

Supplementierung (Zugabe) von wasserstoffreichem Wasser verbessert den Lipid- und Glukose-Metabolismus (Stoffwechsel) bei Patienten mit Typ-2-Diabetes oder beeinträchtigter Glukosetoleranz

Sizuo Kajiyama^{a,b}, Goji Hasegawa^{b,*}, Mai Asano^b, Hiroko Hosoda^b, Michiaki Fukui^b, Naoto Nakamura^b, Jo Kitawaki^c, Saeko Imai^{a,d}, Koji Nakano^e, Mitsuhiro Ohta^f, Tetsuo Adachi^g, Hiroshi Obayashi^h, Toshikazu Yoshikawa^b

^aKajiyama Clinic, Kyoto 615-0035, Japan

^bDepartment of Endocrinology and Metabolism, Kyoto Prefectural University of Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto 602-8566, Japan

^cDepartment of Obstetrics and Gynecology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto 602-8566, Japan

^dSchool of Comprehensive Rehabilitation, Osaka Prefecture University, Osaka 583-8555, Japan

^eYamashiro Public Hospital, Kyoto 619-0214, Japan

^fDepartment of Medical Biochemistry, Kobe Pharmaceutical University (MO), Kobe 658-8566, Japan

^gDepartment of Clinical Pharmaceutics, Gifu Pharmaceutical University (TA), Gifu 502-8585, Japan

^hInstitute of Bio-Response Informatics (HO), Kyoto 602-0845, Japan

Erhalten am 5. September 2007; überarbeitet am 26. Dezember 2007; angenommen am 17. Januar 2008

Zusammenfassung

Oxidativer Stress wird weitgehend mit verschiedenen Erkrankungen in Verbindung gebracht, einschließlich Diabetes, Bluthochdruck und Atherosklerose (Arteriosklerose). Es ist allgemein bekannt, dass Wasserstoff reduzierend wirkt. Wir untersuchten deshalb die Auswirkungen der Einnahme von wasserstoffreichem Wasser auf den Lipid- und Glukose-Metabolismus bei Patienten mit Typ-2-Diabetes mellitus (T2DM, die nicht primär insulinabhängige Variante) bzw. mit beeinträchtigter Glukosetoleranz (*Impaired Glucose Tolerance*, IGT). Wir unternahmen eine randomisierte, placebo-kontrollierte Crossover-Doppelblindstudie an 30 Patienten mit T2DM unter kontrollierter Ernährung und Bewegungstherapie sowie an 6 Patienten mit IGT. Die Patienten tranken für einen Zeitraum von 8 Wochen 900 ml wasserstoffreiches Wasser pro Tag bzw. Placebo-Wasser, gefolgt von einer 12-wöchigen Auswaschungsperiode. Mehrere verschiedene Biomarker für oxidativen Stress, Insulinresistenz und Glukose-Metabolismus mittels eines oral verabreichten Glukosetoleranz-Tests (OGTT) wurden zu Beginn der Untersuchung und nochmals nach 8 Wochen überprüft. Es ließ sich eine eindeutige Verbindung zwischen der Einnahme von wasserstoffreichem Wasser und signifikanten Verringerungen der Konzentration modifizierter Lipoproteine niedriger Dichte (LDL-Cholesterin) feststellen (d.h. Modifikationen, die die Nettonegativladung von LDL erhöhen), sowie eine Verringerung der Konzentration von kleinen und dichten LDL und urinalem 8-Isoprostan (ein Marker für oxidative Lipidschädigung) um jeweils 15,5% ($P > 0,01$), 5,7% ($P > 0,05$) bzw. 6,6% ($P > 0,05$). Es ließ sich ebenfalls eine eindeutige Verbindung zwischen der Einnahme von wasserstoffreichem Wasser und einer Verringerung der Serum-Konzentrationen von oxidiertem LDL und freien Fettsäuren sowie erhöhte Plasmakonzentrationen von Adiponectin (ein Peptidhormon, das in den Fettzellen bei Menschen und Tieren gebildet wird) und extrazellulärer Superoxid-Dismutase (SOD, ein Begriff für alle Enzyme, die Superoxid-Anionen, eine reaktive Sauerstoffspezies, zu Wasserstoffperoxid umwandeln) feststellen. Bei 4 von 6 Patienten mit IGT führte die Einnahme von wasserstoffreichem Wasser zu einer Normalisierung der Werte bei einem oralen Glukosetoleranz-Test. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass diese Ergebnisse nahelegen, dass eine Supplementierung (Zugabe, Ergänzung) von wasserstoffreichem Wasser eine vorteilhafte Rolle in der Prävention von T2DM und Insulinresistenz spielen kann.

Stichworte:

Wasserstoffreiches Wasser; Insulinresistenz; Typ-2-Diabetes mellitus; oxidativer Stress; modifizierte LDL; oxidierte LDL; Human

Abkürzungen:

BMI: Body Mass Index; EC-SOD: Extracellular Superoxide Dismutase, extrazelluläre Superoxid-Dismutase; ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ein standardisiertes immunologisches (antikörperbasiertes) Nachweisverfahren; emLDL: Net Electronegative Charge of Modified LDL, elektronegative Nettoladung modifizierter LDL; ERW: Electrolyzed-reduced Water (elektrolysiertes Wasser mit hohem negativem Redox-Potenzial); FBS: Fasting Blood Glucose, Nüchternblutzucker; HbA_{1c}: Hämoglobin A_{1c}; HDL-C: High-density Lipoprotein Cholesterol, Lipoprotein-Cholesterin hoher Dichte; hsCRP: High-sensitivity C-reactive Protein, hoch empfindliches C-reaktives Protein; IGT: Impaired Glucose Tolerance, beeinträchtigte Glukosetoleranz; IRI: Immunoreactive Insuline, immunreaktives Insulin; LDL-C: Low-density Lipoprotein Cholesterol, Lipoprotein-Cholesterin geringer Dichte; OGTT: Oral Glucose Tolerance Test, oraler Glukosetoleranz-Test; oxLDL: oxidized LDL, oxidiertes LDL; RLP-C: remnant-like Particle Cholesterol, überrestartedes Partikel-Cholesterin; ROS: Reactive Oxygen Species, reaktive Sauerstoffspezies; sdLDL: small dense LDL, kleine dichte LDL; T2DM: Type 2 Diabetes mellitus, Typ-2-Diabetes mellitus; u-IsoP: Urinary 8-Isoprostane, urinales 8-Isoprostan.

*Korrespondenz-Autor: Goji Hasegawa, Tel. +81 75 251 5505; Fax +81 75 252 3721,
E-Mail Adresse: goji@koto.kpu-m.ac.jp

1. Einführung

Die Verbreitung von Typ-2-Diabetes mellitus (T2DM) hat weltweit zugenommen und ist mittlerweile in vielen Teilen der Welt ein immer ernsthafter werdendes Problem der öffentlichen Gesundheit⁽¹⁾. In Japan sind nach jüngsten Schätzungen etwa 7 Millionen von T2DM betroffen; weitere 7 Millionen befinden sich in einer prädiabetischen Phase⁽²⁾. Ernährung und Lebensweise sind bei der Entwicklung von T2DM wichtige Risikofaktoren⁽³⁾.

