

## Plasma-Vitamine A und E invers zur Koronarmortalität korreliert

K. Fred Gey

Vitaminforschung, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel

Im normalen Stoffwechsel entstehen direkt oder indirekt (via Wasserstoffsuperoxid in Gegenwart von katalytischen Eisensparten) erhebliche Mengen von höchst reaktiven und daher kurzlebigen Sauerstoff-Species (z.B. Superoxid-Anion, Hydroxy-, Peroxy-, Alkoxy-Species, Singlet Oxygen). Wenn diese aggressiven Sauerstoff-Radikale nicht rechtzeitig durch Antioxydantien abgefangen werden, schädigen sie alle erreichbaren biochemischen Strukturen. Das diesbezügliche Abwehrsystem des Organismus ist mehrstufig. Es besteht aus Enzymen (z. B. Superoxid-Dismutase, Glutathion-Peroxydase, Catalase), aus unspezifischen, das heisst vom Körper synthetisierbaren Antioxydantien (z. B. Proteine, Glutathion, Harnsäure) und aus essentiellen Antioxydantien (Vitamine A, E, C sowie Carotinoide). Ein suboptimaler Zustand dieses Abwehrdispositivs könnte bei diversen multifaktoriellen Krankheitsprozessen wesentlich beteiligt sein, so auch bei der Arteriosklerose [1–5]. Es darf heute angenommen werden, dass die im Blutplasma vorhandenen atherogenen Low-Density-Lipoproteine (LDL) die Entstehung von «Fatty Streaks», das heisst der frühesten histologisch fassbaren arteriosklerotischen Gefässveränderungen, erst dann einleiten, wenn das LDL-Molekül oxydativ modifiziert wurde und infolgedessen von Makrophagen phagozytiert wird. Die an Lipiden «ersticken» Makrophagen werden schliesslich zu Schaumzellen, deren Nester die «Fatty Streaks» bilden. Da die initial entscheidende Modifikation des LDL-Moleküls (durch Hydroxyalkenale und/oder Malondialdehyd, d.h. die in einer peroxydativen Kettenreaktion entstehenden Spaltprodukte der hochungesättigten LDL-Fettsäuren) erst nach Verschleiss der fettlöslichen Antioxydantien (Vitamin E, Vitamin-A-Ester, Carotinoide) erfolgt [4], sollte ein geringerer Schutz der Plasma-Lipoproteine durch fettlösliche essentielle Antioxydantien theoretisch mit einem grösseren Arteriosklerose-Risiko verbunden sein. Diese Arbeitshypothese steht im Einklang mit den in der vorliegenden Übersicht referierten Quervergleichen von europäischen Populationen, deren Koronarmortalität im mittleren Mannesalter (40–59 Jahre) um das Vierfache variiert, sich aber nicht befriedigend durch die bisher anerkannten «klassischen» Risikofaktoren (Hypercholesterinämie, Hochdruck, Rauchen) erklären lassen [1–3, 5]. Da die meisten europäischen Populationen heute keine regelmässigen, biologisch signifi-

kanten Unterschiede dieser Risikofaktoren aufweisen, setzt sich immer mehr die Einsicht durch, dass «klassische» Risikofaktoren höchstens 50 % der Koronarmortalität erklären können.

### Methode

Die vorliegenden epidemiologischen Quervergleiche erfolgten anfänglich im Rahmen der *International Collaborative Study on the Fatty Acid-Antioxidant Hypothesis of Arteriosclerosis* [1] und seit 1985 als *Optional Study on Antioxidant Vitamins and PUFAS, WHO/MONICA Project* [2, 3, 5]. Dabei wurden grössere Populationen (die für verschiedene Mortalitätsregister benötigt wurden) repräsentiert durch etwa 100 klinisch gesunde randomisierte Männer im Alter von 40 bis 49 Jahren (Ausnahme: 220 Männer der Eidgenössischen Militärbetriebe Thun/Wimmis BE). Die Blutentnahmen fanden bei Jahresbeginn unter standardisierten Bedingungen statt; die Bestimmung sämtlicher antioxydativer Vitamine erfolgte im gleichen Zentrallabor (Vitaminforschung, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel; unter Qualitätskontrolle seitens des National Bureau of Standards, Gaithersburg, Md., bzw. WHO Reference Center Prague für Plasmalipide). Da fettlösliche Vitamine bekanntermassen in einem gewissen Ausmass mit der Menge ihrer Träger, das heisst mit den Plasmalipiden, korrelieren, wurden alle individuellen Werte von Vitamin A und E auf 220 mg/dl Cholesterin + 110 mg/dl Triglyceride standardisiert [5] und damit bei Individuen auch untereinander praktisch unabhängig ( $r = 0.12$ ). Die altersspezifische Koronarmortalität (ICD 410–414) für 40 bis 59 Jahre wurde aus mindestens drei Jahren gemittelt.

