

Aus der Kinderklinik und Poliklinik im Dr. von Haunerschen
Kinderspital der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Wirkung des Verzehrs einer Margarine mit Oryzanolzusatz auf den Lipidstoffwechsel

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

vorgelegt von

Tilo Schluppeck

aus

Heilbronn

2006

Aus der Kinderklinik und Poliklinik im Dr. von Haunerschen
Kinderspital der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Wirkung des Verzehrs einer Margarine mit Oryzanolzusatz auf den Lipidstoffwechsel

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

vorgelegt von

Tilo Schluppeck

aus

Heilbronn

2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
Der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. B. Koletzko
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. C. Keller Prof. Dr. O. Adam Prof. Dr. R. Lorenz
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. H. Demmelmair
Dekan:	Prof. Dr. med. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	26.01.2006

Inhaltsverzeichnis:

1	Einleitung	3
1.1	Aufbau und Funktion der Lipoproteine	4
1.2	Welche Formen der Fettstoffwechselstörungen gibt es ?	6
1.3	Welche Möglichkeiten gibt es, den Cholesterinspiegel zu senken?	7
1.4	Functional food.....	9
1.5	Pflanzensterine und deren Wirkung auf den menschlichen Organismus.....	10
1.6	Reisschalenöl und Gamma-Oryzanol	11
2	Zielsetzung	15
3	Probanden und Methoden	17
3.1	Studienaufbau	17
3.2	Ethische Aspekte	17
3.3	Studiennahrung	17
3.4	Probandenrekrutierung.....	18
3.5	Probandenkollektiv	18
3.5.1	Die Zusammensetzung des Probandenkollektivs:	19
3.6	Konzeption und Durchführung.....	20
3.6.1	Laboranalysen der Blutproben.....	22
3.7	Statistische Auswertung der Daten.....	24
4	Ergebnisse	25
4.1	Auswertung des Fragebogens zum Studienanfang	25
4.1.1	Körperlicher Status der Probanden	25
4.1.2	Medikamentenkonsum zu Studienbeginn.....	26
4.1.3	Ernährungsgewohnheiten der Probanden	26
4.2	Klinische Daten	27
4.3	Parameter des Lipidstoffwechsel.....	30
4.4	Fettlösliche Vitamine	33
4.4.1	Antioxidative Kapazität.....	35
4.4.2	Vitamin E/Cholesterin Quotient und Vitamin A/Cholesterin Quotient	35
4.5	Phytosterine	36
4.5.1	Quotienten zwischen den Pflanzensterinen und den Cholesterinwerten.....	40
4.6	Transaminasen	42
4.7	Korrelationen der Studienergebnisse:	43

4.7.1	Ausgangswert Gesamtcholesterin – Differenz Gesamtcholesterin.....	43
4.7.2	Differenz Gesamtcholesterin – Differenz LDL-Cholesterin	44
4.7.3	Ausgangswert Triglyceride – Differenz Gesamtcholesterin	45
4.7.4	Lp(a) Konzentration – Ausgangswert bzw. Differenz Cholesterin	45
4.7.5	Korrelationen der Ausgangs- bzw. Endwert Gesamtcholesterin – Phytosterine.....	46
4.7.6	Ausgangswert Phytosterine - Endwert Phytosterine	47
4.8	Auswertung des Fragebogens zum Studienende	48
4.8.1	Körperliche Beschwerden	49
4.8.2	Medikamentenkonsum während der Studie	49
4.8.3	Ernährungsgewohnheiten	50
5	Diskussion.....	51
5.1	Klinische Daten des Probandenkollektivs.....	51
5.2	Parameter des Lipidstoffwechsel.....	51
5.2.1	VLDL Cholesterin - Plasma-Triglyceride – Lipoprotein Lp(a).....	52
5.2.2	Quotient aus LDL-Cholesterin/HDL-Cholesterin.....	53
5.2.3	Korrelation zwischen dem Ausgangswert des Gesamtcholesterin und dessen Veränderung im Studienverlauf	53
5.2.4	Korrelation zwischen dem Absinken des Gesamtcholesterins und dem Absinken des LDL-Cholesterins	54
5.3	Fettlösliche Vitamine und antioxidative Kapazität.....	54
5.4	Sterole	55
5.5	Transaminasen.....	57
5.6	Körperliche Beschwerden der Probanden.....	57
5.7	Zusammenfassung	58
5.8	Fazit.....	59
6	Literaturverzeichnis	60
7	Anhang.....	69
8	Lebenslauf.....	75

1 Einleitung

Da Herz-Kreislauf-Erkrankungen in unserer Gesellschaft eine entscheidende Rolle für die Mortalität und die Kostenentwicklung im Gesundheitswesen spielen, ist es wichtig, die Risikofaktoren dafür zu kennen.

Dazu zählen neben Bluthochdruck, Übergewicht, Rauchen und Diabetes, auch erhöhte Blutfette - insbesondere das Cholesterin. (Berger 1998; Law et al. 1994a; Law et al. 1994b; Murabito 1997; Thefeld et al. 1996). Zu hohe Cholesterinwerte führen zu Arteriosklerose und deren Folgen: Schlaganfälle, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Diabetes Mellitus Typ2 und kardiovaskulären Erkrankungen wie Angina Pectoris, Herzinfarkte und Herzklappenverkalkungen. Durch die Framingham-Studie, eine Langzeitstudie, die seit 1948 durchgeführt wird, ist dies seit den 60er Jahren wiederholt belegt worden (<http://www.framingham.com>; Kannel et al. 1979). Es hat sich gezeigt, dass ab einem Serumcholesterinspiegel von ca. 200mg/dl die Gefahr an Arteriosklerose und deren Folgen zu erkranken, signifikant ansteigt (Windler et al. 1998). Eine epidemiologische Studie zeigte, dass die Verminderung des Serumcholesterins um 23,21 mg/dl (das entspricht ca. 10%) das Auftreten von koronaren Herzerkrankungen zwischen 20% für die 70jährigen und 50% für die 40jährigen senkt (Law et al. 1994b). 1991 stellte die Hypercholesterinämie (Hypercholesterinämie: Serumcholesterin \geq 250mg/dl oder Vorliegen einer lipidsenkenden Therapie) bei den 50- bis 69jährigen den häufigsten Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen dar. Insgesamt hat mehr als ein Drittel der deutschen Bevölkerung Cholesterinwerte über 250mg/dl. Wenn man von den Empfehlungen der Europäischen Atherosklerose Gesellschaft (EAS 1992) ausgehen würde, nach denen der Serumcholesterinspiegel unabhängig vom Alter unter 200mg/dl liegen sollte, dann hätten sogar fast 80% (77,9% der Männer und 77,4% der Frauen) der Deutschen ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen (Thefeld et al. 1996; Thefeld et al. 1995). Besonderes Augenmerk bei der Hypercholesterinämie und der daraus resultierenden Arteriosklerose gilt den erhöhten Werten von LDL- und VLDL-Cholesterin und den erniedrigten Werten von HDL-Cholesterin (Riede et al. 1993). Aber auch bei einem normalen Gesamtcholesterinspiegel, können die Konzentrationen der verschiedenen Lipoproteine des Gesamtcholesterins in einem atherogenen Verhältnis zueinander stehen. So ist das Risiko für einen Myokardinfarkt erhöht, wenn die Konzentrationen für das HDL-Cholesterin $<$ 35 mg/dl (0,9 mmol/l) bzw. das LDL-Cholesterin $>$ 150 mg/dl (3,9 mmol/l) sind (Herold 1999). Bei 2/3

der Infarktpatienten in der PROCAM-Studie lag der HDL-Wert $< 35\text{mg/dl}$. (Berger et al. 1998 PROCAM-Studie).

1.1 Aufbau und Funktion der Lipoproteine

Das Cholesterin ist ein entscheidendes Molekül für den menschlichen Organismus. Cholesterin bzw. Cholesterinester sind Bestandteile der Zellmembranen tierischer Zellen. Durch den Umbau von Cholesterin entstehen Gallensäuren und ebenfalls für die Biosynthese von Steroidhormone ist das Cholesterin von entscheidender Bedeutung.

In der Zirkulation wird das Cholesterin in Lipoproteine eingebaut transportiert. Lipoproteine setzen sich aus Phospholipiden, Triglyceriden, Cholesterin und Apolipoproteinen zusammen und ermöglichen einen geordneten Transport der Lipide im Blut. Durch ihren bipolaren Aufbau sorgen die Lipoproteine für die Wasserlöslichkeit der aufgenommenen Lipide. Die Lipoproteine lassen sich durch Ultrazentrifugation nach ihrer Dichte auftrennen: sehr geringe Dichte, geringe und hohe Dichte können unterschieden werden (*very low density lipoproteins VLDL*, *low density lipoproteins LDL* und *high density lipoproteins HDL*). Eine Bande unterhalb des VLDL findet man die Chylomikronen, die sehr lipidreich sind (Löffler et al. 1990). Neben der Ultrazentrifugation lässt sich die Konzentration des LDL-Cholesterin auch durch die Friedewald-Formel berechnen, sofern die Konzentrationen von Gesamtcholesterin, Triglyceriden und des HDL-Cholesterins bekannt sind: $\text{LDL-Cholesterin} = \text{Gesamtcholesterin} - (\text{Triglyceride}/5 - \text{HDL-Cholesterin})$.

Die Lipoproteine haben unterschiedliche Funktionen im Organismus (s. Tabelle), so sind die Chylomikronen (Dichte $< 0,95 \text{ gr/cm}^3$) für die Aufnahme der exogen mit der Nahrung aufgenommenen Triacylglycerine zuständig. Sie werden in den Mucosazellen des Dünndarms durch Assoziation von Triacylglycerinen, Cholesterin und Phospholipiden mit den Apolipoproteinen A I, A II, und B48 gebildet. Über die intestinalen Lymphbahnen und letztlich über den *Ductus thoracicus* gelangen sie in den Blutkreislauf. Ihr Lipidanteil beträgt zwischen 98 und 99,5%. Sie werden im Kapillarendothel und extrahepatischen Gewebe durch die Lipoproteinlipase sehr schnell delipidiert und sind daher im Nüchternserum nicht nachweisbar. Aus den Chylomikronen entstehen, nachdem ein Großteil ihrer Triacylglycerine abgebaut und ein Apolipoproteinaustausch stattgefunden hat, die HDL und die Überbleibsel der Chylomikronen, die s.g. „Remnants“. Diese „Remnants“ wandern zurück zur Leber werden dort verstoffwechselt.

Die VLDL werden auf gleiche Weise wie die Chylomikronen von den Hepatozyten in der Leber gebildet, sie setzen sich jedoch aus den Lipoproteinen C II, C III, B100 und E

zusammen. Die VLDL (Dichte 0,95-1,006 g/cm³) werden entsprechend ihrer Bande in der Lipidelektrophorese auch als Präbetalipoproteine bezeichnet. Sie transportieren die endogen in der Leber synthetisierten Triacylglycerine und bestehen zu 85-90% aus Lipiden. Nach der Delipidierung durch die Lipoproteinlipase, entstehen aus den VLDL über die Zwischenstufe der IDL, die LDL (Dichte 1,006-1,063 g/cm³), welche Cholesterin zu den extrahepatischen Zellen befördern und dort für ein Cholesteringleichgewicht in der Zelle sorgen. In der Elektrophorese wandern die LDL als Betalipoproteine. Die HDL (Dichte 1,063-1,25 g/cm³) wandern als Alphalipoprotein. In HDL sind ca. 50% Lipide und 50% Proteine enthalten. Von den HDL werden 20% des Cholesterins aus den extrahepatischen Zellen zur Leber transportiert, was den antiatherogenen Effekt der HDL erklärt. (Herold 1999, Wahl 1999). Sie beeinflussen die Lipolyse und steuern das Cholesteringleichgewicht. Die Aufnahme des Cholesterins in die Zellen wird durch Rezeptoren geregelt. Bei verminderten oder defekten LDL-Rezeptoren kommt es zu einer gestörten Aufnahme des LDL in die Zellen. Das überschüssige Cholesterin wird von Makrophagen aufgenommen, die in den Gefäßwänden zu Schaumzellen werden und somit die Entstehung von atherogenen Plaques einleiten (Silbernagl et al. 1998; Terres et al. 1999). Folglich hat das erhöhte LDL eine entscheidende Rolle in der Entstehung von Atherosklerose. Das HDL kann, da es in der Lage ist, Cholesterin aus den Zellen aufzunehmen und wieder zur Leber zurückzuführen, der Atherosklerose entgegenwirken (Wahl 1999).

Lipoprotein-Klasse*	% TG	% Chol.	Apolipoproteine	Bildung in bzw.[aus]	Transportfunktion
Chylomikr.	90	3	AI, B48, CII+III, E	Darm	TG u.a.: Darm ⇒ Peripherie
Chyl.-Rest				[Chylomikr.]	Lipide: Darm ⇒ Leber
VLDL	65	15	B100, CII+III, E	Leber	TG u.a.: Leber ⇒ Peripherie
IDL			B100, CIII, E	[VLDL, HDL]	Lipide: ⇒ Leber, LDL
LDL	10	45	B100	[IDL]	Cholesterin: IDL ⇒ Leber, Peripherie
HDL	5	20	AI, III + IV, CIII, D, E	Peripherie	Cholesterin: Peripherie ⇒ IDL

* Bei der elektrophoretischen Trennung unterscheidet man Alpha-Lipoproteine (=HDL), Prä-beta-Lipoproteine(=VLDL) und Beta-Lipoproteine (=LDL) (Tabelle aus Taschenatlas der Pathophysiologie Silbernagl 1998)

1.2 Welche Formen der Fettstoffwechselstörungen gibt es ?

Zur Basisdiagnostik der Fettstoffwechselstörungen gehören die Bestimmungen von Gesamtcholesterin und Triglyceriden im Nüchternserum. Je nachdem, welche Blutfette erhöht sind, kann man dadurch zwischen Hypertriglyceridämien, Hypercholesterinämien und gemischten Hyperlipidämien differenzieren. Da die Lipide immer an Proteine gebunden sind, handelt es sich bei Hyperlipidämien auch immer um Hyperlipoproteinämien. Bei den Hyperlipoproteinämien können zwei Formen unterschieden werden: die primäre und die sekundäre Form (Wahl 1999). Die primären Formen der Fettstoffwechselstörungen sind genetisch bedingt. Die häufigste Form dabei ist die polygene Hypercholesterinämie. Darunter werden alle Erhöhungen des LDL-Cholesterins zusammengefasst, für die es keine näher bekannten Ursachen gibt. Besonders in den westlichen Industrienationen wird das Auftreten der polygenen Hypercholesterinämie durch Überernährung mit fett- und cholesterinreichen Nahrungsmitteln begünstigt. Auch die verminderte Zahl der LDL-Rezeptoren spielt eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der Hypercholesterinämien (Windler et al. 1998, Wahl 1999). Weitere häufige Formen der primären Fettstoffwechselstörungen sind die sporadische oder familiäre Hypertriglyceridämie, mit erhöhten Triglyceriden und die Hypoalphalipoproteinämie, hierbei ist das HDL-Cholesterin vermindert (Wahl 1999). Neben den genannten Stoffwechselstörungen sind noch weitere bekannt, die ebenfalls auf Enzym-, Rezeptor- oder Apolipoproteindefekte beruhen, auf die hier jedoch nicht weiter eingegangen wird.

Bei den sekundären Hyperlipidämien können die Blutfette aufgrund zahlreicher Erkrankungen wie Diabetes Mellitus, Hypothyreose, nephrotisches Syndrom etc. erhöht sein. Hier muss die zugrundeliegende Erkrankung behandelt werden (Koletzko 1998). Sekundäre Fettstoffwechselstörungen können jedoch auch durch Alkohol, und Medikamente wie Kontrazeptiva, Beta-Blocker, Diuretika und Steroide ausgelöst werden (Sailer et al. 1999).

Referenzbereiche für die Blutfette bei der Lipidelektrophorese sind:

Gesamtcholesterin < 200mg/dl (5,2 mmol/l)

LDL-Cholesterin < 130 mg/dl (3,36 mmol/l)

Triglyceride < 160 mg/dl (1,8 mmol/l)

Lipoprotein a [Lp(a)] < 30 mg/dl (Dormann 1997)

1.3 Welche Möglichkeiten gibt es, den Cholesterinspiegel zu senken?

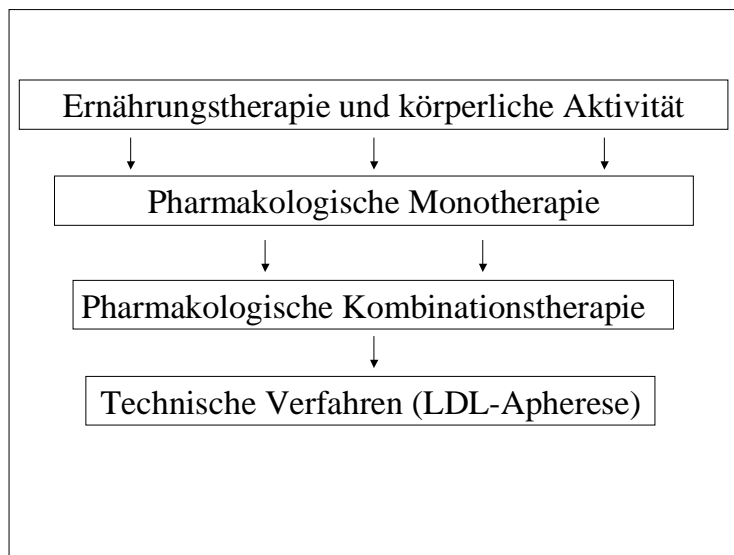


Abbildung 1: Stufenschema zur Behandlung von Fettstoffwechselstörungen (Karow et al. 1998)

Obwohl es mittlerweile ein großes Angebot an cholesterinsenkenden Medikamenten gibt, ist es doch empfehlenswert und am einfachsten durchzuführen, wenn Patienten mit einer milden Hypercholesterinämie zuerst diätetisch behandelt werden (Ikeda et al. 1998). Individuell kann durch eine gezielte Ernährungsumstellung das LDL-Cholesterin um bis zu 15% gesenkt werden (Karow et al. 1998).

Einen großen Einfluss auf den Serum-Cholesterinspiegel hat die Fettzusammensetzung der Nahrung. Wenn die gesättigten Fettsäuren, durch einfach- oder mehrfachungesättigte Fettsäuren ausgetauscht werden, kann der Cholesterinspiegel um 10% gesenkt werden (Howell 1997, Mensink 1992).

Ein weiteres Ziel sollte die Gewichtsnormalisierung sein. Eine Möglichkeit, um das Körpergewicht einzuschätzen ist der Körper-Masse-Index (Body Mass Index, BMI). Hierbei wird das Gewicht durch die Körpergröße im Quadrat dividiert (kg/m^2). Die Normalwerte des BMI für Männer liegen bei 20-25 kg/m^2 , die für Frauen bei 19-24 kg/m^2 . Zusätzlich kann das Sollgewicht nach Broca ermittelt werden: Sollgewicht in kg = Körpergröße in cm – 100 (Frauen – 10%) (Hahn 1997). Mit der PROCAM-Studie konnte belegt werden, dass LDL-Cholesterin und die Triglyceride positiv mit dem BMI korrelieren. Zwischen dem HDL-Cholesterin und dem BMI bestand eine negative Korrelation (Schulte et al. 2001). Das Ziel der Gewichtsnormalisierung kann durch regelmäßige körperliche Aktivität und Diät erreicht werden.

Wenn diätetische Maßnahmen nicht ausreichen sind, muss medikamentös unterstützt werden. Für die lipidsenkende Therapie stehen verschiedene Medikamente zur Wahl, die sowohl in der Monotherapie, als auch in der Kombinationstherapie angewendet werden (Hackelsberger 2001).

Die Clofibrinsäurederivate (Fibrate) führen zu einer Aktivitätssteigerung der Lipoproteinlipase. Dadurch kommt es zu einer Minderung der VLDL-Synthese.

Eine weitere Stoffgruppe bilden die Statine, die s.g. HMG-CoA-Reduktase-Hemmer (Cholesterinsynthese-Enzym-(CSE-)Hemmer). Die Statine vor allem mindern die Cholesterinsynthese im Organismus (Miettinen et al. 2000). Um den Cholesterinbedarf zu decken, bildet der Körper vermehrt LDL-Rezeptoren. In folge dessen kommt es auf Grund der erhöhten Resorption zu einer Senkung des LDL-Cholesterinspiegels.

Anionenaustauscher wie z.B. Colestyramin, haben ihren Angriffspunkt im Darm. Indem sie dort Gallensäuren binden, die zum Großteil aus Cholesterin bestehen, unterbrechen sie den enterohepatischen Kreislauf und entziehen dem Körper somit Cholesterin - es kommt zu einem Absinken des Serumcholesterins. Kompensatorisch kommt es auch hier zu einem Anstieg der LDL-Rezeptoren und somit zu einem Absinken des LDL-Serumspiegels.

Zu nennen sind auch die Nikotinsäurederivate. Sie hemmen die Triglyceridlipase worauf hin es zu einer verminderten Bildung der Triglyceride kommt. Gleichzeitig wird die Aktivität der Lipoproteinlipase gesteigert, was ebenfalls zu einer Senkung des LDL-Cholesterins im Serum führt (Schönhöfer et al. 1997; Terres et al. 1999).

Eine technische Möglichkeit um die Cholesterin-Serumkonzentration zu reduzieren, welche jedoch als Ultima ratio betrachtet werden muss, ist die LDL-Apherese, bei der mittels Filter das LDL-Cholesterin extrakorporal entfernt wird, (Karow et al. 1998).

Ein pflanzliches Präparat zur Senkung des Cholesterinspiegels ist das β -Sitosterin. Dieses Medikament macht sich die Eigenschaften der Pflanzensterine zu Nutze. Durch die molekulare Ähnlichkeit zum Cholesterin, kann das Sitosterin um die Rezeptorstellen für das Cholesterin im Dünndarm konkurrieren, ohne jedoch resorbiert zu werden (Schönhöfer et al. 1997). Die Folge ist, dass weniger Nahrungscholesterin aufgenommen wird und somit der Serumcholesterinspiegel gesenkt werden kann.

Dieser cholesterinsenkende Effekt von Sterolen wurde in den 50er Jahren im Tiermodell und erstmalig am Menschen beobachtet (Pollak 1953a; Pollak 1953b; Best 1954). Best untersuchte an 9 Probanden mit einer schwach ausgeprägten Hypercholesterinämie den Effekt von β -Sitosterin. Im Verlauf der Studie zeigte es sich, dass die Serumcholesterinspiegel bei den Probanden um 6,7 – 20 % gesunken waren (Best 1954).

