

Food related antioxidants in oxidative stress

Citation for published version (APA):

van den Berg, R. (2001). *Food related antioxidants in oxidative stress*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20010629rb>

Document status and date:

Published: 01/01/2001

DOI:

[10.26481/dis.20010629rb](https://doi.org/10.26481/dis.20010629rb)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Free radicals, reactive oxygen-containing species (ROS) and reactive nitrogen-containing species (RNS) are an integral part of life and our metabolism. Actually, free radicals and ROS/RNS may be produced in our body deliberately to serve important biological functions, such as vasorelaxation or metabolism. However, they can also be damaging because they are extremely reactive and almost instantly attack molecules, e.g. lipids, proteins and DNA, which are in the immediate vicinity. In order to defend against damage from ROS/RNS, humans and other living organisms developed powerful and complex antioxidant systems. Components of these systems are antioxidants, a diverse group of molecules that protect key biological sites from oxidative damage by preventing the formation or scavenging of free radicals. A serious imbalance in radical production/scavenging is defined as oxidative stress. Oxidative stress has been implicated in the etiology of a wide variety of degenerative processes, including carcinogenesis, cardiovascular and inflammatory diseases, emphysema and cataract. For this reason, there has been strong interest in preventing oxidative stress and maintaining an antioxidant status that supports 'optimal' health. Although the interest in the use of antioxidants for treatment of human diseases, and in the role of dietary antioxidant in the prevention of disease is intensively investigated, paradoxical results accumulate. For example vitamin E supplements were protective against cardiovascular disease in the CHAOS study (Stephens et al. 1996), but not in the GISSI-Prevenzione trial (GISSI-Prevenzione Investigators 1999). Also, subjects consuming diets rich in fruits and vegetables apparently have a lower risk of getting cancer and an increased the concentration of β -carotene in the blood. Intervention with (high dose) β -carotene supplements, however, did not exert an anti-cancer effect, rather the opposite effect was found in smokers (Rowe 1996).

The rationale behind the work described in this thesis was to develop and evaluate methods to assess the total antioxidant capacity of food (products), including both the water- and lipid-soluble components. Next, to 'evaluate' these methods with respect to their prognostic value for 'in vivo' efficacy, i.e. to assess the relationship between the total antioxidant capacity of food products and the (plasma) antioxidant status, respectively, the effect on biomarkers of oxidative stress in subjects after consumption

of these products. In this project we especially focussed on the total antioxidant capacity (TEAC) assay to assess the total antioxidant capacity of food, and on the in vivo activation of the redox controlled transcription factor NF- κ B as a functional biomarker for oxidative stress. A prerequisite for achieving these objectives is the ability to measure accurately the antioxidant capacity of food, the antioxidant status and to assess oxidative stress in humans. Therefore, with regard to establishing effects of food on antioxidant status and oxidative stress in human we modified and evaluated the 'original' TEAC assay for assessment of the antioxidant capacity of food products (Chapter 2). In the original assay, ABTS radicals were generated in the presence of the test compounds, which might result in overestimation of 'true' antioxidant capacity due to interference with the radical-generating system rather than scavenging. In the modified assay ABTS radicals are generated separately before the test compound is introduced in the assay. However, for most antioxidants tested, a biphasic reaction pattern was seen, i.e. a fast and slow scavenging rate. We also found that the TEAC of phenolic compounds like quercetin depends on the concentration used in the assay, which complicates interpretations of the assay results. Several organic solvents, compatible with water, were tested with α -tocopherol, quercetin and β -carotene. It was found that the TEACs of these compounds differed in various solvents. However, under standardized conditions additivity of TEACs obtained from individual antioxidants could be demonstrated, which enables application of the assay for the identification of 'unknown' antioxidants.

