

Neuroprotektive Wirkung einer Vitamin- und Spurenelemente-Komposition – eine randomisierte, doppelt verblindete, Placebo kontrollierte klinische Studie mit gesunden Freiwilligen

Claus MUSS,MD,DVM,PhD¹, Wilhelm MOSGOELLER, MD², Thomas ENDLER, MD³

Übersetzung und Editierung des englischen Originals durch die Autoren.

Original: *Neuroprotective impact of a vitamin trace element composition - a randomized, double blind, placebo controlled clinical trial with healthy volunteers. Neuroendocrinol Lett* 2015;**36**(1):31-40.

Englisches Original direkt beim Verlag:

www.nel.edu/archive_issues/o/36_1/36_1_Muss_31-40.pdf

- 1 Internationale Gesellschaft für angewandte Präventionsmedizin I-GAP, Währingerstrasse 63, A-1090 Wien, Austria. Associated Professor Public Health Department St. Elisabeth University, Bratislava, SK.
- 2 Inst. f. Krebsforschung, KIM-1, Medizinische Universität, A-1090 Wien, Austria.
- 3 Labor Endler Währingerstrasse 63, A-1090 Wien, Austria

Korrespondierender Autor:

Assoc. Prof. DDr. med. Claus MUSS, Internationale Gesellschaft für angewandte Präventionsmedizin (I-GAP), Währingerstrasse 63, A-1090 Wien.

Tel: +49 170 5343 167, email: profmuss@gmail.com.

Kurztitel für die Kopfzeile:

Nahrungsergänzungsmittel und Neuroprotection

Sämtliche personenbezogenen Bezeichnungen sind personenneutral zu sehen.

Abstract

In der Pathophysiologie der Neuroregeneration spielen neurotoxische Metaboliten, oxidativer Stress und nitrosamine Stressreaktionen eine wichtige Rolle. Wir untersuchten daher die Bioverfügbarkeit ausgewählter Substanzen aus einer Komposition von Antioxidantien und Vitaminen und Spurenelementen, um das neuroprotektive Preventionspotential zu erfassen.

Aus einem Pool von knapp 170 Interessenten wurden 159 gesunde Freiwillige rekrutiert. Die rekrutierenden Ärzte schieden Interessenten mit schweren chronischen Erkrankungen, oder Medikamenteneinnahmen, welche die Erhebungen verfälschen könnten, aus. Die Studienteilnehmer wurden randomisiert und doppelt verblindet entweder einer Placebo oder einer Verum Gruppe zugeteilt. 142 Teilnehmer beendeten nach 6 Monaten die Studienteilnahme protokollgemäß. Im Zuge der Studienteilnahme wurden von den Studienteilnehmern drei Laborbesuche mit Blutabnahme absolviert: 1) vor der Teilnahme, 2) nach drei Monaten, und 3) nach sechs Monaten zum Teilnahmeabschluss. Mit den erhobenen Laborparametern zu den verschiedenen Zeitpunkten konnten wir einerseits die Bioverfügbarkeit der Inhaltsstoffe, und andererseits metabolische Parameter bestimmen die im Zusammenhang mit der Blut-Gehirnschranke, der mitochondrialen Physiologie (Q10), Neurodegeneration (Homocystein), antioxidativen Kapazität (Lipidperoxidation) und der Aktivität von Superoxiddismutase stehen.

Ausgehend vom ersten Laborbefund erhöhten sich nach drei Monaten die Serumwerte von bekannten neuroprotektiven Inhaltsstoffen innerhalb der physiologischen Grenze; wie z.B. Folsäure ($p < 0,003$), Pyridoxin ($p < 0,001$), Cobalamin ($p = 0,001$), und das fettlösliche Vitamin Tocopherol ($p < 0,001$). Parallel dazu beobachteten wir nach drei Monaten eine signifikante Verringerung von Homocystein ($p < 0,001$) und eine weitere Absenkung nach sechs Monaten ($p < 0,025$). Andere Parameter wie beispielsweise Zink reagierten langsamer, eine statistisch signifikante Erhöhung wurde erst nach sechs Monaten beobachtet.

Die beobachteten metabolischen Veränderungen und die Änderung des oxidativen Status nach drei und sechs Monaten der regulären Einnahme unterstreicht das Potential der untersuchten Wirkstoff-Melange im Hinblick auf neurodegenerative Prozesse. Aufgrund der Laborbefunde vor, während, und nach der Substitution mit der Komposition aus Vitaminen und Spurenelementen aus natürlichen Quellen, schließen wir, dass die regelmäßige Einnahme des Prüfpräparates LaVita[®] ein preventives Potential für neurodegenerative Prozesse begründet.

Schlüsselwörter

Vitamin B1, Vitamin B6 (Pyridoxin); Vitamin B9 (Folsäure); Vitamin B12 (Cobalamin); Vitamin E (Tocopherol); Coenzym Q10 (Ubiquinone); Mitochondriale Dysfunktion; Neurodegeneration; Blut-Hirn-Schranke, Homocystein; Lipidperoxidation; Superoxid- dismutase Aktivität.

Verwendete Abkürzungen

LaVita[®] - Multivitamin und Spurenelemente Komposition

HCy – Homocystein

SOD - Superoxiddismutase

GCP – Good Clinical Practice (ein Qualitätsstandard in der klinischen Forschung)

1 HINTERGRUND

Der Anstieg der Lebenserwartung in industrialisierten Ländern wird von einem Anstieg von neurodegenerativen Beeinträchtigungen begleitet. Bis heute sind die dahinterliegenden Mechanismen unbekannt, folglich gibt es keine kausale Therapie. Allerdings sind verschiedene Pathomechanismen, die Maßnahmen zur Prevention von Neurodegeneration begründen können, in Diskussion.

Beispielsweise wird mitochondriale Dysfunktion in Nervenzellen für viele Formen der Neurodegeneration als aetiologischer Faktor diskutiert. Mitochondrien spielen eine Schlüsselrolle in der zellulären Energieversorgung und das Zellüberleben. Im Gehirn erhöhen anhaltender oxidativer Stress die Hypoperfusion des Gewebes, dies erhöht die Expression von Enzymen wie Stickoxidsynthase (NOS). Dadurch beschleunigt sich die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und erhöht den nitrosaminen Stress. Beide Vorgänge beeinträchtigen die Funktion der Blut-Hirn-Schranke (Aliev *et al.* 2014).

In Tierversuchen wurde gezeigt, dass die mitochondriale Enzymaktivität der Mn-Superoxid-Dismutase (SOD) eine wichtige Rolle für die Regulation von oxidativem Stress in den Mitochondrien spielt. Gegebenenfalls erhöhen sich die Lipidperoxidation und reduzieren sich die ATPase und Cytochrome C Oxidase Aktivität in den betroffenen zerebralen Mitochondrien (Choi *et al.* 1998).

Es waren morphologische Befunde die eine positive Wirkung der Reduktion von oxidativer und nitrosativer Stressreduktion im Cortex belegten und Hinweise erbrachten, dass durch antioxidative Therapie besonders der Beginn von neurodegenerativen Prozessen effektiv

verlangsamt werden konnte (Gasparova *et al.* 2012; Gasparova *et al.* 2014).

So konnte im Tiermodell (Ratten) nach einer mit Paraquat experimentell herbeigeführten Neurodegeneration die Coenzym Q10 Verabreichung den Fortschritt der Neurodegeneration aufhalten (Muthukumaran *et al.* 2014). Die Vorbehandlung mit Coenzym Q10 hat auch die Schwere und die Inzidenzrate der experimentell herbeigeführten epileptischen Anfälle durch Kainate injektion und spontanen Anfallsphasen signifikant reduziert bzw. abschwächt (Baluchnejadmojarad & Roghani 2013).

