoren: Oxygenated alcohol – sober faster! publ. online 1. Juli 2010, 34/10, 1-2,)

Bagenholm R, Nilsson UA, Kjellmer I. Formation of free radicals in hypoxic ischemic brain damage in the neonatal rat, assessed by an endogenous spin trap and lipid peroxidation. Brain Res 1997; 773: 132-138

Buettner G R, Jurkiewicz BA. Ascorbyl free radical as a marker of oxidative stress. Free Radical Biol. Med 1993; 14: 49-55

Cederbaum AI. Microsomal generation of hydroxyl radicals: Its role in microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) activity and requirement for iron. Ann N Y Sci 1987; 492:35-49

Cederbaum AI. Oxygen radical generation by microsomes: Role of iron and implications for alcohol metabolism and toxicity. Free Radic Biol Med 1989; 7:559-567

Döring J. Ethanol und Acetaldehydstoffwechsel unter oraler, bolusartiger Alkoholbelastung beim Menschen mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser. Inauguraldissertation der Ludwig-Maximilians-Universität, in Arbeit

Forth W., Adam O. Uptake of oxygen from the intestine - experiments with rabbits. Eur J Med Res 2001; 6(11):488-492

Garrett E. R., The Bateman function revisited: a critical reevaluation of the quantitative expressions to characterize concentrations in the one compartment body model as a function of time with first-order invasion and first-order elimination. J. Pharmacokinet. Biopharm. 1994; 22(2):103-128

- Gey** KF, Brubacher GB, Stahelin HB. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am J Clin Nutr* 1987; 45:1368-1377
- Gößling** S., Hochdosierte Gabe von Vitamin C bei Lebertransplantationen: Einfluss auf den Ischämie-/Reperfusionsschaden. Inaugural Dissertation Universitätsmedizin Berlin 2007;
- Gruber** R, Axmann S, Schoenberg MH. The influence of oxygenated water on the immune status, liver enzymes, and the generation of oxygen radicals: a prospective, randomised, blinded clinical study. *Clinical Nutrition* 2005; 24:407-414
- Halliwell** B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 2nd ed, Clarendon Press, Oxford, 1989; 228-230
- Hampson** NB., et al. Oxygenated water and athletic performance. *JAMA* 2003; 290/18: 2408-9
- Herbrich** J., Prokop O. Untersuchungen über den Einfluss von Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme auf Blutalkoholspiegel. *Wien klin Wschr* 1963; 14:421-427
- Hyvärinen** J., Laakso M., Sippel H., Roine R., Huopaniemi T., Leinonen L., Hytönen V. Alcohol detoxification accelerated by oxygenated drinking water *Life Sciences* 1978; 22(7):553-560
- Jamroz** A, Beltowski J. Antioxidant capacity of selected wines. *Med Sci Monit* 2001; 7:1198-1202
- Kalant** H. Effects of food and Body composition on blood alcohol levels *Comprehensive Handbook of Alcohol Related Pathology Vol. 1, Academic Press* 2005; 87-99
- Kishida** KT, Klann E: Sources and targets of reactive oxygen species in synaptic plasticity and memory, *Antioxid Redox Signal*, 2007, e-Publikation vor Printausgabe
- Kleiber** M., Seifert H., Welk I. Ein neues "Promille-senkendes" Getränk auf dem Markt? *Blutalkohol* 1985; 22:432-438
- Koop** DR. Alcohol metabolism's damaging effect on the cell. A focus on reactive oxygen generation by the enzyme cytochrome P 450 2E1. *Alcohol Research & Health* 2006; 29/4:274-280
- Kovacic** P., Cooksy AL. Role of diacetyl metabolite in alcohol toxicity and addiction via electron transfer and oxidative stress. *Archives of Toxicology* 2005; 79/3:123-128
- Krasner** N., Dow J., Moore R., Goldberger A. Ascorbic saturation and ethanol metabolism. *Lancet* 1974; 693-695
- Laakso** M. Huopaniemi T., Hyvärinen J., Lindros K., Roine R., Sippel H., Ylikahri R. Inefficacy of oxygenated drinking water in accelerating ethanol elimination in humans. *Life Sciences* 1979; 25(16):1369-1372