To evaluate the predictive value of the TEAC, the antioxidant activity of a series structurally related flavonoids was compared in various in vitro assays, measuring the effect on hydroxyl scavenging, lipid peroxidation and doxorubicin-induced toxicity as typical scavenging or damage assays, respectively (Chapter 3). The flavonoids tested were monoHER (aromatic hydroxyl group at the 5, 3' and 4'-position), diHER (hydroxyl group at the 5 and 3'-position), triHER (hydroxyl group at the 5-position) tetraHER (no hydroxyl group) and triHEQ (hydroxyl group at the 5 and 3-position), differing in the number of aromatic hydroxyl groups. It was found that these compounds showed both a fast and slow scavenging effect in the TEAC assay. Therefore the 'fast' TEAC (at 10 seconds) and the 'total' TEAC (at 6 minutes) was determined. Both the 'total' and 'fast' TEAC were negatively correlated with hydroxyl radical scavenging. The 'total' TEAC showed a better correlation than the 'fast' TEAC with the inhibition of lipid peroxidation and the protection against doxorubicin-

induced toxicity. This indicates that beside the fast reaction of scavengers with the ABTS radical, also the slow reaction should be taken into consideration. It is concluded that the antioxidant capacity, assessed with the modified TEAC assay, can be useful to predict the *in vivo* antioxidant effect in a series of structurally related compounds.

In Chapter 4 the potential of NF- κ B activation as a biomarker of oxidative stress is discussed. The redox-controlled transcription factor NF- κ B has for some years been recognized as an important mediator in the regulation of the inflammatory genes and is likely to be involved in the pathophysiology of several diseases. Using the electromobility shift assay (EMSA) procedure as described in this chapter, measurement of NF- κ B offers the possibility to evaluate both the 'baseline' activation of NF- κ B in various pathologies, as well as the effect of antioxidants on NF- κ B activation. The nuclear activity of NF- κ B in clinical studies can be assessed in isolated human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). To compare results obtained from different studies, the assay has to be standardized. Using another transcription factor, such as the 'housekeeping' transcription factor *sp1*, as a standard has the advantage that also a correction for the loss of nuclear proteins during the isolation procedure can be made. However the activity of *sp1*, which is suggested to be continuously activated, was found to vary among different conditions/pathologies, which limits the use of *sp1* as a standard. Using a commercially available HeLa nuclear extract we did not encounter this problem. This nuclear extract can therefore serve as a control to check the EMSA, as well as a standard to relate the NF- κ B signal on separate gels. Our observations with EMSA using a macrophage cell line and in PBMC samples from healthy subjects suggested that NF- κ B activity, expressed as HeLa equivalents, could be used as a marker of oxidative stress.

In the study using patients with hepatitis C (Chapter 5), we evaluated the antioxidant action of glycyrrhizin by investigating the effect of 6 times/week 200 mg glycyrrhizin given as Stronger Neo-Minophagen C (SNMC). Fifteen patients with chronic hepatitis C received intravenously 6 times/week 200 mg glycyrrhizin for 4 weeks. The results of this study show that serum alanine amino transferase (ALT) and plasma malondialdehyde (MDA) levels significantly decreased after treatment with glycyrrhizin and increased, again, after the wash-out period. Plasma TEAC remained stable. NF- κ B activity, assessed in peripheral blood mononuclear cells, decreased after glycyrrhizin treatment, but did not increase after the wash-out period. The results

suggest that glycyrrhizin could act as a 'specific' antioxidant and that reduction of NF- κ B activation is, at least, partly involved in the mechanism of action.

In Chapter 6 we hypothesized that NF- κ B activation might also be involved in the pathological process of sarcoidosis. Therefore, twelve sarcoidosis patients, biopsy proven, and five healthy control subjects, all non-smokers, were studied. Mononuclear cell NF- κ B activity expressed per μ g protein was twice as high in both untreated (n=5) and treated (n=7) patients with sarcoidosis compared to the control subjects (p<0.001). In contrast, the serum angiotensin converting enzyme (sACE) level appeared to be low in the treated patients compared to the untreated patients (p<0.01). These results indicate that the inflammation in sarcoidosis is associated with NF- κ B activation. However, the suppression of the activated NF- κ B response by glucocorticoids seems less successful than the suppression of the sACE activity.

Chapter 7 describes a study in which the NF- κ B activity in peripheral blood mononuclear cells of smokers is compared to non-smokers. In this study, with 6 smokers and 10 non-smokers, we showed that NF- κ B activity in peripheral blood mononuclear cells of smokers compared to non-smokers is significantly higher in smokers. This suggested that NF- κ B is involved in cigarette smoke induced inflammatory responses and that NF- κ B activation might be used as a functional marker of oxidative stress.

