

Einfluss von Nahrungspolyphenolen auf den Vitamin-E-Status

Studien in Modellen zunehmender Komplexität – vom physikalisch-chemischen Experiment zur Humanstudie

Jan Frank, Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde, Christian-Albrechts-Universität Kiel

Hohe Plasmaspiegel von α - oder γ -Tocopherol, den beiden vorherrschenden Vitamin-E-Formen im Organismus, korrelieren negativ mit dem Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen und Krebs. Die Nahrung enthält neben Vitamin E noch eine Vielzahl weiterer phenolischer Inhaltsstoffe, welche mit Vitamin E wechselwirken und somit Einfluss auf dessen Blut- und Gewebekonzentrationen und biologische Aktivität nehmen können. Diese Arbeit bietet einen Überblick über Untersuchungen zu möglichen Interaktionen von Nahrungspolyphenolen mit Vitamin E in Modellen zunehmender Komplexität.

Absorption und Verteilung von Vitamin E

Vitamin E als fettlösliches Vitamin verhält sich im Körper im Wesentlichen analog zu anderen Nahrungsfetten (für eine ausführliche Beschreibung siehe [2]). Es wird im Dünndarm absorbiert und erreicht als Bestandteil von *Chylomikronen* über die Lymphe den systemischen Blutkreislauf. Im Zuge des Lipoproteinmetabolismus kann Vitamin E von den Chylomikronen auf andere Lipoproteinklassen übertragen, von peripheren Geweben aufgenommen oder letztendlich zur Leber transportiert werden.

Bis zur Aufnahme in die Leber scheint es keine Unterschiede im Ausmaß der Absorption und des Transports der verschiedenen Vitamere zu geben [3]. Die Leber jedoch sezerniert vorwiegend α -Tocopherol mit *Lipoproteinen* ins Blut, während die übrigen Vitamere bevorzugt verstoffwechselt und über den Urin ausgeschieden werden [4]. Zu einem geringen Anteil können sowohl die Vitamere als auch deren Metabolite über die Galle ins Duodenum abgesondert werden. Der Abbau der Tocopherole und Tocotrienole zu wasserlöslichen Karboxyethylhydroxychroman (CEHC)-Metaboliten erfolgt über eine ω -Hydroxylierung der endständigen Methylgruppe der Seitenkette mit anschließender Verkürzung der Seitenkette um C2- oder C3-Einheiten durch Enzyme der β -Oxidation, analog zur β -Oxidation der Fett-

säuren. Zytochrom-P₄₅₀-Enzyme (CYP), im Besonderen die Isoformen CYP3A und CYP4F2, wurden als potenzielle Enzyme für die ω -Hydroxylierung der Seitenkette, dem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt beim Abbau von Vitamin E, identifiziert. Die für den Seitenkettenabbau verantwortlichen *Zytochrome* weisen eine deutlich höhere katalytische Aktivität für die Nicht- α -Tocopherole und die Tocotrienole als für α -Tocopherol auf [4, 5]. Die Blut- und Gewebespiegel von α -Tocopherol sind aufgrund des selektiven Abbaus der anderen Vitamere um ein vielfaches höher als z.B. die des γ -Tocopherols, dem nach α -Tocopherol quantitativ zweitwichtigsten Vitamer [6]. Darüber hinaus exprimieren Leberzellen ein α -Tocopherol-Transferprotein (α -TTP), welches eine wichtige Rolle beim intrazellulären Verkehr und der Sekretion von α -Tocopherol mit Lipoproteinen zu spielen scheint [7]. α -TTP bindet RRR- α -Tocopherol spezifisch und weist eine deutlich geringere Bindungsaktivität für alle übrigen Vitamere sowie die synthetischen (all rac) Stereoisomere von α -Tocopherol auf [8].

Biologische Funktionen von Vitamin E

Im Jahre 1922 entdeckten Herbert EVANS und Katherine BISHOP Vitamin E als einen für die erfolgreiche Fortpflanzung von Ratten unentbehrlichen Faktor „X“ [9]. In den darauf fol-

genden Jahren wurde eine große Zahl von Vitamin E-Mangelzuständen in verschiedenen Tierspezies beschrieben [10], eine spezifische biologische Funktion des Vitamins konnte allerdings nicht aufgedeckt werden. OLCOTT und EMERSON beschrieben 1937 in-vitro-Versuche zum Schutz von Fetten vor Oxidation und wiesen erstmals die antioxidativen Eigenschaften der Tocopherole nach [11].