Oxidativer Stress ist das Ergebnis eines Ungleichgewichts zwischen der Erzeugung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und der Aktivität der antioxidativen Schutz- und Abwehrsysteme⁽⁴⁾. Oxidativer Stress wird weitestgehend mit verschiedenen Erkrankungen in Verbindung gebracht, einschließlich Diabetes, Bluthochdruck und Arteriosklerose. Insulinresistenz erfährt nun erhöhte Beachtung, nicht nur als Vorstufe zu T2DM, sondern auch als Prädiktor (Variable zur Vorhersage eines Merkmals) für ein erhöhtes Risiko an Herz-Kreislauf-Erkrankungen⁽⁵⁾. Es liegen Berichte vor, wonach antioxidative Vitamine wie etwa Vitamin C und E positive Auswirkungen auf die glykämische Kontrolle (Glykämie: normaler Zuckergehalt des Blutes) haben, und zwar sowohl bei Menschen mit T2DM^(6,7) als auch bei Diabetes-Tiermodellen^(8,9). Shirahata et al.⁽¹⁰⁾ berichteten, dass elektrolysiertes Wasser mit einem hohen negativem Redox-Potenzial (ERW), einem hohen pH-Wert, einer hohen Konzentration an gelöstem Wasserstoff und einer niedrigen Konzentration an gelöstem Sauerstoff im Stande war, ROS zu binden und zu neutralisieren und somit die DNA vor Schädigungen durch oxidativen Stress zu schützen. Kim und Kim berichteten kürzlich, dass die Verabreichung von ERW bei in Tiermodellen induziertem Insulinmangel und Insulinresistenz zu einer verbesserten Blutzuckerkontrolle führte⁽¹¹⁾. Ein antidiabetischer Effekt von ERW bei Menschen konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. In jüngerer Vergangenheit berichteten Ohsawa et al., dass Wasserstoff als therapeutisches Antioxidans wirkt, indem es selektiv zellschädigende Sauerstoff-Radikale reduziert⁽¹²⁾. Diese Ergebnisse veranlassten uns zur Erwägung der Möglichkeit, dass wasserstoffreiches Wasser als therapeutisch wirksame Supplementierung von Nutzen sein kann. Wir stellten kürzlich reines, wasserstoffreiches Trinkwasser durch Lösung von Wasserstoffgas in Wasser her, das durch die folgenden drei Verfahren gereinigt worden war: (1) eine Umkehrosmose-Ultrafiltration; (2) ein Ionenaustauscher-Harz und (3) eine Ultrafiltrations-Membran.

In der vorliegenden Studie zur Untersuchung, ob eine Supplementierung mit wasserstoffreichem Wasser vorteilhafte Auswirkungen auf die Progression (Fortschreiten) von Diabetes und Insulinresistenz beim Menschen hat, nahmen wir bei Patienten mit schwach ausgeprägter T2DM oder beeinträchtigter Glukosetoleranz (IGT) nach Einnahme von wasserstoffreichem Wasser eine Messung des Lipid- und Glukose-Metabolismus sowie verschiedener Biomarker für oxidativen Stress und Insulinresistenz vor, einschließlich atherogener (Atherosklerose / Arteriosklerose hervorrufender) Lipoproteine und Adipocytokine (Cytokine: Proteine, die das Wachstum und die Differenzierung von Zellen regulieren). Die Untersuchungen wurden als randomisierte, placebo-kontrollierte Crossover-Doppelblindstudie durchgeführt.

2. Methoden und Materialien

2.1. Testpersonen

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Kyoto Prefectural University of Medicine genehmigt, und vor der Teilnahme an der Studie wurde von allen Testpersonen eine Einwilligungserklärung eingeholt. Wir führten die Studie mit 30 Patienten mit T2DM unter kontrollierter Ernährung und Bewegungstherapie sowie an 6 Patienten mit IGT durch [18 Männer und 18 Frauen im Alter von $58,6 \pm 4,7$ Jahren [durchschnittliche Standardabweichung]; Body Mass Index [BMI] $23,4 \pm 3,5$ kg/m² [durchschnittliche Standardabweichung], die die Diabetes-Kriterien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) erfüllten⁽¹³⁾. Die Pa-

tienten wurden von der Ambulanz der Kajiyama Clinic, Kyoto Prefectural University of Medicine Hospital, und vom Yamashiro Public Hospital für die Studie eingeschrieben. Die Ausschlusskriterien waren folgende: (1) weiß, dass er/sie seit ≥ 3 Jahren an Diabetes leidet; (2) mittlerer Hämoglobinwert A_{1c} (HbA_{1c}) in den letzten 6 Monaten $\geq 6,9\%$; (3) Serum-Creatinin-Konzentration ≥ 106 μ mol/l; (4) chronische Lebererkrankung oder eine Krankengeschichte und/oder Zeichen von Herz-Kreislauf-Erkrankung oder peripherer arterieller Verschlusskrankung; (5) starkes Rauchen und Trinken und (6) Nutzung eines Nahrungsergänzungsmittels und / oder einer antioxidativen Supplementierung im Zeitraum von 3 Monaten vor Beginn der Studie. Von den 36 Patienten erhielten 12 Patienten (33,3%) eine stabile Dosierung von Blutdruck senkenden Medikamenten, während 3 Patienten (8,3%) niedrig dosierte Arzneimittel zur Lipidsenkung erhielten. Während der Studie wurden an diesen Therapiemedikationen zur Blutdruck- und Lipidsenkung keine Veränderungen vorgenommen.

2.2. Studiendesign

Die Studie wurde als randomisierte, placebo-kontrollierte Crossover-Doppelblindstudie über zwei 8-wöchige Zeiträume durchgeführt, gefolgt von einer 12-wöchigen Auswaschungsperiode. Die Patienten nahmen für einen Zeitraum von 8 Wochen pro Tag 900 ml wasserstoffreiches Wasser bzw. 900 ml reines Placebo-Wasser zu sich, woran sich die 12-wöchige Auswaschungsperiode anschloss. Beide Arten von Wasser wurden in unbeschrifteten Aluminiumbeuteln mit einem Fassungsvermögen von je 300 ml zur Verfügung gestellt, die von der Firma I'rom Pharmaceutical Co Ltd (Tokio, Japan) bezogen wurden. Die folgenden Parameter wurden zu Beginn der Studie (0 Wochen) und nach 8 Wochen gemessen: Gesamt-Cholesterin, Lipoprotein-Cholesterin hoher Dichte (HDL-C), Lipoprotein-Cholesterin geringer Dichte (LDL-C), Triglyceride (Verbindungen aus Glycerin und organischen Säuremolekülen, sog. „Neutralfette“, deren erhöhte Werte ein Gesundheitsrisiko für Herz und Gefäße darstellen), nicht-veresterte Fettsäuren, Glukose, Insulin, HbA_{1c} , Nettonegativladung modifizierter LDL (emLDL), oxidierte LDL (oxLDL), kleine dichte LDL (sdLDL), überrestartiges Partikel-Cholesterin (RLP-C), Gesamt-Homocystein, Adiponectin, Leptin, Resistin, hoch empfindliches C-reaktives Protein (hsCRP), extrazelluläre Superoxid-Dismutase (EC-SOD) und 8-Isoprostano im Harn (u-IsoP). Außerdem wurde zu Beginn der Studie und nach 8 Wochen der Verabreichung von reinem wasserstoffreichem Wasser bei den 6 Patienten mit IGT ein oraler 75g Glukosetoleranz-Test (OGTT) durchgeführt.