To establish the relationship between the TEAC of food (products) and the potential effect on antioxidant status and markers of oxidative stress in humans, a volunteer study was performed (Chapter 8). The potential benefit of a high fruit and vegetable intake on the antioxidant status and on relevant biomarkers of oxidative damage to lipids, proteins and DNA and on (functional) markers of oxidative stress was evaluated. A randomized, free living, open, placebo-controlled cross-over trial of 3 weeks, with a two-week wash out period between both treatments, was performed in a group of male smokers with a relatively low usual vegetable/fruit intake. In the treatment period a vegetable burger containing the equivalent of approximately 500 g mixed 'fresh' vegetables (freeze-dried broccoli, tomato, carrot, red sweet pepper and onion) and a fruit drink containing a mixture of juice concentrates of orange, blueberry, apple, lemon and lime were used. Consumption of the vegetable burger and fruit drink did increase serum levels of vitamin C, α -carotene, β -carotene, β -cryptoxanthin, zeaxanthin and also plasma total antioxidant capacity (TEAC). However, no effect on any marker of oxidative damage to lipids (MDA, F₂-

isoprostane), proteins (carbonyls) and DNA (Comet assay) and (functional) markers of oxidative stress (GSH/GSSG ratio, GST α , GST π , NF- κ B) could be demonstrated. Apparently, these increased levels of antioxidants in serum were not sufficiently high to show beneficial changes with the selected biomarkers. Alternatively, oxidative stress in male smokers with a relatively low fruit and vegetable intake might have been still too low to demonstrate a beneficial effect of antioxidants.

In conclusion, the objectives from this project were to assess effects of food on antioxidant status and oxidative stress in humans and therefore the following questions were raised: (i) can the TEAC assay be used for assessment of the antioxidant capacity of food products (ii) can we establish a relationship between the TEAC of food (products), the antioxidant status and markers of oxidative stress in humans and (iii) can we use NF- κ B activation as a biomarker of oxidative stress.

The results of Chapter 2, 3 and 8 show that the TEAC assay can be used to assess antioxidant capacity of foodproducts, but its predicting value of an in vivo antioxidant effect is limited. Food products with a high TEAC can improve plasma antioxidant status, but there is, however, no relationship with an increased antioxidant status and an effect of any marker of oxidative stress. Results described in Chapter 4, 5, 6, 7 en 8 show that NF- κ B activation is increased in oxidative stress related processes and therefore might be used as functional biomarker of oxidative stress. However, no effect of antioxidant intervention was found with this marker, therefore more research is needed to 'validate' this marker and to fully unveil its role in oxidative stress related processes.

Vrije radicalen, reactieve zuurstof of stikstof species (ROS/RNS), hebben een belangrijke functie in het lichaam. Zo worden vrije radicalen in het lichaam gevormd bij belangrijke fysiologische processen, zoals de vaatwandfunctie (vasorelaxatie), bij immuunreacties en andere metabole omzettingen. Vrije radicalen kunnen ook echter schadelijk zijn wanneer ze in overmaat worden geproduceerd of onvoldoende snel geëlimineerd. Dit komt doordat de vrije radicalen zeer reactieve verbindingen zijn die schade kunnen aanrichten aan moleculen, zoals DNA, eiwitten en vetten, die in de directe nabijheid zijn. Om het lichaam tegen deze schade te beschermen beschikt de mens over een complex antioxidant beschermingsmechanisme. Antioxidanten vormen een belangrijk onderdeel van dit mechanisme en zijn een groep van verschillende moleculen die radicalen (ROS/RNS) wegvangen of de vorming van ROS/RNS kunnen voorkomen.

Oxidatieve stress is gedefinieerd als een verstoorde balans in productie van radicalen en bescherming door antioxidanten. Oxidatieve stress wordt in verband gebracht met het ontstaan van bepaalde degeneratieve ziektebeelden, zoals carcinogenese, hart- en vaatziekten, ontstekingsgerelateerde ziektebeelden, longemfyseem en staar. Voorkomen van oxidatieve stress, door in het lichaam een voldoende optimale antioxidant capaciteit beschikbaar te hebben, wordt wel gepropageerd als bescherming tegen het ontstaan van deze ziekten, maar de meningen zijn hierover verdeeld. Tegenstrijdige resultaten van verschillende studies met voeding of antioxidanten en het effect daarvan op bepaalde ziektebeelden zorgen ervoor dat het ultieme bewijs nog niet geleverd is. Bijvoorbeeld in een Britse studie (CHAOS studie), waarin vitamine E supplementen aan hartpatiënten gegeven werden kon een beschermende werking tegen hart- en vaat ziekten worden aangetoond, terwijl in een zelfde soort studie in Italië (GISSI studie) zo'n effect niet werd gevonden. Uit een ander onderzoek blijkt dat wanneer proefpersonen een groente en fruit rijk dieet volgen de β -caroteen concentratie in het bloed hoger is en geassocieerd met een kleinere kans om kanker te krijgen. Uit een interventie studie waarin rokers gedurende 5-8 jaar β -caroteen supplementen kregen toegediend, bleek dit beschermende effect er echter niet te zijn, in rokers werd zelfs een negatief effect aangetoond.