Ebenfalls in einem Tiermodell mit Ratten milderte die Kombination aus Resveratrol und Omega-3-Fettsäuren und Coenzym Q10 die Symptome einer Cisplatin induzierten Neuropathie (Bhadri *et al.* 2013).

Die genaue Rolle von Cholesterin in der Pathogenese neurodegenerativer Prozesse ist Gegenstand der aktuellen wissenschaftlichen Diskussion (Anchisi *et al.* 2012). Hohes Serum-HDL (high-density lipoprotein cholesterol) korrelierte mit der kognitiven Beeinträchtigung von Studienteilnehmern. Erhöhte Triglycerid-Werte korrelierten mit der beidseitigen Reduktion von grauer Hirnsubstanz (Gonzalez-Escamilla *et al.* 2014). Nachdem Homocystein die Empfindlichkeit hippocampaler Neuronen gegenüber zelltoxischer Einflüsse und oxidativer Prozesse in der Zellkultur und im lebendigen Organismus erhöhte, wurde dies als Hinweis für einen Mechanismus gewertet, über den Homocystein zur Pathogenese der Neurodegeneration beiträgt (Maler *et al.* 2003): Laboruntersuchungen zeigten, dass D,L-Homocystein zeit- und dosisabhängig toxisch auf die Glia wirkt (Kruman *et al.* 2000). Vor diesem Hintergrund wird kontrovers diskutiert, ob oder nicht, die Bevölkerung bei normaler Ernährung genügend Antioxidantien aufnimmt (Guallar *et al.* 2013; Bjelakovic *et al.* 2014;

Caldwell *et al.* 2014). Als positives Beispiel wurde eine antioxidative Therapie für Alzheimer Patienten vorgeschlagen (Gilgun-Sherki *et al.* 2003). Oxidativer Stress kann die Blut-Hirn-Schranke beeinträchtigen (Enciu *et al.* 2013).

Folsäuremangel und Homocystein schwächen die DNA-Reperatur in Neuronen, und sensibilisieren die DNA für oxidative Veränderungen und neurotoxische Proteine.

(Kruman *et al.* 2002). Stimmig dazu senkt die Nahrungsergänzung mit Folsäure und anderen homocysteinsenkenden Vitaminen das Risiko für Neurodegeneration (Mattson *et al.* 2002). Darüber hinaus zeigen epidemiologische Studien eine positive dosisabhängige Wirkung von geringen zu moderaten Anstiegen der Plasmahomocysteinwerte und dem Risiko für neurodegenerative Prozesse (Herrmann & Obeid 2011).

Angesichts der Inhaltstoffe der Prüfsubstanz LaVita® ist die Frage naheliegend und damit Gegenstand der klinischen Prüfung, ob oder nicht die Einnahme ein neuroprotektives Potenzial mit sich bringt, und die regelmäßige Einnahme eine Strategie zur Prävention neurodegenerativer Prozesse begründet.

2 MATERIAL UND METHODE:

Die Studie wurde in regionalen Zeitungen und Aushängen angekündigt. Aus ca. 170 Freiwilligen wurden von Ärzten 159 gesunde Probanden unter Einhaltung von vordefinierten Ein- und Ausschlusskriterien rekrutiert. Die Zielpopulation für diese Studie waren gesunde Freiwillige mit einem gefestigten Lebensstil und Tagesablauf. Die Ausschlusskriterien eliminierten Teilnehmer mit einem bekannten Risiko für Studienergebnisverzerrungen, wie zum Beispiel akute Erkrankungen oder

medizinische Behandlungen, welche mit den Erhebungen dieser Studie interferieren könnten. Spezifisch wurden Personen mit folgenden Merkmalen ausgeschlossen:

- Alter unter 18 und über 90 Jahren
- Akute Erkrankung, Spitalsaufenthalt in den letzten 4 Wochen
- Rekonvaleszenz nach einem chirurgischen Eingriff (Eingriff in den letzten 12 Wochen)
- Urlaubszeit während der Studienteilnahme oder größere Reiseaktivität (Sicherstellung der Erreichbarkeit und Ausschluss von größeren Lebensstiländerungen)
- Diabetes oder schwere metabolische Erkrankungen, Fruchtzuckerintoleranz (der Ausschluss erfolgte um Einflüsse bestehender metabolischer Syndrome zu unterbinden)
- Alkohol- oder Drogenmissbrauch (Risiko für die Studiencompliance)
- Onkologische Behandlung in den letzten 3 Monaten
- Entzündliche Darmerkrankungen (z.B.: Colitis), Anzeichen von Malabsorption
- Bestehen einer Erkrankung mit episodenhaftem Verlauf (Arthritis, Multiple Sklerose, etc.) um auszuschließen, dass die studienspezifischen Erhebungen zu einem Zeitpunkt von Remission oder Rückfall erhoben werden.
- Demenz oder medizinisch diagnostizierte und behandelte Neurodegeneration
- Kortisoneinnahme oder andere akute medizinische Intervention (Antibiotika) um Wechselwirkungen mit medizinisch induzierter Behandlung zu vermeiden.
- Teilnahme an einer anderen medizinischen Studie,

um Wechselwirkung mit anderen Studien zu vermeiden.

Studiendesign

Das Studiendesign war randomisiert, prospektiv, doppelt verblindet, und Placebo-kontrolliert. Das Studienprotokoll wurde von der Firma SCigenia Forschungssupport GmbH (Wien, Österreich, www.scigenia.com) entwickelt. Das Studienprotokoll entsprach internationalen Forschungsstandards, wie zum Beispiel GCP (Good Clinical Practice).

Abbildung 1 zeigt den Studienablauf pro Teilnehmer/in. Die Endpunkte waren biochemische Laborparameter, die zum Teilnahmestart (M0), nach 3 Monaten (M3), und nach 6 Monaten (M6) bestimmt wurden.

Drei Monate (Zeitpunkt M3) nach der Basisuntersuchung fand im Studienzentrum der Besuch-2 statt. Die Teilnehmer/innen erschienen im Studienzentrum zur Blutabnahme und erhielten die Substanz für die Einnahme in den folgenden drei Monaten. Nach insgesamt sechs Monaten (Zeitpunkt M6) fand der Abschlussbesuch und die dritte Blutabnahme statt.

Um die Teilnahmetreue der Studienteilnehmerinnen zu erhöhen, aber auch um Mängel im Studienablauf zu beheben, wurden die Studienteilnehmer während der Einnahmeperiode von 6 Monaten zwei Mal telefonisch kontaktiert. Dabei wurden allfällige unerwünschte Wirkungen, Ereignisse, und Erfahrungen der Teilnehmer während der Einnahmeperiode dokumentiert.

Die gesammelten Vorschläge zum Studienablauf wurden innerhalb des Studienteams diskutiert und, wenn es innerhalb der Regeln des Studienprotokolls lag, auch möglichst umgesetzt.

Prüfsubstanz

Verum

Die Verum-Prüfsubstanz war die Multivitamin-Spurenelemente-Komposition LaVita[®], welches aus Früchte, Gemüse, Kräuter, pflanzliche Öle, sauer vergorene Säfte, angereichert mit Mineralien und Spurenelementen hergestellt wird. Es beinhaltet pflanzliche Stoffe wie Enzyme, Aminosäuren, Mineralien, Spurenelemente, Vitamine, sowie Halbvitamine wie beispielsweise L-Carnitin und Coenzym Q10 (Ubichinon) und Omega-3-Fettsäuren (Tabelle 1).