### Resultate und Diskussion

Der Median von Plasma-Vitamin C zeigt nur in einigen Populationen eine gewisse inverse Korrelation zur Koronarmortalität [1, 2, 5], Plasma- $\beta$ -Carotin und -Selen liessen keinerlei regelmässige Beziehungen erkennen. Die bereits in den ersten Vergleichen erkennbare starke intensive Beziehung zwischen dem Median von lipid-standardisiertem Plasma-Vitamin E ( $\alpha$ -Tokopherol) und Koronarmortalität [1, 2] wurde weiterhin bestätigt [3, 5] und durch eine inverse Bezie-

hung zwischen Plasma-Vitamin A (Retinol) und Coronarmortalität ergänzt [5].

Die zur Zeit auswertbaren 12 Cohorten zeigen eine direkte Korrelation zwischen dem Median des «klassischen» Risikofaktors Totalcholesterin ( $r^2 = 0.51$ ;  $p = 0.009$ ) und eine inverse Korrelation zwischen dem Median des lipid-standardisierten Vitamins A ( $r^2 = 0.33$ ;  $p = 0.050$ ) und Vitamins E ( $r^2 = 0.49$ ;  $p = 0.011$ ) (Tab. 1). Da beide Vitaminmediane (im Gegensatz zu individuellen Vitaminkonzentrationen) eine gewisse Parallelität zeigen (Tab. 2), erklärt die Kombination der beiden Vitaminvariablen in einer multiplen Regressionsanalyse die tatsächliche Mortalität nicht wesentlich besser ( $r^2 = 0.53$ ;  $p = 0.034$ ) als Vitamin E (Tab. 1). Offensichtlich ist aber die Kombination der beiden fettlöslichen Vitamine für die Coronarmortalität quantitativ ebenso bedeutsam wie Totalcholesterin. Wird nämlich letzteres mit Vitamin A oder mit Vitamin E kombiniert, erhöht sich die Korrelation zur Coronarmortalität erheblich ( $r^2 = 0.85$  bzw.  $0.87$ ;  $p < 0.001$ ). Bei Kombination von Cholesterin mit den Vitaminen A und E kann die multiple Regressionsanalyse mit nunmehr drei Variablen die effektive Coronarmortalität zu 94 % ( $r^2 = 0.94$ ;  $p = 0.0001$ ) vorhersagen. Somit leisten die beiden antioxidativen Vitamine einen vergleichbar grossen Beitrag zur Erklärung der Interpopulationsvarianz von Coronarmortalität wie Totalcholesterin. Diese hohe erklärte Varianz in einem Modell mit (noch) relativ wenigen Beobachtungseinheiten ist aufgrund der wenigen einbezogenen Variablen mit Zurückhaltung zu interpretieren. Zukünftige Analysen bei grösseren Einheitenzahlen und unter Einbezug weiterer klassischer Risikofaktoren, wie Blutdruck und Rauchen, werden zeigen, wie stabil die präsentierten Resultate sind.