Het doel van het project, beschreven in dit proefschrift, was om enerzijds een methode te ontwikkelen waarmee de 'totale' antioxidant capaciteit van voeding/voedingsmiddelen (dus zowel wateroplosbare als vetoplosbare antioxidanten) bepaald kan worden. Daarnaast werd onderzocht of de 'in vitro' bepaalde totale antioxidant capaciteit (TEAC) van voedingsmiddelen een voorspellende waarde heeft ten aanzien van een 'in vivo' antioxidant effect, oftewel de relatie tussen de TEAC van voedingsmiddelen en de antioxidant status in plasma, tevens de relatie tussen de TEAC van voedingsmiddelen en het effect op markers van oxidatieve stress bij de mens.

In dit project hebben we ons vooral gericht op de 'Trolox equivalent antioxidant capaciteit' (TEAC) assay om de antioxidant capaciteit van voeding te meten en op de 'in vivo' activering van de reductie/oxidatie (redox) gereguleerde transcriptie factor 'nucleaire factor kappa B' (NF- κ B) als mogelijke functionele marker voor oxidatieve stress.

Om de TEAC van voedingsmiddelen nauwkeurig te kunnen bepalen, is de 'originele' TEAC assay aangepast (Hoofdstuk 2). In de originele methode worden radicalen in de aanwezigheid van de testcomponenten gegenereerd. De testcomponenten kunnen dan echter niet alleen de radicalen 'wegvangen' maar ook de aanmaak van radicalen remmen, wat tot een overschatting van de antioxidant capaciteit kan leiden. In de verbeterde TEAC assay worden de radicalen eerst gegenereerd en pas daarna worden de testcomponenten toegevoegd.

Bij de bepaling vertoonden bijna alle antioxidanten, behalve Trolox en vitamine E, een bifasisch effect, nl. een snelle en een langzame reactie. Bij fenolische componenten, zoals bijvoorbeeld quercetine, bleek de TEAC concentratie-afhankelijk te zijn. Tevens bleek dat voor vet-oplosbare componenten, zoals β -caroteen, de TEAC afhankelijk was van het gebruikte oplosmiddel. Dit maakt interpretatie van de uitkomsten van de TEAC assay gecompliceerd. Om toch de antioxidant capaciteit van voedingsmiddelen te kunnen bepalen werd daarom ethanol gebruikt, waarin zowel wateroplosbare als vetoplosbare antioxidanten kunnen worden gesolubiliseerd. Onder gestandaardiseerde condities kon additiviteit van de TEAC van individuele antioxidanten aangetoond worden en kan de assay toepasbaar worden gemaakt voor het bepalen van de antioxidant capaciteit van voedingsmiddelen.

De voorspellende waarde van de TEAC assay werd vervolgens onderzocht door van vijf structuur-gerelateerde flavonoiden (steeds één aromatische hydroxylgroep

verschil) de TEAC te bepalen en vervolgens deze verbindingen in andere 'in vitro' assays te testen (Hoofdstuk 3). De andere testen waren de 'hydroxyl radicaal scavenging' assay, een 'lipidperoxidatie' assay als typische scavenging assays en de bescherming tegen doxorubicine geïnduceerde hart schade als typische schadeassay. De verschillende flavonoiden, met oplopende TEAC, hadden een tegengesteld effect in de hydroxyl radicaal scavenging assay. Zowel met de lipidperoxidatie assay als ten aanzien van de bescherming tegen doxorubicine geïnduceerde hart schade assay waren de flavonoiden met de hoogste TEAC ook de verbindingen die de meeste bescherming gaven tegen radicaal schade.