Die Einstellung der Blutfette ist auch immer eine Frage der zusätzlichen Risikofaktoren und Vorerkrankungen. Liegen keine weiteren Risikofaktoren für Arteriosklerose vor, so kann ein höherer Cholesterinspiegel toleriert werden, als bei einem Patienten mit Zustand nach Myokardinfarkt.

Tabelle 1 : Zielwerte für die Behandlung von Fettstoffwechselstörungen (Windler et al. 1998)

Lipide	Zielwerte, wenn kein weiterer Risikofaktor vorliegt	Zielwerte, wenn weitere Risikofaktoren vorliegen	Zielwerte, wenn Zeichen von Arteriosklerose oder koronarer Herzkrankheit vorliegen
Gesamtcholesterin	< 250 mg/dl < 5-6,5 mmol/l	< 200mg/dl < 5 mmol/l	< 200mg/dl < 5 mmol/l
LDL-Cholesterin	≤ 150 mg/dl ≤ 4 mmol/l	≤ 130 mg/dl ≤ 3,5 mmol/l	≤ 100 mg/dl ≤ 2,5 mmol/l
HDL-Cholesterin	> 40 mg/dl > 1 mmol/l	> 40 mg/dl > 1 mmol/l	> 40 mg/dl > 1 mmol/l
Triglyceride	≤ 150 mg/dl ≤ 2,0 mmol/l	≤ 150 mg/dl ≤ 2,0 mmol/l	≤ 150 mg/dl ≤ 2,0 mmol/l

1.4 Functional food

1993 entstand in Japan der Begriff „FOSHU“ (Foods for specified Health Use) (Arai 2000). Mittlerweile setzt sich immer mehr der Trend durch, Lebensmittel mit Spurenelementen anzureichern, die für den Organismus wichtig sind. Das fängt beim Speisesalz mit Jodid und Fluorid an, geht über probiotische Joghurtkulturen, Brote mit Omega-3-Fettsäuren, bis zu ACE-Getränke mit darin enthaltenen Vitaminen und vielem mehr.

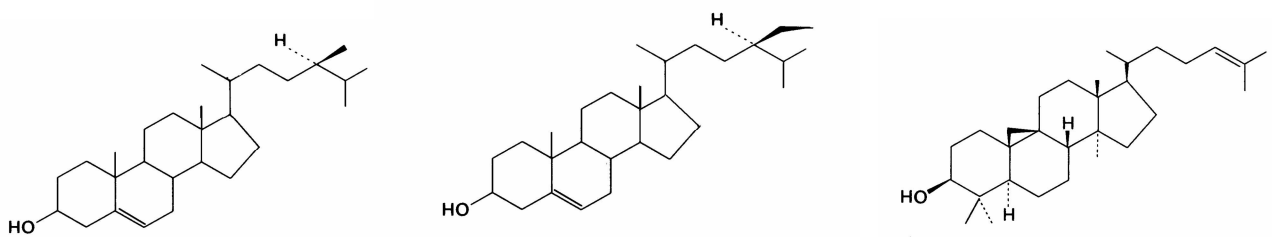
Pflanzensterine und ihr cholesterinsenkendes Potential werden für die gesundheitsbewusste Ernährung immer wichtiger (Thurnham 1999; Lichtenstein 2001). Der neueste Trend in der Nahrungsmittelindustrie besteht darin, Margarine mit Pflanzensterinen zu versetzen, um den Cholesterinspiegel auf verträgliche Art zu senken. Dabei ist die Diätmargarine „Becel-Pro-Aktiv“ vom Unilever - Konzern zu nennen. Bei diesem Produkt wird der Margarine Sitostanol beigegeben. Eine klinische Studie mit Probanden, deren Cholesterinwerte leicht erhöht waren zeigte, dass sich durch Margarine, die mit Sitostanolestern angereichert war, das Serumcholesterin durchschnittlich um 10,2 % gesunken war. Das LDL-Cholesterin sank um

14,1% (Miettinen 1995). Auch in anderen klinischen Studien wurde belegt, dass durchschnittlich 2g Sterine, bzw. Stanole, die in Margarine eingebracht wurden, in der Lage waren, die Blutfette positiv zu beeinflussen (Law 2000; Wong 2001; Kritchevsky 1997).

1.5 Pflanzensterine und deren Wirkung auf den menschlichen Organismus

Sterine sind Verbindungen, die aus einem Steran-Gerüst bestehen, das eine Hydroxyl-Gruppe trägt. Dieses Steran-Gerüst wird aus Squalen gebildet, was wiederum aus drei Acyl-Resten entsteht. Sterine kommen sowohl im Tierreich als auch im Pflanzenreich vor. Man unterscheidet deshalb zwischen Zoosterinen – der wichtigste Vertreter ist das Cholesterin – und den Phytosterinen, hier sind β -Sitosterin, Campesterin und Stigmasterin zu nennen (Baltes 2000; Kritchevsky 1997).

Die Phytosterine dienen den Pflanzen zur Synthese von Steroidhormonen (Latscha et al. 1997), weiterhin sind Phytosterine für die Zellmembran wichtig. Die Phytosterine unterscheiden sich vom Cholesterin durch unterschiedliche Seitenketten an der C24 Position (Abbildung).



Campesterin

Sitosterin

Cycloartenol

Abbildung 2 Aufbau der Pflanzensterine

Cholesterin aus der Nahrung wird im Dünndarm zu 30-70% resorbiert (Kudchodkar et al. 1973), wohingegen die Pflanzensterine zu einem weit geringeren Anteil im Darm aufgenommen werden. Über die Nahrung werden in der westlichen Welt täglich zwischen 200 und 400mg Phytosterine aufgenommen, was der Menge an Cholesterin entspricht (Ling

1995; Schothorst 1999). Man kann aber davon ausgehen, dass nur 5% des β -Sitosterins, 15% des Campesterins und weniger als 1% der Stanole aus der Nahrung resorbiert werden (Jones et al. 1997).

Durch die Ähnlichkeit der Pflanzensterine zum Cholesterin konkurrieren sie um den beschränkten Platz in den gemischten Mizellen im Darm und verdrängen somit das Cholesterin. Die Folge ist, dass weniger Cholesterin resorbiert und mehr mit dem Faeces ausgeschieden wird (Gylling 1997; Gylling et al. 1999a; Gylling et al. 1999b; Heinemann et al. 1991; Jones et al. 1997; Lees 1977).

Stanole sind gesättigte Sterine. Sie haben keine Doppelbindung im Sterinring. Um ihre Fettlöslichkeit zu erhöhen, werden Sterine, bzw. Stanole mit Fettsäuren verestert. Es wurde in Studien belegt, dass Stanolester wirkungsvoll in der Lage sind, den Cholesterinspiegel zu senken. So reichte eine Menge von 1,5g/d Sitostanol (die gesättigte Form des Sitosterins) aus, um bei Patienten mit einer Hypercholesterinämie den LDL-Cholesterinspiegel um 10-15% zu senken, ohne dass dabei Veränderungen beim HDL-Cholesterin und den Triglyceriden festgestellt werden konnten (Heinemann et al. 1986). Gylling und Mitarbeiter konnten sogar eine Erhöhung des HDL-Cholesterins feststellen, was sich positiv auf das HDL/LDL-Verhältnis ausgewirkt hat (Gylling et al. 1999a). Im Hinblick auf die Wirksamkeit der verschiedenen Phytosterine gibt es unterschiedliche Studienergebnisse. Im Vergleich mit Sitosterin und Campesterin, scheint das cholesterinsenkende Potential beim β -Sitostanol größer zu sein (Jones et al. 1997, Miettinen et al. 1994, Heinemann et al. 1991). Bei den Studien von Normén und Weststrate jedoch konnten keine wesentlichen Unterschiede zwischen Sterinen und Stanolen bezüglich des cholesterinsenkenden Effektes festgestellt werden (Normén et al. 2000, Weststrate et al. 1998).

Bei einem Großteil der Bevölkerung kann davon ausgegangen werden, dass es im Intestinaltrakt nur zu einer minimalen Resorption der Phytosterine kommt. Eine Erkrankung, die jedoch in Verbindung mit der Resorption von Phytosterinen genannt werden sollte, ist die Phytosterolämie, die auch als Sitosterolämie bekannt ist. Hierbei werden die Phytosterine in wesentlich höherem Maße im Dünndarm resorbiert, als bei gesunden Personen. Die Folge sind tuberöse und tendinöse Xanthome sowie Erkrankungen des atherosklerotischen Formenkreises (Lütjohann et al. 1997).

1.6 Reisschalenöl und Gamma-Oryzanol

In Asien, wird schon seit Jahren Reisschalenöl als gesundheitsförderndes Lebensmittel konsumiert. Jährlich werden in Japan etwa 80 000 Tonnen Reisschalenöl verbraucht, was

einen Anteil von 3,5 % des gesamten Pflanzenöls ausmacht (Sugano 1997). Reisschalenöl besitzt viele bioaktive Polyphenole, die antioxidativ und krebsverhindernd wirken. Die Hauptbestandteile dieser Polyphenole sind: Ferulasäure, Ferulasäureester (s. Abbildung) und die unverseifbaren Komponenten Tocopherol, Tocotrienol und Pflanzensterine (Jariwalla 2001; Osawa 1999). Neben der antioxidativen Wirkung besitzt die Ferulasäure auch ein antibakterielles Potential. In der Kosmetik wird Ferulasäure als Lichtschutzfaktor für die Haut eingesetzt und in Lebensmitteln verhindert sie das Oxidieren von Fetten (Jariwalla 2001; Graf 1992).

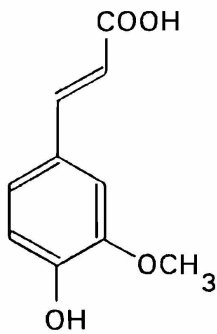
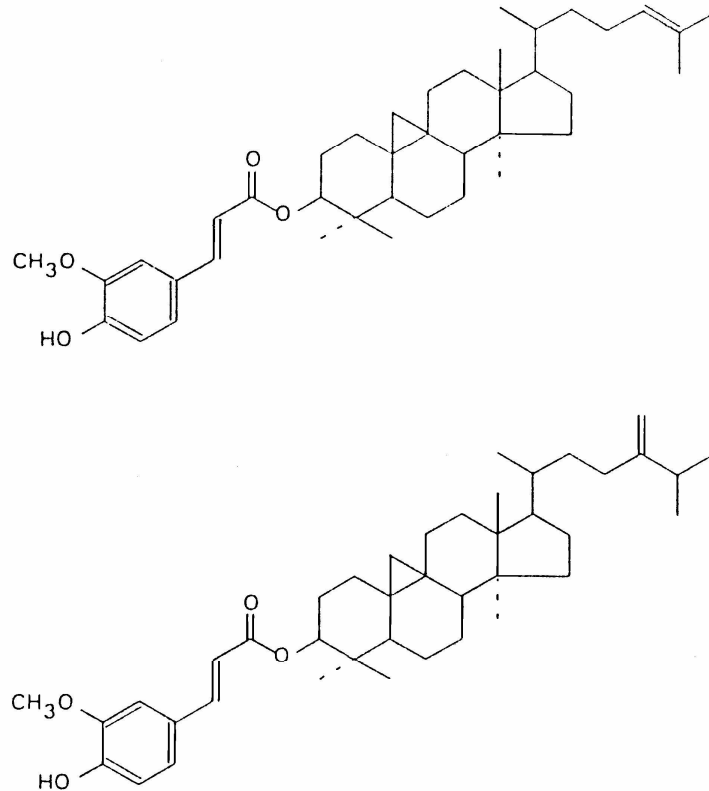


Abbildung 3 **Ferulasäure (C₁₀ H₁₀ O₄)**

Ähnlich wie andere pflanzliche Öle ist Reisschalenöl in der Lage, den Cholesterinspiegel positiv zu beeinflussen (Gerhardt 1998). Mehrere Studien die an Tieren und Menschen durchgeführt wurden, belegten die Cholesterinsenkende Wirkung von Reisschalenöl (Lichtenstein et al. 1994; Rukmini et al. 1999; Nicolosi et al. 1991; Sharma et al. 1986). Diese Auswirkungen auf das Lipidprofil werden zum Teil bestimmten Bestandteilen des Reisschalenöls, wie Gamma-Oryzanol und Tocotrienol zugeschrieben (Sugano et al. 1999). Als Gamma-Oryzanol bezeichnet man eine Fraktion des Reisschalenöls. Es besteht aus mehreren Phytosterinen, die mit der Ferulasäure verestert sind.

Abbildung 4 Ferulasäureester der Phytosterine Cycloartenol (oben) und 24-Methylcycloartenol (unten)

Den größten Anteil der Phytosterine im Oryzanol machen Cycloartenol, Methylcycloartenol, β -Sitosterin und Campesterin aus. Die genaue Zusammensetzung des Oryzanol hängt von der Reissorte ab (de Deckere et al. 1996). Unbehandeltes Reisschalöl enthält 1,56% Oryzanol (Norton et al 1995). Nachdem bereits durch die Versuche von Ikeda et al gezeigt wurde, dass sich bei Ratten mit Phytosterinen Sitosterin und Fucosterin die Cholesterinabsorption zwischen 57% und 41% hemmen lässt (Ikeda et al. 1988), konnten auch Rong und Mitarbeiter Im Tiermodell den cholesterinsenkenden Effekt von Oryzanol bei Hamstern nachweisen. Neben der Senkung des Plasmacholesterins um 28%, konnte die enterale Resorption des Cholesterins um 25% reduziert werden (Rong et al. 1997). Andere Studien, bei denen Margarine mit Oryzanolzusatz verwendet wurde, um das Cholesterin zu senken, kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Bei den Probanden von Vissers, die einen normalen Cholesterinspiegel hatten, lies sich mit einer Tagesdosis von 2,1g Oryzanol Sterine in 29g Margarine die Konzentration des LDL-Cholesterins um 9% senken (Vissers et al.

2000). In der Versuchsreihe von Weststrate konnte für die Reisschalen-Sterine keine cholesterinsenkende Wirkung nachgewiesen werden (Weststrate et al. 1998).

Man weiß, dass Personen mit leicht erhöhtem Cholesterinspiegel, von Nahrungszusätzen wie Pflanzensterine in Margarine profitieren können, da sie dadurch in der Lage sind, Ihren Cholesterinspiegel zu senken (Gylling et al. 1997; Hallikainen et al. 1999; Law 2000; Miettinen et al. 1995; Stalenhoff et al. 2001). Mit unserer Studie, haben wir den Verzehr 40 g einer linolsäurereichen Diätmargarine, mit oder ohne Gamma-Oryzanolzusatz und die daraus resultierenden Auswirkungen auf das Lipidprofil von Erwachsenen mit erhöhten Cholesterinwerten untersucht.

2 Zielsetzung

Es sind schon mehrere Studien durchgeführt worden, in denen der positive Effekt der Phytosterine auf den Lipidstoffwechsel belegt werden konnte (Law 2000). Mit dieser Studie wollten wir herausfinden, ob sich durch den Zusatz von 1,6 g Gamma-Oryzanol in Margarine statistisch nachweisbare Konzentrationsänderungen bei den Lipoproteinen im Plasma erreichen lassen, bzw. andere Effekte sichtbar werden.

Im Einzelnen sollen folgende Hypothesen getestet werden:

1. Der tägliche zusätzliche Verzehr von 1,6 g Gamma-Oryzanol über 4 Wochen führt zu einer statistisch nachweisbaren Senkung des Gesamtcholesterins und des LDL-Cholesterins im Plasma.
2. Das LDL/HDL-Verhältnis wird nachweisbar kleiner (die verminderte Cholesterinresorption führt zu niedrigerem VLDL-Cholesterin und somit vermindertem LDL-Cholesterin, während kein direkter Einfluß auf die HDL-Produktion erwartet wird).
3. Es ergibt sich keine signifikante Veränderung bei den Plasmatriglyceriden (andere Einflussfaktoren [z.B. Gesamtenergieaufnahme] haben einen stärkeren Einfluß auf die Triglyceride als die Cholesterinaufnahme).
4. Es ergibt sich keine signifikante Veränderung der Lp(a) Konzentration, aber die Konzentration an Lp(a) könnte sich als Einflussgröße auf die Cholesterinkonzentration erweisen.
5. Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied bei den Konzentrationen von Vitamin A/E und α - und β -Carotin zwischen den Gruppen (als Mechanismus für die Wirkung der pflanzlichen Sterine wird eine Verdrängung aus den Mizellen diskutiert, somit besteht auch die Möglichkeit einer verminderten Resorption der fettlöslichen Vitamine, so dass hier ein potentieller Einfluß abgeklärt werden sollte).
6. Die totale antioxidative Kapazität im Plasma steigt an (Ferulasäure hat antioxidative Wirkung, somit könnte sich hier ein zusätzlicher positiver Effekt ergeben, der dann gegebenenfalls eine nähere Untersuchung rechtfertigt).
7. Die Konzentration an pflanzlichen Sterolen im Plasma steigt nicht über den natürlicherweise beobachteten Schwankungsbereich hinaus an (zum einen als Sicherheitsparameter erforderlich, um auszuschließen, dass höhere Konzentrationen an den Sterolen auftreten und die gefundenen Werte könnten zum Verständnis der Wirkung des Oryzanol beitragen).

8. Die Plasmakonzentrationen von Gamma-Glutamyl-Transferase (γ -GT), Alanin-Amino-Transferease (ALAT) und Aspartat-Amino-Transferase (ASAT) werden durch den Konsum der Studienmargarinen nicht beeinflusst (weiterer Hinweis auf die Unbedenklichkeit des Oryzanolzusatzes).

3 Probanden und Methoden

Ausgehend von der Hypothese, dass bei einer angemessenen Oryzanolmenge durch die darin enthaltenen Sterole die Plasmalipide, insbesondere das Gesamtcholesterin und das LDL-Cholesterin signifikant gesenkt werden können, wurde eine klinische Studie geplant.

3.1 Studienaufbau

Die Studie wurde als doppelt blind randomisierte Parallelstudie durchgeführt. Auf diese Weise konnten die Effekte des Gamma-Oryzanolzusatzes von anderen nicht auszuschließenden Einflussfaktoren auf die Studienteilnehmer unterschieden werden.

Die von der Firma Rau Lebensmittelwerke, Hilter Deutschland hergestellte Margarine wurde in Plastikbehälter abgefüllt, die nur durch eine unterschiedliche Produktkodierung (Gruppe A oder Gruppe E) zu unterscheiden war, aus der aber nicht hervorging, in welcher Margarine Oryzanol enthalten war und in welcher nicht.

Die Probanden wurden zufällig durch eine Computerauswahl den Gruppen zugelost.

3.2 Ethische Aspekte

Die Studie zur Wirkung des Verzehrs einer Margarine mit Oryzanolzusatz auf den Lipidstoffwechsel, wurde in der Ethik-Kommission der Bayerischen Landesärztekammer genehmigt (Ethik-Kommission Nr.99275). Es wurden keine Bedenken bezüglich der Durchführung dieser Studie geäußert.

3.3 Studiennahrung

Als Studiennahrung wurde von der Walter Rau Lebensmittelwerke GmbH (Hilter, Deutschland) eine Diätmargarine mit 40 % Fettgehalt (gesättigte Fettsäuren 24 %, einfach ungesättigte Fettsäuren 26 %, mehrfach ungesättigte Fettsäuren 50 %) mit und ohne 4 % Oryzanolgehalt bereitgestellt. Beide Margarinen enthielten auch 0,9 mg Vitamin A und 50 mg Vitamin E als α -Tocopherol pro 100g und Carotin als Farbstoff. Durchschnittlich enthielt die Margarine ca. 50% Linolsäure. Als Emulgator wurde Monoglycerid und als Stabilisator/Geliermittel Pektin verwendet. Die Margarine war frei von Transfettsäuren, tierischen Fetten und Konservierungsmitteln. Der durchschnittliche physiologische Brennwert der Margarine lag bei 1480 kJ / 100g bzw. 360 kcal / 100g. Mit dem geplanten täglichen Verzehr von 40 g dieser Margarine nahmen die Probanden in der Oryzanol-Gruppe also

nominal 1,6 g Oryzanol täglich zu sich. Diese Dosierung lag in dem Bereich der Phytosterinzufuhr, die nachweisbare Effekte auf den Lipidstoffwechsel gezeigt hat (Miettinen et al. 1995).

Tabelle 2 : Zusammensetzung der Studienmargarine berechnet für 100 g (Herstellerangaben)

	Oryzanol-Gruppe	Kontroll-Gruppe
Energiegehalt (kcal/100g)	360	360
Fett (%)	40	40
Gesättigte Fettsäuren (%)	27,8	26,0
Einfach ungesättigte Fettsäuren (%)	21,4	23,8
Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (%)	50,8	50,2
Linolsäure (%)	50,5	49,7
Vitamin E (mg/100g)	50	50
Vitamin A (µg/100g)	900	900
Oryzanol	4	0

3.4 Probandenrekrutierung

Die Probanden aus München und dem Münchener Umland wurden durch Aushänge an den schwarzen Brettern in der Poliklinik Pettenkoferstr.8a, im Klinikum Großhadern und durch eine Zeitungsanzeige auf die Studie aufmerksam gemacht. Durch eine kurze Befragung am Telefon wurde bereits im Vorfeld die Eignung der Probanden abgeklärt. Dabei wurden Fragen zu Erkrankungen, Medikamenten und Lebensgewohnheiten gestellt. Die entsprechenden Einschlusskriterien werden in Kapitel 3.5 näher erläutert. Telefonisch wurde mit den Probanden ein Termin zur Blutabnahme vereinbart, zu dem sie nüchtern erscheinen mußten (s. 3.6, Ablaufdiagramm).

3.5 Probandenkollektiv

Die Probanden mussten laut Studienprotokoll folgende Kriterien erfüllen, um an der Studie teilzunehmen:

- Plasmacholesterin : Das Plasmacholesterin musste $\geq 200\text{mg/dl}$ sein, wobei das LDL Cholesterin nicht unter 130mg/dl sein durfte.
- Alter: Die Probanden mussten mindestens 18 Jahre sein.