2.3. Ernährung und Lebensweise

Alle Patienten wurden aufgefordert, einen Ernährungsplan einzuhalten, der von einem offiziell eingetragenen Ernährungsberater bzw. Arzt an ihre Energiebedürfnisse und Stoffwechseleinstellung angepasst war, wobei die zum Zeitpunkt der Studie geltenden Empfehlungen der Japan Diabetes Society herangezogen wurden. Die Patienten notierten ihre tägliche Nahrungsaufnahme in einem Tagebuch und verwendeten dabei die von der Japan Diabetes Society in ihrem Empfehlungshandbuch vorgegebenen Kalorien- und Lipid-Listen. Dieses diätetische Tagebuch wurde einmal pro Woche zur Analyse eingezogen, und in der darauf folgenden Woche wurde den Testpersonen das jeweilige wöchentliche Ergebnis mitgeteilt. Zusätzlich wurden die täglichen Aktivitäten und die körperliche Verfassung alle 4 Wochen in einer Checkliste festgehalten. In Abhängigkeit von den Ergebnissen prüfte der Arzt die gesundheitliche Verfassung des Patienten und gab ihm jeweils entsprechenden Rat.

2.4. Herstellung von wasserstoffreichem Wasser

Für die Herstellung des Placebo- bzw. Testwassers wurde Rohwasser in Trinkwasserqualität verwendet. Das Rohwasser wurde durch die folgenden drei Verfahren gereinigt: (1) eine Umkehrosmose-Ultrafiltration; (2) ein Ionenaustauscher-Harz und (3) eine Ultrafiltrations-Membran (Placebo-Wasser: pH $6,9 \pm 0,05$; elektrische Leitfähigkeit: $0,7 \pm 0,2 \mu\text{S/cm}$). Das Testwasser wurde durch direktes Einsprudeln von Wasserstoffgas in reines Wasser hergestellt. Das wasserstoffreiche Wasser wies die folgenden physikalischen Eigenschaften auf: pH $6,7 \pm 0,1$, niedrige elektrische Leitfähigkeit ($0,9 \pm 0,2 \mu\text{S/cm}$), hohe Konzentration an gelöstem Wasserstoff ($1,2 \pm 0,1 \text{ mg/l}$), niedrige Konzentration an gelöstem Sauerstoff ($0,8 \pm 0,2 \text{ mg/l}$) und ein extrem hohes negatives Redox-Potenzial ($-600 \pm 20 \text{ mV}$). Nach Einnahme von 300 ml dieses reinen wasserstoffreichen Wassers durch 10 gesunde, fastende erwachsene Freiwillige nahmen wir eine Messung der Atem-Wasserstoffkonzentration vor. Die Atem-Wasserstoffkonzentration erreichte nach 15 Minuten ein Maximum ($56,8 \pm 27,8 \text{ ppm}$) und sank dann nach 150 Minuten allmählich wieder auf das Ausgangsniveau ($11,2 \pm 6,5 \text{ ppm}$) ab.

2.5. Laboruntersuchungen

Nach einem nächtlichen Fasten wurden am nächsten Morgen Blut- und Urinproben genommen. Unter Verwendung der Glukoseoxidase-Methode wurde der Plasma-Glukosespiegel gemessen; die HbA_{1c}-Konzentration wurde mittels der Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (Arkray Inc, Kyoto, Japan) ermittelt, und der Serum-Insulinspiegel wurde mit einem immunoradiometrischem Assay (Insulin-RIAbead II; Abbott Japan, Tokio, Japan) gemessen. Die Konzentrationen des Gesamt-Serumcholesterins sowie an HDL-C, LDL-C, Triglyceriden und nicht-veresterten Fettsäuren wurden unter Verwendung enzymatischer Methoden mit einer chemischen Autoanalyse-Vorrichtung (Hitachi Co, Tokyo, Japan) gemessen.

Die emLDL wurde mittels eines Agarose-Gel-Elektrophorese Lipoprotein-Fraktionssystems (Methode zur Trennung, Identifizierung und Reinigung von linearen DNA-Fragmenten) nach Maßgaben des Herstellers (Chol/Trig Combo System; Helena Laboratories, Saitama, Japan) analysiert. Der relative Anteil an emLDL in den Serumproben wurde an einem Computer nach der folgenden Formel berechnet: emLDL-Dichte = $(b - a/a) \times 100\%$, wobei b die Migrationsdistanz der LDL-Fraktion in den Testproben und a die Migrationsdistanz der normalen Kontroll-Seren ist. Das RLP-C wurde mittels der Immunadhärenz-Methode (Anhaften von Immunkomplexen an Zellmembranen, eine Methode zum Nachweis von virusspezifischen oder zellspezifischen Antigenen auf oder in den Membranen von lebenden Zellen in vitro) (Japan Immunoresearch Laboratories Co, Ltd, Tokio, Japan) bestimmt⁽¹⁴⁾. Das sdLDL wurde im Überstand gemessen, der nach dem Heparin-Magnesium-Niederschlag verblieb, mit Lipoproteinen mit einer Dichte von $< 1,044$, was durch eine direkte homogene LDL-C-Analyse (Denka Seiken Co, Ltd, Tokio, Japan) ermittelt wurde, wie bereits von Hirano et al beschrieben⁽¹⁵⁾. Das Plasma ox-LDL wurde mit einem enzymgekoppelten Immun-Adsorptionstest-Kit (ELISA, Kyowa Medex Co, Ltd, Tokio, Japan) gemessen, das eine spezifische Bestimmung von oxLDL ermöglicht, und zwar unter Verwendung einer Kombination eines monoklonalen Antikörpers gegen oxLDL (FOH1a/DHL) und Anti-Apolipoprotein B-Antikörper, wie bereits von Itabe und Kollegen beschrieben^(16,17). Die Gesamt-Homocysteinkonzentration im Plasma wurde, wie schon anderswo beschrieben, mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie und Fluoreszenz-Detektion (zwei analytische Methoden der Chemie) gemessen⁽¹⁸⁾. Die Serumkonzentrationen von Leptin wurden durch Radioimmunoassay (Linco Research Inc, St Charles, MO; eine Labormethode zur quantitativen Bestimmung kleinster Substanzmengen) gemessen, und EC-SOD- sowie Resistin-Konzentrationen (Resistin: ein Peptidhormon, das vom Fettgewebe abgesondert wird) wurden mittels des ELISA-Verfahrens bestimmt, wie in unseren vorheri-

gen Berichten beschrieben^(19,20). Die ELISA-Methoden wurden auch verwendet, um die Serumkonzentrationen von Adiponectin (Otsuka Pharmaceutical, Tokio, Japan), hsCRP (Angiopharma, O'Fallon, MO) und u-IsoP (Cayman Chemicals, Ann Arbor, MI) nach Maßgaben des Herstellers zu ermitteln.