Antioxidative Eigenschaften

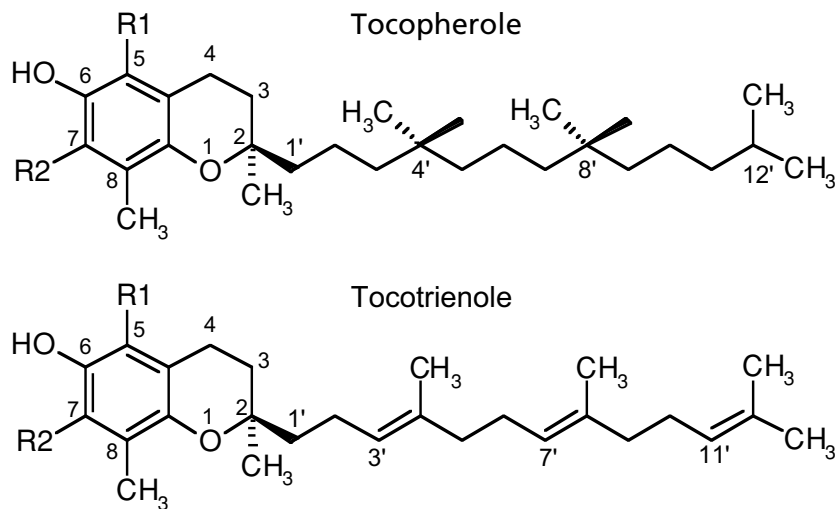
Es dauerte allerdings noch bis in die 1950er Jahre, bis die Aktivität des Vitamins als radikalkettenbrechendes Antioxidans mit seiner biologischen Funktion im tierischen Organismus in Verbindung gebracht wurde [12]. Seither wurde der Schutz von Makromolekülen und Zellbestandteilen (z.B. Membranlipide, DNS, LDL u.a.) vor oxidativer Zerstörung als die Hauptfunktion von Vitamin E angesehen.

In den darauf folgenden Jahrzehnten lag folglich der Schwerpunkt der Forschung auf der Aufklärung von Zusammenhängen zwischen der antioxidativen Aktivität von Vitamin E und deren Beitrag zur Erhaltung der Gesundheit sowie zur Prävention von Erkrankungen wie zum Beispiel Atherosklerose, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs. Anfang der 1980er Jahre wurde α -Tocopherol als wichtigstes fettlösliches Antioxidans im Blutplasma bestätigt [13].

Man geht davon aus, dass α -Tocopherol eine zentrale Rolle in einem antioxidativen Netzwerk spielt, welches den Körper vor oxidativer Schädigung schützt [14]. Laut diesem Konzept der sich gegenseitig regenerierenden Antioxidanzien, welches im Folgenden genauer beschrieben ist, stabilisiert α -Tocopherol ein freies Radikal durch Übertragung eines Wasserstoffatoms von der Hydroxylgruppe des Chromanrings. Das so an der Lipid-Wasser-Grenzfläche entstandene membrangebundene, reaktionsträge

Vitamin E – biochemische Grundlagen

Unter dem Begriff Vitamin E werden alle Stoffe mit der biologischen Wirkung von α -Tocopherol zusammengefasst. Die acht natürlich vorkommenden Substanzen mit Vitamin E-Aktivität (nachfolgend *Vitamere* genannt), die ausschließlich von photosynthetisch aktiven Organismen (also Pflanzen und Cyanobakterien) gebildet werden, bestehen aus einem Chromanring mit einer substituierten Hydroxylgruppe und einer gesättigten oder dreifach ungesättigten Seitenkette mit 16 Kohlenstoffatomen.



Die Vitamere mit gesättigter Seitenkette werden als Tocopherole und die mit ungesättigter Seitenkette als Tocotrienole bezeichnet. Abhängig von Anzahl und Position der am Chromanring substituierten Methylgruppen werden diesen Bezeichnungen die griechischen Buchstaben α , β , γ und δ als Präfix vorangestellt. Somit unterscheidet man nach Art der Seitenkette und der Methylgruppensubstituierung am Chromanring α -, β -, γ - und δ -Tocopherole und -Tocotrienole [1].

Die Seitenkette der Tocopherole weist 3 *Chiralitätszentren* an den Positionen 2, 4' und 8' auf, welche in R- oder S-Konfiguration vorliegen können. Somit ergeben sich für jedes Tocopherol 8 mögliche Stereoisomere (RRR, RSR, RRS, RSS, SRR, SSR, SRS und SSS).

Natürliche Tocopherole liegen ausschliesslich in RRR-Konfiguration vor. *Synthetisch hergestellte Tocopherole* liegen als äquimolares Gemisch aller 8 möglichen Stereoisomere, einem so genannten racemischen (kurz: all rac, vom Englischen „all racemic“) Gemisch, vor.

Name	R1	R2	Plasmakonzentrationen beim Menschen	Vitamin E-Aktivität im Rattenmodell IE/mg ¹	Im Vergleich zu α -Tocopherol
α -Tocopherol	CH ₃	CH ₃	~25-32 μ M [21]	1,49	100
β -Tocopherol	CH ₃	H	~0,4 μ M [64]	0,75	50
γ -Tocopherol	H	CH ₃	~1,4-4,3 μ M [21]	0,15	10
δ -Tocopherol	H	H	~0,3 μ M [21]	0,05	3
α -Tocotrienol	CH ₃	CH ₃	n.d. ²	0,75	50
β -Tocotrienol	CH ₃	H	n.d. ²	0,08	5
γ -Tocotrienol	H	CH ₃	n.d. ²	?	?
δ -Tocotrienol	H	H	n.d. ²	?	?

¹Eine internationale Einheit (IE) ist definiert als die biologische Aktivität von 1 mg all rac- α -Tocopherylacetat.

²Tocotrienole sind im Humanblut gewöhnlich nicht detektierbar (n.d.). Selbst eine Supplementierung von Probanden mit 250 mg Tocotrienolen pro Tag für 8 Wochen erhöhte die nüchtern gemessenen Tocotrienol-Plasmakonzentrationen nicht über 1 μ M [73].