Tab. 1a. Populationen mit variablem Cholesterin (n = 12) Resultate der Regressionsanalyse

IHD Mortalität in Abhängigkeit von log Median Plasma	Regressionskoeffizient ± S.E.	t (p)	r <sup>2</sup> (p)
Cholesterin	1266 ± 390	3.25 (0.009)	0.51 (0.009)
Vit. A lipid-stand.	- 1113 ± 500	- 2.23 (0.050)	0.33 (0.050)
Vit. E lipid-stand.	- 1022 ± 329	- 3.11 (0.011)	0.49 (0.011)
Vit. A lipid-stand. und Vit. E lipid-stand.	- 469 ± 553	- 0.85 (0.418)	0.53 (0.034)
Vit. E lipid-stand. und Cholesterin	- 810 ± 417	- 1.94 (0.084)	
Vit. A lipid-stand. und Cholesterin	- 861 ± 191	- 4.52 (0.002)	0.85 (0.0002)
Vit. A lipid-stand. und Cholesterin	1077 ± 231	4.66 (0.001)	
Vit. A lipid-stand. und Cholesterin	- 1158 ± 231	- 5.01 (0.0007)	0.87 (0.0001)
Vit. A lipid-stand. und Cholesterin	1299 ± 211	6.15 (0.0002)	
Vit. A lipid-stand. und Vit. E lipid-stand.	- 750 ± 205	- 3.65 (0.007)	
Vit. A lipid-stand. und Vit. E lipid-stand. und Cholesterin	- 507 ± 157	- 3.22 (0.012)	0.94 (0.0001)
Vit. A lipid-stand. und Vit. E lipid-stand. und Cholesterin	1176 ± 152	7.71 (0.0001)	

Eine Lipid-Standardisierung der Vitaminkonzentrationen erübrigt sich bei Populationen, deren Plasma-Cholesterin ohne signifikante Unterschiede ( $p > 0.05$ ) auf der durchschnittlichen europäischen Bandbreite (220–240 mg/dl) liegt und daher auch nicht zur Coronarmortalität korreliert ist ( $r^2 = 0.05$ ;  $p = 0.607$ ).

Zurzeit ist dies bei 8 (von total 12) Populationen der Fall. Bei ihnen zeigen die Mediane der Absolutkonzentrationen der Vitamine sogar relativ stärkere inverse Beziehungen zur Coronarmortalität als nach Lipid-Standardisierung. Dies gilt sowohl für absolutes Vitamin A ( $r^2 = 0.55$ ;  $p = 0.035$ ) wie für absolutes Vitamin E ( $r^2 = 0.51$ ;  $p = 0.046$ ). Werden für die multiple Regressionsanalyse die drei Variablen Cholesterin, Vitamine A und E kombiniert, lässt sich wiederum die effektive Coronarmortalität weitgehend ( $r^2 = 0.81$ ;  $p = 0.064$ ) vorhersagen. Somit ist die bei den derzeitigen Vergleichen vorhandene inverse Beziehung zwischen Coronarmortalität und den Vitaminen A bzw. E unabhängig vom Niveau des Plasma-Cholesterins und von einer biometrischen Lipid-Standardisierung der Plasma-Vitamine.

Nach den vorliegenden epidemiologischen Quervergleichen ist die Konzentration von Vitamin-Antioxy-

Tab. 1b. Populationen mit ähnlichem Cholesterin (n = 8) Resultate der Regressionsanalyse

IHD Mortalität in Abhängigkeit von log Median Plasma	Regressionskoeffizient ± S.E.	t (p)	r <sup>2</sup> (p)
Cholesterin	- 615 ± 1133	- 0.54 (0.607)	0.05 (0.607)
Vit. A absolut	- 782 ± 312	- 2.51 (0.046)	0.51 (0.046)
Vit. E absolut	- 454 ± 167	- 2.71 (0.035)	0.55 (0.035)
Vit. A absolut und Vit. E absolut	- 421 ± 417	- 1.01 (0.360)	0.63 (0.085)
Vit. E absolut und Cholesterin	- 270 ± 234	- 1.24 (0.270)	
Vit. A absolut und Cholesterin	- 517 ± 204	- 2.53 (0.052)	0.58 (0.113)
Vit. A absolut und Cholesterin	- 584 ± 948	0.62 (0.565)	
Vit. A absolut und Cholesterin	- 1265 ± 388	- 3.26 (0.022)	0.70 (0.051)
Vit. A absolut und Vit. E absolut	1749 ± 1009	1.73 (0.144)	
Vit. A absolut und Vit. E absolut	- 904 ± 417	- 2.17 (0.096)	0.81 (0.064)
Vit. A absolut und Vit. E absolut und Cholesterin	- 288 ± 187	- 1.54 (0.199)	
Vit. A absolut und Vit. E absolut und Cholesterin	1741 ± 895	1.95 (0.123)	