Die OGTTs wurden unter Verwendung einer 75g Glukose-äquivalenten Kohlenhydratlaster (Trelan G; Shimizu Pharmaceutical, Shimizu, Japan) durchgeführt. Die Testpersonen wurden folgendermaßen eingestuft: normale Glukosetoleranz, beeinträchtigte Nüchternglukose, beeinträchtigte Glukosetoleranz (IGT) bzw. T2DM, und zwar gemäß der 1998 revidierten diagnostischen Kriterien der Weltgesundheitsorganisation⁽¹³⁾.

2.6. Statistische Analyse

Alle Daten werden hier als „mean $\pm$ SD“ (durchschnittliche Standardabweichung) wiedergegeben. Eine Varianzanalyse mit Messwiederholungen wurde durchgeführt, um hinsichtlich der Veränderungen in der Wassereinnahme die Wechselbeziehung zwischen Gruppe und Zeit zu untersuchen. In dem Fall, dass die Wechselbeziehung signifikant war, wurde ein Paarvergleichst-Test mit zwei Stichproben und Bonferroni-Korrektur (ein Verfahren der mathematischen Statistik) für Vergleiche zwischen zwei Gruppen durchgeführt, um zeitabhängige Veränderungen der Messwerte innerhalb der jeweiligen Gruppe zu untersuchen.

Tabelle 1:

Veränderungen in den Konzentrationen der Plasmalipide, Lipoproteine, Glukose und Insulin nach Einnahme von reinem, wasserstoffreichem Wasser bzw. reinem Placebo-Wasser nach 8 Wochen bei Patienten mit T2DM bzw. IGT

	Hydrogen-rich water arm (n = 36)		Placebo water arm (n = 36)	
	0 wk	8 wk	0 wk	8 wk
Cholesterol				
Total (mmol/L)	5.52 ± 0.99	5.45 ± 0.87	5.49 ± 0.99	5.50 ± 0.92
HDL (mmol/L)	1.59 ± 0.38	1.63 ± 0.37	1.61 ± 0.36	1.60 ± 0.37
LDL (mmol/L)	3.43 ± 0.84	3.35 ± 0.73	3.42 ± 0.83	3.42 ± 0.78
sdLDL (mmol/L)	1.05 ± 0.25	$0.99 \pm 0.17^*$	1.05 ± 0.22	1.04 ± 0.27
RLPs ($\mu\text{mol/L}$)	111 ± 47	109 ± 41	110 ± 44	109 ± 44
Triacylglycerols (mmol/L)	11.5 ± 4.9	10.8 ± 4.0	11.1 ± 4.4	11.3 ± 4.4
Nonesterified fatty acids (mmol/L)	0.62 ± 0.21	0.58 ± 0.17	0.64 ± 0.17	0.62 ± 0.17
Electronegative charge-modified LDL (ecd)	8.4 ± 7.2	$7.1 \pm 5.6^{**}$	8.2 ± 6.0	8.0 ± 6.2
oxLDL (unit/mL)	13.0 ± 2.1	12.7 ± 1.7	13.0 ± 1.9	12.9 ± 2.2
Fasting glucose (mmol/L)	6.03 ± 0.48	5.99 ± 0.57	6.05 ± 0.44	6.03 ± 0.54
Fasting insulin (pmol/L)	28.0 ± 16.6	30.2 ± 15.0	28.3 ± 15.2	29.0 ± 15.5
HOMA-IR	1.26 ± 0.75	1.34 ± 0.68	1.27 ± 0.71	1.30 ± 0.75
HbA _{1c} (%)	6.0 ± 0.4	5.9 ± 0.5	6.0 ± 0.4	6.0 ± 0.5

Die Messwerte werden als durchschnittliche Standardabweichung wiedergegeben. Eine Varianzanalyse mit Messwiederholungen wurde durchgeführt, um hinsichtlich der Veränderungen in der Wassereinnahme die Wechselbeziehung zwischen Gruppe und Zeit zu untersuchen. In dem Fall, dass die Wechselbeziehung signifikant war, wurde ein Paarvergleichst-Test mit zwei Stichproben und Bonferroni-Korrektur für Vergleiche zwischen zwei Gruppen durchgeführt, um zeitabhängige Veränderungen der Messwerte innerhalb der jeweiligen Gruppe zu untersuchen. „HOMA-IR“ steht hier für „Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance Index“ (ein mathematisches Modell, das eine Berechnung der Insulinresistenz gestattet); ecd: „Electronegative Charge Density“ (negative elektrische Ladungsdichte).

* signifikant unterschiedlich zu Woche 0 ($P < 0,05$).

** signifikant unterschiedlich zu Woche 0 ($P < 0,01$).

Tabelle 2:

Veränderungen bei den Biomarkern für Insulinresistenz und oxidativen Stress, BMI und Blutdruck nach Einnahme von reinem wasserstoffreichem Wasser bzw. reinem Placebo-Wasser nach 8 Wochen.

	Hydrogen-rich water arm (n = 36)		Placebo water arm (n = 36)	
	0 wk	8 wk	0 wk	8 wk
Homocysteine (nmol/mL)	9.4 ± 3.7	8.9 ± 2.4	9.2 ± 3.2	9.1 ± 3.5
EC-SOD (ng/mL)	87.3 ± 8.5	88.7 ± 8.3	87.9 ± 7.7	87.0 ± 8.3
u-IsoP (pg/mg creatinine)	257 ± 154	240 ± 127*	260 ± 142	256 ± 158
Adiponectin (µg/mL)	6.3 ± 0.6	6.5 ± 0.6	6.4 ± 0.6	6.5 ± 0.5
Leptin (ng/mL)	5.4 ± 2.5	5.2 ± 2.3	5.5 ± 2.7	5.4 ± 2.5
Resistin (ng/mL)	5.3 ± 2.2	5.1 ± 2.0	5.3 ± 1.9	5.3 ± 1.8
hsCRP (ng/mL)	546 ± 312	541 ± 467	554 ± 359	564 ± 399
BMI (kg/m ²)	23.4 ± 3.3	23.5 ± 3.3	23.4 ± 3.4	23.5 ± 3.3
Systolic blood pressure (mm Hg)	119 ± 10	119 ± 8	119 ± 9	119 ± 9
Diastolic blood pressure (mm Hg)	70 ± 7	71 ± 6	71 ± 7	70 ± 9

Die Werte werden als durchschnittliche Standardabweichung wiedergegeben.