Tocopherylradikal kann dann von Ascorbinsäure im wässrigen Milieu reduziert und so zu α -Tocopherol regeneriert werden. Das entstandene Ascorbylradikal kann anschließend von antioxidativen Thiolen (z.B. Glutathion, Thioredoxin oder Dihydroliponsäure) oder Polyphenolen (z.B. Flavonoide) zur Ascorbinsäure regeneriert werden. Die Thiole selber werden schließlich durch Konvertierung von NAD(P)H+H⁺ zu NAD(P)H⁺ regeneriert [14].

Weitere Funktionen

Erst 1991 wurden auch biologische Funktionen von Vitamin E beschrieben (z.B. die Hemmung der Protein-Kinase C), die spezifisch für α -Tocopherol, jedoch unabhängig von dessen antioxidativer Kapazität sind [15], und eine *Beteiligung des Vitamins an Zellsignalkaskaden* nahelegen. Weiterhin konnte in Zellkulturstudien nachgewiesen werden, dass Vitamin E die Zelladhäsion, die Aggregation von Blutplättchen, die Proliferation von glatten Muskelzellen sowie Entzündungsprozesse hemmen kann und dass diese Funktionen nicht durch dessen Redox-Eigenschaften vermittelt werden [14].

Mittlerweile konnte auch gezeigt werden, dass Vitamin E einen Einfluss auf die Expression verschiedener Gene auf Ebene der Transkription besitzt, wobei die verschiedenen Vitamere zum Teil unterschiedliche *genregulierende Aktivitäten* aufweisen [14]. Trotz dieser Vielzahl unterschiedlicher Funktionen, die Vitamin E im Körper zu erfüllen vermag, ist auch 85 Jahre nach der Entdeckung des Vitamins dessen *spezifische essenzielle Aufgabe nicht bekannt*.

Bedeutung von Vitamin E für die Prävention von Krankheiten

Eine Vielzahl von Erkrankungen wie z.B. Atherosklerose, Herzinfarkt, Schlaganfall, Krebs, Morbus Alzheimer, Diabetes mellitus Typ 1 und 2 und sogar Übergewicht werden mit einem erhöhten Auftreten von freien Radikalen in Verbindung gebracht; dabei ist noch ungeklärt, ob es sich bei oxidativem Stress um eine Ursache oder Folge dieser Krankheitsbilder handelt [16–18]. Man geht aber davon aus, dass Antioxidanzien wie Vitamin E bei der Prävention und Behandlung solcher Krankheiten förderlich sein können.

Abb. 1. Chemische Strukturformeln sowie Positionen der Methylgruppen der acht natürlich vorkommenden Vitamin E-Substanzen und ihre Plasmakonzentrationen beim Menschen sowie typische Vitamin E-Aktivitätswerte aus Rattenmodellen der fötalen Resorption.

Neben seiner Funktion als Radikalfänger könnten auch die nicht-antioxidativen Eigenschaften von Vitamin E, z.B. die Hemmung des Wachstums von Krebszellen oder der Aggregation von Blutplättchen, bei der Prävention und Behandlung der genannten Krankheiten eine wichtige Rolle spielen. Auf die Bedeutung von Vitamin E für die Prävention sämtlicher relevanter Krankheiten einzugehen, würde den Rahmen dieser Übersicht sprengen. Daher soll im Weiteren nur kurz auf die Zusammenhänge zwischen Vitamin E und den beiden häufig auftretenden Erkrankungskomplexen Atherosklerose und Krebs eingegangen werden.

Nach Ergebnissen verschiedener Modellsysteme ist α -Tocopherol in der Lage

(1) LDL-Partikel vor Oxidation zu schützen,

(2) die Expression von *Scavenger-Rezeptoren* (und somit die Aufnahme von oxidiertem LDL durch Makrophagen) sowie

(3) die *Proliferation* von glatten Muskelzellen zu hemmen und

(4) die *Plättchenadhäsion und -aggregation* zu vermindern.

(3) und (4) werden durch Inhibierung der Protein-Kinase-C-Aktivität vermittelt [19].

Auch γ -Tocopherol scheint eine wichtige Rolle bei der Atheroskleroseprävention zu spielen. So vermochte z.B. ein γ -tocopherolreiches Futter (mit Spuren anderer Vitamine) die eiseninduzierte Lipidperoxidation und die Entstehung von Blutgerinnseln in einem Rattenmodell deutlich stärker zu senken als ein mit α -Tocopherol angereichertes Futter [20]. Eine andere Arbeitsgruppe bestätigte diese Ergebnisse und äußerte die Vermutung, dass die Fähigkeit von γ -Tocopherol, reaktive Stickstoffspezies unschädlich zu machen (wozu α -Tocopherol aufgrund seiner Methylgruppe am C5 [vgl. Abb. 1] nicht in der Lage ist), diesem Effekt zugrunde liegen könnte. Diese Vermutung wurde durch das gleichzeitige Auftreten von Thromben und 5-Nitro- γ -Tocopherol im Blutkreislauf bestärkt [21]. In Übereinstimmung hiermit wurden niedrigere γ -Tocopherol-, nicht aber α -Tocopherolspiegel bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit oder Myokardinfarkt im Vergleich zu gesunden Probanden gefunden [22–25]. Hohe α -Tocopherolspiegel andererseits waren mit einem verminderten Risiko für ischämische Herzkrankheit assoziiert [26].