Tab. 2. Partielle Pearson-Korrelationskoeffizienten der Log-Mediane der Plasma-Vitamine A und E bei fixiertem Cholesterin

a) Populationen mit variablem Plasma-Cholesterin, lipid-standardisierte Vitaminwerte (n = 12)

	Mortalität	Vit. A	Vit. E
IHD Mortalität	1.000	- 0.576 (0.050)	- 0.700 (0.011)
Vitamin A	- 0.576 (0.050)	1.000	0.600 (0.039)

b) Populationen mit ähnlichem Plasma-Cholesterin, Absolutwerte der Plasma-Vitamine (n = 8)

	Mortalität	Vit. A	Vit. E
IHD Mortalität	1.000	- 0.716 (0.046)	- 0.742 (0.035)
Vitamin A	- 0.716 (0.046)	1.000	0.699 (0.054)

dantien innerhalb von Lipoproteinen ein ebenso wichtiger Arteriosklerose-Risikofaktor wie die absolute Cholesterinkonzentration. Die gegenwärtigen Resultate stehen im Einklang mit der Arbeitshypothese, dass Vitamin-Antioxydantien, welche LDL-Modifikationen blockieren können, auch die Entwicklung der

coronaren Arteriosklerose hemmen. Die vorliegenden Befunde schliessen jedoch zusätzliche antiarteriosklerotische Effekte der beiden fettlöslichen Vitamine E und/oder A auf cellulärem oder subcellulärem Niveau nicht aus, zum Beispiel auf Eicosanoide, immunologische Reaktionen, Zelltransformationen, Glykoprotein-stoffwechsel. Selbstverständlich kann der potentiell protektive Effekt von hohen Plasmakonzentrationen der Vitamine A und E nur durch eine spätere Interventionsstudie an grösseren Personenkollektiven verbindlich bewiesen werden.

#### Zusammenfassung

Bei repräsentativen Zufallsstichproben von Männern in 12 europäischen Populationen wurden im Plasma alle essentiellen Antioxydantien gemessen und mit der um den Faktor 4 variierenden altersspezifischen Coronarmortalität verglichen.

Lipid-standardisiertes Vitamin A und E zeigten eine starke inverse Beziehung zur Coronarmortalität ( $r^2 = 0.33$  bzw.  $r^2 = 0.49$ , kombiniert  $r^2 = 0.53$ ), deren quantitative Bedeutung derjenigen des Totalcholesterins ( $r^2 = 0.51$ ) vergleichbar war. Die Kombination aller drei Variablen in einer multiplen Regressionsanalyse erlaubte eine weitgehende Voraussage der Coronarmortalität ( $r^2 = 0.94$ ). Eine höhere Konzentration der Vitamine A und E innerhalb der Lipoproteine könnte somit ein bisher unterschätzter, quantitativ wichtiger, potentiell protektiver Faktor bei der Arteriosklerose-Entwicklung sein.

#### Résumé

##### Corrélation inverse entre les vitamines A et E dans le plasma et la mortalité coronaire

Tous les antioxydants essentiels ont été mesurés dans le plasma d'hommes cliniquement sains qui représentent 12 populations européennes différant quatre fois leur mortalité coronaire. Les vitamines A et E (comparées à un standard lipidique) ont montré un rapport réciproque à la mortalité coronaire ( $r^2 = 0.33$  et  $r^2 = 0.49$ ; en combinaison  $r^2 = 0.53$ ) et ont ainsi complété essentiellement la corrélation directe entre le cholestérol total et la mortalité coronaire ( $r^2 = 0.51$ ). En effet, la combinaison de ces trois variables en analyse de multiple régression a permis une prédiction presque complète de la mortalité actuelle ( $r^2 = 0.94$ ). En conclusion, une teneur riche en vitamines plasmatiques A et E pourrait représenter un facteur protecteur d'importance quantitative et sous-estimé jusqu'ici. Les vitamines antioxydatives A et E semblent protéger les lipoprotéines contre les modifications peroxydatives, mais peut-être améliorerelles aussi la défense artérielle contre l'artériosclérose.