- Body-Mass-Index: Der BMI musste kleiner 31 sein (wir haben einen BMI von 31 gewählt, da die Probanden mit Kleidung gewogen wurden und somit noch ca. 2 kg vom Gewicht abgezogen werden kann).
- Die Probanden mussten eine omnivore Ernährung haben, durften aber keine Fischölkapseln oder Vitamin E Supplemente zu sich nehmen.
- Die Probanden sollten schon vor der Studie mindestens 25 g Streichfett pro Tag konsumieren.
- Keine Einnahme von medikamentösen Lipidsenkern, wie Chlorfibrinsäurederivate, CSE – Hemmer (Simvastatin, Atorvastatin etc.) und Anionenaustauscher im Zeitraum von 3 Monaten vor Beginn der Studie.
- Kein Verzehr von Lebensmitteln, die speziell lösliche Ballaststoffe enthalten (z.B. Pektin).
- Die Probanden durften nicht an metabolischen und gastrointestinalen Erkrankungen leiden.

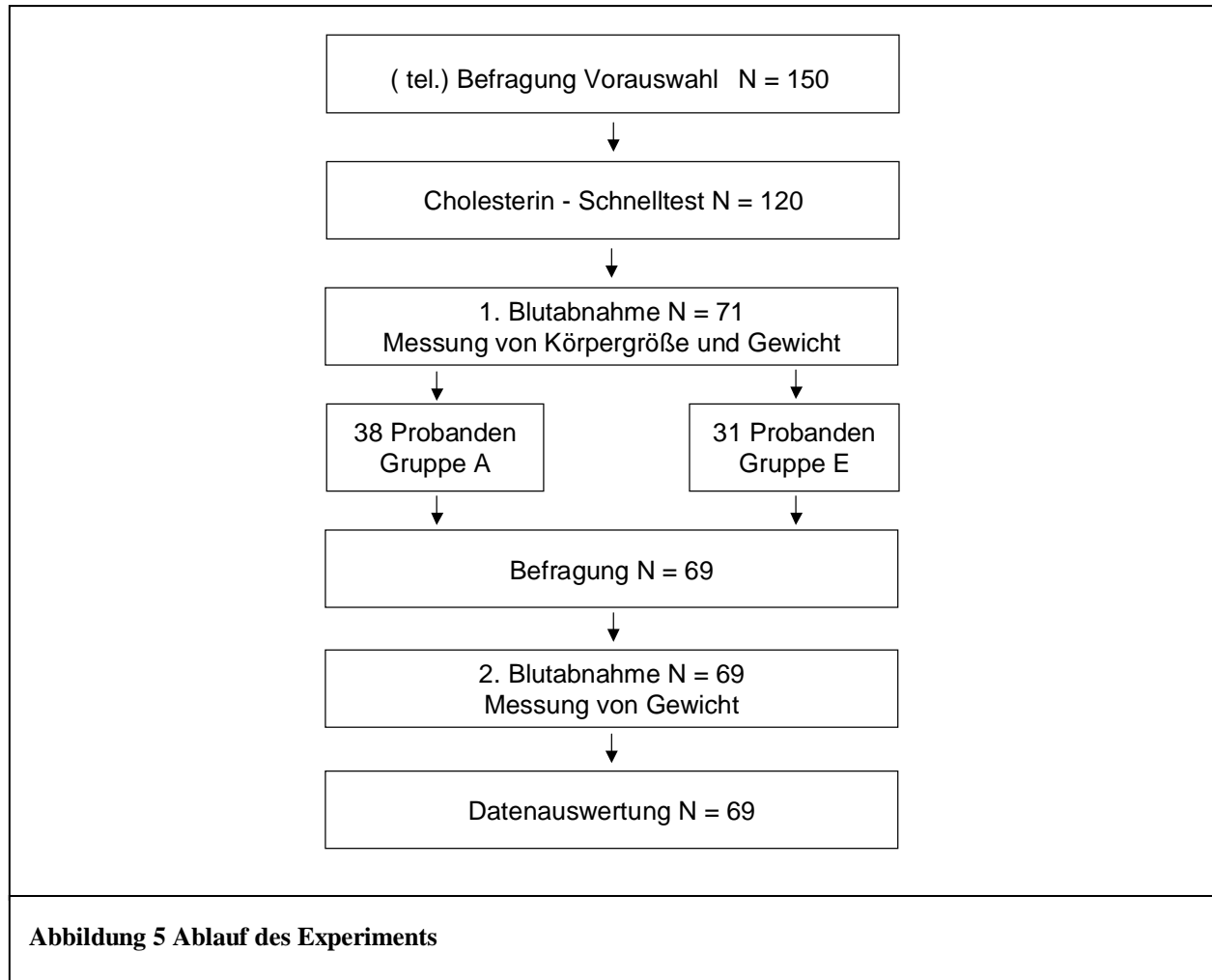
3.5.1 Die Zusammensetzung des Probandenkollektivs:

Insgesamt haben 71 Probanden mit der Studie angefangen, von denen 69 die Studie bis zum Ende durchführten. Zwei Probanden mussten jedoch wegen einer schwerwiegenden Infektion und der daraus resultierenden Antibiotikaeinnahme, bzw. dem Beginn einer Diabetesmedikation ausgeschlossen werden (S. nächste Seite).

Das Probandenkollektiv setzte sich somit aus 36 Frauen und 33 Männern zusammen. In der Oryzanol-Gruppe befanden sich 21 Frauen und 17 Männer. In der Kontroll-Gruppe waren 15 Frauen und 16 Männer. Die demographischen Daten und die Laborwerte der Probanden werden in Kapitel 4 besprochen und ausgewertet.

3.6 Konzeption und Durchführung

Im folgenden Kapitel soll der genaue Ablauf der Studie beschrieben werden. In Abbildung 5 sind die wichtigsten Schritte und Vorgehensweisen dargestellt.



Die Studie fand in den Zeiträumen vom 18. November 1999 bis zum 22. Dezember 1999 und vom 10. Januar 2000 bis zum 23. Februar 2000 in der Kinderpoliklinik der Universität München Pettenkoferstr. 8a statt.

Die Probanden erschienen zur ersten Blutabnahme morgens nüchtern in der Klinik. Vor der Blutabnahme wurde den Probanden ein Aufklärungsbogen¹ zur Studie vorgelegt, in dem auf die Bedingungen der Durchführung und die Risiken der Studie hingewiesen wurde. Nach dem aufmerksamen Lesen des Aufklärungsbogens wurde die Einverständniserklärung² zur

¹ Siehe Anhang Informationsblatt für die Probanden

² Siehe Anhang Einverständniserklärung

Teilnahme an der Studie unterschrieben. Weiter wurden die Probanden zu ihren Lebens³- und Ernährungsgewohnheiten⁴ befragt. Bei den Fragen zur Ernährung sollten die Häufigkeiten des Konsums bestimmter Lebensmittel auf einer Skala von 1-6 angegeben werden. Die Zahl 1 bedeutete „fast täglich“, 2 „mehrmals die Woche“, 3 „etwa einmal in der Woche“, 4 „mehrmals im Monat“, 5 „einmal im Monat oder seltener“ und die Zahl 6 stand für „nie“.

Durch einen Schnelltest mit Kapillarblut, das mit einem Finger-Pieks aus der Fingerbeere entnommen wurde, konnte reflektometrisch (Reflotron, Boehringer, Mannheim) der Gesamtcholesterinwert gemessen werden. Wenn das Gesamtcholesterin über 200mg/dl lag und die übrigen Einschlusskriterien erfüllt waren, durfte der Proband an der Studie teilnehmen. Nachdem den Probanden das Blut abgenommen war, wurden sie gewogen – mit Kleidung, aber ohne Schuhe - und die Körpergröße wurde erfasst (BMI).

Die Probanden wurden per Computer im Zufallsverfahren einer der beiden Gruppen zugelost und bekamen dann, den Gruppen entsprechend die Margarine für 28 Tage mit nach Hause. Insgesamt 56 Becher à 20gr Margarine. Davon sollten sie täglich zwei Becher essen. Das entsprach 40g Margarine pro Tag.

In der Margarine für die Oryzanol-Gruppe waren 4% Oryzanol zugesetzt. Das bedeutete eine tägliche Aufnahme von 1,6gr Oryzanol am Tag. Die genaue Zusammensetzung der Studienmargarine ist der Tabelle 2 zu entnehmen. Die Verpackung der Margarine in Becher mit je 20gr Margarine ermöglichte eine genaue Dosierung der täglich zu konsumierenden Menge.

Es wurden den Probanden keine Auflagen gemacht, wie sie sich während des gesamten Zeitraums der Studie ernähren sollten. Sie konnten statt dessen ihre Diät frei wählen. Die Probanden wurden aber angehalten, die Margarine entweder als Brotaufstrich oder aber zusätzlich zu den Mahlzeiten (z.B. als Fettzusatz zu Nudeln oder Gemüse) zu konsumieren. Die Margarine durfte dabei nicht gekocht, oder zum Frittieren verwendet werden. Zur Kontrolle, ob die Probanden die Margarine gegessen hatten, sollten sie die leeren Becher zum zweiten Blutabnahmetermin mitbringen.

Während der Studie gab es für die Probanden die Möglichkeit, Fragen und aufgekommene Probleme telefonisch abzuklären. Sofern die Probanden damit einverstanden waren, wurden sie während der Studie einmal kontaktiert um eventuell bestehende Fragen abzuklären und um die Motivation der Studienteilnehmer zu erhöhen. Dabei wurden die Probanden nochmals an den zweiten Blutabnahmetermin erinnert.

³ Siehe Anhang Probandenbogen

⁴ Siehe Anhang Fragen zur Ernährung

Auch zu diesem zweiten Blutabnahmetermin kamen die Probanden morgens nüchtern in der Klinik.

Um die Lebensgewohnheiten während der Studie zu erfassen, wurde den Probanden wieder ein Fragebogen vorgelegt, in dem nach Veränderungen der Ernährungsgewohnheiten, Medikamentenkonsum und körperlichen Beschwerden wie Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen etc. gefragt wurde⁵. Außerdem wurden die Probanden gefragt, ob es ihnen schwer gefallen sei, die Margarine zu essen. Es folgte eine erneute Blutabnahme, anschließend wurden die Probanden wie auch schon beim ersten Termin gewogen und es wurde die Anzahl der leeren Margarine-Becher erfasst.

Als Blutproben wurden bei beiden Terminen 10 ml Blut in Serumröhrchen (zur Ermittlung von Plasmalipiden, antioxidativer Kapazität und Leberwerten) und 5 ml Blut in EDTA-Röhrchen (um Sterole und Vitamine zu bestimmen) abgenommen. Verwendet wurden Vakutainer Systeme. Serum und Plasma wurden innerhalb von 2 h durch Zentrifugieren bei 1400 g für 5 min gewonnen. Serum wurde höchstens 24 h im Kühlschrank gelagert und anschließend analysiert, während das Plasma in 3 Portionen (2 mal 1ml und Restmaterial) aufgeteilt und bei -80° bis zur Analyse gelagert wurde.

Um die Compliance der Probanden zu überprüfen, wurden die leeren Becher, die von den Studienteilnehmern zum zweiten Blutabnahmetermin mitgebracht werden sollten, gezählt. Es wurden 98% der Becher leer wieder zurückgegeben. Bei fünf zufällig ausgewählten Probanden wurden die leeren Becher gewogen, um die eventuell vorhandene Restmenge quantitativ zu bestimmen. Bei keinem der Probanden war die Restmenge der Margarine in den Bechern insgesamt größer als 31g. Auf die Gesamtmenge von 1120g betrachtet sind dies weniger als 3%.

3.6.1 Laboranalysen der Blutproben

3.6.1.1 Lipide

Aus den Proben wurden das Gesamtcholesterin (CHOD-PAP, Boehringer, Mannheim, Deutschland) und die Triglyceride (GPO-PAP, Boehringer, Mannheim, Deutschland) enzymatisch bestimmt. Die Lipoproteine HDL- und LDL-Cholesterin wurden ebenfalls enzymatisch nach Präzipitation der anderen Lipoproteine mit Phosphorwolframsäure (Boehringer, Mannheim, Deutschland) oder Dextransulfat (Boehringer, Mannheim,

⁵ Siehe Anhang Fragen zum Studienende

Deutschland) bestimmt. Das Lipoprotein (a) wurde mit einer homologen Immunoassay mit turbidometrischer Messung bestimmt (Greiner, Ulm, Deutschland).

3.6.1.2 Leberwerte

Die Konzentrationen der Transaminasen: Aspartat-Amino-Transferase (ASAT), Alanin-Amino-Transferase (ALAT) und Gama-Glutamy-Transferase (γ -GT) wurden trockenchemisch bestimmt.

3.6.1.3 Sterine

Zur Bestimmung der pflanzlichen Sterine im Plasma wurden nach Zugabe von α -Cholestan als innerer Standard die Gesamtlipide aus 0,5 ml Plasma in 6 ml Hexan/Isopropanol extrahiert. Die eingetrocknete organische Phase wurde mit 0,6 ml ethanolischer KOH versetzt und 30 min auf 80°C erhitzt um die Esterbindungen zu spalten. Nach Zugabe von 0,5 ml Wasser konnten die Sterine dann in Hexan extrahiert werden und der Extrakt wurde unter Stickstoff zur Trockne gebracht. Durch Reaktion mit 100 μ l Bissilyl-trifluoracetamid bei 80°C für 40 min wurden die gut GC-gänigen Silyl-derivate synthetisiert. Die Quantifizierung erfolgt durch GC-MS (HP 5890 GC, HP 5971 MSD, Trennsäule: DB-1, 60 m, 0,25 mm ID) mit einem Temperaturprogramm von 150 - 300°C. Das in der Kinderpoliklinik etablierte Verfahren, das die Bestimmung von Sitosterin und Stigmasterin im Plasma erlaubt, wurde für die zusätzliche Bestimmung von Cycloartenol modifiziert.

3.6.1.4 Lipidlösliche Vitamine

Die Analysen wurden nach dem Verfahren von Göbel et al., 1997 durchgeführt. Aus 100 μ l Plasma wurden Tocopherol, Retinol und Carotine nach Eiweißdenaturierung quantitativ in Hexan extrahiert und mittels Hochdruckflüssigchromatographie quantifiziert. Nach der Zugabe von 100 μ l Ethanol, wurden die Vitamine dreimal in 1 ml Hexan extrahiert und die vereinigten Extrakte unter Stickstoff zur Trockne gebracht. Für die Chromatographie wurde der Extrakt in 100 μ l eines Lösungsmittelgemisches aufgenommen (Acetonitril/ Tetrahydrofuran/ Methanol/ Ammoniumacetat (1 %) = 684/ 220/ 68/ 28), das Tocol als inneren Standard enthält. Dieses Gemisch wurde auch als mobile Phase verwendet. Die Chromatographie wurde mit einem Merck (Darmstadt, Deutschland) HPLC System (L6200 Pumpe, AS 2000 Probengeber, L4250 UV-vis Detektor, F-1050 Fluoreszenzdetektor), und einer RP-Säule (LiChrospher 100, RP-18, 25 cm lang, Merck) durchgeführt. Mit einer Flussrate von 0.65 ml/min, konnten Retinol, α -Tocopherol und δ -Tocopherol getrennt werden, während β - und γ -Tocopherol als ein Peak eluierten. Für die Detektion von Retinol

wurde das Photometer auf 325 nm eingestellt und für die später eluierenden Carotine zeitgesteuert auf 450 nm umgestellt. Die Tocopherole wurden durch ihre Fluoreszenz bei 330 nm nach Excitation bei 298 nm nachgewiesen. Die Datenaufnahme und Auswertung wurde mit EZChrom Elite Ver. 2.1 Software (Scientific Software Inc., Pleasanton, USA) durchgeführt.

3.6.1.5 Totale antioxidative Kapazität

Zur Probe hinzugegebenes exogenes Peroxid reagierte mit in der Probe vorhandenen Antioxidantien, so dass sich über die Quantifizierung des nicht umgesetzten Peroxides ein Maß für die insgesamt vorhandenen Antioxidantien gewinnen ließ. Ein entsprechender Test kann als fertiger Kit von Immundiagnostik (Bensheim, Deutschland) bezogen werden.

3.7 Statistische Auswertung der Daten

Die statistischen Auswertungen der erhobenen Daten wurden mit dem Statistical Package for the Social Sciences Ver. 10.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt. Zum Vergleich der Gruppen wurden T-Tests, gepaarte T-Tests, Wilcoxon-Test, ANOVA und Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Für die Zusammenhänge zwischen den Werten wurden, in Abhängigkeit von der Normalverteilung, bzw. nicht Normalverteilung der Werte, Korrelationskoeffizienten nach Pearson oder Spearman berechnet.

Die Ergebnisse der Analysen wurden bei Normalverteilung in Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Die Werte der Phytosterine wurden in Median und Interquartilenabstand angegeben, da die Werte nicht normalverteilt waren. P-Werte $< 0,05$ wurden als statistisch signifikant gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Auswertung des Fragebogens zum Studienanfang

Um Aufschluss über die Lebensgewohnheiten im Hinblick auf die Ernährung, und der körperlichen Konstitution der Probanden zum Studienbeginn zu bekommen, wurde ihnen bei der ersten Blutabnahme ein Fragebogen vorgelegt (s. „Probandenbogen Margarinstudie“ und „Fragen zur Ernährung“ im Anhang).

Neben den demographischen Daten wie Alter, Geschlecht, Größe und Gewicht, wurden die Probanden bezüglich der Gesundheit nach Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme und dem Zigarettenkonsum gefragt. Die Demographischen Daten zu Studienbeginn sind in Tabelle 4 aufgeführt.

4.1.1 Körperlicher Status der Probanden

Bei den Vorerkrankungen wurden folgende Erkrankungen von den Probanden genannt:

- Hypertonie (3 Probanden)
- Hypothyreose (2 Probanden)
- Allergisches Asthma (1 Proband)
- Arthrose und Osteoporose (1 Proband)
- Asthma, Arthrose und erhöhter Blutzucker (1 Proband)
- Duodenalulcus 1995 (abgeheilt) (1 Proband)
- Gastritis (nicht akut), Durchblutungsstörungen und Herzinfarkt 1995 (1 Proband)
- Gicht (1 Proband)
- Grippaler Infekt (1 Proband)
- Haustierallergie (1 Proband)
- Hyperinsulinämie (1 Proband)
- Laktoseunverträglichkeit und Cholelithiasis (operiert durch Cholezystektomie, danach symptomfrei) (1 Proband)
- Lungen OP, Kolon CA 1992 (Kein Rezidiv und keine Hemikolektomie, nur lokale Resektion des Tumors) (1 Proband)
- Migräne (1 Proband)
- Thyreoiditis-Hashimoto (Nicht mehr therapiebedürftig) (1 Proband)

4.1.2 Medikamentenkonsum zu Studienbeginn

Durch die Aufgeführten Erkrankungen ergaben sich teilweise die Dauermedikationen der Probanden. 5 der Probanden wurden mit Schilddrüsenhormonen behandelt. Von 6 der teilnehmenden Frauen wurden orale Kontrazeptiva eingenommen.

4.1.3 Ernährungsgewohnheiten der Probanden

Mit Hilfe eines Fragebogens, der die Häufigkeiten des Konsums bestimmter Nahrungsmittel abfragte wurden die Ernährungsgewohnheiten der Probanden erhoben. Die Antwort 1 bedeutete fast täglich, 2 mehrmals in der Woche, 3 etwa einmal in der Woche, 4 mehrmals im Monat, 5 einmal im Monat oder seltener und 6 nie (siehe: „Frage zur Ernährung“ im Anhang). Mit der statistischen Auswertung der Ernährungsgewohnheiten der Probanden konnte gezeigt werden, dass auf Grund des durchschnittlichen Verzehrs der Lebensmittel die Ernährung ausgewogen ist (siehe Tabelle 3).

Beide Studiengruppen unterscheiden sich hinsichtlich der Häufigkeit des Verzehrs bestimmter Nahrungsmittel mit Ausnahme der Erfrischungsgetränke nicht signifikant. In der Oryzanol-Gruppe wurden seltener Erfrischungsgetränke konsumiert als in der Kontroll-Gruppe.

Es ließen sich mit Hilfe einer Clusteranalyse keine bestimmten Ernährungstypen feststellen, woraus man schließen kann, dass sich alle Probanden vergleichbar ernährt haben

Zudem gab es unter den Studienteilnehmern keine Personen, die sich vegan oder vegetarisch ernährten.

	Kontroll-Gruppe		Oryzanol-Gruppe	
	Mean	Std. Error of Mean	Mean	Std. Error of Mean
FLEISCH	2,68	,22	2,32	,16
Wurstwaren	2,55	,24	2,58	,21
GEFLÜGEL	3,35	,17	3,32	,17
FISCH	3,55	,20	3,37	,15
Kartoffeln	2,81	,20	2,39	,13
Teigwaren	2,16	,15	2,21	,11
REIS	3,17	,21	3,26	,18
SALAT	2,19	,24	2,11	,21
GEMÜSE	2,48	,18	2,08	,12
OBST	2,26	,25	1,76	,19
Schokolade	3,39	,32	3,34	,26
KUCHEN	3,00	,29	3,47	,22
Sonst. Süßw.	3,74	,30	3,97	,27
ERDNÜSSE	4,39	,27	4,76	,19
WEIßBROT	2,26	,30	2,73	,25
Vollkornbrot	2,35	,31	1,74	,20
Haferflocken	4,32	,29	4,03	,29
QUARK	2,42	,27	2,63	,21
KÄSE	1,77	,19	2,03	,19
EIER	3,65	,24	3,47	,20
MILCH	2,45	,29	2,82	,32
OLIVENÖL	2,97	,33	2,47	,28
Maiskeimöl	4,53	,32	4,24	,31
BUTTER	2,94	,39	2,45	,27
S. Margarine	4,16	,37	4,29	,34
Diätmargarine	4,74	,37	5,14	,25
Erfrischungsgetränke	2,32	,29	3,84	,34
Mineralwasser	1,68	,28	1,58	,22
Diätlimonade	5,39	,26	5,39	,23
BIER	4,23	,30	3,55	,32
andere alk. Getränke	4,23	,25	4,13	,29

Tabelle 3 Häufigkeiten des Verzehrs bestimmter Nahrungsmittel

4.2 Klinische Daten

Für die Aussagekraft und Repräsentativität der Studie war es wichtig, dass zwei vergleichbare Gruppen gebildet wurden. Die Tabellen 4 und 5 zeigen für jede der beiden Gruppen die erhobenen demographischen Daten wie: Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht, den daraus resultierenden BMI sowie die Anzahl abgegebener Becher und alle relevanten Lipid-

Parameter, die in einer weiteren Analyse ausgewertet und statistisch miteinander verglichen wurden.

Das durchschnittliche Alter beider Gruppen lag im Mittel bei 45 Jahren in der Kontroll- und bei 46 Jahren in der Oryzanol-Gruppe. Der aus Körpergröße und Gewicht berechnete Body-Mass-Index der Probanden lag in der Oryzanol-Gruppe im Mittel bei 25 kg/m² und in der Kontroll-Gruppe im Mittel bei 24 kg/m².