*signifikant unterschiedlich zu Woche 0 ($P < 0,05$).

Korrelationen wurden mittels der Pearson-Korrelationsanalyse bestimmt. Die statistischen Analysen wurden unter Verwendung der Stat View-Software, Version 5.0, (SAS Institute Inc, Cary, NC) durchgeführt. Ein P-Wert unterhalb von 0,05 wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3. Ergebnisse

3.1. Auswirkungen von wasserstoffreichem Wasser bzw. Placebo-Wasser auf die klinischen Parameter Glukose- und Lipid-Metabolismus

Die Mittelwerte der Lipid- / Lipoprotein-, Glukose-, Insulin- und HbA_{1c}-Konzentrationen im Blut zu Untersuchungsbeginn (0 Wochen) und am Ende einer jeden Wassereinnahme-Phase (d.h. nach 8 Wochen) werden in Tabelle 1 wiedergegeben. Die Konzentrationen von Serum-emLDL und sdLDL zeigten nach Einnahme von wasserstoffreichem Wasser einen signifikanten Rückgang (jeweils um 15,5%, $P < 0,01$ bzw. 5,7%, $P < 0,05$), wiesen jedoch keine signifikante Veränderung nach der Einnahme von reinem Placebo-Wasser auf. Die Einnahme von wasserstoffreichem Wasser führte zu einer Verringerung der oxLDL-Konzentrationen ($P = 0,0567$), wohingegen diese Werte nach Einnahme von Placebo-Wasser unverändert blieben. Keine signifikanten Auswirkungen durch die Einnahme von wasserstoffreichem bzw. Placebo-Wasser zeigten sich bei den Werten für Gesamt-Cholesterin, HDL-C, LDL-C, RLP-C, Triglyceriden bzw. nicht-veresterten Fettsäuren. Nüchternblutzucker (FBS), Nüchterninsulin, der „Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance Index“ sowie HbA_{1c}-Konzentrationen zeigten ebenfalls keine signifikanten Abweichungen durch die Einnahme beider Arten von Wasser.

Die Veränderungen bei den Biomarkern für Insulinresistenz, BMI und Blutdruck vor Untersuchungsbeginn und nach Einnahme von wasserstoffreichem Wasser bzw. reinem Placebo-Wasser über einen Zeitraum von 8 Wochen werden in Tabelle 2 wieder-

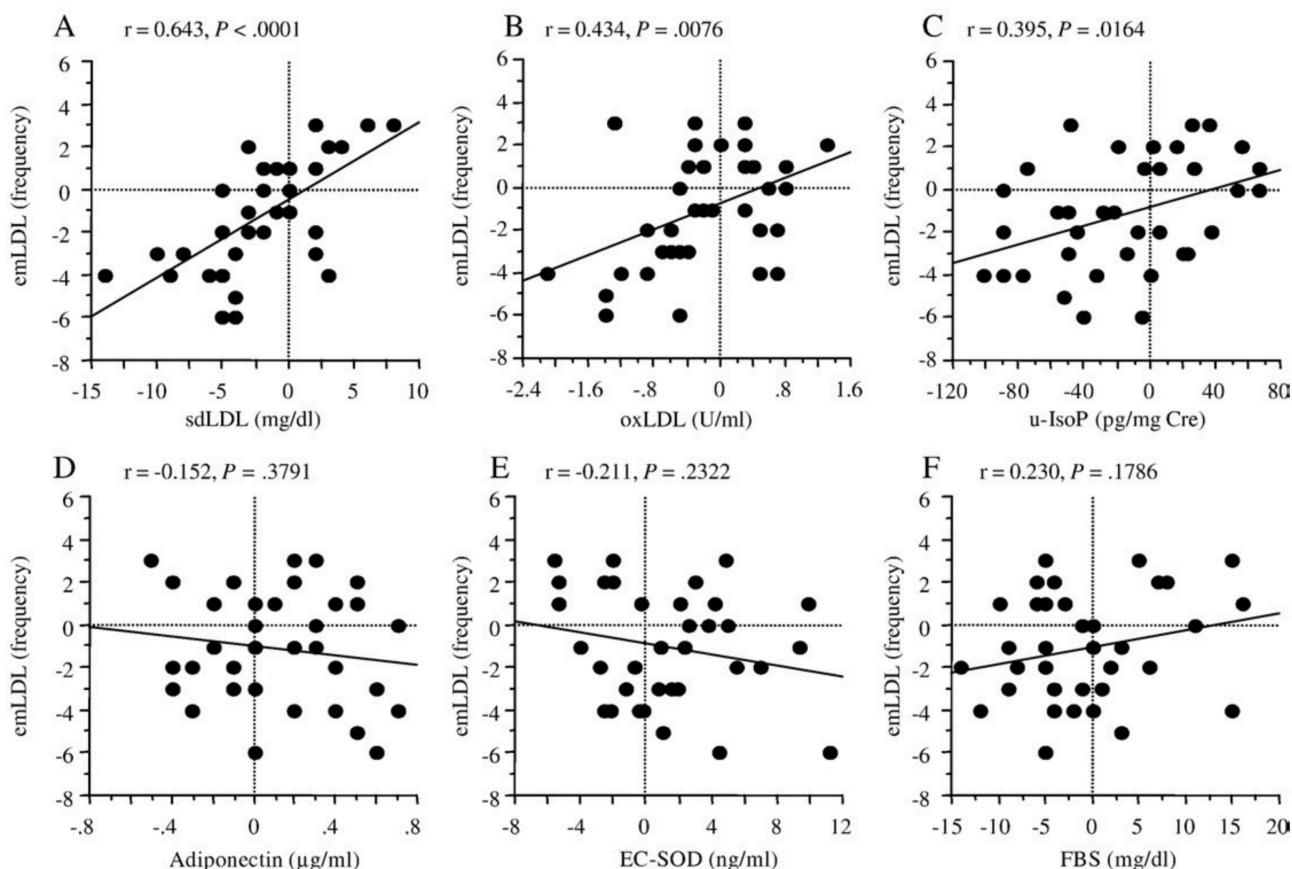


Abb. 1: Korrelation zwischen den Veränderungen der Konzentrationen bei (A) Serum-emLDL und sdLDL, (B) Serum-emLDL und oxLDL, (C) Serum-emLDL und u-IsoP, (D) Serum-emLDL und Adiponectin, (E) Serum-emLDL und EC-SOD und (F) Serum-emLDL und FBS nach Einnahme von wasserstoffreichem Wasser über einen Zeitraum von 8 Wochen bei Patienten mit T2DM bzw. IGT. Korrelationen wurden mittels der Pearson-Korrelationsanalysen bestimmt ($n = 36$).