Hieruit werd geconcludeerd dat de TEAC assay gebruikt kan worden om het effect, van structuur-gerelateerde flavonoiden, in meer 'in vivo-achtige' assays te voorspellen.

De voorspellende waarde van de TEAC van voedingsmiddelen werd vervolgens bepaald met behulp van de redox-gereguleerde transcriptie factor NF- κ B. NF- κ B wordt beschouwd als een belangrijk factor in de regulatie van genen die betrokken zijn bij het ontstaan van ontstekingen en daarbij een rol hebben in het ontstaan van aan ontsteking gerelateerde ziektebeelden. De elektro mobiliteit shift assay (EMSA), beschreven in Hoofdstuk 4, is een methode waarmee de activering van NF- κ B in humane mono nucleaire bloedcellen (o.a. lymfocyten) gemeten kan worden. Op deze manier kan nu zowel basale activering van NF- κ B als het effect van antioxidant interventie op de NF- κ B activering bepaald worden.

Voor vergelijking van resultaten van verschillende (patiënten)studies is standaardisatie van de EMSA methode noodzakelijk. De 'huishoud' transcriptie factor sp1 is een transcriptie factor die geacht werd constant geactiveerd te zijn. Dit leek daarom een geschikte keuze voor standaardisatie. Echter, onder bepaalde condities bleek sp1 toch niet stabiel te zijn. Een commercieel verkrijgbaar celkernextract (van HeLa cellen) bleek wel als standaard gebruikt te kunnen worden, zodat de activering van NF- κ B gerelateerd kan worden aan een constante hoeveelheid kernextract. Op deze manier werd basale activering van NF- κ B in een macrofagencellijn bepaald alsmede de basale activering van NF- κ B in humane mononucleaire cellen (HMNC, o.a. lymfocyten) van gezonde personen. Op deze wijze kan de meting van NF- κ B activering in lymfocyten (HMNC), uitgedrukt in HeLa equivalenten, gebruikt worden als oxidatieve stress marker.

In een studie met hepatitis C patiënten (Hoofdstuk 5) is vervolgens het eventuele antioxidant effect van glycyrrhizine onderzocht. Vijftien patiënten kregen hiertoe gedurende 4 weken, 6 keer in de week 200 mg intraveneus glycyrrhizine toegediend. Als markers voor het ziektebeeld, plasma antioxidant status, lipidschade en functionele oxidatieve stress marker werden serum alanine amino transferase (sALT), een leverenzym dat een verhoogde activiteit heeft bij hepatitis C patiënten, plasma TEAC, plasma malondialdehyde (MDA) en activering van NF- κ B respectievelijk gemeten. Na 4 weken behandeling waren serum ALT en plasma MDA significant gedaald echter na de 'wash-out' periode waren ze weer op het uitgangsniveau. De TEAC van het plasma bleef onveranderd. Helaas waren er onvoldoende cellen om van alle patiënten de NF- κ B activering te bepalen. In drie hepatitis C patiënten was na 4 weken behandeling met 200 mg glycyrrhizine een daling in NF- κ B activering te zien, echter na de 'wash-out' periode waren de waarden nog steeds verlaagd. De resultaten van deze studie tonen aan dat glycyrrhizine een specifiek antioxidant effect heeft, maar dat NF- κ B activering een beperkte rol lijkt te spelen in dit ziekteproces.

Hoofdstuk 6 beschrijft een studie met sarcoidose patiënten (ontstekingen aan luchtwegen) waarbij verondersteld werd dat NF- κ B activering mogelijk een rol speelt in dit ziekteproces. Bij 12 sarcoidose patiënten en 5 'gezonde', niet rokende, controle personen werd de basale activering van NF- κ B door middel van de EMSA in lymfocyten (HMNC) bepaald. Van de 12 patiënten waren er 7 behandeld met glucocorticosteroiden en 5 onbehandeld. De activiteit van NF- κ B, uitgedrukt als HeLa equivalenten, was twee keer zo hoog in de sarcoidose patiënten, zowel behandeld als onbehandeld, in vergelijking met de controle personen ($p < 0.001$). Dit in tegenstelling tot de 'serum angiotensine convertende enzyme' (sACE) waarden, die als marker voor het ziektebeeld gebruikt wordt, waarvan de waarden wel lager waren na behandeling met corticosteroiden ($p < 0.01$). Hieruit kan geconcludeerd worden dat NF- κ B activering betrokken zou kunnen zijn in het ontstekingsproces van sarcoidose. De behandeling van sarcoidose patiënten met glucocorticosteroiden heeft alleen effect op de sACE waarden, niet op de NF- κ B activering.