Das Gesamtcholesterin hatte in beiden Gruppen eine Plasmakonzentration von über 240mg/dl und erfüllte somit das Studienprotokoll, demnach die Plasmakonzentration des Gesamtcholesterins ≥ 200 mg/dl sein musste. Die Konzentrationen des LDL-Cholesterins lagen in beiden Gruppen im Mittel bei ca. 160mg/dl. Laut Studienprotokoll war hier ein Wert von ≥ 130 mg/dl vorgegeben.

Tabelle 4 : Demographische Daten des Probandenkollektivs getrennt nach Oryzanol- und Kontroll-Gruppe. (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts)

	Oryzanol-Gruppe	Kontroll-Gruppe	Sig.
	(n = 38)	(n = 31)	(2-tailed)
Geschlecht: Frauen	21	15	0,58
Männer	17	16	
Alter (Jahre)	45,74 \pm 15,71	44,55 \pm 15,50	0,75
zurückgegebene Becher	54,73 \pm 2,91	55,00 \pm 1,89	0,66
Gewicht (kg)	74,75 \pm 13,68	71,77 \pm 13,43	0,37
Größe (m)	1,73 \pm 0,08	1,71 \pm 0,10	0,55
BMI 1 (kg/m ²)	24,96 \pm 3,31	24,36 \pm 3,19	0,45

Tabelle 5 : Die Konzentrationen der Plasmalipide des Probandenkollektivs zu Studienbeginn. (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts) Angaben in mg/dl

	Oryzanol-Gruppe	Kontroll-Gruppe	Sig.
	(n = 38)	(n = 31)	(2-tailed)
Cholesterin	246,53 \pm 32,06	244,87 \pm 32,20	0,83
TG	150,84 \pm 64,89	154,00 \pm 97,04	0,87
LDL-Cholesterin	164,53 \pm 29,26	159,97 \pm 19,27	0,46
VLDL-Cholesterin	22,76 \pm 12,20	23,52 \pm 17,37	0,83
HDL-Cholesterin	59,24 \pm 12,79	61,29 \pm 19,99	0,61
LDL/HDL-Cholesterin	2,88 \pm 0,74	2,85 \pm 0,90	0,86
Lp(a)	26,89 \pm 32,13	16,81 \pm 25,87	0,16
VLDL-Triglyceride	175,33 \pm 52,44	182,60 \pm 85,63	0,90

In Tabelle 4 sind die demographischen Daten des Probandenkollektivs zum Zeitpunkt der ersten Blutabnahme nach Frauen und Männer getrennt dargestellt, um die Unterschiede zwischen den Geschlechtern aufzuzeigen. Aus der Tabelle 6 kann zusätzlich entnommen werden, dass die Probanden regelmäßig Margarine (ein bis mehrmals im Monat), jedoch häufiger Butter (ein bis mehrmals die Woche) gegessen haben. Fast ein Drittel der Probanden in beiden Gruppen raucht und auch Alkohol wird regelmäßig konsumiert, im Schnitt „ein“ bis „mehrmals im Monat“. (Zur Skalierung der Essgewohnheiten siehe Kapitel 3.6 Konzeption und Durchführung)

Tabelle 6 : Demographische Daten, (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts), ^a Häufigkeit des Konsums auf einer Skala von 1 (täglich), bis 6 (nie im letzten Jahr).

	Oryzanol-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Männer(n=17)	Frauen(n=21)	Männer(n=16)	Frauen(n=15)
Alter	47 \pm 4	45 \pm 3	43 \pm 3	46 \pm 5
Gewicht	81,3 \pm 3,1	69,4 \pm 2,7	79,9 \pm 3,0	63,1 \pm 2,3
BMI	25,2 \pm 0,6	24,8 \pm 0,9	25,3 \pm 0,7	23,4 \pm 0,8
Rauchen	35,3 %	33,3 %	37,5 %	28,6 %
Margarine ^a	4,8 \pm 0,3	4,6 \pm 0,3	4,6 \pm 0,3	4,3 \pm 0,4
Butter ^a	2,7 \pm 0,4	2,2 \pm 0,3	2,8 \pm 0,5	3,1 \pm 0,6
Alkohol ^a	3,3 \pm 0,3	4,3 \pm 0,3	3,8 \pm 0,3	4,6 \pm 0,3

Die für die Studie nötigen Einschlusskriterien des Studienprotokolls waren somit ebenso erfüllt, wie die Forderung nach Vergleichbarkeit der beiden Studiengruppen, die hinsichtlich der in den Tabellen angegebenen Daten zu Studienbeginn gegeben ist. Sämtliche Unterschiede zwischen Kontroll- und Test-Gruppe erwiesen sich als nicht signifikant.

4.3 Parameter des Lipidstoffwechsel

In diesem Kapitel soll im Einzelnen aufgeführt werden, ob und wie sich die Parameter des Lipidstoffwechsel durch den Konsum der Studienmargarine, mit und ohne Oryzanolzusatz, im Laufe der Studie verändert haben.

Die statistischen Berechnungen für die Unterschiede zwischen den Gruppen und auch innerhalb der Gruppen wurden zunächst für alle Probanden, danach für Männer und für Frauen getrennt durchgeführt.

Sowohl in der Oryzanol- als auch in der Kontroll-Gruppe kam es durch den Konsum von 40gr Studienmargarine am Tag zu einem Absinken des Gesamtcholesterins und des LDL-Cholesterins. Zwischen den Werten von Studienanfang und Studienende konnte jedoch nur bei der Oryzanol-Gruppe ein signifikanter Unterschied ($p = 0,04$) innerhalb der Gruppe beobachtet werden.

So war die Veränderung beim Gesamtcholesterin in der Oryzanol-Gruppe mit einem Rückgang um $9,5 \pm 4,4$ mg/dl fast doppelt so hoch wie in der Kontroll-Gruppe mit einer

Verminderung um lediglich $4,9 \pm 3,8$ mg/dl. In der Oryzanol -Gruppe entsprechen diese Werte einem Rückgang um 3,9%, in der Kontroll-Gruppe um 2,0%.

Die Konzentrationswerte von Männern und Frauen der Oryzanol -Gruppe getrennt betrachtet ergaben keine signifikanten Veränderungen.

Beim LDL-Cholesterin zeigte sich in der Oryzanol -Gruppe ein Absinken um $10,3 \pm 3,1$ mg/dl (6,2%) im Gegensatz zu $5,7 \pm 3,4$ mg/dl (3,5%) in der Kontroll-Gruppe. Die Veränderungen waren hier wiederum nur innerhalb der Oryzanol-Gruppe signifikant ($p \leq 0,01$).

Wenn man die Ergebnisse nach dem Geschlecht getrennt berechnet, so kann man beobachten, dass bei den Männer in der Oryzanol-Gruppe das LDL-Cholesterin sogar noch stärker um $12,5 \pm 5,5$ mg/dl sank, bei den Frauen hingegen nur um $8,6 \pm 3,6$ mg/dl. Im Vergleich dazu konnte bei Männern der Kontroll-Gruppe ein Absinken des LDL-Cholesterins um $4,4 \pm 4,9$ mg/dl und bei Frauen der Kontroll-Gruppe ein Absinken des LDL-Cholesterins um $7,0 \pm 4,8$ mg/dl festgestellt werden, wobei diese Konzentrationsänderungen in beiden Fällen nicht signifikant waren.

Das Absinken der Konzentration des Gesamtcholesterins ist gekoppelt an das Absinken des LDL-Cholesterins, wie berechnete Korrelationen belegen. (s. Kapitel 4.6.4 Differenz Gesamtcholesterin – Differenz LDL-Cholesterin)

Die Konzentrationen des HDL-Cholesterins wurden durch unsere Studiennahrung nicht wesentlich beeinflusst. Eine Ausnahme bildeten die Frauen in der Oryzanol-Gruppe, bei denen das HDL-Cholesterin um $3,5 \pm 1,8$ mg/dl angestiegen ist, während hingegen im Vergleich dazu das HDL-Cholesterin bei den Frauen der Kontroll-Gruppe um $2,9 \pm 1,9$ mg/dl gesunken ist. Dieser Unterschied ist signifikant zwischen den Gruppen.

Tabelle 7 Serumlipide der Probanden bei Studienanfang und Studienende, (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts), ^a= signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Ende.

mg/dl	Oryzanol-Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen	Gesamt
Gesamtcholesterin Anfang	235,5 \pm 6,5	255,5 \pm 7,4	246,5 \pm 5,2	238,3 \pm 8,1	251,9 \pm 8,1	244,9 \pm 5,8
Gesamtcholesterin Ende	221,2 \pm 7,0	249,9 \pm 6,7	237,1 \pm 5,4	239,7 \pm 7,2	240,3 \pm 5,7	240,0 \pm 4,6
Veränderung	-14,2 \pm 7,5	-5,6 \pm 5,1	-9,5 \pm 4,4 ^b	1,4 \pm 4,8	-11,6 \pm 5,7	-4,9 \pm 3,8
LDL Cholesterin Anfang	158,1 \pm 5,7	169,7 \pm 7,2	164,5 \pm 4,8	160,8 \pm 3,8	159,1 \pm 6,0	160,0 \pm 3,5
LDL Cholesterin Ende	145,7 \pm 5,1	161,1 \pm 6,2	154,2 \pm 4,3	156,4 \pm 5,6	152,1 \pm 4,7	154,3 \pm 3,7
Veränderung	-12,5 \pm 5,5 ^b	-8,6 \pm 3,6 ^b	-10,3 \pm 3,1 ^b	-4,4 \pm 4,9	-7,0 \pm 4,8	-5,7 \pm 3,4
HDL Cholesterin Anfang	52,4 \pm 2,5	64,8 \pm 2,6	59,2 \pm 2,1	47,1 \pm 1,9	76,5 \pm 4,6	61,3 \pm 3,6
HDL Cholesterin Ende	49,1 \pm 2,4	68,2 \pm 3,3	59,7 \pm 2,6	46,3 \pm 2,6	73,6 \pm 3,4	59,5 \pm 3,3
Veränderung	-3,4 \pm 1,6	3,5 \pm 1,8 ^a	0,4 \pm 1,4	-0,8 \pm 1,9	-2,9 \pm 1,9	-1,8 \pm 1,3

Tabelle 8: LDL/HDL Verhältnis zu Studienanfang und Studienende (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts), ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Ende.

mg/mg	Oryzanol-Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen	Gesamt
LDL/HDL Anfang	3,1 \pm 0,2	2,7 \pm 0,2 ^b	2,9 \pm 0,1 ^b	3,5 \pm 0,2	2,1 \pm 0,1	2,9 \pm 0,2
LDL/HDL Ende	3,7 \pm 0,2	2,5 \pm 0,2 ^b	2,8 \pm 0,1 ^b	3,5 \pm 0,2	2,1 \pm 0,1	2,8 \pm 0,2

Tabelle 9: Serumlipide der Probanden zu Studienanfang und Studienende (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts), ^a= signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Ende.

mg/dl	Oryzanol-Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen	Gesamt
VLDL Anfang	24,9 \pm 3,5	21,0 \pm 2,2	22,8 \pm 2,0	30,2 \pm 5,4	16,4 \pm 1,8	23,5 \pm 3,1
VLDL Ende	25,1 \pm 5,1	20,1 \pm 2,4	22,3 \pm 2,6	34,0 \pm 8,0	14,7 \pm 1,2	24,7 \pm 4,5
Veränderung	0,1 \pm 3,1	-0,9 \pm 2,1	-0,4 \pm 1,8	3,8 \pm 4,6	-1,7 \pm 1,3	1,1 \pm 2,5
Triglyceride Anfang	162,7 \pm 19,5	141,2 \pm 10,7	150,8 \pm 10,5	193,5 \pm 29,5	111,9 \pm 10,3	154,0 \pm 17,4
Triglyceride Ende	187,7 \pm 39,1	129,8 \pm 14,9	155,7 \pm 19,6	245,0 \pm 57,6	106,3 \pm 8,8	177,9 \pm 32,1
Veränderung	25,0 \pm 28,4	-11,5 \pm 12,9	4,8 \pm 14,7	51,5 \pm 40,9	-5,6 \pm 7,4	23,9 \pm 21,7
Lp(a) Anfang	35,3 \pm 10,0	20,1 \pm 4,6	26,9 \pm 5,2	17,8 \pm 8,3	15,8 \pm 4,2	16,8 \pm 4,7
Lp(a) Ende	31,4 \pm 9,3	19,7 \pm 5,5	24,9 \pm 5,2	16,8 \pm 8,5	16,5 \pm 4,0	16,7 \pm 4,7
Veränderung	-3,9 \pm 1,2	-0,4 \pm 1,9	-2,0 \pm 1,2	-1,0 \pm 0,8	0,7 \pm 0,9	-0,2 \pm 0,6

4.4 Fettlösliche Vitamine

Bei der Auswertung und Bestimmung der fettlöslichen Vitamine Retinol, α -Tocopherol, α -Carotin und β -Carotin konnten keine wesentlichen Veränderungen bei den Konzentrationen festgestellt werden, die sich auf den Zusatz von Gamma-Oryzanol zur Studienmargarine zurückführen lassen.

Die absoluten Konzentrationen der Vitamine A und E waren in beiden Gruppen zu Studienbeginn und Studienende vergleichbar. Bei den Männer in der Oryzanol- wie auch in der Kontroll-Gruppe konnte jedoch ein signifikanter Anstieg der Retinol-Konzentration um ca. 12% beobachtet werden. In der Oryzanol-Gruppe stieg die Konzentration um $0,23 \pm 0,09$

$\mu\text{mol/l}$ auf $2,07 \pm 0,10 \mu\text{mol/l}$ und in der Kontroll-Gruppe um $0,20 \pm 0,08 \mu\text{mol/l}$ auf $1,97 \pm 0,10 \mu\text{mol/l}$ an.

Tabelle 10: Konzentration der fettlöslichen Vitamine (in $\mu\text{mol/l}$) im Plasma der Probanden zu Studienanfang und Ende (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts), ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Ende.

$\mu\text{mol/l}$	Oryzanol -Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen	Gesamt
Retinol Anfang	$1,85 \pm 0,12$	$1,75 \pm 0,07$	$1,79 \pm 0,06$	$1,76 \pm 0,10$	$1,84 \pm 0,10$	$1,80 \pm 0,07$
Retinol Ende	$2,07 \pm 0,10$	$1,77 \pm 0,10$	$1,90 \pm 0,07$	$1,97 \pm 0,10$	$1,78 \pm 0,14$	$1,88 \pm 0,09$
Veränderung	$0,23 \pm 0,09^b$	$0,02 \pm 0,08$	$0,11 \pm 0,06$	$0,20 \pm 0,08^b$	$-0,06 \pm 0,10$	$0,07 \pm 0,07$
α -Tocopherol Anfang	$30,16 \pm 2,00$	$34,95 \pm 1,88$	$32,81 \pm 1,41$	$31,23 \pm 3,27$	$29,02 \pm 1,56$	$30,16 \pm 1,83$
α -Tocopherol Ende	$30,65 \pm 2,77$	$34,82 \pm 2,71$	$32,95 \pm 1,95$	$36,54 \pm 3,60$	$30,78 \pm 1,61$	$33,75 \pm 2,05$
Veränderung	$0,49 \pm 2,16$	$-0,14 \pm 2,37$	$0,14 \pm 1,61$	$5,32 \pm 3,56$	$1,76 \pm 1,75$	$3,60 \pm 2,02$
α -Carotin Anfang	$0,13 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,07$	$0,17 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,02$
α -Carotin Ende	$0,10 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,07$	$0,16 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,02$
Veränderung	$-0,03 \pm 0,02$	0 ± 0	$-0,01 \pm 0,01$	$0 \pm 0,02$	$0 \pm 0,03$	$0 \pm 0,02$
β -Carotin Anfang	$0,63 \pm 0,11$	$1,02 \pm 0,22$	$0,85 \pm 0,13$	$0,88 \pm 0,28$	$0,86 \pm 0,14$	$0,87 \pm 0,16$
β -Carotin Ende	$0,62 \pm 0,11$	$1,03 \pm 0,23$	$0,85 \pm 0,14$	$0,75 \pm 0,21$	$0,84 \pm 0,13$	$0,80 \pm 0,12$
Veränderung	$-0,01 \pm 0,09$	$0,01 \pm 0,09$	$0 \pm 0,1$	$-0,12 \pm 0,13$	$-0,02 \pm 0,15$	$-0,07 \pm 0,10$

4.4.1 Antioxidative Kapazität

Ein allgemeiner Anstieg in der Oryzanol-Gruppe um $24,38 \pm 9,24 \mu\text{mol/l}$ konnte bei der Bestimmung der antioxidativen Kapazität festgestellt werden.

Die Frauen der Oryzanol-Gruppe verzeichneten eine Zunahme der Kapazität von $251,95 \pm 9,36 \mu\text{mol/l}$ auf $284,20 \pm 12,44 \mu\text{mol/l}$. In der Kontroll-Gruppe erhöhte sich bei den Männern die antioxidative Kapazität um $29,69 \pm 10,23 \mu\text{mol/l}$ auf $340,69 \pm 9,06 \mu\text{mol/l}$.

Zwischen Studienanfang und Studienende konnte jedoch nur in der Oryzanol-Gruppe bei den Frauen und der gesamten Gruppe sowie innerhalb der Kontroll-Gruppe bei den Männern eine signifikante Kapazitätssteigerung beobachtet werden.

Tabelle 11: Konzentration der antioxidativen Kapazität im Plasma der Probanden zu Studienanfang und Studienende (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts), ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Studienende.

	Oryzanol -Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	$\mu\text{mol/l}$	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen
antioxidative Kapazität Anfang	291,53 \pm 9,37	251,95 \pm 9,36	270,14 \pm 7,33	311,00 \pm 10,82	268,73 \pm 10,26	290,55 \pm 8,30
antioxidative Kapazität Ende	306,65 \pm 10,55	284,20 \pm 12,44	294,51 \pm 8,39	340,69 \pm 9,06	265,20 \pm 10,07	304,16 \pm 9,57
Veränderung	15,12 \pm 10,60	32,25 \pm 14,54 ^b	24,38 \pm 9,24 ^b	29,69 \pm 10,23 ^b	-3,53 \pm 12,77	13,61 \pm 8,54

4.4.2 Vitamin E/Cholesterin Quotient und Vitamin A/Cholesterin Quotient

Es bestand die Überlegung, dass die Phytosterine zu einer verminderten Absorption einiger fettlöslicher Vitamine führen könnten. Um festzustellen, ob die Konzentrationen des α -Tocopherols und des Retinols vom Plasmacholesterin abhängig sind, wurden dazu Quotienten berechnet.

Dabei wurden die Anfangswerte des α Tocopherols und des Retinols durch die Anfangswerte des Gesamtcholesterins dividiert. Mit den Endwerten wurde genauso verfahren. Danach folgte die statistische Auswertung der Quotienten und ihrer Veränderungen.

Beim Quotienten aus α -Tocopherol und Cholesterin konnte zwischen den Anfangswerten und Endwerten von allen Probanden der Kontroll-Gruppe ein Anstieg von $4,79 \pm 0,28 \mu\text{mol/mmol}$ auf $5,38 \pm 0,25 \mu\text{mol/mmol}$ festgestellt werden, der jedoch nur innerhalb der Gruppe

signifikant war. Männer und Frauen der Kontroll-Gruppe für sich betrachtet ergaben keine Veränderungen. In der Oryzanol-Gruppe konnten keine relevanten Veränderungen der Quotienten festgestellt werden.

Tabelle 12 Quotient zwischen α -Tocopherol1 and Cholesterin1 and α -Tocopherol2 and Cholesterin2 (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts), ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Studienende.

$\mu\text{mol}/\text{mmol}$	Oryzanol -Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen	Gesamt
α -Tocopherol1/ Cholesterin1	$4,92 \pm 0,26$	$5,33 \pm 0,29$	$5,15 \pm 0,20$	$5,05 \pm 0,47$	$4,51 \pm 0,27$	$4,79 \pm 0,28$
α -Tocopherol2/ Cholesterin2	$5,27 \pm 0,36$	$5,37 \pm 0,38$	$5,33 \pm 0,26$	$5,80 \pm 0,42$	$4,93 \pm 0,20$	$5,38 \pm 0,25$
Veränderung	$0,35 \pm 0,30$	$0,04 \pm 0,36$	$0,18 \pm 0,24$	$0,75 \pm 0,45$	$0,43 \pm 0,27$	$0,60 \pm 0,27^b$

Beim Quotienten aus Retinol und Cholesterin konnte zwischen den Anfangswerten und Endwerten bei den Männern und bei allen Personen innerhalb der Oryzanol-Gruppe ein Anstieg des Quotienten beobachtet werden, der jedoch nur innerhalb der Gruppe signifikant war. Bei den Frauen der Oryzanol-Gruppe konnten keine Veränderungen des Quotienten erfasst werden. In der Kontroll-Gruppe stieg der Quotient aus Retinol und Cholesterin nur bei den Männern signifikant an.

Tabelle 13 Quotient zwischen Retinol1 und Cholesterin1 und Retinol2 und Cholesterin2 (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts), ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Ende.

$\mu\text{mol}/\text{mmol}$	Oryzanol-Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen	Gesamt
Retinol1/Cholest erin1	$0,31 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,01$
Retinol2/Cholest erin2	$0,36 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,01$
Veränderung	$0,05 \pm 0,02^b$	$0,01 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01^b$	$0,03 \pm 0,01^b$	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$

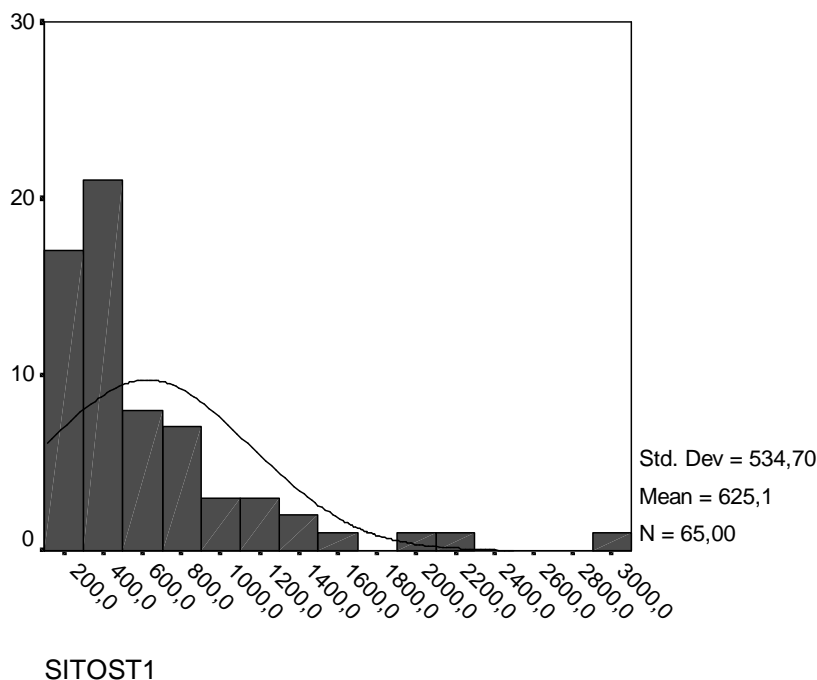
Im statistischen Vergleich zwischen den Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied bei den Quotienten.