Tabelle 3:

Veränderungen der Glukose- und Insulin-Konzentrationen während eines 75-g OGTT vor und nach der Einnahme von wasserstoffreichem Wasser über einen Zeitraum von 8 Wochen bei Patienten mit IGT

	0 min		30 min		60 min		120 min		$\Delta\text{IRI}/\Delta\text{BS}$ ratio
	Glucose (mmol/L)	Insulin (pmol/L)	Glucose (mmol/L)	Insulin (pmol/L)	Glucose (mmol/L)	Insulin (pmol/L)	Glucose (mmol/L)	Insulin (pmol/L)	
Case 1									
0 wk	6.00	22.8	9.27	127.0	11.81	433.2	9.33	399.0	0.30
8 wk	6.05	36.6	8.94	182.4	11.77	778.8	6.49	221.4	0.38
Case 2									
0 wk	5.82	10.8	11.32	42.0	15.03	97.2	8.66	175.8	0.06
8 wk	5.66	11.4	11.55	85.8	13.77	337.2	6.72	168.0	0.12
Case 3									
0 wk	5.61	12.6	9.05	29.4	10.29	93.0	8.94	163.2	0.05
8 wk	5.44	12.6	8.05	47.4	9.88	291.6	6.16	267.0	0.12
Case 4									
0 wk	6.05	62.4	9.60	256.4	10.66	600.6	8.33	594.6	0.51
8 wk	5.82	57.0	9.83	307.8	10.32	682.2	7.05	533.4	0.57
Case 5									
0 wk	5.82	23.4	9.49	152.8	12.16	255.6	10.21	195.6	0.33
8 wk	5.55	20.4	10.16	160.8	11.82	288.0	9.05	366.6	0.28
Case 6									
0 wk	5.16	16.2	10.10	178.6	12.82	141.0	10.66	108.0	0.30
8 wk	5.33	27.0	8.94	159.8	10.99	165.0	8.49	108.0	0.37

$\Delta\text{IRI}/\Delta\text{BS}$ wurden wie folgt berechnet: (Insulin nach 30 Minuten – Insulin nach 0 Minuten) / (Glukose nach 30 Minuten – Glukose nach 0 Minuten).

gegeben. Die mittlere u-IsoP-Konzentration zeigte nach der Einnahme von wasserstoffreichem Wasser eine signifikante Verringerung (6,6%, $P < 0,05$), was bei der Einnahme von reinem Placebo-Wasser nicht der Fall war. Die Supplementierung von wasserstoffreichem Wasser führte zu einer Erhöhung der Konzentrationen von EC-SOD und Adiponectin ($P = 0,0871$ bzw. $P = 0,0577$ respektive) im Serum, wohingegen die Einnahme von Placebo-Wasser keine Auswirkungen auf die Konzentrationen dieser beiden Variablen hatte. Auch bei den Serumkonzentrationen von Homocystein, Leptin, Resistin und hsCRP sowie auf BMI oder Blutdruck hatte die Einnahme von wasserstoffreichem bzw. reinem Placebo-Wasser keine signifikanten Auswirkungen. Als nächstes untersuchten wir das Verhältnis zwischen der Veränderung bei den emLDL-Konzentrationen und den Veränderungen bei den Werten für sdLDL, oxLDL, u-IsoP, Adiponectin, EC-SOD und FBS nach Einnahme von wasserstoffreichem Wasser über einen Zeitraum von 8 Wochen. Wie in Abb. 1 wiedergegeben, korrelierte die Veränderung bei der emLDL-Konzentration in signifikanter Weise mit den Veränderungen der Konzentrationen bei sdLDL ($r = 0,643$, $P < 0,0001$; Abb. 1A), oxLDL ($r = 0,434$, $P =$

0,0076; Abb. 1B) und u-IsoP ($r = 0,395$, $P = 0,0164$; Abb. 1C). Im Gegensatz dazu gab es keine Korrelation zwischen der Veränderung bei der emLDL-Konzentration und den Veränderungen der Konzentrationen bei Adiponectin ($r = -0,152$, $P = 0,3791$; Abb. 1D), EC-SOD ($r = -0,211$, $P = 0,2322$; Abb. 1E) bzw. FBS ($r = 0,230$, $P = 0,1786$; Abb. 1F).

3.2. Ergebnisse des oralen Glukosetoleranz-Tests („75-g OGTT“)

Die Ergebnisse des 75-g OGTT bei den 6 Patienten mit IGT vor und 8 Wochen nach der Einnahme von wasserstoffreichem Wasser werden in Tabelle 3 zusammengefasst. Von den 6 Patienten mit IGT zu Untersuchungsbeginn zeigten die Werte von 4 Testpersonen eine Rückkehr zu normaler Glukosetoleranz. Wie in Abb. 2 wiedergegeben, gab es nach der Supplementierung von wasserstoffreichem Wasser über einen Zeitraum von 8 Wochen einen signifikanten Rückgang der alle 2 Stunden gemessenen Plasma-Glukosewerte im Vergleich mit den Werten zu Untersuchungsbeginn ($9,36 \pm 0,91$ vs. $7,33 \pm 1,17$ mmol/l, $P = 0,0010$). Im Gegensatz dazu wiesen die einmal pro Stunde gemessenen

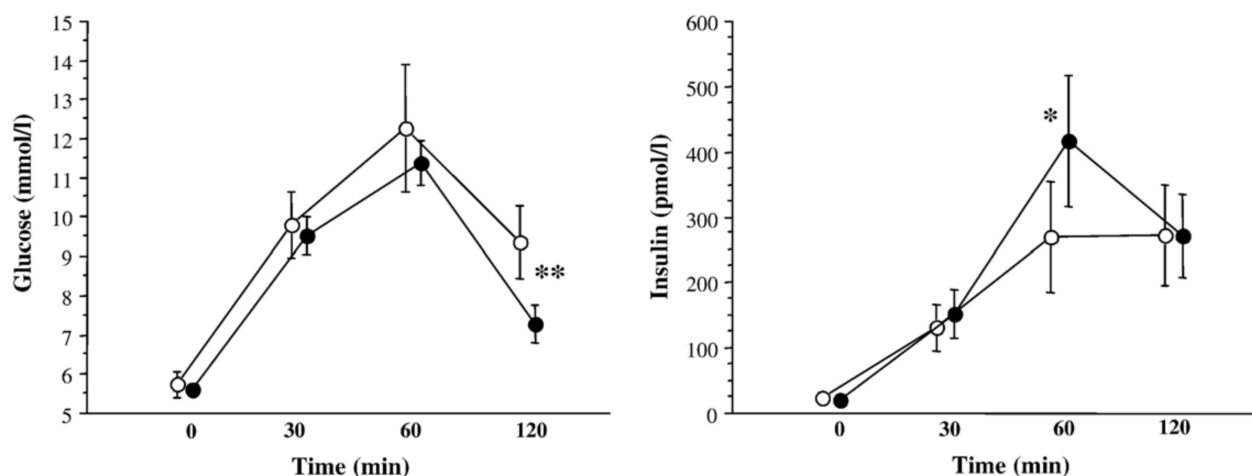


Abb. 2: Plasma-Glukose- und Insulin-Konzentrationen als Reaktion auf einen 75-g OGTT vor (○) und nach (●) Einnahme von wasserstoffreichem Wasser über einen Zeitraum von 8 Wochen bei 6 Patienten mit IGT. Die Werte werden als durchschnittliche Standardabweichung wiedergegeben.