Placebo

Die Kontrollsubstanz wurde aus Apfelsaftkonzentrat (30%), Orangensaftkonzentrat (40%), rote Rübe Konzentrat (10%) hergestellt; ein weiterer Inhaltsstoff waren 20% Fruktose und destilliertes (keimfreies) Wasser. Sie glich der Verum-Prüfsubstanz bezüglich Farbe, Geschmack und Konsistenz. Die tägliche Einnahme war natürlich gleich wie für das Verum: 10 ml (1 Esslöffel) wurden in einem Glas Wasser verrührt und zwei Mal täglich getrunken.

Erhobene Parameter

Wir erhoben Laborbefunde zu ausgewählten Inhaltsstoffen und Serumparameter, die mit Neurodegeneration assoziierbar sind. Beispielsweise wurden die antioxidative Kapazität und verschiedene metabolische Laborparameter zu drei Zeitpunkten [Start (M0), während (M3), und nach (M6) der Einnahmeperiode bestimmt (Tabelle 2).

Spezifische biochemische Parameter

Die Laboranalysen wurden durch die akreditierten Medizinlabors Endler (Wien, Österreich) und Labor Biovis (Limburg, Deutschland) mittels standardisierter und validierter Analysemethoden erhoben (Tabelle 2).

Datenverarbeitung und statistische

Analyse

Die jeweiligen Parameter zu den drei Besuchen (Start, M3, M6) wurden für jeden Teilnehmer in eine Datenbank übertragen. Die Dateneingabe erfolgte zweimal, von zwei Teams getrennt. Nach der zweimaligen Eingabe wurden die Werte des ersten Datensatzes vom zweiten Datensatz subtrahiert. Stimmen beide Eingaben überein muß als Ergebnis „0“ erscheinen, jede Abweichung zeigt zielsicher einen Eingabefehler an, der gemäß der original Laborbefunde korrigiert wurde. Die Vollständigkeit der elektronischen Datenbank wurde nach einem Abgleich mit der Studiendokumentation des Monitors festgestellt. Fehlende Laborprotokolle bzw. fehlende Parameter wurden eingefordert und nachgetragen.

Die Daten aus der Verum- und Placebo-Gruppe wurden mit dem Softwarepaket IBM-SPSS (Version 22) statistisch verglichen. Die Unterschiede zwischen Verum und Placebo zum Zeitpunkt „vor“, „während“ und „nach“ der Einnahme wurden mittels Students T-Test für unabhängige Stichproben analysiert. Die Parameterveränderungen bei den Teilnehmern während der ersten drei Monate, und der zweiten drei-Monatsphase wurden mit dem Students T-Test für gepaarte Daten analysiert. In einigen Fällen (wie bei den jeweiligen Tabellen und Abbildungen angegeben) waren

die Werte zu Teilnahmestart enorm gestreut. In dieser Situation wurde eine sogenannte ANCOVA durchgeführt. Dabei waren die Ausgangswerte (zum Teilnahmestart, Zeitpunkt M0) die Kovariable.

3 ERGEBNISSE

Studienteilnehmer (Probanden)

Die Alters- und Geschlechtsverteilung zwischen den Gruppen findet sich in Tabelle 3. Die Ausfallsrate pro Gruppe nach drei oder sechs Monaten (Mitte der Teilnahme, oder Ende der Teilnahme) ist in Tabelle 4 dargestellt.

Es gab keine Rückmeldungen von unerwünschten Nebeneffekten, auch nicht im Zuge der telefonischen Betreuung, weder in der Placebo- noch in der Verum-Gruppe. Kein Teilnehmer berichtete Symptome die auf eine allergische Reaktion auf eine Nahrungsmittelunverträglichkeit hinweisen.

Tabelle 5 zeigt, dass vor Teilnahmebeginn (Zeitpunkt M0) und vor Beginn der regulären Einnahme der Studiensubstanz die Randomisierung zwei vergleichbare Gruppen herstellte. Insbesondere beobachteten wir keine signifikanten Unterschiede in den Serumwerten der untersuchten Inhaltsstoffe, Homocystein, im Bereich des Lipidstoffwechsels, oder oxidative Status und andere Parameter die man mit neuronaler Gesundheit in Zusammenhang bringen könnte (Tabelle 5).

Gruppenvergleich

Nach drei Monaten erbrachte der Vergleich zwischen Placebo- und Verum-Gruppe deutliche Gruppen-Unterschiede. In der Verumgruppe war beispielsweise der Parameter Homocystein signifikant erniedrigt. Tabelle 6 zeigt die Analyse für die Inhaltsstoffe

Vitamin B12 und Coenzym Q10, sowie Parameter zum oxidativen Status oder Lipidstoffwechsel.

Nach 6 Monaten zeigte der Vergleich zwischen Placebo und Verum signifikante Unterschiede für Coenzym, Q10, und Superoxiddismutase (SOD). Der Homocysteinwert in der Verumgruppe war weiterhin signifikant niedriger als in der Placebogruppe. Tabelle 7 zeigt die Serumwerte für Vitamin B12 und Coenzym Q10 und zeigt den Status für oxidative Kapazität und Lipidstoffwechsel.

Bioverfügbarkeit

Um zu überprüfen, ob oder nicht, die Inhaltsstoffe der Prüfsubstanz im Magen-Darm-Trakt resorbiert werden, im Blut der Teilnehmer effektive Konzentrationen aufbauen, oder sogar toxische Konzentrationen erreichen, haben wir ausgewählte Inhaltsstoffe der Prüfsubstanz bei allen studienspezifischen Besuchen geprüft. Tabelle 8 zeigt die Serumkonzentrationen der ausgewählten Inhaltsstoffe zu Teilnahmebeginn, nach drei und nach sechs Monaten. Dabei wurden insbesondere die Vitamine B1, B6, B9, B12 und Vitamin H sowie Vitamin E und zusätzlich Coenzym Q10, Kupfer, Mangan und Zink bestimmt.

In der Verumgruppe war der Serumgehalt von Vitaminen am höchsten nach drei Monaten der Einnahme. Nach sechs Monaten lag die Mehrheit der Laborwerte zwar wieder unterhalb des Höchststandes aber mit nur einer Ausnahme, nach wie vor signifikant über dem Ausgangswert. Coenzym Q10 und Zink stiegen langsam während der gesamten sechs Monate der Studienteilnahme an (siehe Tabelle 8).

4 DISKUSSION

Verlauf

In der Placebogruppe kam es während der ersten drei Monate (zwischen M0 und M3) bei einem Parameter dazu, dass er sich mit statistischer Signifikanz ($p < 0,05$) veränderte. Während der zweiten drei Monate (zwischen M3 und M6) sowie über den gesamten Studienverlauf betrachtet war der Parameter nicht signifikant unterschiedlich. Somit ist es plausibel, dass dieser eine falsch positive Wert einem statistischen Typ 1 Fehler entspricht (siehe Tabelle 9).

Im Gegensatz zur Placebogruppe fanden sich nach der Verum-Einnahme die Mehrheit der Parameter statistisch signifikant verändert. Während der ersten drei-Monats-Periode waren 10 Parameteränderungen signifikant, während der zweiten Halbzeit (drei-Monats-Periode) veränderten sich noch einmal 9 Parameter statistisch signifikant. Nach der gesamten Teilnahmezeit, also nach sechs Monaten Therapie, waren 11 Parameter statistisch signifikant verändert (Tabelle 10).