Prospektive Studien hingegen, welche die Aufklärung von Zusammenhängen zwischen der Pathophysiologie von kardiovaskulären Erkrankungen und der Aufnahme von α -Tocopherol zum Ziel hatten, ergaben zum Teil widersprüchliche Resultate [27] und lassen daher keine validen Empfehlungen bezüglich der Aufnahme von Vitamin E zur Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu.

Mögliche antikanzerogene Wirkungen

Obwohl bislang keine abschließenden Erkenntnisse aus Human-Interventionsstudien zur antikanzerogenen Wirkung von Vitamin E vorliegen, gibt es viel versprechende Daten die darauf hinweisen, dass eine Supplementierung mit α -Tocopherol bei Rauchern die Inzidenz und die Sterblichkeit aufgrund von Prostatakarzinomen verringern kann [28, 29]. Weiterhin deuten Beobachtungsstudien auf eine inverse Korrelation der Vitamin E-Plasmaspiegel, besonders von γ -Tocopherol, mit der Inzidenz von Prostatakrebs hin [30, 31]. Auch in vitro hemmte γ -Tocopherol das Wachstum von Prostata- und Kolonkrebiszellen deutlich stärker als α - oder β -Tocopherol [32, 33]. In einem ausführlichen Review der Literatur zur Schutzfunktion von Vitamin E bei Mammakarzinomen kommt SCHWENKE zu dem Schluss, dass nur wenig für eine protektive Wirkung des Vitamins bei dieser Krebsform spricht [34]. *Für die potenzielle antikanzerogene Wirkung von Vitamin E* wurden eine Reihe denkbarer Mechanismen vorgeschlagen. So könnte Vitamin E die DNS vor oxidativer Schädigung schützen, reaktive Stickstoffspezies abfangen (γ -Tocopherol), das Tumorzellwachstum durch Inhibierung der Zellteilung und Induktion der Apoptose hemmen sowie die Eliminierung von Krebszellen durch Stimulation des Immunsystems erhöhen.

Bedeutung der Blut- und Gewebespiegel von Vitamin E

Wie bereits erwähnt, scheint eine inverse Beziehung zwischen Vitamin E-Blood- und Gewebespiegeln und dem Auftreten und der Pathophysiologie verschiedener Erkrankungen zu bestehen. Eine Erhöhung der Vitamin-E-Spiegel könnte daher geeignet sein, bestimmten Krankheiten vorzubeugen und sich günstig auf deren Prognose auszuwirken. Andererseits gibt

es auch Hinweise darauf, dass eine hoch dosierte Zufuhr von α -Tocopherol zu einem marginal erhöhten Sterblichkeitsrisiko führen könnte [35, 36]. Diese Arbeiten sind allerdings aufgrund von methodischen Mängeln stark kritisiert und ihre Aussagekraft in Zweifel gezogen worden (z.B. in den Antworten auf die erstpublizierte Studie nachzulesen: www.annals.org/cgi/eletters/142/1/37). Darüber hinaus gibt es eine sehr große Zahl von Studien, welche die Unbedenklichkeit einer Aufnahme von Vitamin E in sehr hohen Dosen belegen [37]. Aufgrund der Verunsicherung, welche die beiden zitierten Studien bei den Verbrauchern hinterlassen haben, scheint es dennoch sinnvoll, auch alternative Strategien zur Erhöhung der Vitamin E-Konzentrationen anstelle einer Nahrungsergänzung zu erforschen.

Phenolische Nahrungsinhaltsstoffe

Außer Vitamin E enthält unsere Nahrung noch eine Vielzahl weiterer Klassen von phenolischen Substanzen. Der größte Teil der mit der Nahrung aufgenommenen Phenole stammt aus pflanzlichen Lebensmitteln, weshalb sie auch als Phytochemikalien oder *Polyphenole* bezeichnet werden [38]. Darüber hinaus werden besonders fettreichen Lebensmitteln oft synthetische Phenole als Konservierungsmittel zugesetzt [39].

Epidemiologische Studien belegen eine protektive Wirkung einer Kost mit einem hohen Anteil an Gemüse, Obst und Vollkorngetreide vor degenerativen Erkrankungen wie bestimmten Krebsarten, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Diabetes mellitus [40, 41]. In der Vergangenheit lag der Schwerpunkt der Forschung auf dem Zusammenhang von pflanzlichen Lebensmitteln oder sekundären Pflanzenstoffen mit der antioxidativen Abwehr, vor allem aufgrund der Verbindung von oxidativem Stress mit der Ätiologie von degenerativen Erkrankungen. So wurde vorgeschlagen, dass Polyphenole dank ihrer *Redoxpotenziale* endogene Antioxidanzien schützen oder regenerieren könnten, analog zum oben beschriebenen Recycling von Vitamin E durch Ascorbinsäure [42]. Für Phenolsäuren konnte z. B. gezeigt werden, dass sie in verschiedenen Modellsystemen als starke Antioxidanzien wirken, die Lipidoxidation hemmen, Vitamin E vor Oxidation schützen und Tocopheroxyradikale

wieder zu Tocopherol regenerieren können [43–48].

Nahrungspolyphenole: Eine Alternative zur Vitamin-E-Supplementierung?

Aufgrund der oben beschriebenen potenziellen Interaktionen von Nahrungspolyphenolen mit Vitamin E stellten wir die Hypothese auf, dass eine *Verbesserung des Vitamin-E-Status ohne Erhöhung der Vitamin-E-Zufuhr* möglich sein müsste, wenn man polyphenolreiche Lebensmittel oder deren isolierte bioaktive Substanzen simultan mit Vitamin E über die Nahrung aufnimmt.