4.5 Phytosterine

Zu Studienbeginn waren die Plasmakonzentrationen der Phytosterine in beiden Gruppen vergleichbar, so dass für Oryzanol- und Kontroll-Gruppe eine gleiche Ausgangslage bestand.

Die Ergebnisse der Analysen wurden unter Annahme der Normalverteilung in Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts angegeben. Die Werte der Phytosterole wurden hingegen in Median und Interquartilenabstand angegeben, da die Werte nicht normalverteilt sind, wie aus dem Histogramm in Abbildung 6 ersichtlich ist. Es sind exemplarisch die Konzentrationen von Sitosterol in ein Histogramm aufgetragen. Die Konzentrationen der anderen gemessenen Sterole waren genauso verteilt.

Abbildung 6 Verteilung der Konzentrationen für Sitosterol, exemplarisch für die Konzentrationen aller gemessenen Phytosterole. Zusätzlich ist in die Graphik eine Normalverteilungskurve eingetragen. Die Konzentrationen sind in $\mu\text{g}/\text{dl}$ angegeben.



Durch die 1,6g Gamma-Oryzanol in der täglichen Margarinemenge wurden jeweils 0,3g Sitosterol und 0,4g Campesterol aufgenommen. (Genaue Zahlen von der Firma Rau) Sterolgehalt, s. Zusammensetzung der Studiennahrung)

Bei den Plasmakonzentrationen der Sterole zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen. So konnten wir beim Campesterin einen hochsignifikanten Anstieg ($p < 0,01$) der Plasmakonzentration (die gesamte Oryzanol-Gruppe betrachtet) um 180/465 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Median/IQR) auf 895/910 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Median/IQR) beobachten. Bei den Frauen der Oryzanol-Gruppe zeigte sich eine signifikante Konzentrationsveränderung des Campesterins um 363/657 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Median/IQR). (S. dazu Tabelle 14)

Auch beim Stigmasterin konnten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. In der Oryzanol-Gruppe stiegen die Konzentrationen um $4/9 \mu\text{g/dl}$ (Median/IQR). Bei den Frauen dieser Gruppe war die Veränderung $5/10 \mu\text{g/dl}$ (Median/IQR) (und war somit signifikant verschieden zwischen Oryzanol- und Kontroll-Gruppe). Bei den Männern der Oryzanol-Gruppe war der Unterschied innerhalb der Gruppe signifikant und betrug $2/8 \mu\text{g/dl}$ (Median/IQR).

Die Konzentrationen des Sitosterols sind nur bei den Frauen der Oryzanol-Gruppe signifikant um $63/146 \mu\text{g/dl}$ (Median/IQR) angestiegen.

Beim Brassicasterin konnte in der Oryzanol-Gruppe ein Absinken der Plasmakonzentration um $-7/24 \mu\text{g/dl}$ (Median/IQR) beobachtet werden.

Die Konzentrationen von Squalen veränderten sich nicht signifikant, weder in der Oryzanol- noch in der Kontroll-Gruppe. Auch konnten in der Kontroll-Gruppe bezüglich der Sterinveränderungen keine signifikanten Unterschiede zwischen Studienanfang und Ende festgestellt werden.

Tabelle 14 Konzentration der Pflanzensterine ($\mu\text{g}/\text{dl}$) im Plasma der Probanden zu Studienanfang und Studienende (Median / Interquartilenabstand), ^a= signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Ende.

$\mu\text{g}/\text{dl}$	Oryzanol-Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen	Gesamt
Sitosterin Anfang	440/526	357/629	413/572	380/212	574/751	457/370
Sitosterin Ende	376/520	495/691	438/653	401/258	594/562	532/361
Veränderung	-10/220	63/146 ^b	36/121	11/122	45/177	23/133
Campesterin Anfang	833/725	672/872	721/822	741/471	1023/784	811/693
Campesterin Ende	832/549	1009/1373	895/910	855/393	959/808	855/561
Veränderung	92/343	363/657 ^{b a}	180/465 ^{b a}	22/148	-16/176	1/150
Stigmasterin Anfang	5/18	14/17	11/19	22/29	16/30	22/31
Stigmasterin Ende	10/21	24/20	18/22	19/29	12/34	19/31
Veränderung	2/8 ^b	5/10 ^{b a}	4/9 ^{b a}	2/5	0/4	0/3
Brassicasterin Anfang	50/73	42/35	48/57	50/38	48/75	48/57
Brassicasterin Ende	46/21	39/41	40/23	55/35	57/94	56/49
Veränderung	-5/19	-8/30	-7/24 ^b	6/16	6/22	6/19
Squalen Anfang	60/64	45/48	56/47	86/117	44/16	52/54
Squalen Ende	86/96	53/29	59/70	68/123	45/29	56/30
Veränderung	12/65	3/46	5/48	3/55	0/25	1/37

Die Sterole Metylcycloartenol und Cycloartenol konnten mangels verfügbaren Standards nicht quantitativ bestimmt werden, so dass für die Messungen fiktive Eichungen verwendet wurden. Für die Auswertung bedeutet dies, dass nur die relativen Änderungen zwischen der ersten und zweiten Blutabnahme bestimmt wurden, aber keine absoluten Konzentrationen angegeben werden können.

Es wurden von der ersten und zweiten Blutprobe jeweils zwei Messungen gemacht, die dann gemittelt wurden. Mit Hilfe dieser Daten konnten Quotienten aus den relativen Anfangs- und Endwerten der Sterole gebildet werden (Metyl2 / Metyl1 bzw. Cyclo2/Cyclo1).

Für die Beurteilung der Veränderungen gilt: Der Wert 1 bedeutet, dass es keine Veränderung der Sterolkonzentrationen gab, bei Werten größer 1 stiegen die Sterolkonzentrationen und bei Werten kleiner 1 wurde ein Absinken der Plasmakonzentrationen beobachtet.

Wie aus den Daten der Tabelle 15 ersichtlich hat es sich gezeigt, dass die Konzentrationen von Metylcycloartenol in der Test-Gruppe hochsignifikant angestiegen sind (Sig. 0,006). Im Vergleich dazu sind in der Kontroll-Gruppe keine wesentlichen Veränderungen bei den Metylcycloartenolkonzentrationen erkennbar. Signifikante Konzentrationsveränderungen beim Cycloartenol wurden nur bei den Frauen der Test-Gruppe und der gesamten Test-Gruppe auf die gleiche Weise festgestellt. In der Kontroll-Gruppe konnten hingegen keine Veränderungen festgestellt werden.

Tabelle 15 Die Quotienten aus den relativen Anfangs- und Endwerten von Metylcycloartenol und Cycloartenol (Metylc2/Metylc1 bzw. Cycloa2/Cycloa1). Der Wert 1 bedeutet, dass es keine Veränderung der Sterolkonzentrationen gab, bei Werten größer 1 stiegen die Sterolkonzentrationen und bei Werten kleiner 1 wurde ein Absinken der Plasmakonzentrationen beobachtet.

	Oryzanol-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Metylc2/Metylc1	Cycloa2/Cycloa1	Metylc2/Metylc1	Cycloa2/Cycloa1
Frauen	5,96 ± 1,87	1,87 ± 0,30	0,95 ± 0,13	1,13 ± 0,17
Männer	3,65 ± 1,17	1,00 ± 0,22	1,02 ± 0,43	0,97 ± 0,15
Gesamt	4,89 ± 1,15	1,51 ± 0,21	0,99 ± 0,23	1,04 ± 0,11

4.5.1 Quotienten zwischen den Pflanzensterinen und den Cholesterinwerten

Um die Beziehung der Pflanzensterine zu den Cholesterinwerten darzustellen, wurden die Quotienten aus den Anfangswerten und Endwerten der Plasmakonzentrationen der Sterole und den Plasmakonzentrationen des Gesamtcholesterins berechnet. Die Werte sind auch hier wieder in Median und Interquartilenabstand angegeben, da die Werte der Sterole nicht normalverteilt waren (siehe Abbildung 6 Verteilung der Phytosterolkonzentrationen).

Dabei ergaben sich signifikante Unterschiede für die Sterol/Cholesterin-Quotienten in der Test-Gruppe. In der Kontroll-Gruppe konnten keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden.

Für den Quotienten aus Sitosterol und Cholesterin konnte zwischen Studienanfang und Studienende innerhalb der Test-Gruppe eine signifikante Veränderung festgestellt werden. Der Wert stieg dabei von 1,62/1,81 mmol/mol auf 1,83/2,18 mmol/mol.

Bei den Quotienten aus Campesterol und Cholesterin konnte eine signifikante Erhöhung des Wertes von 2,92/3,03 mmol/mol auf 3,83/3,19 mmol/mol festgestellt werden.

Auch bei dem Quotienten aus Stigmasterol und Cholesterin konnte ein signifikanter Anstieg festgestellt werden. Der Wert stieg von 0,04/0,07 mmol/mol auf 0,07/0,08 mmol/mol.

In der Kontroll-Gruppe zeigten sich bei den Quotienten hingegen keine signifikanten Veränderungen.

Tabelle 16 Quotient zwischen den Pflanzensterinen und den Cholesterinwerten im Plasma der Probanden zum Studienanfang und Studienende (Median / Interquartilenabstand), ^a= signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ^b= signifikanter Unterschied zwischen Studienanfang und Ende.

	Oryzanol-Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	mmol/mol	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen
Sitosterin1/Cholesterin1	1,84/1,68	1,34/2,00	1,62/1,81	1,41/0,92	2,02/2,34	1,87/1,33
Sitosterin2/Cholesterin2	1,83/1,57	1,90/2,33	1,83/2,18	1,65/0,96	2,34/1,87	2,07/1,27
Veränderung	-0,03/0,65	0,32/0,33 ^b	0,23/0,44 ^b	0,14/0,41	0,18/0,14	0,16/0,42
Campesterin1/Cholesterin 1	3,62/3,10	2,64/2,92	2,92/3,03	3,17/1,85	3,67/3,13	3,34/1,95
Campesterin2/Cholesterin 2	3,73/2,32	4,37/4,41	3,83/3,19	3,42/1,62	3,79/3,70	3,63/1,82
Veränderung	0,21/1,55	1,48/2,34 ^{ba}	0,91/1,51 ^{ba}	0,02/0,67	0,11/1,10	0,05/0,78
Stigmasterin1/Cholesterin 1	0,02/0,08	0,05/0,05	0,04/0,07	0,09/0,12	0,06/0,11	0,08/0,12
Stigmasterin2/Cholesterin 2	0,05/0,09	0,08/0,06	0,07/0,08	0,08/0,12	0,04/0,12	0,07/0,11
Veränderung	0,01/0,04 ^b	0,02/0,02 ^{ba}	0,02/0,03 ^{ba}	0,01/0,02	0/0,01	0/0,02
Brassicasterin1/Cholesterin 1	0,21/0,27	0,16/0,17	0,18/0,19	0,23/0,14	0,19/0,32	0,20/0,14
Brassicasterin2/Cholesterin 2	0,19/0,09	0,15/0,13	0,16/0,11	0,24/0,15	0,21/0,34	0,23/0,18
Veränderung	0,01/0,08	-0,02/0,08	-0,02/0,08	0,01/0,07	0,04/0,05	0,03/0,06
Squalen1/Cholesterin 1	0,26/0,24	0,18/0,19	0,22/0,19	0,32/0,46	0,17/0,05	0,23/0,20
Squalen2/Cholesterin 2	0,38/0,38	0,19/0,11	0,25/0,30	0,28/0,49	0,19/0,14	0,24/0,13
Veränderung	0,06/0,28 ^b	0,01/0,15	0,05/0,16	0/0,24	0/0,09	0/0,14

4.6 Transaminasen

Die Transaminasen wurden bei den Probanden bestimmt, um die Toxizität von Margarine mit Oryzanol-Zusatz zu bewerten. Dafür wurden die Transaminasen AST Aspartat-Aminotransferase (GOT), ALT Alanintransferase (GPT) und γ GT Gamma-Glutamyltranspeptidase im Serum quantifiziert.

Referenzbereich:

AST: Frauen: ≤ 15 U/l ; Männer: ≤ 18 U/l

ALT: Frauen: ≤ 19 U/l Männer: ≤ 23 U/l

γ GT: Frauen: ≤ 18 U/l ; Männer: ≤ 28 U/l (Dormann, A. 1997)

Tabelle 17 : Konzentration der Sicherheitsparameter (U/l) zu Studienanfang und Studienende bei den Probanden angegeben in Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts, ^a= signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

	Oryzanol-Gruppe			Kontroll-Gruppe		
	Männer	Frauen	Gesamt	Männer	Frauen	Gesamt
AST Anfang	12,6 \pm 2,8	9,4 \pm 0,5	10,8 \pm 1,3	9,6 \pm 0,4	10,3 \pm 0,7	9,9 \pm 0,4
AST Ende	10,7 \pm 1,5	11 \pm 0,7	10,8 \pm 0,7	9,6 \pm 0,4	9,5 \pm 0,6	9,5 \pm 0,3
Veränderung	-1,9 \pm 1,5	1,6 \pm 0,7 ^a	0 \pm 0,8	0,1 \pm 0,3	-0,8 \pm 0,4	-0,4 \pm 0,2
ALT Anfang	20,5 \pm 5,5	11,4 \pm 0,5	15,5 \pm 2,5	15,8 \pm 1,2	13,9 \pm 1,7	14,9 \pm 1,1
ALT Ende	19,4 \pm 4,6	13,9 \pm 0,9	16,3 \pm 2,1	15,6 \pm 1,2	12,9 \pm 1,3	14,3 \pm 0,9
Veränderung	-1,1 \pm 2,1	2,5 \pm 0,8 ^a	0,9 \pm 1,1	-0,3 \pm 0,5	-1,0 \pm 0,8	-0,6 \pm 0,4
GGT Anfang	19,2 \pm 4,3	12,9 \pm 1,9	15,7 \pm 2,2	14,9 \pm 1,5	13,7 \pm 2,9	14,3 \pm 1,6
GGT Ende	17,7 \pm 3,2	13,76 \pm 2,4	15,5 \pm 2,0	14,2 \pm 1,5	11,2 \pm 1,7	12,7 \pm 1,1
Veränderung	-1,5 \pm 1,4	0,9 \pm 1,1	-0,2 \pm 0,9	-0,8 \pm 0,6	-2,5 \pm 1,3	-1,6 \pm 0,7

Die im Plasma gemessenen Konzentrationen der Transaminasen waren sowohl zu Studienbeginn, als auch zu Studienende immer im Referenzbereich. Allerdings stiegen bei den Frauen der Kontroll-Gruppe, die Konzentrationen der Transaminasen AST um 1,6 \pm 0,7 U/l ($p = 0,006$) und ALT um 2,5 \pm 0,8 U/l ($p = 0,004$) hochsignifikant an. Bis auf die Veränderungen bei den Frauen der Kontroll-Gruppe, konnten jedoch keine weiteren Konzentrationssteigerungen festgestellt werden.

4.7 Korrelationen der Studienergebnisse:

Zur Aufklärung potentieller Einflussfaktoren auf die gefundenen Ergebnisse wurden Korrelationsanalysen für die unten aufgelisteten möglichen Zusammenhänge durchgeführt.

- Ausgangswert Gesamtcholesterin – Differenz Gesamtcholesterin
- Differenz Gesamtcholesterin – Differenz LDL-Cholesterin
- Ausgangswert Triglyceride – Differenz Gesamtcholesterin
- Lp(a) Konzentration – Ausgangswert bzw. Differenz Cholesterin
- Ausgangs- bzw. Endwert Gesamtcholesterin – Phytoplasmasterole
- Ausgangswert Phytoplasmasterole- Endwert Phytoplasmasterole

4.7.1 Ausgangswert Gesamtcholesterin – Differenz Gesamtcholesterin

Zuerst wurden die Ausgangswerte des Gesamtcholesterins mit den Werten der Cholesterinveränderung korreliert. Diese wurden gebildet durch Subtraktion des Ausgangs- vom Endwert. Die Berechnungen der Korrelationen wurden für das gesamte Probandenkollektiv, für die Probanden der Test-Gruppe und die der Kontroll-Gruppe getrennt durchgeführt.

Dabei hat es sich in allen Berechnungen gezeigt, dass die Werte negativ miteinander korrelieren. Bei der Oryzanol-Gruppe konnte eine signifikante negative Korrelation mit $r = -0,388$ und in der Kontroll-Gruppe eine hochsignifikante negative Korrelation mit $r = -0,614$ zwischen den Werten berechnet werden.

In der Abbildung 7 sind die Anfangswerte des Gesamtcholesterins (Cholesterin1) und die Differenzen des Gesamtcholesterins (V_Chol) aufgetragen. Die Grafik zeigt die Werte für die Probanden der Test- und der Kontroll-Gruppe.

Negative Werte bei der Veränderung der Cholesterinwerte (V_Chol) bedeuten, dass der Anfangswert (Cholesterin 1) größer war als der Endwert (Cholesterin 2). In diesem Falle ist das Gesamtcholesterin bei dem Probanden gesunken. Ist der Wert im positiven Bereich, so ist die Konzentration des Gesamtcholesterins im Laufe der Studie angestiegen.

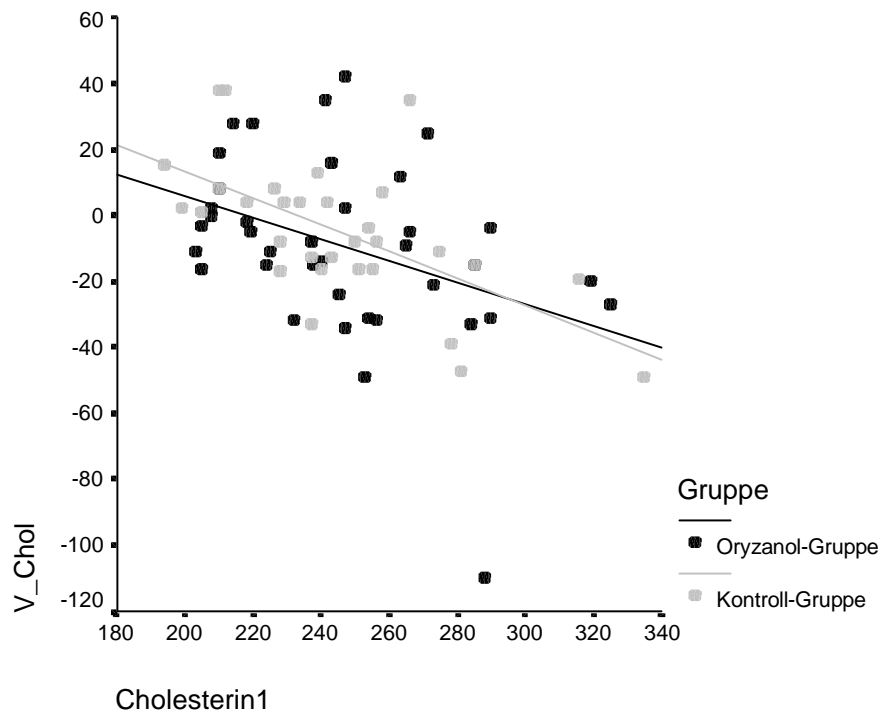


Abbildung 7 : Die Cholesterin-Ausgangswerte im Verhältnis zu den Cholesterinveränderungen V_Chol (Cholesterin 2 – Cholesterin 1) 0 bedeutet, dass es keine Veränderung des Cholesterins gab, bei positiven Werten stieg das Cholesterin und negative Werte bedeuten ein Absinken der Plasmakonzentration. Die Darstellung bezieht sich auf die Probanden aus der Oryzanol- und Kontroll-Gruppe.

4.7.2 Differenz Gesamtcholesterin – Differenz LDL-Cholesterin

Der Zusammenhang zwischen den Konzentrationsveränderungen des Gesamtcholesterins mit den Konzentrationsveränderung des LDL-Cholesterins sollte durch Korrelationen zwischen den Werten V_Chol (Differenz Gesamtcholesterin) und den Werten V_LDL (Differenz LDL-Cholesterin) untersucht werden. Die Korrelationen wurden für das gesamte Probandenkollektiv, die Oryzanol- und die Kontroll-Gruppe durchgeführt.

In sämtlichen Berechnungen haben sich hochsignifikante positive Zusammenhänge gezeigt. Für die Oryzanol-Gruppe ergab es eine positive hochsignifikante Korrelation mit $r = 0,87$ zwischen den Werten V_Chol. und V_LDL. Auch für die Kontroll-Gruppe war hier die Pearson-Korrelation mit $r = 0,64$ positiv und hochsignifikant. Bei der Korrelation, für das Gesamtkollektiv der Studie, zeigte sich ebenfalls ein hochsignifikanter Wert für die Pearson Korrelation von $r = 0.78$ heraus (s. Abbildung 8).