Gleichzeitig mit dem Anstieg von Vitaminen sank Homocystein im Serum bereits nach drei Monaten signifikant und blieb während der gesamten Beobachtungszeit deutlich unterhalb der Ausgangswerte (Tabelle 10).

Die Einnahme der Verum-Studien substanz bewirkte den Anstieg der meisten Vitaminwerte bereits nach drei Monaten, um bis zum Ende der Beobachtungszeit hoch zu bleiben. Zink zeigte eine andere Dynamik. Der Anstieg erfolgte merklich langsamer. Erst nach der zweiten Beobachtungsperiode, also nach der gesamten sechs Monate dauernden Beobachtungszeit war Zink statistisch signifikant erhöht (Tabelle 10).

Die Blutanalysen vor, während, und nach der regulären Einnahme in der Verumgruppe zeigten das Potenzial für die neuroprotektive

Wirkung der Testsubstanz. Herrmann und Obeid (2011) kommen zum Schluss, dass Vitamin B Supplementation den Gehirnsabbau verlangsamt und einige Bereiche der kognitiven Funktionen sich verbessern. Die in dieser Studie beobachteten signifikanten Anstiege der B-Vitamine und von Coenzym Q10, sowie der antioxidativen Kapazität einerseits und andererseits das signifikant reduzierte Homocystein stützen diese Schlussfolgerung (Tabelle 6, Tabelle 7).

Sehr wahrscheinlich bewirkte der Anstieg des antioxidativ wirksamen Vitamin E und der hohe Serumgehalt von Coenzym Q10 den niedrigen Lipidperoxidation, den Anstieg der antioxidativen Kapazität, und die Änderungen von Nitrotyrosin die mit einer Verringerung der freien Sauerstoffradikale und nitrosativen Spezies einhergehen (Tabelle 10).

Eine Metaanalyse von Studien zur sekundären Prävention zeigte, dass Vitamin B Supplementation die Plasma Homocystein Belastung senkt, und stellte eine Tendenz zur Senkung von kardiovaskulären Zwischenfällen wie Schlaganfall fest (Herrmann & Obeid 2011). Folsäure ist ein wichtiger von extern zuzuführender Faktor für die Entwicklung des zentralen Nervensystems, es fördert die neuronale Stammzell-Proliferation und Differentiation (Zhang *et al.* 2009).

Nicht allein der beobachtete signifikante Anstieg der B-Vitamine begründet das neuroprotektive Potenzial, auch der Anstieg von Vitamin E spielt eine Rolle. Die Serumwerte von Vitamin E – einem starken Antioxidanz – nahmen in der Verumgruppe signifikant zu (Tabelle 8, Tabelle 10). Somit ist es gut vorstellbar, dass der Schutz von Lipidmembranen in den Mitochondrien ebenfalls zur postulierten neuroprotektiven Potenzialwirkung beiträgt (Shen & Ji 2012; Marin *et al.* 2014; Muthukumar *et al.* 2014; Lee *et al.* 2014; Haorah *et al.* 2013).

Coenzym Q10 war unter jenen Inhaltsstoffen die bereits nach drei Monaten Studienteilnahme signifikant erhöht. Der Serumgehalt von Coenzym Q10 blieb hoch bis zum Ende der Beobachtungsperiode (Tabelle 7, Tabelle 10). Coenzym Q10 blockt die Hochregulation von spezifischen Proteinen die mit oxidativen Stress in Neuronen assoziiert sind. Es verhindert Zelltod über die Verringerung der BAX-Proteinexpression oder alternativ durch Anstieg der pBAD Proteinexpression (Lee *et al.* 2014). Somit kann auch der beobachtete Anstieg von Coenzym Q10 in unseren Probanden das neuroprotektive Potenzial der Verum-Prüfsubstanz begründen.

Serumwerte von Kupfer und Mangan verhielten sich während der gesamten sechs Monate Beobachtungszeit relativ stabil. Zink hingegen stieg langsam, der Anstieg war erst nach der zweiten Hälfte der Studienteilnahme statistisch signifikant. Unter den metabolischen Veränderungen war es die antioxidative Kapazität (FORT), welche statistische Signifikanz erst nach sechs Monaten erreichte (Tabelle 10).

Homocystein, ein Biomarker für das Risiko für Neurodegeneration, ist eine neurotoxische Substanz mit Wirkung auf die mitochondriale Atemkette. In Tierversuchen wurde gezeigt, dass erhöhte Homocystein-Plasmaspiegel, die Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke erhöhen (Kamath *et al.* 2006), verantwortlich dafür sind proinflammatorische Prozesse (Hohsfield & Humpel 2010).

Nachdem die regelmäßige Einnahme der Verumprüfsubstanz einerseits die Serum Homocysteinspiegel signifikant reduzierte und andererseits das neuroprotektive Coenzym Q10, sowie die antioxidative Kapazität erhöhte, unterstreichen diese drei synergistischen Befunde zusammengenommen das postulierte neuroprotektive Potenzial der Prüfsubstanz.

Eine gestörte Balance zwischen der Entstehung und Elimination von Sauerstoffradikalen und

Stickstoffradikalen ist ein direkter Hinweis auf eine Dysfunktion der Blut-Hirn-Schranke oder neurodegenerative Vorgänge (Lehner *et al.* 2011). Antioxidantien vermitteln zwei neuroprotektive Wirkungen, entweder durch das Einfangen von freien Radikalen oder alternativ die Induktion von antioxidierend wirkenden Enzymen (Mancuso *et al.* 2012). Nachdem klinische Studien mit Patienten zeigten, dass neurodegenerative Erkrankungen mit oxidativem Stress mit entzündlichen Vorgängen gepaart sind (Gilgun-Sherki *et al.* 2003; Wang *et al.* 2014), sind die in unserer Studie gewählten spezifischen Serumparameter, wie beispielsweise Lipidperoxidation und antioxidative Kapazität, plausible Endpunkte.

Der signifikante Anstieg von Vitamin E in unserer Verumgruppe (Tabelle 8) unterstreicht das präventive Potenzial der getesteten Komposition. Unsere Schlussfolgerungen stehen im Einklang mit Befunden, dass ein Anstieg der antioxidativen Kapazität durch regelmäßige Einnahme von antioxidanzreichen Säften bewirkt werden kann (Diaz-Rubio *et al.* 2014).

Unterschiedlichste Befunde weisen auf die Rolle der mitochondrialen Dysfunktion hin. Darunter sind die Überproduktion von reaktiven Oxygenspezies (ROS), Ungleichgewicht zwischen oxidierenden und anti-oxidierenden Systemen, welche oxidative Störungen in Proteinen, oder alternativ in Lipiden und DNA hervorrufen, und eine wichtige Rolle in neurodegenerativen Prozessen und neuronalem Zelltod spielen (Gil-Mohapel *et al.* 2014). Die Kombination verschiedener Antioxidantien aus natürlichen Quellen dürfte bei diesen subzellulären Effekten eine wichtige Rolle spielen (Lopez-Erauskin *et al.* 2011).