* signifikant unterschiedlich zum Zeitpunkt vor der Einnahme von wasserstoffreichem Wasser ($P < 0,05$).

** signifikant unterschiedlich zum Zeitpunkt vor der Einnahme von wasserstoffreichem Wasser ($P < 0,01$).

Plasma-Insulinwerte eine signifikante Erhöhung im Vergleich zu Untersuchungsbeginn auf $(270,1 \pm 206,9$ vs. $423,8 \pm 246,2$ pmol/l, $P = 0,0329$). Keine signifikante Veränderung im Vergleich zu den Werten zu Untersuchungsbeginn zeigte sich beim insulinogenen Index ($\text{math. } \Delta\text{IRI}_{30 \text{ Minuten}} / \Delta\text{BS}_{30 \text{ Minuten}}$).

4. Diskussion

In dieser Studie haben wir erstmals nachgewiesen, dass die Einnahme von wasserstoffreichem Wasser über einen Zeitraum von 8 Wochen (900 ml/Tag) beim Menschen in signifikanten Verringerungen bei modifizierten LDL-Konzentrationen im Serum resultiert, insbesondere emLDL und u-IsoP. Zirkulierende LDL-Partikel weisen eine beträchtliche Heterogenität (Verschiedenartigkeit) hinsichtlich Dichte, Größe, chemischer Zusammensetzung und elektrischer Ladung auf der Oberfläche des Partikels auf⁽²¹⁾. Dieser Unterschied bei der elektrischen Ladungsdichte von LDL-Partikeln kann einen Einfluss auf den Lipid-Metabolismus ausüben. Die Erzeugung von LDL mit einer erhöhten Negativnettoladung als Ergebnis der Modifikation von Lysin-Resten durch Acetylierung, Carbamylierung, Glykierung, Glykoxidation oder Oxidation (Arten von oxidativen Prozessen) führten allesamt zu einer erhöhten Aufnahme durch Makrophagen über das „Scavenger-Rezeptor“-System („Straßenkehrer-Rezeptor“-System, das das LDL-Cholesterin abfängt)^(22–24). Es wird davon ausgegangen, dass diese Veränderungen die Schlüsselprozesse bei der Bildung von Schaumzellen darstellen – die das Kennzeichen frühzeitiger atherosklerotischer Läsionen (Verletzungen) sind. Obwohl die genauen Mechanismen dessen, wie wasserstoffreiches Wasser zu einer Verringerung der Konzentrationen von emLDL, sdLDL und u-IsoP führt, unklar bleiben, ist es doch gemeinhin bekannt, dass Wasserstoff ein Elektronenspende ist und deshalb eine hohe Reduktionsfähigkeit aufweist. Wir mutmaßen deshalb, dass Wasserstoff chemische Modifikationen von Serum-Lipoproteinen in der Plasmamembran unterbindet, die durch Glykoxidation, Oxidation und Lipid-Peroxidation verursacht werden. In dieser Studie haben wir nachgewiesen, dass Veränderungen in der Konzentration von emLDL nach Supplementierung von wasserstoffreichem Wasser in signifikanter Weise mit Veränderungen in den Konzentrationen von sdLDL, oxLDL und u-IsoP korrelieren. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine erhöhte Erzeugung von emLDL in engem Zusammenhang steht mit der Erhöhung der Konzentrationen von sdLDL, oxLDL und u-IsoP, und dass diese erhöhten Konzentrationen das Potenzial einer wechselseitigen Zunahme aufweisen. Es sind jedoch weitere Studien erforderlich, um die Regulation dieser Biomarker näher darzulegen.

Ein weiteres bemerkenswertes Ergebnis dieser Studie war die Beobachtung, dass eine Supplementierung mit wasserstoffreichem Wasser bei 4 von 6 Testpersonen mit IGT zu einer Normalisierung der Glukosetoleranz führte. Wir gehen davon aus, dass diese Normalisierung auf eine Erhöhung der Insulinsekretion (Insulinfreisetzung) nach der Glukose-äquivalenten Kohlenhydratlaster zurückzuführen war. Wir stellten die Hypothese auf, dass sich die postprandiale Hyperglykämie (ein starkes Ansteigen des Blutzuckers nach der Mahlzeit) bei Patienten mit T2DM ebenfalls verbesserte, obgleich solch eine Möglichkeit durch einen 75-g OGTT und / oder eine Testmahlzeit bekräftigt werden muss.

Es liegen Berichte vor, wonach Antioxidantien vorteilhafte Wirkungen bei diabetischen Mäusen ausüben, wobei die In-vivo-Funktion von β -Zellen erhalten blieb⁽⁹⁾. Aus einem kürzlich erschienenen Bericht von Kim und Kim⁽¹¹⁾ ging hervor, dass im T2DM-Maus-Modell die Verabreichung von elektrolysiertem reduziertem Wasser die Funktion der β -Inselzellen verbesserte, was zu einer erhöhten Freisetzung zirkulierender Insulins und ebenfalls zu einer verbesserten Insulinsensitivität, und zwar sowohl bei Typ 1- als auch Typ 2-Diabetes in beiden Maus-Modellen, führte. Die genauen Mechanismen, mittels derer die Supplementierung von Antioxidantien diese vorteilhaften Wirkungen auf die β -Zellfunktion bei Diabetes ausüben, sind äußerst komplex. Da Wasserstoff leicht die Zellmembran passieren kann,

kann die Einnahme von wasserstoffreichem Wasser Auswirkungen auf Prozesse im Zellinneren haben, wie etwa Schutz der DNA vor Schädigung durch ROS und somit eine Beeinflussung der Gentranskription (Genübertragung)⁽¹²⁾.

Schlussendlich konnten wir in dieser Studie auch nachweisen, dass eine Supplementierung mit wasserstoffreichem Wasser die Konzentrationen von Adiponectin und EC-SOD im Serum erhöhte, und zwar unabhängig von der emLDL-Konzentration im Serum. Man kann auch davon ausgehen, dass erhöhte Konzentrationen von Adiponectin und EC-SOD im Serum zu einer Verbesserung der Insulinresistenz beitragen könnten.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen erstmals, dass eine Supplementierung mit wasserstoffreichem Wasser beim Menschen vorteilhafte Auswirkungen auf den Lipid- und Glukose-Metabolismus hat. Auf der Grundlage dieser Ergebnisse kommen wir zu dem Schluss, dass eine ausreichende Versorgung mit wasserstoffreichem Wasser die Entwicklung und das Fortschreiten von T2DM und Insulinresistenz verhindern oder verzögern kann, indem es Schutz vor oxidativem Stress bietet. Da an dieser Studie jedoch nur eine kleine Anzahl von Testpersonen teilnahm, sollten ihre Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert werden. Eine angemessen konzipierte, groß angelegte, prospektive klinische Studie ist somit erforderlich, um unsere Untersuchungsergebnisse zu bestätigen.