In Hoofdstuk 7 wordt NF- κ B activering in lymfocyten (HMNC) van rokers vergeleken met niet-rokers. In de studie, met 6 rokers en 10 niet-rokers, werd een hogere activering in rokers vergeleken met de niet-rokers gevonden ($p < 0.05$). Deze resultaten tonen aan dat activering van NF- κ B in HMNC een rol zou kunnen spelen in

sigarettenrook geïnduceerde ontstekingsprocessen en dat NF- κ B activering gemeten met de EMSA als functionele oxidatieve stress marker gebruikt zou kunnen worden.

Hoofdstuk 8 beschrijft tenslotte een humane interventie studie waarin de relatie is onderzocht tussen voedingsmiddelen met een hoge TEAC en de antioxidant status van het plasma, respectievelijk de relatie met markers voor schade aan DNA, eiwitten en vetten en markers van oxidatieve stress. In deze studie kregen 22 rokers (die een relatief lage groente en fruit inname hadden) 3 weken lang, elke dag, een groenteburger en een fruitdrink of een controle burger en een controle drank. Na een 'wash-out' periode van 2 weken werd de behandeling omgedraaid, zodat alle proefpersonen zowel de groente/fruit producten als de controle producten kregen. De groenteburger bevatte broccoli, tomaten, wortelen, rode paprika en uien, de fruitdrink bevatte concentraten van sinaasappels, bosbessen, appels en citoen. Zowel de serum concentraties van vitamine C, α -caroteen, β -caroteen, β -cryptoxanthine, zeaxanthine als de totale antioxidant capaciteit (TEAC) van plasma waren significant verhoogd na consumptie van de groenteburger en de fruitdrink. Helaas kon geen enkel effect worden aangetoond van behandeling op de schademarkers (respectievelijk, MDA, F₂-isopropaan als lipidschade makers, carbonyls als eiwit schade marker en 'comets' als DNA schade marker), ook niet op de oxidatieve stress markers (gereduceerd/geoxideerd glutation ratio, glutation-S-transferase α en π en NF- κ B activering). Een verklaring waarom geen effect op deze markers werd gevonden is dat de verhoging van antioxidant concentraties niet hoog genoeg was om één van deze markers te kunnen beïnvloeden. Anderzijds is het ook mogelijk dat de mate van oxidatieve stress in rokers, met een relatief lage groente en fruit inname, niet hoog genoeg was om een positief effect van antioxidanten aan te kunnen tonen.

Conclusie: Doel van dit project was om het effect van voeding op de antioxidant status en op markers van oxidatieve stress bij de mens te bepalen. Hiertoe waren de volgende vraagstellingen geformuleerd: (i) kan de TEAC assay gebruikt worden om de totale antioxidant capaciteit van voeding te bepalen; (ii) kan een relatie worden vastgesteld tussen de TEAC van voedingsmiddelen, de antioxidant status en oxidatieve stress markers bij de mens; (iii) kan bepaling van de NF- κ B activiteit in lymfocyten (HMNC) gebruikt worden als oxidatieve stress biomarker.

De resultaten uit Hoofdstuk 2, 3 en 8 tonen aan dat de TEAC assay kan worden gebruikt voor het bepalen van antioxidant capaciteit van voedingsmiddelen. De voorspellende waarde voor een in vivo antioxidant effect is echter minimaal.

Producten met een hoge TEAC kunnen de antioxidant status verbeteren, maar er kon bij personen met een verondersteld verhoogde oxidatieve stress geen effect worden aangetoond op oxidatieve stress markers. Resultaten beschreven in de hoofdstukken 4, 5, 6, 7 en 8 tonen echter aan dat activering van NF- κ B verhoogd is bij patienten met aan oxidatieve stress gerelateerde ziektebeelden. In hoeverre activering van NF- κ B een voldoende valide marker is voor oxidatieve stress dient daarom nader te worden onderzocht.