Einfluss von Nahrungspolyphenolen auf den Vitamin-E-Status der Labormaus

Eine Reihe verschiedener Nahrungspolyphenole (Abb. 2), aus teilweise unterschiedlichen Klassen, wurde in dem beschriebenen Tiermodell (Infokasten) untersucht. Um die Ergebnisse der verschiedenen Studien trotz der unterschiedlichen Kontrollwerte miteinander vergleichen zu können, sind die in Abb. 3 gezeigten Ergebnisse als prozentualer Anstieg bzw. Abfall der α - und γ -Tocopherolkonzentrationen in den verschiedenen Geweben im Vergleich zur Kontrollgruppe dargestellt.

Nahrungspolyphenole mit Einfluss auf α -Tocopherolspiegel

Die vor allem im Grüntee reichlich vorhandenen Flavonoide (+)-Catechin und (-)-Epicatechin aus der Gruppe

Methodik

Um ein einfaches und standardisiertes Versuchsmodell zu gewährleisten, untersuchten wir die Wirkung isolierter phenolischer Substanzen, anstelle von komplexen Lebensmitteln, auf Vitamin-E-Spiegel in ausgewählten Geweben in der Labormaus. Als Kontrollfutter und als Basis für die Versuchsdiäten wurde ein halbsynthetisches Futter mit adäquatem Gehalt [49] an Vitamin E (α -Tocopherol: 19–25 mg/kg, γ -Tocopherol: 34–36 mg/kg) angemischt (für eine detaillierte Beschreibung des Futters siehe [50]). Die Testsubstanzen wurden dem Basisfutter in Konzentrationen von 0,1–0,4 Gew.-% beigemischt und das Experimental- bzw. Kontrollfutter über einen Zeitraum von vier Wochen an wachsende Sprague-Dawley-Ratten (Alter zu Versuchsbeginn: 21–23 Tage) verfüttert. Die vergleichsweise hohen Konzentrationen der Testsubstanzen, welche pharmakologische und nicht über die normale Kost erreichbare Dosen widerspiegeln, wurden gewählt, um potenzielle physiologische Reaktionen zu provozieren. Aufgrund der mit zunehmendem Alter ansteigenden Futteraufnahme der Ratten nahm die tägliche Zufuhr von α - und γ -Tocopherol im Laufe der Versuche von ca. 150 auf 450 mg respektive von 270 auf 650 mg zu. Die Gehalte von α - und γ -Tocopherol wurden im Blutplasma und Lebergewebe bestimmt.

der Flavanoide sind Stereoisomere, welche sich nur in der räumlichen Orientierung der Hydroxylgruppe am C-Ring (Abb. 2) unterscheiden. Das 2R,3R-Stereoisomer (-)-Epicatechin und das 2R,3S-Stereoisomer (+)-Catechin weisen vergleichbare antioxidative Aktivitäten auf [51] und erhöhten signifikant die Konzentrationen von α -Tocopherol im Plasma und in der Leber in unserem Rattenmodell (Abb. 3) [50, 52]. Auch bei Patienten mit chronischer Hepatitis führte die Gabe von hohen (+)-Catechindosen (3,0 g/Tag für 30 Tage gefolgt von 1,5 g/Tag für 60 Tage) zu einer Erhöhung der Serumkonzentrationen von Vitamin E um 52% [53].

Der Verzehr des Flavonols Quercetin führte in unserem Rattenmodell zu einem Anstieg der α -Tocopherolkonzentrationen in Plasma und Leber, vergleichbar mit dem durch (+)-Catechin

induzierten (Abb. 3) [52]. Auch eine andere Forschergruppe publizierte Ergebnisse, die belegen, dass schon die Aufnahme von geringen Quercetindosen (2 mg/Tag) über einen Zeitraum von 4 Wochen die Konzentrationen von α -Tocopherol im Blutserum und der Leber von Sprague-Dawley-Ratten zu erhöhen vermag [54]. Im Vergleich hierzu war die mittlere Quercetinaufnahme in unseren Ratten mit 25 mg pro Tag deutlich höher [52]. Auch mit 0,8% Quercetin und (+)-Catechin (im Verhältnis 2:1) angereichertes Futter führte bei Wistar-Ratten über einen Zeitraum von 4 Wochen zu erhöhten α -Tocopherolkonzentrationen im Plasma und in Lebermikrosomen [55]. Andererseits wiesen Sprague-Dawley-Ratten, die 10 Tage lang Futter mit 0,3 Gew.-% (+)-Catechin oder Quercetin verzehrten, keine erhöhten α -Tocopherolspiegel auf [56]. Dieser Unterschied