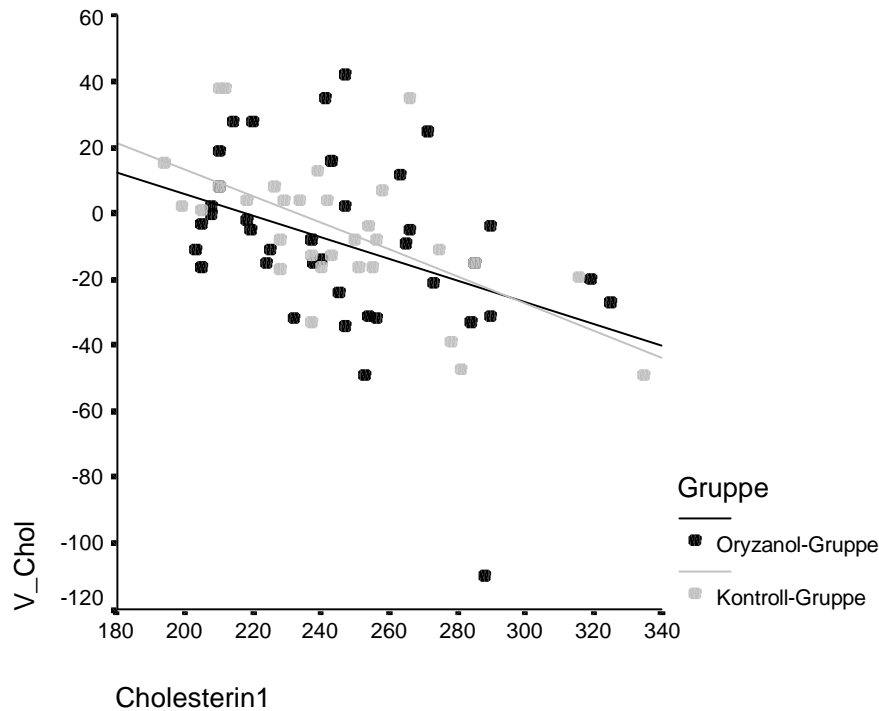


Abbildung 8 : Korrelationen und Mediane der Konzentrationsveränderungen (Endkonzentration - Ausgangskonzentration) von Gesamtcholesterin (V_Chol) zu LDL-Cholesterin (V_LDL). 0 bedeutet, dass es keine Veränderung des Cholesterins gab - bei positiven Werten stieg das Cholesterin und negative Werte bedeuten ein Absinken der Plasmakonzentration. Die Darstellung bezieht sich auf Werte von Probanden der Oryzanol- und Kontroll-Gruppe.

4.7.3 Ausgangswert Triglyceride – Differenz Gesamtcholesterin

Um die Ausgangskonzentrationen der Triglyceride (TG 1) als mögliche Einflussfaktoren auf die Konzentrationsveränderungen der Cholesterinwerte zu bewerten, wurden die Werte TG 1 mit den Werten V_Chol. (Differenz zwischen Cholesterin 2 – Cholesterin 1) korreliert. Die Korrelationen wurden für das gesamte Probandenkollektiv, die Oryzanol- und die Kontroll-Gruppe durchgeführt. Dabei haben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den korrelierten Werten gezeigt.

4.7.4 Lp(a) Konzentration – Ausgangswert bzw. Differenz Cholesterin

Es sollten sowohl die Zusammenhänge zwischen den Anfangs- und Endkonzentrationen des Lp(a) mit den Anfangs- und Endkonzentrationen des Gesamtcholesterins als auch der Differenz der Cholesterinwerte (V_Chol.) untersucht werden. Die Korrelationen wurden für das gesamte Probandenkollektiv, die Test- und die Kontroll-Gruppe durchgeführt. Bei

sämtlichen durchgeführten Berechnungen ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den Lp(a) Konzentrationen und den Cholesterinwerten und den Differenzen der Cholesterinwerte.

4.7.5 Korrelationen der Ausgangs- bzw. Endwert Gesamtcholesterin – Phytoplasmasterine

Um die Zusammenhänge zwischen dem Gesamtcholesterin und den Sterinen zu klären, wurden bei den Berechnungen jeweils die Anfangs- und Endwerte der Cholesterinkonzentrationen mit den Anfangs- und Endwerten der Sterolkonzentrationen im Plasma korreliert.

Die Berechnungen wurden jeweils für die Oryzanol- die Kontroll-Gruppe und das gesamte Studienkollektiv durchgeführt.

Für die Korrelationen ergaben sich zwischen den Anfangswerten (z.B. Cholesterin-Anfang korreliert mit Sitosterin-Anfang) keinerlei signifikante Zusammenhänge.

Zwischen den Anfangswerten der Gesamtcholesterinkonzentrationen und den Endwerten der Sterinkonzentrationen konnte in der Oryzanol-Gruppe für die Korrelation zwischen Stigmasterin-Ende und Cholesterin-Anfang mit $r = 0,33$ ein signifikanter Zusammenhang aufgezeigt werden.

Für die Berechnungen mit den Cholesterinanzfangs- und den Sterin-Endwerten ergaben sich im gesamten Probandenkollektiv und der Kontroll-Gruppe keine weiteren signifikanten Zusammenhänge.

Für die Korrelationen mit den jeweiligen Endwerten ergaben sich mehrere signifikante, teils hochsignifikante Zusammenhänge.

In der Oryzanol -Gruppe korrelierten die Werte von Cholesterin-Ende mit den Werten von Stigmasterol-Ende hochsignifikant mit $r = 0,45^{**}$.

In der Kontroll-Gruppe ergab sich ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen Cholesterin₂ und Squalen₂ mit einer Pearson-Korrelation von $r = 0,50^{**}$.

Bei den Berechnungen für das gesamte Probandenkollektiv ergaben sich signifikante Zusammenhänge für die Werte von Cholesterin₂ und Stigmasterol₂ mit $r = 0,26^*$, für die Werte von Cholesterin₂ und Campesterol₂ mit $r = 0,26^*$ und für die Werte von Cholesterin₂ und Squalen₂ mit $r = 0,30^*$.

4.7.6 Ausgangswert Phytoplasmasterine - Endwert Phytoplasmasterine

Die Korrelationen wurden für alle Probanden, die Oryzanol- und die Kontroll-Gruppe durchgeführt. Dabei hat es sich gezeigt, dass positive, hochsignifikante Korrelationen zwischen den Ausgangswerten der jeweiligen Sterine (z.B. Sitosterin 1) und den Endwerten dieser Sterine (Sitosterin 2) bestehen. Diese Zusammenhänge konnten sowohl in der Oryzanol-, und Kontroll-Gruppe als auch im kompletten Probandenkollektiv (nicht nach Gruppen getrennt) beobachtet werden.

In der Kontroll-Gruppe war lediglich die Korrelation zwischen den Werten Campesterin 1 und Campesterin 2 signifikant.

Wie in den Tabellen 18, 19 und 20 zu sehen ist, ergaben sich noch weitere Korrelationen unter den Sterinen.

Bei den Berechnungen für „alle Probanden“ erwies es sich, dass Sitosterin mit Campesterin und Brassicasterin korrelierte. Campesterin korrelierte zusätzlich mit Stigmasterin und Brassicasterin. Auch konnte zwischen Brassicasterin und Stigmasterin ein positiver Zusammenhang dargestellt werden.

Tabelle 18 Korrelationskoeffizienten (r) aus den Korrelationen der Ausgangswerte mit den Endwerten für alle Probanden, nicht nach Gruppen getrennt.

	Sitost. 2	Stigmast. 2	Campest. 2	Brassicast. 2	Squalen 2
Sitost. 1	0,94**	NS	0,62**	0,73**	NS
Stigmast. 1	NS	0,92**	NS	NS	NS
Campest. 1	0,73**	0,37**	0,65**	0,70**	NS
Brassicast. 1	0,85**	0,26*	0,65**	0,77**	NS
Squalen 1	NS	NS	NS	NS	0,63**

NS = Kein signifikanter Zusammenhang der Werte; * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0,01$

Die Oryzanol-Gruppe für sich betrachtet ergab zusätzlich zu den oben genannten Korrelationen noch folgende Zusammenhänge.

Es korrelierten die Anfangswerte von Squalen mit den Endwerten von Sitosterin, Stigmasterin und Brassicasterin. Zwischen den Anfangswerten von Brassicasterin und den Endwerten von Stigmasterin konnten hier keine Zusammenhänge festgestellt werden.

Tabelle 19 Korrelationskoeffizienten (r) aus den Korrelationen der Ausgangswerte mit den Endwerten der Phytosterine für die Probanden der Oryzanol-Gruppe

	Sitost. 2	Stigmast. 2	Campest. 2	Brassicast. 2	Squalen 2
Sitost. 1	0,98**	NS	0,83**	0,77**	NS
Stigmast. 1	NS	0,90**	NS	NS	NS
Campest. 1	0,81**	0,44**	0,91**	0,79**	NS
Brassicast. 1	0,87**	NS	0,77**	0,79**	NS
Squalen 1	0,36*	0,41*	NS	0,50**	0,60**

NS = Kein signifikanter Zusammenhang der Werte; * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0,01$

Bei den Berechnungen für die Kontroll-Gruppe konnten im Vergleich zur Oryzanol-Gruppe weniger Korrelationen zwischen den Anfangs und Endwerten festgestellt werden.

Tabelle 20 : Korrelationskoeffizienten (r) aus den Korrelationen der Ausgangswerte mit den Endwerten der Probanden aus der Kontroll-Gruppe

	Sitost. 2	Stigmast. 2	Campest. 2	Brassicast. 2	Squalen 2
Sitost. 1	0,92**	NS	NS	0,70**	NS
Stigmast. 1	NS	0,96**	NS	NS	NS
Campest. 1	0,72**	NS	0,43*	0,63**	NS
Brassicast. 1	0,82**	NS	0,50**	0,78**	NS
Squalen 1	NS	NS	NS	NS	0,69**

NS = Kein signifikanter Zusammenhang der Werte; * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0,01$

4.8 Auswertung des Fragebogens zum Studienende

Um Informationen über die Änderungen der Lebensgewohnheiten im Hinblick auf der Ernährung, Medikamentenkonsum und dem Auftreten neuer körperliche Beschwerden der Probanden im Zeitraum der Studie zu bekommen, wurde ihnen zum Studienende wiederum ein Fragebogen vorgelegt (s. „Fragen zum Studienende“ im Anhang).

4.8.1 Körperliche Beschwerden

Im Hinblick auf die körperlichen Beschwerden wurde im Einzelnen gefragt nach:

- Kopfschmerzen
- Übelkeit
- Erbrechen
- Blähungen
- Bauchschmerzen
- Durchfall
- Andere Beschwerden

Bis auf das Auftreten von Meteorismus konnten zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede im Auftreten der Beschwerden festgestellt werden. Über Meteorismus jedoch klagten neun Probanden der Oryzanol-Gruppe im Vergleich zu einer Person in der Kontroll-Gruppe. Dieser Unterschied war signifikant.

Bei der Frage nach „andere Beschwerden“ wurde in der Oryzanol-Gruppe von vier Probanden „Stuhl mit weicher Konsistenz“, von zwei Probanden „akute Gastroenteritis“, von drei Probanden „grippaler Infekt“ und von zwei Probanden „Obstipation mit grippalem Infekt“ angegeben.

In der Standard-Gruppe klagte eine Probandin über eine Gallenkolik und einen Hautausschlag, ein Proband nannte „Stuhl mit weicher Konsistenz“ und eine Probandin erwähnte, dass sie mit dem Rauchen aufgehört hatte.

4.8.2 Medikamentenkonsum während der Studie

Bei den Fragen zum Studienende mussten die Probanden auch die Fragen beantworten, ob sie im Verlauf der Studie ein Medikament neu eingenommen oder ein Medikament abgesetzt haben.

Während der Studie wurden von den Probanden an neuen Medikamenten diverse Grippemittel wie Acetylcystein, Acetylsalicylsäure, Paracetamol und Nasentropfen eingenommen. In der Oryzanol-Gruppe bekam ein Patient Finasterid (Prostatamittel), ein anderer ein Gichtmittel. In der Standard-Gruppe wurde einem Patienten ein Medikament gegen Sodbrennen verordnet.

Bei Probanden, die im Verlauf der Studie Medikamente absetzten, handelte es sich in der Oryzanol-Gruppe um eine Frau, bei der die Pille abgesetzt wurde und in der Standard-Gruppe

um eine Probandin, bei der ein Medikament mit Gelbkörperhormon nicht mehr weiter verordnet wurde.

4.8.3 Ernährungsgewohnheiten

Auf die Frage, ob es ihnen schwer gefallen ist, die Margarine zu essen, antworteten insgesamt 31 der Probanden mit ja und 38 mit nein. Auf die Gruppen verteilt ergab dies 22 Probanden (57,9%) in der Oryzanol-Gruppe, denen es schwer gefallen ist, die Margarine zu essen im Vergleich zu 9 Probanden (29,0%) in der Kontroll-Gruppe.

Die Ernährungsgewohnheiten änderten in beiden Gruppen gleich viele Probanden. In der Oryzanol-Gruppe waren es 10 Probanden (26,3%) und in der Kontroll-Gruppe auch 10 Probanden (32,3). Hierbei ergab sich kein signifikanter Unterschied.

Wir wollten von den Probanden wissen, welches Streichfett sie durch die Studienmargarine ersetzt hatten. Dazu fragten wir sie: „Haben Sie die Studienmargarine anstatt „Butter“, „Margarine“, oder zusätzlich gegessen?“

44 der Probanden haben die Studienmargarine als Ersatz für Butter gegessen, 26 Probanden ersetzten die Margarine die sie vorher gegessen hatten durch die Studiennahrung und 8 der Probanden konsumierten die Studienmargarine zusätzlich zu dem Streichfett, dass sie auch schon vorher gegessen hatten.

Es wurde im Fragebogen geklärt, mit welchen Lebensmittel die Studienmargarine von den Probanden kombiniert wurde.

Die Probanden konnten zwischen den Antwortmöglichkeiten:

- Brot
- Teigwaren
- Gemüse
- Andere Lebensmittel wählen.

Daraus ergab sich, dass 67 der Probanden die Studienmargarine mit Brot gegessen haben. 13 Probanden konsumierten die Margarine mit Teigwaren, und weitere 13 Probanden kombinierten die Studiennahrung mit Gemüse. 4 Probanden haben die Margarine mit anderen Lebensmitteln zu sich genommen.

5 Diskussion

Die Studie hat gezeigt, dass der Verzehr von 40gr. Diät-Margarine am Tag mit einem Zusatz von 4% Gamma-Oryzanol zu einer signifikanten Senkung des Gesamt- und des LDL-Cholesterins im Serum geführt hat. Bezüglich der Serumkonzentrationen des HDL-Cholesterins sowie der Triglyceride konnten keine wesentlichen Auswirkungen festgestellt werden. Mit der Verwendung von Gamma-Oryzanol als Nahrungsergänzungsmittel, wie es bereits in Japan und weiten Teilen Asiens geschieht, könnte dies eine Alternative zu den bisher verwendeten Stanolestern sein. Zudem konnten zahlreiche gesundheitsfördernde Effekte des Gamma-Oryzanol aufgezogen werden (Sugano et al. 1996; Sugano et al 1999; Cicero et al. 2001).

5.1 Klinische Daten des Probandenkollektivs

Um valide Aussagen über die Wirkungen von Oryzanol als Nahrungssupplement in Margarine machen zu können, war es wichtig, aus dem Probandenkollektiv, zwei identische Gruppen zu bilden, die später verglichen werden konnten. Wie die statistischen Auswertungen gezeigt haben, sind die nach dem Zufallsprinzip gebildeten Gruppen (Oryzanol- und Kontroll-Gruppe), bezüglich ihrer demographischen Daten und der zu Studienbeginn erhobenen Lipid-Parameter vergleichbar. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ergaben sich nicht. Auch die Ernährung war bei allen Probanden ausgewogen und die Ernährungsgewohnheiten in der Oryzanol- und der Kontroll-Gruppe sind vergleichbar.

Wie die Laboranalysen zeigten, hatten alle Probanden eine leichte Hypercholesterinämie mit Cholesterin-Werten von im Durchschnitt 245mg/dl. Ebenfalls war das LDL-Cholesterin, welches nach dem Studienprotokoll ≥ 130 mg/dl sein sollte, bei allen Probanden mit durchschnittlich 160mg/dl leicht erhöht.

Das durchschnittliche Alter in beiden Gruppen lag bei 45 Jahren in der Kontroll- und 46 Jahren in der Oryzanol-Gruppe. Der Body-Mass-Index der Probanden beider Gruppen lag im Mittel bei 24,5 kg/m². Demzufolge hatten die Probanden Normal- bis leichtes Übergewicht.

5.2 Parameter des Lipidstoffwechsel

In unserer Studie konnte eine durchschnittliche Verminderung des Serumcholesterins innerhalb der Kontroll-Gruppe um 5 mg/dl und innerhalb der Oryzanol-Gruppe um 9,5 mg/dl erreicht werden. Dabei können wir sagen, dass eine Verminderung der Serumkonzentration

des Gesamtcholesterins um 1,9% durch Gamma-Oryzanol erreicht wurde. Die Cholesterinveränderungen standen in direktem Zusammenhang mit den LDL-Veränderungen, wobei 2,7% Senkung der LDL-Konzentration dem Oryzanol zugeschrieben werden können. In Relation zu einer täglichen Aufnahme von 1,9 g Oryzanol ist dieser Wert eher gering.

Auf Grund vorangegangener Beobachtungen von Jones bezüglich der cholesterinsenkenden Wirkung von Phytosterinen, ist davon auszugehen, dass nach 4-wöchigem Verzehr von Sterinen, beinahe der maximale cholesterinsenkende Effekt der Phytosterindiät erreicht ist (Jones et al. 1997).

Ebenfalls wurde in Studien von Hallikeinen und Miettinen aus den Jahren 2000 und 1995 von einer LDL-Senkung um 6,1% nach 4 Wochen und um 9,8% (nach einem Jahr) berichtet, nachdem täglich 1,6g bzw. 1,8g Stanolester aufgenommen wurden (Hallikeinen et al. 2000; Miettinen et al. 1995).

Bezüglich der Wirksamkeit von Stanolen versus Sterine, die Cholesterinabsorption im Intestinaltrakt zu hemmen, gibt es unterschiedliche Studienergebnisse. Weststrate und Kollegen konnten nur geringe Unterschiede zwischen Sterinen und ihrer gesättigten Form, den Stanolen feststellen (Weststrate et al. 1998). In der Forschungsgruppe um Jones hingegen konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Phytosterolen und Phytostanolen festgestellt werden. Bei dieser Studie konnte die intestinale Aufnahme von Cholesterin mit Sterinen um 36,2% und mit Stanolen um 25,9% gesenkt werden (Jones et al. 2000).

Dabei ist die cholesterinsenkende Wirkung der Sterine dosisabhängig. Die größten Effekte konnten bei einer täglichen Sterinzufuhr zwischen 2 g und 3g beobachtet werden (Nguyen 1999).

Betrachten wir unsere Ergebnisse im Vergleich zu Untersuchungen von Hallikeinen, so könne wir feststellen, dass die Cholesterinsenkungen, die wir in unserer Studie beobachten konnten, vergleichbar sind mit der nicht signifikanten LDL-Cholesterinsenkung von 1,6% bei Probanden mit Hypercholesterinämie, die täglich 0,8 g Stanole zu sich genommen hatten (Hallikeinen et al. 2000). Ebenfalls konnte zwar in einer früheren Studie von Miettinen eine Senkung des LDL-Cholesterins mit nur 1 g Sitostanol pro Tag erreicht werden, jedoch waren die beobachteten Effekte zum Teil unterschiedlich und widersprüchlich (Miettinen et al. 1994b).

5.2.1 VLDL Cholesterin - Plasma-Triglyceride – Lipoprotein Lp(a)

Was die Auswirkungen von Phytosterinen auf die Konzentrationen der Triglyceride anbelangt, so gibt es unterschiedliche Studienergebnisse, wobei sich zum Teil Erhöhungen

und wiederum auch Senkungen der Triglyceridkonzentrationen zeigten (Jones et al. 1997). In unserer Studie konnten wir keine Einflüsse der Phytosterine auf das VLDL Cholesterin und die Plasma-Triglyceride feststellen (siehe dazu Tabelle 8). Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit denen von Heinemann aus dem Jahre 1986 (Heinemann et al. 1986). Bei den Triglyceriden konnten wir zwar große Schwankungen innerhalb der Gruppen beobachten, die jedoch aufgrund eines großen Standardfehlers nicht zu signifikanten Unterschieden zwischen Studienanfang und Studienende führten. Auch Unterschiede zwischen der Oryzanol- und der Kontroll-Gruppe konnten nicht nachgewiesen werden. Bei den Konzentrationen des Lp(a) konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen Studienanfang und Ende festgestellt werden.

5.2.2 Quotient aus LDL-Cholesterin/HDL-Cholesterin

Durch die geringen Auswirkungen auf das HDL-Cholesterin und das gleichzeitige Absinken des LDL-Cholesterins, konnte ein positiver Effekt festgestellt werden, indem der LDL/HDL-Quotient sich verringerte. Im Schnitt lag das Verhältnis von LDL-Cholesterin zu HDL-Cholesterin bei beiden Gruppen zu Studienende bei 2,8 im Gegensatz zu einem LDL/HDL-Quotienten zu Studienbeginn von 2,9.

Diese Veränderung im Studienverlauf ist allerdings nur bei der Oryzanol-Gruppe aufgrund des geringeren Standardfehlers signifikant. Was vor allem an den Frauen in dieser Gruppe liegt. Bei den Männern der Oryzanol-Gruppe weist die Veränderung des Quotienten einen entgegengesetzten Trend gegenüber dem der Frauen auf, der aber nicht signifikant ist.

5.2.3 Korrelation zwischen dem Ausgangswert des Gesamtcholesterin und dessen Veränderung im Studienverlauf

Aus unseren Analysen lässt sich schließen, dass bei Personen mit hohen Cholesterin-Ausgangswerten (Cholesterin 1) eine größere Abnahme der Cholesterinkonzentrationen zu erwarten ist, als bei Personen mit niedrigeren Anfangswerten. Dies deckt sich mit den Beobachtungen von Gylling und Jones, wonach der cholesterinsenkende Effekt der Phytosterine umso größer ist, je höher der Ausgangskonzentration des Gesamtcholesterin ist. Es wird diskutiert, dass Personen mit einem hohen Gesamtcholesterin über eine höhere intestinale Cholesterinabsorption verfügen (Gylling et al. 1999b; Jones et al. 2000).

5.2.4 Korrelation zwischen dem Absinken des Gesamtcholesterins und dem Absinken des LDL-Cholesterins

Bei den durchgeführten Korrelationen zwischen den Veränderungen der Konzentrationen des Gesamtcholesterins und des LDL-Cholesterins, zeigten sich in sämtlichen Berechnungen (das gesamte Probandenkollektiv, Oryzanol-Gruppe, Kontroll-Gruppe) wie erwartet hochsignifikant positive Zusammenhänge (Abbildung 8). Diese Ergebnisse lassen sich dadurch erklären, dass das Gesamtcholesterin zum Großteil aus LDL-Cholesterin besteht (Herold et al. 1999). Deshalb ist mit einem Absinken des LDL-Cholesterins in der Regel auch ein Absinken des Gesamtcholesterins verbunden.