Die B-Vitamine (Folsäure, Pyridoxin und Cobalamin) sind vermutlich die Hauptfaktoren für die Reduktion der mitochondrial-toxischen Homocysteinwerte in den zentralnervösen

Systemen. Die SOD reagierte kaum oder sehr langsam. Allerdings im Vergleich zu Placebo waren die Unterschiede nach drei Monaten grenzwertig signifikant (Tabelle 6). Nach sechs Monaten heben sich die Placebo-Werte von den Verum-Ergebnissen hinsichtlich der Serum SOD Werte hoch signifikant ab (Tabelle 7). Nachdem die SOD Aktivität mit der intrazellulären Peroxidgeneration sehr eng verbunden ist, kann die Kombination mit den neuroprotektiven B-Vitaminen und den lipidprotektiven Antioxidantien im Zentralnervensystem die mitochondriale Funktion stützen und dadurch das neuroprotektive Potenzial der Prüfsubstanz begründen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Wir haben das neuroprotektive Potenzial einer Multivitamin und Spurenelement-Komposition (LaVita®) in gesunden Freiwilligen ohne offensichtliche neurologische Symptome mittels einer prospektiven, randomisierten, doppelt verblindeten, Placebo kontrollierten Studie untersucht. Die quantitative Analyse von Blutparametern von beiden Gruppen (Verumgruppe und Kontrollgruppe) erbrachten eindeutige Hinweise auf den Mehrwert der Verum-Prüfsubstanz. Neuroprotektive Vitamine (Folsäure, Pyridoxin) und antioxidativ wirkende Inhaltsstoffe (Tocopherol) waren gegen Ende der Einnahme- und Beobachtungsphase signifikant erhöht. Die beobachtete Bioverfügbarkeit der Inhaltsstoffe und die metabolischen Veränderungen während der Studienteilnahme begründen das Potenzial der

Prüfsubstanz zur Prävention von neurodegenerativen Prozessen.

Aufgrund bekannter Pathomechanismen von neurodegenerativen Veränderungen zeigen unsere Ergebnisse, dass die Substitution mit Vitaminen und Spurenelementen aus natürlichen Quellen (wie in LaVita® enthalten) das Potential für die Prävention neurodegenerativer Prozesse begründet.

6 DANKSAGUNG

Das Studiendesign und die Manuskriptvorbereitung für diese Publikation wurde interaktiv mit Unterstützung der Firma SCIgenia Forschungssupport GmbH Wien (www.scigenia.com) durchgeführt. Die Studie wurde finanziert von der LaVita GmbH, Bayern, Deutschland. Die Studie wurde realisiert von der Internationalen Forschungsgruppe für angewandte Präventionsmedizin in Wien.

7 Tabellen

7.1 Inhaltstoffe

Tabelle 1, Inhaltstoffe der Verumprüfsubstanz

Inhaltsstoffe	Menge in 10 ml
beta Karotin	4000 µg
Vitamin B1	3 mg
Vitamin B2	2,5 mg
Viamine B3 (Niacine)	40 mg
Viamine B5	8 mg
Vitamin B6	4 mg
Vitamin B9 (Fol Säure)	400 µg
Vitamin B12	5 µg
Vitamin C	300 mg
Vitamin D	5 µg
Vitamin E	30 mg
Vitamin K	30 µg
Vitamin H (Biotin)	70 µg
Coenzym Q10 (Qu10)	5 mg
Calcium	7 mg
Chrom	15 µg
Kupfer	25 mg
Iod	25 µg
Eisen	4 mg
Magnesium	30 mg
Mangan	1 mg
Molybden	30 µg
Kalium	65 mg
Selen	35 µg
Zink	5 mg
L-Carnitin	30 mg
Tryptophan	Nicht bestimmt
Omega 3 Fettsäuren	30 mg

7.2 Labormethodik

Tabelle 2, Laborparameter, Analysemethode, Einheit, Physiologischer Bereich.

Parameter	Labor-Kürzel	Analyse-Methode	Einheit	Physiolog. Bereich
Vitamin B1	VITB1EB	HPLC	ug/l	35 - 99
Vitamin B6	VITB6E	HPLC	ng/ml	4,1 - 43,7
Folsäure Speicherstatus	FOLEBMOD, AltFolsex	Kompetitive Chemolumineszenz	ng/ml	280 - 800
Vitamin B12	ALT_VITB12C O	Electrochemilumineszenz Immunoassay, ECLIA	pg/ml	193 - 982
Biotin	BIOTIN	ELISA	ng/l	> 200
Vitamin E	VITE	ELISA	mg/l	5 - 20
Coenzym Q10	Q10	HPLC	mg/l	0,88 - 1,43
Cholesterol	CHOLB	Enzymatische Farbreaktion	mg/dl	< 200
HDL-Cholesterin	HDLB	Enzymatische Farbreaktion	mg/dl	M> 55, F>65
Chol/HDL Ratio	CHOLQ	Rechenwert	-	4 - 4,5
Homocystein	HOMO	Enzym recycling assay	umol/l	M:8 - 12; F:6-10
Superoxid-Dismutase	SUPERDIS	ELISA	ng/ml	3,9 - 39,8
Lipidperoxidation	LIPIDPEROX	Photometrie	mol/l	< 200
Kynurin	KYNURDBS	ELISA	ng/ml	300-400
Tryptophan (Trp)	TRYPTOAS	LCMS	mg/dl	1,2 - 1,8
Tryptophan	TRYPDBSEX_D BS	ELISA	mg/dl	8-14
Kyn/Tryp-Quotient	TRYPTKYNUR ENQRECH	Rechenwert	-	25-35
Nitrotyrosin	NITROYROSIN EP	ELISA	nmol/l	< 55

7.3 Altersverteilung der TeilnehmerInnen

Tabelle 3, Alter- und Gruppenverteilung der rekrutierten Freiwilligen in der Kontroll-Gruppe und Verumgruppe

Std – Standardabweichung (Streuung)

N - Anzahl der Personen in der Gruppe

M – Männliche Teilnehmer

W – Weibliche Teilnehmerinnen

	Placebo			Verum		
	Mittelwert Jahre	Std	N	Mittelwert Jahre	Std	N
M	48	15,4	11	40	16,5	46
W	45	15,6	32	44	14,1	70

7.4 Ausfallsrate

Tabelle 4, Teilnehmer und berechnete Drop out rate (Ausfallsrate) in den beiden Untersuchungsgruppen zu den drei Besuchszeitpunkten B1, B2, B3,

	Placebo		Verum		Teilnehmer
	Männl.	Weibl.	Männl.	Weibl.	Anzahl gesamt
B1, Start, M0	11	32	46	70	159
B2, Mitte, M3	10	30	44	67	151
B3, Ende, M6	10	26	41	65	142
Drop out Rate (%)	16,3		8,6%		10,7%

7.5 Ausgangswerte

Tabelle 5, Vergleichbarkeit der Gruppen. Laborparameter zu Teilnahmestart (vor der regelmäßigen Einnahme) in der Placebo- und Verumgruppe wurden verglichen (Students T-Test) es fanden sich keine tendenziellen oder gar signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen, als Hinweis dafür, dass die Randomisierungsprozedur zwei gut vergleichbare Gruppen bildete.

Mittel – Mittelwerte der Parameter zum Zeitpunkt

SEM- Standardfehler des Mittelwertes (Streuung)

N - Anzahl der analysierten Parameter in der Gruppe

P – Statistische Signifikanz des Unterschiedes zwischen den Gruppen

Besuch-1 (M0)	Placebo			Verum			P
	Mittel	SEM	N	Mittel	SEM	N	
Vitamin B12	532,14	50,23	40	445,34	18,36	112	,111
Coenzym Q10	1,28	0,16	40	1,10	0,05	112	,258
Cholesterin	203,56	6,29	43	202,16	3,73	116	,847
Chol/HDL ratio	2,98	0,16	43	3,17	0,13	116	,420
Homocystein (HCy)	12,42	0,63	43	11,62	0,32	116	,221
a-Oxidant., FORD	1,27	0,07	25	1,25	0,06	54	,773
a.-Ox.Cap., FORT	296,44	25,49	25	308,00	12,68	54	,651
Lipidperoxidation	291,05	60,82	40	282,27	33,43	110	,895
Nitrotyrosin	26,02	5,08	40	29,57	3,51	106	,586
SOD	3,68	0,18	40	3,90	0,38	112	,737

7.6 Zwischenanalyse nach drei Monaten (Zeitpunkt M3)

Tabelle 6. Gruppenunterschiede nach drei Monaten der regulären Einnahme (ANCOVA mit Ausgangswerten als Co-Variable). In der Verumgruppe waren Vitamin B12 und die antioxidative Kapazität (FORT) signifikant erhöht. Die Lipidperoxidation und die Superoxiddismutase waren geringer. Das Homocystein in der Verumgruppe war geringer (statistisch hoch signifikant, $P < 0,001$).