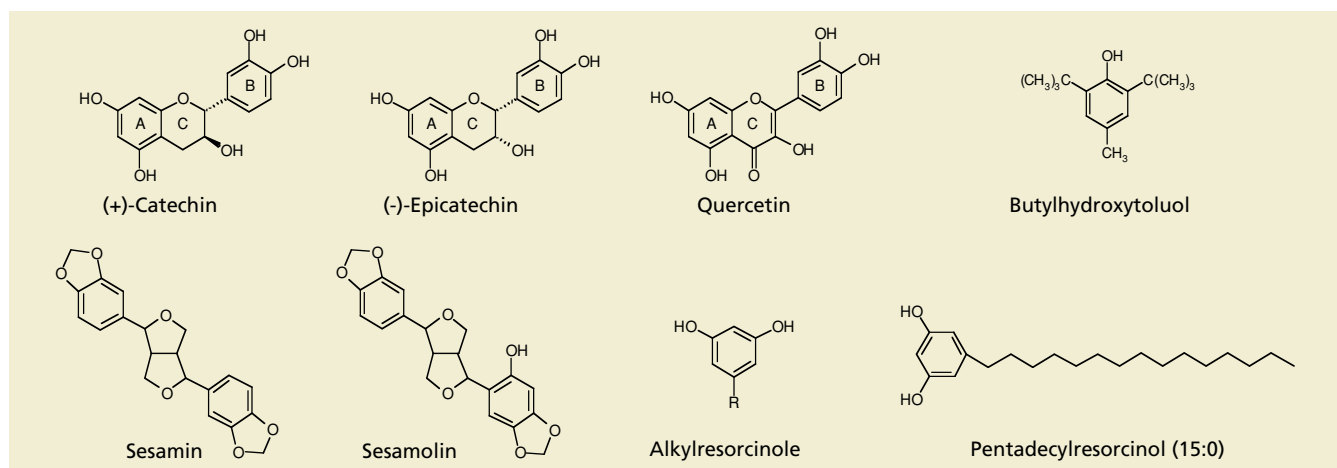


Abb. 2: Untersuchte Nahrungspolyphenole. Alle Substanzen mit der Ausnahme von Butylhydroxytoluol (BHT) sind natürlich vorkommende sekundäre Pflanzenstoffe. R = ungeradzahlige gesättigte oder ungesättigte Kohlenwasserstoffkette mit 15–27 Kohlenstoffatomen.

ist wahrscheinlich auf die Sättigung von Absorptions-, Transport- und metabolischen Prozessen für Vitamin E durch die in der genannten Studie sehr hohen α -Tocopherolkonzentrationen im Futter (90 mg/kg zuzüglich ca. 60–136 mg/kg aus dem verwendeten Maiskeimöl; verglichen mit den, den Empfehlungen entsprechenden, 21 mg/kg in unseren Studien) zurückzuführen.

Möglicher Wirkmechanismus

Da es sich bei den untersuchten, strukturell sehr ähnlichen Flavonoiden (vgl. Abb. 2) um Stoffe mit einem hohen antioxidativen Potenzial han-

delt [57], sind direkte und indirekte Reduktions-Oxidations-Interaktionen mit Vitamin E wahrscheinlich. Der Schutz von α -Tocopherol vor oxidativer Zerstörung sowie die Regenerierung des α -Tocopheroxyradikals zu α -Tocopherol durch Phenolsäuren, die, ebenso wie die untersuchten Flavonoide, eine Catecholstruktur aufweisen, wurde bereits nachgewiesen [45]. Aus diesem Grund haben wir in einem kombinierten Ex-vivo-/In-vitro-Ansatz die Fähigkeit dieser Catecholflavonoide untersucht, α -Tocopherol vor der Zerstörung durch Peroxylradikale zu schützen sowie das bereits oxidierte Vitamin aus seiner α -Tocopheroxyldform zu regenerieren.

Um den Schutz von α -Tocopherol durch die Flavonoide in Lipoproteinen zu bestimmen, wurden LDL aus dem Blutplasma von gesunden Probanden isoliert und mit 4 μ M α -Tocopherol sowie 2 μ M (-)-Epicatechin, (+)-Catechin, Quercetin oder Ascorbinsäure (als Referenzantioxidans) für 30 Min unter einem konstanten Strom von Peroxylradikalen inkubiert. Aliquote der Reaktionslösung wurden nach 0, 5, 10, 20 und 30 Min entnommen, die Radikalkettenreaktion durch Zugabe von Butylhydroxytoluol gestoppt und die α -Tocopherolgehalte gemessen.

Alle drei Flavonoide verhinderten die Oxidation von α -Tocopherol (Rangfolge: (-)-Epicatechin > (+)-Catechin > Quercetin) und wiesen dabei eine höhere Potenz auf als Ascorbinsäure (Abb. 4) [52]. Die eingesetzten Mengen der Flavonoide übersteigen wahrscheinlich die Werte, die üblicherweise in vivo in LDL auftreten, es wurden aber durchaus für einzelne Flavonoide schon Plasmakonzentrationen >2 μ M nach dem Verzehr von pflanzlichen Lebensmitteln oder isolierten Flavonoiden gemessen [58].

Es wurde auch die Fähigkeit der Flavonoide zur Regenerierung von α -Tocopherol aus α -Tocopheroxyradikalen, welche in Mizellen aus Natriumlaurylsulfat („sodium dodecyl sulfate“, SDS) durch UV-Bestrahlung generiert wurden, untersucht. In diesem Test waren alle drei Flavonoide in der Lage, das entstandene α -Tocopheroxyradikal zu α -Tocopherol zu reduzieren (Abb. 5); auch hier waren die Flavanoide wieder potenter als Quercetin, keines der Flavonoide reichte jedoch an die Wirksamkeit der Ascorbinsäure heran [52].