Die Konzentrationen des HDL-Cholesterins wurden durch unsere Studiennahrung nicht wesentlich beeinflusst. Eine Ausnahme bildeten die Frauen in der Oryzanol-Gruppe, bei denen das HDL-Cholesterin um $3,5 \pm 1,8$ mg/dl angestiegen ist, während hingegen im Vergleich dazu das HDL-Cholesterin bei den Frauen der Standard-Gruppe um $-2,9 \pm 1,9$ mg/dl gesunken ist. Dieser Unterschied ist signifikant zwischen den Gruppen.

Bei der Korrelation der Ausgangswerte von Triglyceriden mit den Veränderungen der Cholesterinwerte ergab sich kein signifikantes Ergebnis. Man kann daraus folgern, dass die Anfangswerte der Triglyceride in dieser Studie keinen nennenswerten Einfluss auf die Konzentrationsveränderung der Cholesterinwerte genommen haben. Dies gilt sowohl für die Oryzanol- und für die Kontroll-Gruppe als auch für die gesamte Studienpopulation.

5.3 Fettlösliche Vitamine und antioxidative Kapazität

Es bestand die Überlegung, dass durch die, in der Margarine enthaltenen, Phytosterine auch die fettlöslichen Vitamine vermindert resorbiert werden könnten, wodurch deren Plasmakonzentrationen sinken würden (Plat et al. 2000a).

Von Gylling et al. wurde beschrieben (Gylling et al. 1999a), dass es unter dem Konsum von Margarine mit Sitostanolestern zu einer verminderten Resorption von α - und β -Carotin jedoch nicht zu einer Verminderung der Retinol und α Tocopherol-Konzentrationen gekommen ist. Von Relas et al. wurde ebenfalls beschrieben (Relas et al. 2001), dass die Absorption von α -Tocopherol und Retinol durch die Stanolester nicht beeinflusst wird, jedoch zeigte sich im Vergleich zur Studie von Gylling et al., bei Relas keine Veränderung der β -Carotin-Konzentrationen.

Wir konnten bei den von uns gemessenen Werten weder in der Oryzanol- noch in der Kontroll-Gruppe signifikante Konzentrationsunterschiede von α -Tocopherol, α -Carotin, und β -Carotin zwischen Studienanfang und Studienende feststellen. Dabei entsprechen die von uns gemessenen Konzentrationen der Norm, die bei Erwachsenen mit ausgewogener Ernährung üblich ist (Hallfrisch et al. 1994). Als Schlussfolgerung kann folglich gesagt werden, dass unter der Gabe von Phytosterinen in unserer Studie die Bioverfügbarkeit von Vitamin A nicht herabgesetzt wurde. Viel mehr kam es im Verlauf der Studie bei den Vitamin-A Konzentrationen sogar zu einem leichten Anstieg der Plasmakonzentrationen in beiden Gruppen, was sich aber am ehesten auf die Vitamin-A-Zusätze der Studienmargarine zurückführen lässt.

Bezüglich der antioxidativen Kapazität kam es innerhalb der Oryzanol-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration. Dies könnte möglicherweise durch die antioxidative Kapazität der absorbierten Ferulasäure bedingt sein. Die antioxidative Kapazität der Ferulasäure, die von Graf et al beschrieben wird, bedeutet einen weiteren positiven Effekt des γ -Oryzanol (Graf 1992). Mittlerweile ist es bekannt, dass oxidativer Stress eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von Atherosklerose und somit auch von Herz-Kreislaufkrankungen spielt. Dementsprechend ist die Aufnahme von Antioxidantien mit der täglichen Nahrung von zunehmender Wichtigkeit (Keli 1996; Finotti et al. 2000). Der Antioxidative Effekt von Polyphenolen, wie sie zum Beispiel in Rotwein oder auch in Fruchtsäften vorkommen, wird von Morton beschrieben (Morton 2000).

5.4 Sterole

Nachdem das von uns angewendete Oryzanol pro Tag 0,7 g Sitosterin und Campesterin und 1,2 g Cycloartenol und 24-Methylcycloartenol lieferte, decken sich unsere Beobachtungen mit denen von Vissers und Weststrate, wonach 4-4Dimethylsterine eine deutlich geringere cholesterinsenkende Wirkung haben als 4-Desmethylsterine (Vissers et al. 2000). Bei Ratten, die mit Cycloartenol gefüttert wurden, konnte kein signifikanter Einfluss auf die Plasmacholesterinwerte beobachtet werden (Ikeda et al. 1985). Scheinbar hängt die Hemmung der Cholesterinabsorption im Darm von der Struktur-Ähnlichkeit des Sterins zum Cholesterinmolekül ab (Armstrong et al. 1987) und von der verminderten Absorbierbarkeit dieses Sterins ab (Heinemann et al. 1993; Kritchevsky 1997).

Unter der Gabe von Stanolen konnte bereits von Gylling et al. ein Anstieg der endogenen Cholesterinsynthese festgestellt werden (Gylling et al. 1999). Jones et al. konnte in seiner

Studie beobachten, dass es unter der Gabe von Phytosterolen zu einem Anstieg der körpereigenen Cholesterinsynthese um 37,8% und unter der Gabe von Phytosterinen um 53,3% gekommen war (Jones et al. 2000). Durch diese kompensatorische Erhöhung der Cholesterinsynthese könnte es zu einer Minderung der Wirksamkeit der Phytosterine kommen.

Von Matthan konnte der Zusammenhang zwischen Squalen und Desmosterin als Vorstufen der endogenen Cholesterinsynthese erbracht werden (Matthan et al. 2000). Wir versuchten durch die quantitative Bestimmungen der Serumkonzentrationen von Squalen und Desmosterin, die Auswirkungen unserer Studiennahrung auf die Cholesterinsynthese abzuschätzen.

Obwohl wir tendenziell einen Anstieg der Squalen-Konzentrationen in der Oryzanol-Gruppe feststellen konnten, zeigten sich bei den Desmosterin-Konzentrationen keine Veränderungen. Da Desmosterin ein direkter metabolischer Vorläufer des Oryzanolis ist, erscheint es untypisch, dass eine erhöhte endogene Synthese größtenteils den Effekt von Phytosterinen auf die Cholesterinabsorption kompensiert.

Bei der Bestimmung der Konzentrationen der einzelnen Sterine im Plasma der Probanden zeigten sich bei den Teilnehmern der Oryzanol-Gruppe geringe jedoch signifikante Erhöhung der Konzentrationen für Campesterin und Stigmasterin. Diese Beobachtung decken sich zum Teil mit anderen Studien, jedoch nicht mit allen (Miettinen et al. 1994a; Tilvis 1986; Vanhanen et al. 1992). Die von uns bestimmten Anfangswerte der Sterine waren mit denen von vorangegangenen Studien vergleichbar, jedoch waren die Mittelwerte höher (Miettinen et al. 1990). Die Mittelwerte waren am ehesten mit den Werten von Hallikainen vergleichbar (Hallikainen et al. 2000).

Zwischen den Anfangs- und Endwerten der Phytosterine in der Oryzanol-Gruppe, gab es bei den gerechneten Korrelationen einen hochsignifikant positiv ($r=0,51$) Zusammenhang. Dies spricht für eine individuelle Absorptionskapazität für die Phytosterine, wie sie auch von Jones diskutiert wird (Jones et al. 2000).

Als Folge des Absinkens der Cholesterinkonzentration und dem Anstieg der Konzentrationen der Pflanzensterine kam es innerhalb der Oryzanol-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg der Campesterin/Cholesterin- und der Sitosterin/Cholesterin-Quotienten.

Obwohl keine Werte über die Menge an 4-4Dimethylsterine, welche über die Grundnahrungsmittel aufgenommen werden, zur Verfügung standen, weist doch der Anstieg im Verlauf der Studie auf eine Absorption dieser Stoffe hin und könnte somit erklären, warum die Cholesterinabsorption nicht stärker gehemmt wurde.

5.5 Transaminasen

In der Studie von Hendriks und Mitarbeiter kamen unter dem Konsum von Phytosterinen nicht zu einer Erhöhung der Lebertransaminasen über den Normalbereich hinaus (Hendriks et al. 1999).

Auch in unserer Studie zeigte sich bei der Bestimmung der Transaminasen AST, ALT und GGT in der Oryzanol-Gruppe keine wesentliche Erhöhung der Konzentrationen zwischen Studienanfang und Ende.

Alaninaminotransferase: Frauen: $11,4 \pm 0,5$ zu $13,9 \pm 0,9$ U/ml ; Männer: $20,5 \pm 5,5$ zu $19,4 \pm 4,6$ U/ml ; die Werte beziehen sich auf Studienanfang zu Ende.

Aspartataminotransferase: Frauen: $9,4 \pm 0,5$ zu $11 \pm 0,7$ U/ml ; Männer: $12,6 \pm 2,8$ zu $10,7 \pm 1,5$; die Werte beziehen sich auf Studienanfang und Ende.

Trotz der ansteigenden Tendenz der Transaminasen ALT und AST bei den Frauen der Oryzanol-Gruppe, blieben die Werte im Normalbereich (Dormann et al. 1997).

Bei der Kontroll-Gruppe konnten ebenfalls keine Veränderungen der Transaminasen festgestellt werden.

5.6 Körperliche Beschwerden der Probanden

Es konnten keine schwerwiegenden körperlichen Beschwerden bei den Probanden festgestellt werden, die sich durch das Oryzanol erklären lassen würden. Zum Teil waren Beschwerden durch grippale Infekte bedingt, die aber innerhalb von zwei Tagen wieder abgeklungen waren. Zwei Probanden, die im selben Haushalt leben, hatten für einen Tag eine akute Gastroenteritis mit Diarrhö. Hier liegt die Vermutung nahe, dass beide verdorbene Lebensmittel zu sich genommen hatten. Es zeigte sich jedoch, dass in der Oryzanol-Gruppe vermehrt Meteorismus und Stuhl mit weicherer Konsistenz auftraten. Bei einem Beta-Sitosterin-haltigen Medikament sind gastroenterologische Beschwerden mit Meteorismen und Diarrhö als Nebenwirkungen bereits bekannt (Schönhöfer et al. 1997).

Eine Probandin in der Kontroll-Gruppe klagte über eine Gallenkolik. Bei ihr war jedoch bei den Vorerkrankungen eine Cholezystolithiasis bekannt, die damals auch operiert wurde. Möglicherweise hat sich bei der Patientin wieder ein Gallenstein gebildet, der symptomatisch wurde. Da die Probandin jedoch in der Kontroll-Gruppe befand, lässt sich auch hier kein Zusammenhang zum Oryzanol feststellen.

5.7 Zusammenfassung

In der durchgeführten Studie sollten über einen Zeitraum von 4 Wochen die Auswirkungen des täglichen Verzehrs einer mit 1,6 Gramm Gamma-Oryzanol angereicherten pflanzlichen Margarine auf den Lipidstoffwechsel, die antioxidative Kapazität sowie Effekte auf die Konzentrationen der fettlöslichen Vitamine untersucht werden. Um die Unbedenklichkeit des Verzehrs von Gamma-Oryzanol zu belegen, wurden die Konzentrationen der Transaminasen sowie der Gamma-GT bestimmt. Zudem wurde die Konzentration der Phytosterine im Blut gemessen.

Die Studie war als eine doppelt blind randomisierte Parallelstudie angelegt, wobei die Rekrutierung der Probanden durch Aushänge in verschiedenen Kliniken und durch eine Zeitungsanzeige erfolgte. Insgesamt wurden 150 Personen vorab telefonisch zu den Einschlusskriterien wie Erkrankungen, Medikamente und Lebensgewohnheiten befragt. Bei 120 Probanden wurde anschließend ein Cholesterin-Schnelltest durchgeführt. Insgesamt erfüllten 71 Probanden die Einschlusskriterien, zu denen unter anderem eine Konzentration des Plasmacholesterin $\geq 200\text{mg/dl}$ zählte, wobei die Konzentration des LDL-Cholesterins nicht unter 130mg/dl sein durfte. Es wurden nach dem Zufallsprinzip zwei Gruppen gebildet, die bezüglich ihrer demographischen Daten sowie der zu Studienbeginn erhobenen Lipid-Parameter vergleichbar waren. Insgesamt schlossen 69 Probanden protokollgerecht die Studie ab, davon befanden sich 38 Probanden in der Oryzanol-Gruppe und 31 in der Kontrollgruppe. Bei der Kontrolle der Blutfette zu Studienende konnte sowohl in der Oryzanol-Gruppe als auch in der Kontroll-Gruppe ein Rückgang der Blutfette verzeichnet werden. Jedoch nur in der Oryzanol-Gruppe konnte ein signifikanter Rückgang des Gesamtcholesterins um $9,5\text{ mg/dl}$ ($p = 0,04$) und eine Senkung des LDL-Cholesterins um $10,3\text{ mg/dl}$ ($p \leq 0,01$) festgestellt werden. Die Konzentrationen des HDL-Cholesterins wurden durch unsere Studiennahrung nicht wesentlich beeinflusst. Ebenfalls konnten wir keine Auswirkungen auf die weiteren Serumlipide wie VLDL, Triglyceride und Lp(a) feststellen. Bei der Auswertung und Bestimmung der fettlöslichen Vitamine Retinol, α -Tocopherol, α -Carotin und β -Carotin konnten ebenfalls keine wesentlichen Veränderungen der Konzentrationen festgestellt werden, die sich auf den Zusatz von Gamma-Oryzanol zur Studienmargarine zurückführen ließen.

Bei der Messung der antioxidativen Kapazität konnte allgemein ein signifikanter Anstieg in der Oryzanol-Gruppe um $24,4\text{ }\mu\text{mol/l}$ festgestellt werden. In der Kontroll-Gruppe wurde ein tendenzieller, jedoch nicht signifikanter Anstieg der antioxidativen Kapazität festgestellt.

Bei den Plasmakonzentrationen der Sterole zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen. So konnten in der Oryzanol-Gruppe sowohl für die Konzentration von Campesterin und Stigmasterin signifikante Anstiege verzeichnet werden. Beim Brassicasterin konnte ein Absinken der Plasmakonzentration beobachtet werden. In der Kontroll-Gruppe konnten bezüglich der Sterine keine signifikanten Veränderungen zwischen Studienanfang und Ende festgestellt werden.

Die im Plasma gemessenen Konzentrationen der Transaminasen waren sowohl zu Studienbeginn, als auch zu Studienende in beiden Gruppen immer im Referenzbereich.

5.8 Fazit

Aufgrund der verwendeten Diätmargarine und den zu 70% darin enthaltenen einfach und mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die ebenfalls einen cholesterinsenkenden Effekt haben, kam es allgemein zu einer Senkung der Cholesterinwerte. Somit lässt sich auch erklären, warum es ebenfalls in der Kontroll-Gruppe zu einem Absinken des LDL-Cholesterins gekommen ist. Im Rahmen der Studie könnte eine verminderte Wirksamkeit der Phytosterine dadurch bedingt sein, dass mit der Nahrung insgesamt weniger Cholesterin als gewöhnlich zugeführt wurde und somit auch weniger Cholesterin an der Aufnahme gehindert werden konnte. Dies würde den Beobachtungen von Denke entsprechen (Denke 1995).

Nachdem die Korrelationen zwischen den Ausgangswerten der Cholesterinkonzentrationen und den Veränderungen der Cholesterinkonzentrationen in der Oryzanol-Gruppe nicht so stark ausgeprägt sind wie in der Kontroll-Gruppe, weist dies auf einen Mechanismus hin, der unabhängig von den Ausgangswerten ist und stimmt überein mit der beschriebene Effektivität der Stanol-Supplementation bei Probanden mit normalen oder auch leicht erhöhten Cholesterinwerten (Jones et al. 1998; Plat et al. 2000b; Weststrate et al. 1998).

Obwohl der cholesterinsenkende Effekt der mit Gamma-Oryzanol angereicherten Margarine deutlich geringer ist als bei der bereits im Handel befindlichen Margarine mit Sitostanol (becel pro activ), kann als Schlussfolgerung gesagt werden, dass Gamma-Oryzanol als Nahrungsergänzungsmittel ebenfalls dazu beitragen kann, erhöhte Cholesterin- und LDL-Cholesterinwerte zu senken.

6 Literaturverzeichnis

- (1) Arai S. Functional food science in Japan: State of the art. *BioFactors*. 2000;12:13-16.
- (2) Armstrong MJ, Carey MC. Thermodynamic and molecular determinants of sterol solubilities in bile salt micelles. *J Lipid Res*. 1987;28:1144-55.
- (3) Baltes. Lipoide. *Lebensmittelchemie*. 2000: 58-63.
- (4) Berger K, Schulte H, Stögbauer F, Assmann G. Incidence and Risk Factors for Stroke in an Occupational Cohort - The PROCAM Study. *Stroke*. 1998;29:1562-66.
- (5) Best MM, Duncan ChH, van Loon EJ, Wathen JD. Lowering of serum cholesterol by the administration of a plant sterol. *Circulation*. 1954;10:201-6.
- (6) Cicero A.F.G., Gaddi A. Rice Bran Oil and gamma-Oryzanol in the Treatment of Hyperlipoproteinaemias and Other Conditions. *Phytotherapy Reseach*. 2001;15:277-89.
- (7) de Deckere EAM, Korver O. Minor Constituents of Rice Bran Oil as Functional Foods. *Nutr Rev*. 1996;54:120-126.
- (8) Denke MA. Lack of efficacy of low-dose sitostanol therapy as an adjunct to a cholesterol-lowering diet in men with moderate hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr*. 1994;61:392-96.
- (9) Dormann A, Wege T. *Laborwerte*. 1997.
- (10) Finotti E, D'Ambrosio M, Paoletti F, Vivanti V, Quaglia G. Synergistic effects of alpha-tocopherol, beta-sitosterol and squalene on antioxidant activity assayed by crocin bleaching method. *Nahrung*. 2000;44.
- (11) Gerhardt AL, Gallo NB. Full-Fat Bran and Oat Bran Similarly Reduce Hypercholesterolemia in Humans. *J Nutr*. 1998;128:865-69.
- (12) Graf E. Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Radical Biol Med*. 1992;13:435-48.

-
- (13) Gylling H, Radhakrishnan R, Miettinen TA. Reduction of Serum Cholesterol in Postmenopausal Women with previous Myocardial Infarction and Cholesterol Malabsorption Induced by Dietary Sitostanol Ester Margarine - Women and Dietary Sitostanol. *Circulation*. 1997;96:4226-31.
 - (14) Gylling H, Puska P, Vartiainen E, Miettinen TA. Retinol, vitamin D, carotenes and alpha-tocopherol in serum of moderately hypercholesterolemic population consuming sitostanol ester margarine. *Atherosclerosis*. 1999a;145:279-85.
 - (15) Gylling H, Pusta P, Vartiainen E, Miettinen TA. Serum sterols during stanol ester feeding in a mildly hypercholesterolemic population. *J Lipid Res*. 1999;40:593-600.
 - (16) Gylling H, Miettinen TA. Cholesterol reduction by different plant stanol mixtures and with variable fat intake. *Metabolism*. 1999;48:575-80.
 - (17) Hahn JM. Stoffwechselerkrankungen. *Innere Medizin*. 1997: 469-70.
 - (18) Hallfrisch J, Muller DC, Singh VN. Vitamin A and E intakes and plasma concentrations of retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol in men and women of the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Am.J.Clin.Nutr*. 1994 Aug;176-82.
 - (19) Hallikainen MA, Uusitupa MIJ. Effects of 2 low-fat stanol ester-containing margarines on serum cholesterol concentrations as part of low-fat diet in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr*. 1999;69:403-10.
 - (20) Hallikainen MA, Sarkkinen ES, Uusitupa MIJ. Plant Stanol Esters Affect Serum Cholesterol Concentrations of Hypercholesterolemic Men and Women in a Dose-Dependent Manner. *J Nutr*. 2000;130:767-76.
 - (21) Heinemann T, Leiss O, von Bergmann K. Effect of low-dose sitostanol on serum cholesterol in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 1986;61:219-23.
 - (22) Heinemann, T., Kullak-Ublick, GA., Pietruck, B., and von Bergmann, K. Mechanisms of action of plant sterols on inhibition of cholesterol absorption. Comparison of sitosterol and sitostanol. *Eur J Clin Pharmacol* 40 Suppl(1), S59-63. 1991.
 - (23) Heinemann, T., Axtmann, G., and von Bergmann, K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest* 23(12), 827-831. 1993.

-
- (24) Hendriks H, Weststrate JA, van Vliet T, Meijer GW. Spread enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1999;53:319-27.
- (25) Herold G, et al. Stoffwechselkrankheiten. *Innere Medizin*. 1999: 556-66.
- (26) Howell, W. H., McNamara, D. J., Toska, M. A., Smith, B. T., and Gaines, J. A. Plasma lipid and lipoprotein responses to dietary fat and cholesterol: a meta-analysis. *Am.J.Clin.Nutr.* 65, 1747-1764. 1997.
- (27) Ikeda I, Nakashima-Yoshida K, Sugano M. Effects of cycloartenol on absorption and serum levels of cholesterol in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1985;31:375-84.
- (28) Ikeda I, Tanaka K, Sugano M, Vahouny V, Gallo LL. Inhibition of cholesterol absorption in rats by plant sterols. *Journal of Lipid Research*. 1988;29:1573-82.
- (29) Ikeda I, Sugano M. Inhibition of cholesterol absorption by plant sterols for mass intervention. *Current Opinion in Lipidology*. 1998;9:527-31.
- (30) Jariwalla RJ. Rice-Bran Products: Phytonutrients with potential applications in preventive and clinical Medicine. *Drugs Exptl Clin Res*. 2001;XXVII:17-26.
- (31) Jones PJ, Howell T, MacDougall DE, Feng JY, Parsons W. Short-term administration of tall oil phytosterols improves plasma lipid profiles in subjects with different cholesterol levels. *Metabolism*. 1998 Jun:751-56.
- (32) Jones PJ, Ntanos F, Raeini-Sarjaz M, Vanstone CA. Cholesterol-lowering efficacy of a sitostanol-containing phytosterol mixture with a prudent diet in hyperlipidemic men. *Clinical Nutrition*. 1999 Jun:1144-50.
- (33) Jones PJ, Raeini-Sarjaz M, Ntanos F, Vanstone CA, Feng JY, Parsons W. Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterols versus phytostanol esters. *Journal of Lipid Research*. 2000:697-705.
- (34) Jones PJH, MacDougall DE, Ntanos F, Vanstone CA. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Can J Physiol Pharmacol*. 1997;75:217-27.