Mittel – Mittelwerte der Parameter zum Zeitpunkt

STD - Standardabweichung (Streuung)

N - Anzahl der analysierten Parameter in der Gruppe

P – Statistische Signifikanz des Unterschiedes zwischen den Gruppen

Besuch-2 (M3)	Placebo			Verum			P
	Mittel	STD	N	Mittel	STD	N	
Vitamin B12	528,21	293,88	39	535,99	214,24	112	,001
Coenzym Q10	1,53	1,10	39	1,51	0,82	112	,365
Cholesterol	200,30	35,23	40	201,84	37,37	112	,679
Chol/HDL ratio	3,10	1,01	40	3,23	1,30	112	,888
Homocystein (HCY)	11,77	5,47	39	9,40	2,60	112	,001
Antioxidants	1,35	0,49	25	1,24	0,41	53	,284
Anti-Ox. Cap. FORT	328,76	136,29	25	289,79	89,37	53	,049
Lipidperoxidation.	220,28	351,54	39	157,31	239,73	109	,214
Nitrotyrosine	34,29	45,48	40	36,96	38,76	105	,894
SOD	5,24	7,35	40	3,81	1,51	112	,050

7.7 Gruppenvergleich nach 6 Monaten

Tabelle 7, Gruppenvergleich nach 6 Monaten.

(ANCOVA mit Ausgangswerten als Co-Variable) Coenzym Q10 war in der Verumgruppe signifikant höher; Homocystein und SOD signifikant niedriger.

Mittel – Mittelwerte der Parameter zum Zeitpunkt

STD - Standardabweichung (Streuung)

N - Anzahl der analysierten Parameter in der Gruppe

P – Statistische Signifikanz des Unterschiedes zwischen den Gruppen

Besuch-3, (M6)	Placebo			Verum			P
	Mittel	STD	N	Mittel	STD	N	
Vitamin B12	557,17	361,55	36	512,32	203,71	107	,484
Coenzym Q10	1,24	0,53	36	1,55	0,67	107	,001
Cholesterol	197,94	38,68	36	202,58	38,22	107	,592
Chol/HDL ratio	2,94	1,12	36	3,07	1,14	107	,820
Homocystein (HCY)	12,08	6,04	36	9,95	2,69	107	,025
a-Oxyd. FORD	1,41	0,32	22	1,30	0,29	52	,188
a-Ox.Cap., FORT	348,23	127,49	22	370,69	98,46	52	,709
Lipidperoxidation	227,14	267,28	35	211,36	296,60	105	,549
Nitrotyrosine	25,04	46,49	36	26,47	34,61	101	,745

SOD	6,03	5,31	36	4,04	2,43	106	,003
-----	------	------	----	------	------	-----	-------------

7.8 Bioverfügbarkeit

Tabelle 8, Bioverfügbarkeit ausgewählter Inhaltstoffe, ausgehend vom Start (Zeitpunkt M0) stiegen - mit Ausnahme der Parameter Kupfer und Mangan - die Serumwerte nach drei Monaten (Besuch-2, M3) und verblieben auf hohem Niveau bis zum Ende der Beobachtungszeit nach sechs Monaten (Besuch-3, M6; T-Test f. gepaarte Stichproben).

	Besuch-1(M0), Start			Besuch-2 (M3) Mitte			Verlauf	Besuch-3 (M6) Ende			Verlauf
	Mittel	SEM	Anzahl	Mittel	SEM	Anzahl	M0-M3	Mittel	SEM	Anzahl	M0-M6
Vit B1	37,86	2,40	14	72,55	4,07	15	,000	43,39	2,15	29	,007
Vit B6	28,74	4,28	30	70,58	6,90	30	,000	61,37	8,86	29	,003
Fol Säure	348,20	19,21	30	404,83	19,50	30	,003	337,10	15,68	29	,496
Vit B12	445,34	18,36	112	535,99	20,24	112	,000	512,32	19,69	107	,000
Biotin	206,52	29,32	31	433,16	37,97	30	,000	317,03	37,29	29	,038
Vit E	12,24	0,52	30	15,67	0,91	30	,000	14,53	0,94	29	,009
Coenz.Q10	1,10	0,05	112	1,51	0,08	112	,000	1,55	0,06	107	,000
Kupfer	1,21	0,05	30	1,19	0,05	30	,399	1,16	0,05	30	,148
Mangan	8,51	0,42	30	8,70	0,40	30	,554	8,49	0,36	29	,814
Zink	6,43	0,17	30	6,60	0,18	30	,113	7,06	0,19	29	,000

7.9 Verlauf in der Placebogruppe

Tabelle 9, Veränderung der Parameter während der Studienteilnahme in der Placebogruppe. Nach drei Monaten und nach sechs Monaten fanden sich beim T-test für gepaarte Stichproben vereinzelte Veränderungen die Signifikanz erreichten, die allerdings am ehesten einem sogenannten statistischen Typ 1 Fehler entsprechen (zufällig positives Ergebnis, bei einer Vielzahl erhobener Parameter).

Mittlere Diff – Mittlere Parameterveränderung im Zeitraum

SEM- Standardfehler der Mittelwert-Differenzen (Streuung)

N - Anzahl der analysierten Parameterpaare

P – Statistische Signifikanz der Veränderungen

Parameter Änderungen	Von Start bis nach drei Monaten				Zwischen Monat 3 und Monat 6				Von Start zu Ende der Teilnahmen (6 Monate)			
	Mittlere Diff.	SEM	N	P	Mittlere Diff.	SEM	N	P	Mittlere Diff.	SEM	N	P
Placebo												
Vitamin B12	+10,43	21,30	39	,627	+10,73	38,70	36	,783	+ 29,00	45,72	36	,530
Coenzym Q10	+ 0,29	0,14	39	,043	- 0,33	0,18	36	,071	- 0,01	0,16	36	,953
Cholesterol	- 1,65	4,24	40	,699	- 0,22	4,16	36	,958	- 1,28	3,83	36	,741
Chol/HDL ratio	+ 0,10	0,12	40	,401	- 0,14	0,14	36	,324	+ 0,03	0,12	36	,822
Homocystein (HCY)	- 0,72	0,51	39	,166	+ 0,44	0,38	36	,249	- 0,50	0,57	36	,385
a-Oxid. FORD	+ 0,08	0,14	25	,558	+ 0,02	0,13	23	,864	+ 0,08	0,09	22	,415
a-Ox.Cap., FORT	32,32	21,35	25	,143	+ 43,35	12,03	23	,002	+ 64,32	18,39	22	,002
Lipidperoxidation	- 77,54	40,61	39	,064	+63,40	33,04	35	,063	- 19,43	25,80	35	,457

Nitrotyrosin	+ 8,28	3,64	40	,029	- 9,02	3,37	36	,011	+ 0,31	3,98	36	,939
SOD	+ 1,56	1,09	40	,160	+ 1,26	1,48	36	,399	+ 2,32	0,88	36	,013

7.10 Verlauf in der Verumgruppe

Tabelle 10, Parameterveränderungen in der Verumgruppe.