Diese Ergebnisse bestätigen vorhergehende Publikationen zum Schutz bzw. zur Regenerierung von Vitamin E durch (-)-Epicatechin, (+)-Catechin und Quercetin, welche allerdings chemische Radikalinitiatoren zur Generierung des α -Tocopheroxyradikals verwendet haben. Chemische Radikalinitiatoren können direkt mit Antioxidanzien reagieren und somit verfälschte Ergebnisse liefern, wohingegen die von uns gewählte Generierung von Vitamin E-Radikalen durch UV-Bestrahlung diese Problematik umgeht (siehe [52] für eine ausführlichere Diskussion und Quellen).

Butylhydroxytoluol (BHT) ist ein synthetisches Antioxidans, das vor allem in fettreichen Fertiggerichten zum Schutz von ungesättigten Fettsäuren

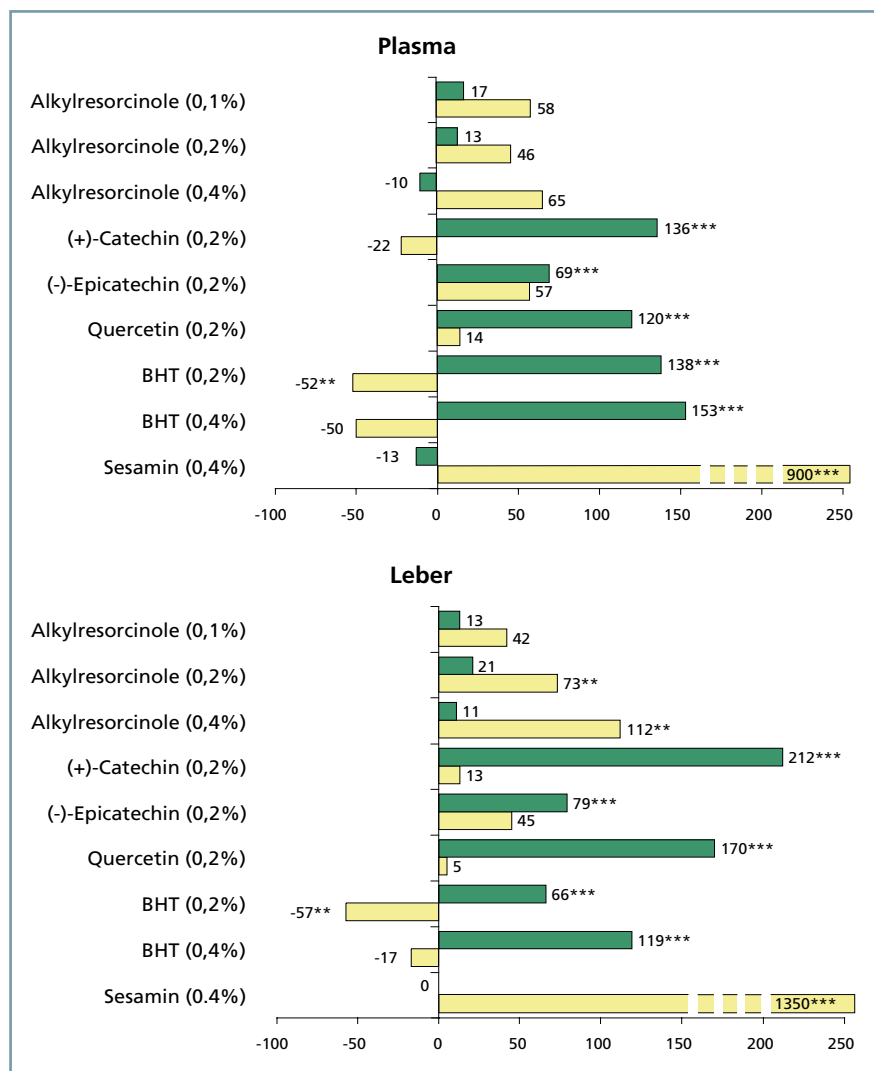


Abb. 3: Prozentuale Änderungen der α -Tocopherol- (grüne Balken) und γ -Tocopherol- (gelbe Balken) Konzentrationen im Plasma und in der Leber von Ratten, die 4 Wochen lang mit den in Klammern angegebenen Konzentrationen der Polyphenole gefüttert wurden. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kontroll- und Verumgruppen wurden mit Hilfe der t-Test-Funktion von StatView (Version 4.51; Abacus Concepts, Inc. Berkeley, CA, USA) berechnet und sind durch Sternchen dargestellt; * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,0001$. Aufgrund der sehr hohen Werte für Sesamin reflektieren die unterbrochenen Balken nicht die tatsächlichen Proportionen.