Danksagung

Wir möchten hiermit Hiroshige Itakura (Ibaraki Christian University) für seine beratende und unterstützende Funktion herzlichst danken.

Quellenangaben

- (1) King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998;21:1414–31.
- (2) Akazawa Y, Akazawa S. Diabetes in Japan and the global burden of diabetes. *Nippon Rinsho* 2002;60(Suppl 8):93–102 [in Japanese].
- (3) Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001;345:790–7.
- (4) Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000;49(Suppl 1): 3–8.
- (5) Haffner SM. Secondary prevention of coronary heart disease: the role of fibric acids. *Circulation* 2000;102:2–4.
- (6) Paolisso G, Di Maro G, Pizzi G, D'Amore A, Sgambato S, Tesaro P, et al. Plasma GSH/GSSG affects Glukose homeostasis in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetics. *Am J Physiol* 1992;263 (Pt1):E435–40.
- (7) Paolisso G, Balbi V, Volpe C, Varricchio G, Gambardella A, Saccomanno F, et al. Metabolic benefits deriving from chronic vitamin C supplementation in aged non-insulin-dependent diabetics. *J Am Coll Nutr* 1995;14:387–92.
- (8) Kaneto H, Kajimoto Y, Miyagawa J, Matsuoka T, Fujitani Y, Umayahara Y, et al. Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against Glukose toxicity. *Diabetes* 1999;48:238–406.
- (9) Ihara Y, Yamada Y, Toyokuni S, Miyawaki K, Ban N, Adachi T, et al. Antioxidant alpha-tocopherol ameliorates glycemic control of GK rats, a model of type 2 diabetes. *FEBS Lett* 2000;473:24–6.
- (10) Shirahata S, Kabayama S, Nakano M, Miura T, Kusumoto K, Gotoh M, et al. Electrolyzed-reduced water scavenges active oxygen species and protects DNA from oxidative damage. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;234:269–74.
- (11) Kim MJ, Kim HK. Anti-diabetic effects of electrolyzed reduced water in streptozotocin-induced and genetic diabetic mice. *Life Sci* 2006;79: 2288–92.
- (12) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med* 2007;13: 688–94.
- (13) Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultati-

- fication of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15:539–53.
- (14) Nakajima K, Saito T, Tamura A, Suzuki M, Nakano T, Adachi M, et al. Cholesterol in remnant-like lipoproteins in human serum using monoclonal anti apo B-100 and anti apo A-I immunoaffinity mixed gels. *Clin Chim Acta* 1993;223:53–71.
 - (15) Hirano T, Ito Y, Saegusa H, Yoshino G. A novel and simple method for quantification of small, dense LDL. *J Lipid Res* 2003;44:2193–201.
 - (16) Itabe H, Takeshima E, Iwasaki H, Kimura J, Yoshida Y, Imanaka T, et al. A monoclonal antibody against oxidized lipoprotein recognizes foam cells in atherosclerotic lesions. Complex formation of oxidized phosphatidylcholines and polypeptides. *J Biol Chem* 1994;269:15274–9.
 - (17) Kohno H, Sueshige N, Oguri K, Izumitate H, Masunari T, Kawamura M, et al. Simple and practical sandwich-type enzyme immunoassay for human oxidatively modified low density lipoprotein using anti-oxidized phosphatidylcholine monoclonal antibody and antihuman apolipoprotein-B antibody. *Clin Biochem* 2000;33:243–53.
 - (18) Hasegawa G, Obayashi H, Kamiuchi K, Nakai M, Kanatsuna T, Yamaguchi M, et al. The association between end-stage diabetic nephropathy and methylenetetrahydrofolate reductase genotype with macroangiopathy in type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2003;111:132–8.
 - (19) Adachi T, Ohta H, Yamada H, Futenma A, Kato K, Hirano K. Quantitative analysis of extracellular-superoxide dismutase in serum and urine by ELISA with monoclonal antibody. *Clin Chim Acta* 1992;212:89–102.
 - (20) Fujinami A, Obayashi H, Ohta K, Ichimura T, Nishimura M, Matsui H, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2. *Clin Chim Acta* 2004;339:57–63.
 - (21) La Belle M, Blanche PJ, Krauss RM. Charge properties of low density lipoprotein subclasses. *J Lipid Res* 1997;38:690–700.
 - (22) Steinbrecher UP, Witztum JL, Parthasarathy S, Steinberg D. Decrease in reactive amino groups during oxidation or endothelial cell modification of LDL: correlation with changes in receptor-mediated catabolism. *Arteriosclerosis* 1987;7:135–43.
 - (23) Steinbrecher UP. Oxidation of human low density lipoprotein results in derivatization of lysine residues of apolipoprotein B by lipid peroxide decomposition products. *J Biol Chem* 1987;262:3603–8.
 - (24) Miyazaki A, Sakai M, Suginoara Y, Hakamata H, Sakamoto Y, Morikawa W, et al. Acetylated low density lipoprotein reduces its ligand activity for the scavenger receptor after interaction with reconstituted high density lipoprotein. *J Biol Chem* 1994;269: 5264–9.

© Copyright 2018 der deutschen Übersetzung by Andreas Zantop, Berlin
im Auftrag der Echo Germany GmbH, www.echo-h2.de

Urheberrecht:

"Weitergabe sowie Vervielfältigung dieses Dokuments, Verwertung und Mitteilung seines Inhalts sind verboten, soweit nicht ausdrücklich gestattet. Zuwiderhandlungen verpflichten zu Schadenersatz. Alle Rechte vorbehalten."

Der Autor ist bestrebt, in allen Publikationen die Urheberrechte der verwendeten Texte zu beachten, von ihm selbst erstellte Texte zu nutzen oder auf lizenzfreie Texte zurückzugreifen. Sollte sich auf den jeweiligen Seiten dennoch eine ungekennzeichnete, aber durch fremdes Copyright geschützte Grafik, oder Text befinden, so konnte das Copyright vom Autor nicht festgestellt werden. Im Falle einer solchen unbeabsichtigten Copyrightverletzung wird der Autor das entsprechende Objekt nach Benachrichtigung aus seiner Publikation entfernen bzw. mit dem entsprechenden Copyright kenntlich machen.

Englisch: "The copying, distribution and utilization of this document as well as the communication of its contents to others without expressed authorization is prohibited. Offenders will be held liable for the payment of damages.

All rights reserved."