-
- (35) Kannel WB, Castelli WP, Gordon T. Cholesterol in the Prediction of Atherosclerotic Disease - New Perspectives on the Framingham Study. *Annals of internal Medicine*. 1979;90:85-91.
- (36) Karow T, Lang R. Herz-Kreislauf. Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 1998: 190-194.
- (37) Keli SO, Hertog MG, Feskens EJ, Kromhout D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke: the Zutphen study. *Arch Intern Med*. 1996 Mar;637-42.
- (38) Koletzko B, Herzog M. Hyperlipidämien im Kindesalter: Diagnostik und Therapie. *Schweiz Med Wochenschr*. 1998;128:477-85.
- (39) Kritchevsky D. Phytosterols. In: Kritchevsky, Bonfield, eds. *Dietary Fiber in Health and Disease*. New York: Plenum Press; 1997: 235-43.
- (40) Kudchordkar BJ, Sodhi HS, Horlick L. Absorption of Dietary Cholesterol in Man. *Metabolism*. 1973;22:155-63.
- (41) Latscha, Klein. Steroide. *Organische Chemie*. 1997: 480-483.
- (42) Law M. Plant sterol and stanol margarines and health. *B M J*. 2000;320:861-64.
- (43) Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease. *B M J*. 1994;308:367-72.
- (44) Law MR, Wald NJ, Wu T, Hackshaw A, Baily A. Systematic underestimation of association between serum cholesterol concentration and ischaemic heart disease in observational studies: data from the BUPA study. *B M J*. 1994;308:363-66.
- (45) Lees, AM., Mok, HY., McCluskey, MA., and Grundy, SM. Plant sterols as cholesterol-lowering agents: clinical trials in patients with hypercholesterolemia and studies of sterol balances. *Atherosclerosis* 28(3), 325-338. 1977.
- (46) Lichtenstein AH, Ausman LM, Carrasco W, Gualtieri LJ, Jenner JL, Ordovas JM et al. Rice Bran Oil Consumption and Plasma Lipid Levels in Moderately Hypercholesterolemic Humans. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:549-56.

-
- (47) Lichtenstein AH, Deckelbaum RJ. Stanol/Sterol Ester-Containing Foods and Blood Cholesterol Levels. *Circulation*. 2001;103:1177-79.
- (48) Ling, WH. and Jones, P. J. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sci* 57(3), 195-206. 1995.
- (49) Löffler G, Weiss L. Intermediärstoffwechsel III : Lipide. *Physiologische Chemie*. 1988: 431-41.
- (50) Lütjohann D, von Bergmann K. Phytosterolaemia: Diagnosis, Characterization and Therapeutical Approaches. *Ann Med*. 1997;29:181-84.
- (51) Matthan NR, Raeini-Sarjaz M, Lichtenstein AH, Ausman LM, Jones PJH. Deuterium uptake and plasma cholesterol precursor levels correspond as methods for measurement of endogenous cholesterol synthesis in hypercholesterolemic women. *Lipids*. 2000;35:1037-44.
- (52) Mattson, FH., Grundy, SM., and Crouse, JR. Optimizing the effect of plant sterols on cholesterol absorption in man. *Am.J.Clin.Nutr.* 35(4), 697-700. 1982.
- (53) Mensink GBM, Thamm M, Haas K. Die Ernährung in Deutschland 1998. *Gesundheitswesen* 61(1999) Sonderheft 2. 1999;2:S200-S206.
- (54) Mensink, R. P. and Katan, M. B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A metaanalysis of 27 trials. *Arterioscler.Thromb.* 12, 911-919. 1992.
- (55) Miettinen TA, Tilvis RS, Kesaniemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol*. 1990 Jan:20-31.
- (56) Miettinen TA, Vanhanen H. Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis*. 1994;105:217-26.
- (57) Miettinen TA, Vanhanen H. Serum concentration and metabolism of cholesterol during rapeseed oil and squalene feeding. *Am.J.Clin.Nutr.* 1994 Feb:356-63.

-
- (58) Miettinen TA, Puska P, Gylling H, Vanhanen H, Vartiainen E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Eng J Med.* 1995;333:1308-12.
- (59) Miettinen TA, Strandberg TE, Gylling H. Noncholesterol sterols and cholesterol lowering by long-term simvastatin treatment in coronary patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:1340-1346.
- (60) Moghadasian MH, McManus BM, Pritchard PH, Frolich JJ. "Tall Oil"-Derived Phytosterols Reduce Atherosclerosis an ApoE-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:119-26.
- (61) Morton LW, Abu-Amsha Caccetta R, Puddey IB, Croft KD. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Pchysiol.* 2000 Mar:152-59.
- (62) Mullen BJ, Krantzler NJ, Grivetti LE, Schutz HG, Meiselman HL. Validity of a food frequency questionnaire for the determination of individual food intake. *Am J Clin Nutr.* 1984;39:136-43.
- (63) Murabito JM, D'Agostino RB, Silbershatz H, Wilson PWF. Intermittent Claudication - A Risk Profile From The Framingham Heart Study. *Circulation.* 1997;96:44-49.
- (64) Nguyen TuT. The Cholesterol-Lowering Action of Plant Stanol Esters. *J Nutr.* 1999;129:2109-12.
- (65) Nicolosi RJ, Ausman LM, Hegsted DM. Rice bran oil lowers serum total and low density lipoprotein cholesterol and apo B levels in nonhuman primates. *Atherosclerosis.* 1991;88:133-42.
- (66) Normén, L., Dutta, P., Lia, A., and Andersson, H. Soy sterol esters and beta-sitostanol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel. *Am.J.Clin.Nutr.* 71, 908-913. 2000.
- (67) Norton RA. Quantitation of steryl ferulate and p-coumarate esters from corn and rice. *Lipids.* 1995;30:269-74.
- (68) Osawa T. Protective role of rice polyphenols in oxidative stress. *Anticancer Res.* 1999;19:3645-50.

-
- (69) Plat J, Kerckhoffs DMR. Therapeutic potential of plant sterols and stanols. *Current Opinion in Lipidology*. 2000 Dec:571-76.
- (70) Plat J, Mensink RP. Vegetable oil based versus wood based stanol ester mixtures effects on serum lipids and hemostatic factors in non-hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis*. 2000 Jan:101-12.
- (71) Pollak OJ. Successful Prevention of Experimental Hypercholesteremia and Cholesterol Atherosclerosis in the Rabbit. *Circulation*. 1953;VII:696-701.
- (72) Pollak OJ. Reduction of Blood Cholesterol in Man. *Circulation*. 1953;VII:702-6.
- (73) Relas H, Gylling H, Miettinen TA. Acute effect of dietary stanyl ester dose on post-absorptive alpha-tocopherol, beta-carotene, retinol and retinyl palmitate concentrations. *British Journal of Nutrition*. 2001;85:141-47.
- (74) Riede UN, Ihling Ch, Schaefer HE. Arterien. *Allgemeine und spezielle Pathologie*. 1993: 436-60.
- (75) Rong N, Ausman LM, Nicolosi RJ. Oryzanol Decreases Cholesterol Absorption and Aortic Fatty Streaks in Hamsters. *Lipids*. 1997;32:303-9.
- (76) Rukmini C, Raghuram TC. Nutritional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil. *J Am Coll Nutr*. 1991;10:593-601.
- (77) Sailer, Wasner. *Differentialdiagnose pocket*. Börm Bruckmeier Verlag; 1999.
- (78) Scharma, RD. and Rukmini, C. Rice bran oil and hypocholesterolemia in rats. *Lipids* 21(11), 715-717. 1986.
- (79) Schothorst RC, Jekel AA. Oral sterol intake in The Netherlands: evaluation of the results obtained by GC analysis of duplicate 24-h diet samples collected in 1994. *Food Chemistry*. 1999:561-66.
- (80) Schönhöfer PS, Füllgraff G. Arteriosklerose und Durchblutungsstörungen. In: Füllgraff G, Palm D, eds. *Pharmakotherapie - Klinische Pharmakologie*. 10 ed. 1997: 289-94.
- (81) Schulte H, von Eckardstein A, Cullen P, Assmann G. Übergewicht und kardiovaskuläres Risiko. *Herz*. 2001;26:170-177.

-
- (82) Sharma, RD. and Rukmini, C. Rice bran oil and hypocholesterolemia in rats. *Lipids* 21(11), 715-717. 1986.
- (83) Sierksma A, Weststrate JA, Meijer GW. Spreads enriched with plant sterols, either esterified 4,4-dimethylsterols or free 4-desmethylsterols, and plasma total- and LDL-cholesterol concentrations. *British Journal of Nutrition*. 1999;82:273-82.
- (84) Silbernagl S. Stoffwechsel. In: Silbernagl S, Lang F, eds. *Taschenatlas der Pathophysiologie*. 1998: 246-49.
- (85) Silbernagl S. Arteriosklerose. *Taschenatlas der Pathophysiologie*. 2003: 236-39.
- (86) Stalenhoff AFH, Hectors M, Demacker PNM. Effect of plant sterol-enriched margarine on plasma lipids and sterols in subject heterozygous for phytosterolaemia. *Jurnal of Internal Medicine*. 2001;249:163-66.
- (87) Sugano, M and Tsuji, E. Rice bran oil and human health. *Biomed Environ Sci* 9(2-3), 242-246. 1996.
- (88) Sugano M, Tsuji E. Rice Bran Oil and Cholesterol Metabolism. *J Nutr*. 1997;127:521S-4S.
- (89) Sugano M, Koba K, Tsuji E. Health benefits of rice bran oil. *Anticancer Res*. 1999;19:3651-58.
- (90) Terres W, Hoffmann M, Koschyk D. Koronare Herzkrankheit. In: Baenkler HW, ed. *Innere Medizin*. 1999: 119-22.
- (91) Thefeld W, Hoffmeister H, Stolzenberg H. Cholesterin, HDL-Cholesterin. *Die Gesundheit der Deutschen*. 1995;129-36.
- (92) Thefeld W, Dortschy R, Mensink G. Kardiovaskuläre Riskofaktoren - Übergewicht, Hypercholesterinämie, Hypertonie und Rauchen in der Bevölkerung. *Die Gesundheit der Deutschen*. 1996;Band 2:71-88.
- (93) Thurnham D. Functional Foods: cholesterol-lowering benefits of plant sterols. *British Journal of Nutrition*. 1999;82:255-56.

-
- (94) Tilvis RS, Miettinen TA. Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption. *Am.J.Clin.Nutr.* 1986 Jan:92-97.
- (95) Vanhanen H, Miettinen TA. Effects of unsaturated and saturated dietary plant sterols on their serum contents. *Clin Chim Acta.* 1992 Jan:97-107.
- (96) Vissers MN, Zock PL, Meijer GW, Katan MB. Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:1510-1515.
- (97) Wahl P. Stoffwechsel. *Innere Medizin , Duale Reihe.* 1999: 959-72.
- (98) Weststrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition.* 1998;52:334-43.
- (99) Windler E, Greten H. Stoffwechsel. In: Schettler G, Greten H, eds. *Innere Medizin.* 9 ed. 1998: 677-93.
- (100) Wong NCW. The beneficial effects of plant sterols on serum cholesterol. *Can J Cardiol.* 2001;17:715-21.

7 Anhang

Auswirkung des Verzehrs einer Margarine mit Reisschalenöl auf den menschlichen Lipidstoffwechsel

T. Schluppeck, H. Demmelmair, B. Koletzko
Stoffwechsellabor der Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der LMU
(Leiter: Prof. Dr. B. Koletzko)
Pettenkofersstraße 8a, 80336 München, Tel: 089-5160-3751

Sehr geehrte Studienteilnehmerin, sehr geehrter Studienteilnehmer,
hohe Cholesterinwerte im Blut stellen einen Risikofaktor für die Entstehung von Herz- und Kreislauferkrankungen dar. Neben der persönlichen Veranlagung wird das Cholesterin im Blut stark von der Ernährung beeinflusst. Da ein großer Teil des Cholesterins aus der Nahrung stammt, werden Lebensmittel, welche die Aufnahme des Cholesterins aus der Nahrung hemmen, empfohlen.

Studien haben gezeigt, daß bestimmte Inhaltsstoffe von Reisschalenöl, das in Japan und anderen asiatischen Ländern als Nahrungsmittel gebräuchlich ist, das Cholesterin im Blut günstig beeinflussen. Durch geeignete Technologien ist es auch möglich geworden, diese natürlich vorkommenden Inhaltsstoffe des Reisschalenöls als Margarinezusatzstoff einzusetzen, ohne geschmackliche Einbußen bei der Margarine hinnehmen zu müssen.

Wir möchten an ausgewählten Studienteilnehmern untersuchen, wie sich der Verzehr von täglich 40 g einer Diätmargarine (Fettgehalt 40 %) mit einem Zusatz von 4 % dieser Inhaltsstoffe auf die Blutfette auswirkt. Wenn Sie sich zur Teilnahme an der Studie bereit erklären, würde man Ihnen morgens nüchtern 15 ml Blut abnehmen, Sie essen ab diesem Tag für 4 Wochen täglich 40 g Margarine als Brotaufstrich (zwei 20 g Portionen), sammeln die leeren Behälter und bringen Sie uns zum zweiten Blutentnahmetermin (ebenfalls Entnahme von 15 ml Blut) zurück. Zur Auswertung der Ergebnisse benötigen wir einige Informationen von Ihnen (Geburtsdatum, Größe, Gewicht, Medikamente, vorliegende Erkrankungen, Ernährungsgewohnheiten).

Um die Wirkung der Diätmargarine vorurteilsfrei erfassen zu können, werden die an der Studie teilnehmenden Personen nach dem Zufallsprinzip einer herkömmlichen Diätmargarine oder der gleichen Margarine mit Zusatz von Reisschalenöl zugeordnet

Unerwünschte Nebenwirkungen der Reisschalenölinhaltsstoffe sind nicht bekannt, so daß als Risiko nur unwahrscheinliche, sehr selten auftretende Komplikationen durch die Blutentnahmen eintreten könnten, z.B. Bluterguß, Venenentzündung. Selbstverständlich können Sie die Teilnahme an der Studie jederzeit ohne Angabe von Gründen abbrechen.

Als Entschädigung für Ihre Bemühungen im Zusammenhang mit der Studie erhalten Sie nach Abschluß der Studie 200.- DM. Bitte haben Sie Verständnis dafür, daß wir eine Aufwandsentschädigung nur an Teilnehmer auszahlen können, welche die Studie dem Plan entsprechend zu Ende führen und die erforderlichen Angaben machen. Für die verwaltungstechnische Abwicklung der Studie benötigen wir Ihren Namen, Ihre Anschrift und Ihre Bankverbindung, da keine Barauszahlungen möglich sind.

Alle persönlichen Daten werden streng vertraulich behandelt und nicht weitergegeben. Nach Abschluß der Studie erfolgt die Auswertung der Daten nur in anonymisierter Form.

Falls Sie noch weitere Fragen haben stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüßen


Prof. Dr. med. B. Koletzko (Studienleiter)

Einverständniserklärung 28.01.2000
Proband Nr: _____

Gruppe: -1-

Auswirkung des Verzehrs einer Margarine mit Reisschalenöl auf den menschlichen Lipidstoffwechsel

Stoffwechsellabor der Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der LMU
(Leiter: Prof. Dr. B. Koletzko)
Pettenkofersstraße 8a, 80336 München, Tel: 089-5160-3751

Einverständniserklärung

Ich bin mit der Teilnahme an der oben genannten Studie entsprechend dem Inhalt des Aufklärungsbogens einverstanden und alle aufgetretenen Fragen konnten geklärt werden.

Name: _____ Vorname: _____

Anschrift: _____

Tel: _____

Bankverbindung:

Bank: _____

BLZ: _____


Kontonummer: _____

Unterschrift

Ort, Datum

Einverständniserklärung

Probandenbogen 28.01.2000
Proband Nr: _____

Gruppe:  -1-

Probandenbogen Margarinstudie

Datum Start: _____ Datum Ende: _____

Geburtsdatum: _____ Anrufen: ja nein

Geschlecht: M W Raucher: ja nein

Medikamente: _____

bekannte Erkrankungen: _____

Streichfettverzehr: _____ g/Tag

Nahrungsergänzungsprodukte: _____

lösliche Ballaststoffe: _____

körperliche Aktivität: _____ h/Tag

Screening-Cholesterin: _____ mg/dl

Größe: _____ cm Gewicht-Start: _____ kg


BMI: _____ Gewicht-Ende: _____ kg

abgegebene Becher: _____

nicht entleerte Becher: _____

Gewicht leere Becher: _____ g

Probandenbogen 28.01.2000
 Proband Nr: _____

Gruppe:  -2-

Fragen zur Ernährung:

Wie häufig nehmen Sie die folgenden Nahrungsmittel zu sich:

Fleisch (ohne Wurstwaren)	1	2	3	4	5	6
Wurstwaren, Schinken	1	2	3	4	5	6
Geflügel	1	2	3	4	5	6
Fisch	1	2	3	4	5	6
Kartoffeln	1	2	3	4	5	6
Teigwaren	1	2	3	4	5	6
Reis	1	2	3	4	5	6
Salat oder Gemüse, roh zubereitet	1	2	3	4	5	6
Gemüse, gekocht	1	2	3	4	5	6
Frisches Obst	1	2	3	4	5	6
Schokolade, Pralinen	1	2	3	4	5	6
Kuchen, Gebäck, Kekse	1	2	3	4	5	6
Sonstige Süßwaren (Bonbons, Kompotte)	1	2	3	4	5	6
Salzige Knabbereien (Erdnüsse, Chips)	1	2	3	4	5	6
Weißbrot, Mischbrot, Toastbrot	1	2	3	4	5	6
Vollkornbrot, Schwarzbrot, Knäckebrötchen	1	2	3	4	5	6
Haferflocken, Müsli, Cornflakes	1	2	3	4	5	6
Quark, Joghurt, Dickmilch	1	2	3	4	5	6
Käse	1	2	3	4	5	6
Eier	1	2	3	4	5	6
Milch, einschl. Buttermilch	1	2	3	4	5	6
Olivenöl, Rapsöl, Walnußöl	1	2	3	4	5	6
Maiskeimöl, Distelöl	1	2	3	4	5	6
Butter	1	2	3	4	5	6
Standardmargarine	1	2	3	4	5	6
Diätmargarine	1	2	3	4	5	6
Erfrischungsgetränke (Obstsäfte, Limonade, Cola)	1	2	3	4	5	6
Mineralwasser	1	2	3	4	5	6
Diätlimonade	1	2	3	4	5	6
Bier	1	2	3	4	5	6
andere alkoholische Getränke	1	2	3	4	5	6

1. fast täglich
2. mehrmals in der Woche
3. etwa einmal in der Woche
4. mehrmals im Monat
5. einmal im Monat oder seltener
6. nie

Probandenbogen 28.01.2000
 Proband Nr: _____

Gruppe: ○ -3-

Fragen zum Studienende

Ist es Ihnen schwer gefallen täglich
 die Margarine zu essen? ja nein

Haben sich Ihre Ernährungsgewohnheiten
 in den letzten 4 Wochen geändert? ja nein
 Wenn ja, wie? _____

Haben Sie die Studienmargarine anstatt
 Butter Margarine oder zusätzlich gegessen?

Mit welchen anderen Lebensmitteln haben
 Sie die Studienmargarine kombiniert? Brot
 Teigwaren
 Gemüse
 anderes Lebensmittel

Haben Sie während der Studie angefangen
 ein Medikament zu nehmen? ja nein

Wenn ja, welche? _____

Haben Sie während der Studie
 ein Medikament abgesetzt? ja nein

Wenn ja, welche? _____

Traten während der Studie Beschwerden auf?

Kopfschmerzen ja nein

Übelkeit ja nein

Erbrechen ja nein

Blähungen ja nein

Bauchschmerzen ja nein
 krampfartig Dauerschmerzen


Durchfall ja nein

wenn ja, wie lange _____ Tage

andere Beschwerden

Fragen zum Studienende

Probandenbogen 28.01.2000
 Proband Nr: _____

Gruppe:  -4-

Laborparameter

Leberwerte

	Start	Ende
ALAT (U/l)		
ASAT (U/l)		
γ-GT (U/l)		

Antioxidantien

	Start	Ende
totale Antioxidative Kapazität (mmol/l)		
Vitamin A (mg/l)		
Vitamin E (mg/l)		
α-Carotin (μg/l)		
β-Carotin (μg/l)		

Lipidwerte

	Start	Ende
Gesamtcholesterin (mg/dl)		
LDL-Cholesterin (mg/dl)		
HDL-Cholesterin (mg/dl)		
LDL/HDL-Verhältnis		
Triglyceride (mg/dl)		
Lipoprotein(a) (mg/dl)		

Phytosterole

	Start	Ende
Sitosterol (mg/dl)		
Campesterol (mg/dl)		
Stigmasterol (mg/dl)		
Cycloartenol (mg/dl)		

8 Lebenslauf

Name: Schluppeck, Tilo
Geboren: 24.01.1974 in Heilbronn
Wohnort: Bahnhofstr. 15, D-85662 Hohenbrunn
Familienstand: verheiratet
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulische Ausbildung:

1980 – 1985 Grundschule Neuenstadt
1985 – 1990 Realschule Neuenstadt
1990 – 1993 Technisches Gymnasium der Wilhelm-Maybach-Schule Heilbronn
Abitur Mai 1993

Zivildienst:

1993 – 1994 Dialysestation Heilbronn

Studium:

1995 – 2002 Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Physikum: März 1998
Erstes Staatsexamen: März 1999
Zweites Staatsexamen: April 2001
Drittes Staatsexamen: Oktober 2002

Famulatur:

1993 Pflegedienstpraktikum Unfallchirurgie KHK Bad Friedrichshall
1998 Allgemein Chirurgie
Chirurgische Klinik Dr. Rinecker
Am Isarkanal 30
81379 München
1999 Anästhesie Rotkreuzkrankenhaus
2000 Orthopädie Krankenhaus München Bogenhausen

Praktisches Jahr:

- 10/2001 – 02/2002 Innere Medizin: Kreiskrankenhaus Traunstein
02/2002 – 05/2002 Chirurgie: Städt. Krankenhaus München Harlaching
05/2002 – 09/2002 Frauenheilkunde und Geburtshilfe: Klinikum Grosshadern

Arzt im Praktikum:

- 01/2003 – 06/2004 Krankenhaus der Missionsbenediktinerinnen von Tutzing e.V.
Abteilung Innere Medizin, Chefarzt Prof. Dr. med. H.P. Schobel

Assistenzarzt:

- 07/2004 – dato Krankenhaus der Missionsbenediktinerinnen von Tutzing e.V.
Abteilung Innere Medizin, Chefarzt Prof. Dr. med. H.P. Schobel

Tilo Schluppeck

Hohenbrunn, den 8.06.2005