Leibetseder V, Strauss-Blasche G, Marktl W, Ekmekcioglu C. Does oxygenated water support aerobic performance and lactate kinetics? *Int J Sports Med* 2006; 27:232-235 (vgl. letter to the editor Arnaud)

Lieber CS. Alcohol metabolism: general aspects. *Comprehensive Handbook of Alcohol Related Pathology Vol. 1*, Academic Press 2005; 15-26

Lieber CS. Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): the first 30 years (1968-1998) *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23:991-1007

Maring JA, von Wartburg JP. The effect of oxygenated water on alcohol metabolism in man. *Experientia* 1980; 36:711

Masumizu T, Noda Y, Mori A, Packer L. Electron spin resonance assay of ascorbyl radical generation in mouse hippocampal slices during and after kainate-induced seizures. *Brain Research Protocols* 2005; 16:65-69

Mattern R., Bösche J., Birk K., Härdle W. Experimentelle Untersuchungen zum Verlauf der Alkoholkurve in der späten Eliminationsphase *Fortschritte der Rechtsmedizin: Festschrift für Georg Schmidt* 1983; 238-243

Meier-Tackmann D., Agarwal D.P., Harada S., Goedde H.W., Geldmacher-v.Mallinckrodt M., Machbert G. Untersuchungen zum Polymorphismus der Alkoholdehydrogenase und Aldehyddehydrogenase in menschlichen Autopsieproben, Blut und Haarwurzeln, *Beitr Gerichtl Med* 1981; 39:287-293

Moore DR, Reinke LA, McCay PB. Metabolism of ethanol to 1-hydroxyethyl radicals in vivo: Detection with intravenous administration of α -(4-pyridyl-1-oxide)-N-t-butyl nitron. *Molecular Pharmacol* 1995; 47:1224-1230

Mouithys-Mickalad A, Deby C, Deby-Dupont G, Lamy M. An electron spin resonance (ESR) study on the mechanism of ascorbyl radical production by metal-binding proteins. *BioMetals* 1998; 11:81-88

Navasumrit P, Ward TH, Dodd NJF, Connor JO. Ethanol-induced free radicals and hepatic DNA strand breaks are prevented in vivo by antioxidants: effect of acute and chronic ethanol exposure. *Carcinogenesis* 2000; 21:93-99

Olson J. A. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin A in humans. *Am J clin nutr.* 1987; 45:704-716

Pagliari L., Pagliaro A.M. Alcohol metabolism. *Can Med Assoc J* 1992; 146(12):2141

Piantadosi CA. "Oxygenated" water and athletic performance. *Br J Sports Med* 2006; 40:740

Pietri S, Seguin J R, d'Arbigny P D, Culcasi M. Ascorbyl free radical: a non-invasive marker of oxidative stress in human open-heart surgery. *Free Radical Biol Med* 1994; 16: 523-528

- Pietri S, Culcasi M, Stella L, Cozzone PJ.** Ascorbyl free radical as a reliable indicator of free radical-mediated myocardial ischemic and post-ischemic injury. *Eur. J. Biochem.* 1990; 193: 845-854
- Plecko TH, Rügauer M, Kruse-Jarrers JD.** Der oxidative Stress. *Klinische Chemie* 1998; 9: 624-630
- Reinke LA, Moore DR.** Free radical formation in livers of rats treated acutely and chronically with alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21:642-646
- Rhee SG,** Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger., *Exp Mol Med.* 1999, 31(2):53-9
- Roginsky VA, Stegmann HB.** Ascorbyl radical as natural indicator of oxidative stress: quantitative regularities. *Free Radical Biology and Medicine* 1994; 17:93-103
- Satoh K, Sakagami H.** Ascorbyl radical scavenging activity of polyphenols. *Anticancer Research* 1996; 16:1885-1890
- Schoenberg MH, Hierl TC, Zhao J, Wohlgemuth N, Nilsson UA.** The generation of oxygen radicals after drinking oxygenated water. *Eur J Med Res* 2002; 7: 109-116
- Seitz H.K., Lieber C.S., Simanowski U.**
Handbuch Alkohol, Alkoholismus 2000
- Stiftung Warentest:** Sauerstoffangereicherte Wässer: Luftnummern. Heft 5, 2003
- Stowell KM, Crow KE.** The effect of acute ethanol treatment on rates of oxygen uptake, ethanol oxidation and gluconeogenesis in isolated rat hepatocytes
Biochem J. 1985; 262:595-602
- Stoyanovsky DA, Wu D, Cederbaum AI.** Interaction of 1-Hydroxyethyl radical with glutathione, ascorbic acid and α -tocopherol. *Free Radical Biol Med* 1998; 24:132-138
- Teschke R. & Göke R.,** Buchbeitrag Alkohol und Krebs , Seiten 349-364 aus Alkohol und Alkoholfolkrankheiten, Singer M. & Teyssen S. (Hrsg.), 2005, Springer Verlag
- Van der Zee J, Van den Broek PJA.** Determination of the ascorbate free radical concentration in mixtures of ascorbate and dehydroascorbate. *Free Rad Biol Med* 1998; 25(3): 282-286
- Wilson JX.** The physiological role of dehydroascorbic acid. *FEBS Letters* 2002; 527:5-9
- Wingler K, Schmidt HHW.** Guter Stress, schlechter Stress – die feine Balance in Blutgefäßen. *Deutsches Ärzteblatt* 2009; 106/42: 677-684
- Wolf M, Wiens N.** Zum Verlauf der Blutalkoholkurve im niedrigen Konzentrationsbereich. *Beitr Gerichtl Med* 1982; XL:63-67