#### Summary

##### Inverse Correlation of Plasma Vitamin A and E to Coronary Heart Disease Mortality

All essential plasma antioxidants were measured in representative samples of apparently healthy males from 12 European study populations the coronary mortality of which differed by the factor 4. Lipid-standardized vitamins A and E showed a strong inverse correlation to the age-specific coronary mortality ( $r^2 = 0.33$  and  $r^2 = 0.49$ , resp.; combined  $r^2 = 0.53$ ) and thus complemented substantially the

direct correlation of coronary mortality with total cholesterol ( $r^2 = 0.51$ ). Multiple regression analysis with these three variables predicted the actual mortality almost completely ( $r^2 = 0.94$ ). In conclusion, a fair plasma status of vitamins A and E could be a quantitatively important, hitherto underrated protective factor of coronary heart disease. These antioxidant vitamins presumably protect lipoproteins against peroxidation and atherogenic modification, respectively, but might still have additional antiarteriosclerotic effects in the arterial wall.

#### Literaturverzeichnis

- [1] Gey KF. On the antioxidant hypothesis with regard to arteriosclerosis. *Bibliothca Nutr Dieta* 1986; 37: 53-91.
- [2] Gey KF, Brubacher GB, Stähelin HB. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 1368-77.
- [3] Gey KF. Inverse correlation of vitamin E and ischemic heart disease. *Int J Vit Nutr Res (Suppl)* 1989: in press.
- [4] Esterbauer H, Striegel G, Puhl H, Oberreither S, Rotheneder M, Jürgens G. The role of vitamin E and carotenoids in preventing oxidation of low density lipoproteins. *Ann NY Acad Sci* 1989: in press.
- [5] Gey KF, Puska P. Plasma vitamins E and A inversely related to mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Ann NY Acad Sci* 1989: in press.

Im Namen der Principal Investigators and Collaborators of the *International Collaborative Study on the Fatty Acid-Antioxidant Hypothesis of Arteriosclerosis* and of the *Optional Study on Antioxidant Vitamins and PUFAs, WHO/MONICA Project*: Georg Alfthan, Helsinki, Finland; Florence Bernasconi, Basel, Switzerland; Daniel Brunner, Tel Aviv, Israel; Ernst Bühler, Basel, Switzerland; I. M. Eckstein, Schleiz, GDR; Alun Evans, Belfast, Northern Ireland; Flaminio Fidanza, Perugia, Italy; Horst Georgi, Basel, Switzerland; Horst Heine, Berlin, GDR; Lothar Heinemann, Berlin, GDR; Paul Jordan, Basel, Switzerland; Kim Klärlund, Copenhagen, Denmark; Mario Mancini, Naples, Italy; Ulrich K. Moser, Basel, Switzerland; Reto Muggli, Basel, Switzerland; J. Müller, Schwedt, GDR; Tapio Nakkari, Tampere, Finland; Michael F. Oliver, Edinburgh, Scotland; Pekka Puska, Helsinki, Finland; Rudolph A. Riemersma, Edinburgh, Scotland; Günther Ritzel, Basel, Switzerland; Paolo Rubba, Naples, Italy; Matti Salo, Tampere, Finland; Marianne Schroll, Roskilde, Denmark; Willy Schüep, Basel, Switzerland; H. Schüler, Cottbus, GDR; Erkki Vartiainen, Helsinki, Finland; Jean-Paul Vuilleumier, Basel, Switzerland; Claus Wagenknecht, Berlin, GDR; David A. Wood, Edinburgh, Scotland.

#### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. med. K. Fred Gey  
F. Hoffmann-La Roche & Co. AG  
VRD/F, Bau 60/309  
CH-4002 Basel