Veränderungen der Laborwerte ausgehend vom Teilnahme-Start; nach drei Monaten und nach sechs Monaten analysiert mittels des gepaarten Students T-Tests. In den Spalten „P“ bezeichnen die fett gedruckten Zahlen statistisch signifikante Parameterveränderungen. Nach der ersten drei-Monate-Periode, fanden sich 10 Parameter die statistisch signifikant verändert waren. Während der Anstieg der meisten Vitamine relativ rasch erfolgte um in der zweiten Hälfte der Beobachtungszeit (Monat 3 bis Monat 6) wieder etwas zu fallen, aber über dem Ausgangsniveau zu bleiben, erfolgte der Anstieg von Coenzym Q10 und Zink stetig über die gesamte Beobachtungszeit von sechs Monaten.

Mittlere Diff – Mittlere Parameterveränderung im Zeitraum

SEM- Standardfehler des Mittelwert-Differenzen (Streuung)

N - Anzahl der analysierten Parameterpaare

P – Statistische Signifikanz der Veränderungen

Parameter Änderungen	Von Start bis nach drei Monaten				Zwischen Monat 3 und Monat 6				Von Start zu Ende der Teilnahmen (6 Monate)			
	Mittlere Diff.	SEM	N	P	Mittlere Diff.	SEM	N	P	Mittlere Diff.	SEM	N	P
VitaminB1	+34,58	4,37	14	,000	-21,21	3,11	14	,000	+12,59	3,89	13	,007
VitaminB6	+41,84	7,98	30	,000	-10,93	8,84	29	,226	+32,18	9,92	29	,003
Fol Säure	+56,63	17,28	30	,003	-65,86	16,76	29	,001	-11,28	16,34	29	,496
VitaminB12	+90,65	10,44	112	,000	-23,41	12,31	107	,060	+67,86	11,93	107	,000
Biotin	+224,86	47,61	30	,000	-126,07	48,35	29	,014	+108,41	49,91	29	,038
Vitamin E	+3,43	0,64	30	,000	-1,24	0,84	29	,151	+2,29	0,81	29	,009
Coenzym Q10	+0,41	0,05	112	,000	+0,02	0,06	107	,718	+0,44	0,05	107	,000
Kupfer (Serum)	-0,02	0,02	30	,399	-0,01	0,02	29	,567	-0,03	0,02	29	,148
Mangan (Serum)	+0,19	0,31	30	,554	-0,14	0,25	29	,587	+0,07	0,29	29	,814
Zink (Serum)	+0,18	0,11	30	,113	+0,48	0,07	29	,000	+0,63	0,12	29	,000
Cholesterol	+0,29	2,54	112	,908	-0,19	2,26	107	,934	+0,36	2,59	107	,888
Chol/HDL ratio	+0,09	0,07	112	,234	-0,19	0,08	107	,028	-0,10	0,10	107	,282
Homocystein(HCY)	-2,17	0,29	112	,000	+0,50	0,22	107	,025	-1,48	0,23	107	,000
a-Oxidants,FORD	-0,02	0,08	53	,786	+0,08	0,07	53	,234	+0,04	0,07	52	,560
a-Ox.Cap.,FORT	-13,15	12,53	53	,299	+77,21	14,32	53	,000	+66,58	12,34	52	,000
Lipidperoxidat.	-113,80	27,20	109	,000	+52,18	20,41	107	,012	-61,00	32,12	105	,060
Nitrotyrosine	+7,61	4,34	105	,083	-10,24	3,27	107	,002	-2,95	3,27	101	,369
SOD	-0,08	0,40	112	,834	+0,19	0,25	106	,437	+0,18	0,47	106	,697

8 Figures

8.1 Abfolge der studienspezifischen Tätigkeiten

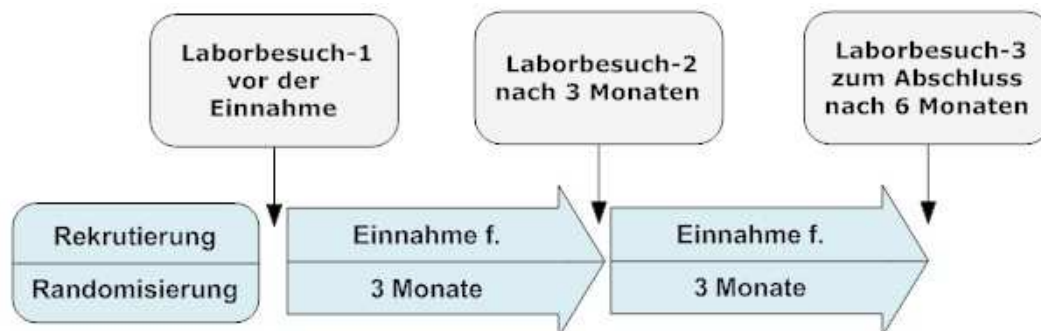


Figure 1, Abfolge der studienspezifischen Tätigkeiten.

8.2 Homocystein

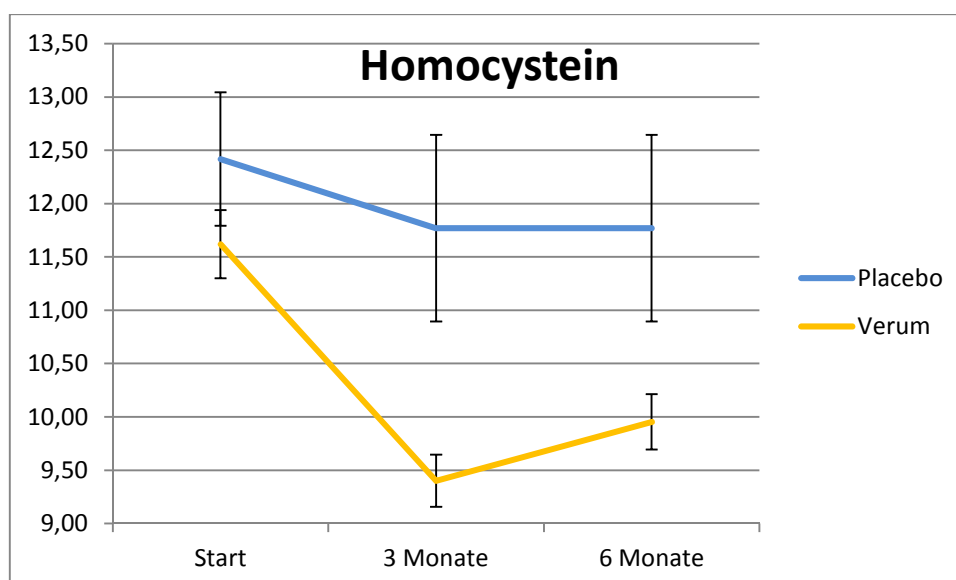


Figure 2, Einnahme von LaVita und Placebo, Mittelwerte und Streuung der Serum Homocystein Parameter. Nach drei Monaten der LaVita Einnahme war der Serumwert von Homocystein signifikant niedriger und verblieb niedrig bis zum Ende der Beobachtungszeit nach sechs Monaten.