10. Danksagung

Es wäre vermessen zu sagen, dass das Gelingen einer Dissertation allein in den Händen und an den Fähigkeiten des Doktoranden läge. Vielmehr erfährt der Doktorand beizeiten, dass er auf umfassende Hilfe angewiesen ist und diese ihm zuteil werdende Hilfe wesentlich zum Gelingen der Arbeit beiträgt.

Mein Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Thomas Gilg, Oberarzt des Institutes für Rechtsmedizin der Ludwig Maximilian Universität München für die freundliche Überlassung des Themas. Ganz besonders danke ich ihm für seine tatkräftige Unterstützung bei der Planung, Durchführung der Versuche und Erstellung dieser Arbeit. Er hat diese Studie über den gesamten Zeitraum betreut und stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite. Seine Zuverlässigkeit und die konstruktiven Gespräche waren mir stets eine große Hilfe und Motivation. Nur durch seine umfassende Unterstützung konnte diese Studie und Dissertation durchgeführt werden.

Auch danke ich Herrn Professor Dr. med. Michael Schoenberg, Leiter der Abteilung für Chirurgie am Rotkreuzklinikum München für die „Initialzündung“ zur Idee dieser Studie und seine motivierende Unterstützung.

Außerdem bedanke ich mich bei Frau Schoenberg für die Vermittlung mit der Firma Adelholzner, die Beschaffung und die Verblindung des sauerstoffangereicherten und normalen Wassers, welches in Unmengen benötigt wurde.

Der Firma Adelholzner danke ich für die kostenfreie Bereitstellung des Wassers.

Der MMW (Münchner Medizinische Wochenschrift) danke ich für das bereitgestellte Forschungsgeld.

Herrn Stefan Axmann danke ich für seine Unterstützung bei den Versuchen, die Analyse der Ascorbylradikale im Labor und seine immer vorhandene Bereitschaft Fragen zu beantworten.

Meiner Mitdoktorandin Frau Julia Döring danke ich für ihre Unterstützung während der gemeinsamen experimentellen Arbeit und vor allem für ihre geduldige Eingabe von Daten in den Computer und ihren Gedankenaustausch.

Auch danke ich unseren Probanden für das geduldige Ertragen der unzähligen Blutentnahmen. Insbesondere danke ich denjenigen, die durch ihr kreatives Einbringen unsere tagelangen Experimente unterhaltsam zu gestalten wussten.

Nicht zu unterschätzen ist die zeitliche Belastung, die meine Familie mitzutragen hatte, weshalb ich meiner Frau, Gisela Karrer-Lippert, und meinen Kindern danke. Meine Frau schaffte mir den Raum und gab mir die Motivation diese Dissertation durchzuführen.

Weiterhin danke ich meinem Freund Heiko Sommer für seine Betrachtung der erhobenen Daten und seiner aus einer völlig anderen Fachrichtung (Astrophysik) stammenden Hilfestellungen.