9 Zitierte Literatur

1. Aliev G, Priyadarshini M, Reddy VP, Grieg NH, Kaminsky Y, Cacabelos R, Ashraf GM, Jabir NR, *et al.* (2014). Oxidative stress mediated mitochondrial and vascular lesions as markers in the pathogenesis of Alzheimer disease. *Current medicinal chemistry* **21**: 2208-2217.
2. Anchisi L, Dessi S, Pani A, Mandas A (2012). Cholesterol homeostasis: a key to prevent or slow down neurodegeneration. *Frontiers in physiology* **3**: 486.
3. Baluchnejadmojarad T, Roghani M (2013). Coenzyme q10 ameliorates neurodegeneration, mossy fiber sprouting, and oxidative stress in intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy in rat. *Journal of molecular neuroscience* : MN **49**: 194-201.
4. Bhadri N, Sanji T, Madakasira Guggilla H, Razdan R (2013). Amelioration of behavioural, biochemical, and neurophysiological deficits by combination of monosodium glutamate with resveratrol/alpha-lipoic acid/coenzyme Q10 in rat model of cisplatin-induced peripheral neuropathy. *TheScientificWorldJournal* **2013**: 565813.
5. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud C (2014). Antioxidant supplements and mortality. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* **17**: 40-44.
6. Caldwell CC, Yao J, Brinton RD (2014). Targeting the Prodromal Stage of Alzheimer's Disease: Bioenergetic and Mitochondrial Opportunities. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*.
7. Choi SI, Ju WK, Choi EK, Kim J, Lea HZ, Carp RI, Wisniewski HM, Kim YS (1998). Mitochondrial dysfunction induced by oxidative stress in the brains of hamsters infected with the 263 K scrapie agent. *Acta neuropathologica* **96**: 279-286.
8. Diaz-Rubio ME, Perez-Jimenez J, Martinez-Bartolome MA, Alvarez I, Saura-Calixto F (2014). Regular Consumption of an Antioxidant-rich Juice Improves Oxidative Status and Causes Metabolome Changes in Healthy Adults. *Plant foods for human nutrition*.
9. Enciu AM, Gherghiceanu M, Popescu BO (2013). Triggers and effectors of oxidative stress at blood-brain barrier level: relevance for brain ageing and neurodegeneration. *Oxidative medicine and cellular longevity* **2013**: 297512.
10. Gasparova Z, Janega P, Stara V, Ujhazy E (2012). Early and late stage of neurodegeneration induced by trimethyltin in hippocampus and cortex of male Wistar rats. *Neuro endocrinology letters* **33**: 689-696.
11. Gasparova Z, Stara V, Janega P, Navarova J, Sedlackova N, Mach M, Ujhazy E (2014). Pyridoindole antioxidant-induced preservation of rat hippocampal pyramidal cell number linked with reduction of oxidative stress yet without influence on cognitive deterioration in Alzheimer-like neurodegeneration. *Neuro endocrinology letters* **35**: 454-462.
12. Gil-Mohapel J, Brocardo PS, Christie BR (2014). The role of oxidative stress in Huntington's disease: are antioxidants good therapeutic candidates? *Current drug targets* **15**: 454-468.
13. Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D (2003). Antioxidant treatment in Alzheimer's disease: current state. *Journal of molecular neuroscience* : MN **21**: 1-11.
14. Gonzalez-Escamilla G, Atienza M, Garcia-Solis D, Cantero JL (2014). Cerebral and blood correlates of reduced functional connectivity in mild cognitive impairment. *Brain structure & function*.

15. Guallar E, Stranges S, Mulrow C, Appel LJ, Miller ER, 3rd (2013). Enough is enough: Stop wasting money on vitamin and mineral supplements. *Annals of internal medicine* **159**: 850-851.
16. Haorah J, Rump TJ, Xiong H (2013). Reduction of brain mitochondrial beta-oxidation impairs complex I and V in chronic alcohol intake: the underlying mechanism for neurodegeneration. *PloS one* **8**: e70833.
17. Herrmann W, Obeid R (2011). HCY : a biomarker in neurodegenerative diseases. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC* **49**: 435-441.
18. Hohsfield LA, Humpel C (2010). HCY enhances transmigration of rat monocytes through a brain capillary endothelial cell monolayer via ICAM-1. *Current neurovascular research* **7**: 192-200.
19. Kamath AF, Chauhan AK, Kisucka J, Dole VS, Loscalzo J, Handy DE, Wagner DD (2006). Elevated levels of HCY compromise blood-brain barrier integrity in mice. *Blood* **107**: 591-593.
20. Kruman, Ii, Culmsee C, Chan SL, Kruman Y, Guo Z, Penix L, Mattson MP (2000). HCY elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **20**: 6920-6926.
21. Kruman, Ii, Kumaravel TS, Lohani A, Pedersen WA, Cutler RG, Kruman Y, Haughey N, Lee J, *et al.* (2002). Folic acid deficiency and HCY impair DNA repair in hippocampal neurons and sensitize them to amyloid toxicity in experimental models of Alzheimer's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **22**: 1752-1762.
22. Lee D, Shim MS, Kim KY, Noh YH, Kim H, Kim SY, Weinreb RN, Ju WK (2014). Coenzyme Q10 inhibits glutamate excitotoxicity and oxidative stress-mediated mitochondrial alteration in a mouse model of glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science* **55**: 993-1005.
23. Lehner C, Gehwolf R, Tempfer H, Krizbai I, Hennig B, Bauer HC, Bauer H (2011). Oxidative stress and blood-brain barrier dysfunction under particular consideration of matrix metalloproteinases. *Antioxidants & redox signaling* **15**: 1305-1323.
24. Lopez-Erauskin J, Fourcade S, Galino J, Ruiz M, Schluter A, Naudi A, Jove M, Portero-Otin M, *et al.* (2011). Antioxidants halt axonal degeneration in a mouse model of X-adrenoleukodystrophy. *Annals of neurology* **70**: 84-92.
25. Maler JM, Seifert W, Huther G, Wiltfang J, Ruther E, Kornhuber J, Bleich S (2003). HCY induces cell death of rat astrocytes in vitro. *Neuroscience letters* **347**: 85-88.
26. Mancuso C, Barone E, Guido P, Miceli F, Di Domenico F, Perluigi M, Santangelo R, Preziosi P (2012). Inhibition of lipid peroxidation and protein oxidation by endogenous and exogenous antioxidants in rat brain microsomes in vitro. *Neuroscience letters* **518**: 101-105.
27. Marin T, Contreras P, Castro JF, Chamorro D, Balboa E, Bosch-Morato M, Munoz FJ, Alvarez AR, *et al.* (2014). Vitamin E dietary supplementation improves neurological symptoms and decreases c-Abl/p73 activation in Niemann-Pick C mice. *Nutrients* **6**: 3000-3017.
28. Mattson MP, Kruman, Ii, Duan W (2002). Folic acid and HCY in age-related disease. *Ageing research reviews* **1**: 95-111.
29. Muthukumar K, Leahy S, Harrison K, Sikorska M, Sandhu JK, Cohen J, Keshan C, Lopatin D, *et al.* (2014). Orally delivered water soluble Coenzyme Q10 (Ubisol-Q10) blocks on-

going neurodegeneration in rats exposed to paraquat: potential for therapeutic application in Parkinson's disease. *BMC neuroscience* **15**: 21.

30. Shen L, Ji HF (2012). Vitamin E: supplement versus diet in neurodegenerative diseases. *Trends in molecular medicine* **18**: 443-445.
31. Wang P, Xie K, Wang C, Bi J (2014). Oxidative stress induced by lipid peroxidation is related with inflammation of demyelination and neurodegeneration in multiple sclerosis. *European neurology* **72**: 249-254.
32. Zhang XM, Huang GW, Tian ZH, Ren DL, J XW (2009). Folate deficiency induces neural stem cell apoptosis by increasing HCY in vitro. *Journal of clinical biochemistry and nutrition* **45**: 14-19.