vor oxidativer Zerstörung eingesetzt wird. Männliche Sprague-Dawley-Ratten, die über 4 Wochen mit Diäten mit einem BHT-Gehalt von 0,2% [50] oder 0,4% [59] gefüttert wurden, wiesen deutlich erhöhte α -Tocopherolkonzentrationen im Plasma und der Leber auf (Abb. 3). Im Gegensatz hierzu beobachteten SIMÁN und ERIKSSON [60] eine dosisabhängige Reduzierung der α -Tocopherolkonzentrationen in der Leber in weiblichen Sprague-Dawley-Ratten. Die Autoren führten dies auf die oxidative Schädigung von Vitamin E durch pro-oxidative Metaboliten aus dem Abbau von BHT durch Zytocrom-P₄₅₀-Enzyme in der Leber zurück. Tatsächlich wiesen mit BHT gefütterte weibliche Ratten höhere BHT-Gehalte in der Leber und eine höhere und schnellere Ausscheidung von wasserlöslichen BHT-Konjugaten über den Urin auf als gleich behandelte männliche Ratten [61]. Es ist bekannt, dass die Expression von Zytocrom-P₄₅₀ Isoenzymen im Organismus nicht statisch, sondern u. a. alters- und geschlechtsabhängig ist [62]. Daher könnten die widersprüchlichen Ergebnisse zum Effekt von BHT auf den α -Tocopherolstatus auf Unterschiede im Stoffwechsel von BHT in unseren jungen, männlichen Ratten und den älteren, weiblichen Ratten von SIMÁN und ERIKSSON zurückzuführen sein.

Der Einfluss der Flavonoide und von BHT auf den Abbau von Vitamin E zu wasserlöslichen CEHC-Metaboliten, als eine weitere mögliche Ursache für die beobachteten Effekte, wurde in Leberkarzinomzellen (HepG2) untersucht. Hierzu wurden HepG2-Zellen mit 10 μ M δ -Tocopherol, welches von allen Vitameren am stärksten von Leberzellen metabolisiert wird, in Anwesenheit von 20 μ M der Testsubstanzen für 48 h inkubiert und anschließend die CEHC-Metaboliten im Medium quantifiziert. Weder (-)-Epicatechin, (+)-Catechin, Quercetin noch BHT beeinflussten die Bildung von δ -CEHC [50, 52]. Das Fehlen eines Einflusses der Polyphenole auf die Entstehung von Vitamin-E-Metaboliten war nicht unerwartet, da die Enzyme mit Tocopherol- ω -Hydroxylasefunktion bei gleicher Bindungskapazität für die unterschiedlichen Vitamere eine deutlich höhere katalytische Aktivität für die Nicht- α -Vitamere besitzen [5] und die Inhibierung der Tocopherol- ω -Hydroxylase somit vor allem γ -Tocopherolspiegel und die Ausscheidung von γ -CEHC beeinflussen sollte (s. u.).

Nahrungspolyphenole mit Einfluss auf γ -Tocopherolspiegel

Das markanteste Ergebnis in Abb. 3 ist der deutliche Anstieg der γ -Tocopherolwerte in Plasma und Leber von Ratten, die mit *Sesamin*, einem vor allem in Sesamöl und -samen vorkommenden Lignan, gefüttert wurden [59]. Diese Ergebnisse bestätigen frühere Studien zum Einfluss von Sesamin auf die γ -Tocopherolspiegel der Ratte (siehe [59] und dort zitierte Quellen). Die Arbeitsgruppe um Robert PARKER konnte nachweisen, dass Sesamin den Abbau von Vitamin E zu wasserlöslichen Metaboliten in Human- und Rattenleberzellmodellen hemmt [4, 5].

Der signifikante Anstieg der γ -Tocopherolwerte auf das zwei- bis dreifache der α -Tocopherolkonzentrationen durch Fütterung von Sesamin konnte somit mit der Hemmung des Seitenkettenabbaus von γ -Tocopherol und einer verminderten Ausscheidung von γ -CEHC mit dem Urin erklärt werden. Tatsächlich wurde später eine reduzierte renale Ausscheidung von γ -CEHC in mit Sesamin gefütterten Wistar-Ratten nachgewiesen [63].

Der Verzehr von mit Sesamsamen angereicherten Muffins (entsprechend 35 mg Sesamin und 13 mg Sesamin pro Tag) führte nach nur 3 Tagen zu einem 19%igen Anstieg der γ -Tocopherolkonzentrationen bei menschlichen Probanden [64]. Auch die Zugabe von

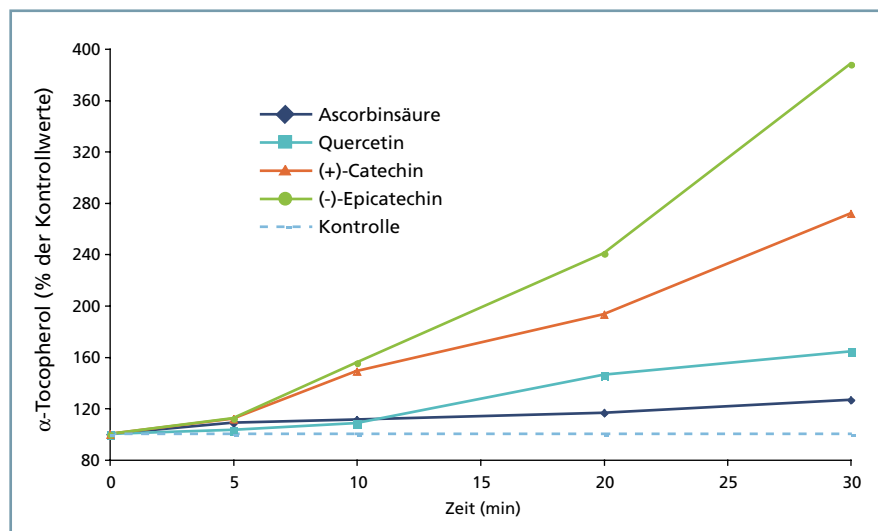


Abb. 4: α -Tocopherolkonzentrationen (in Prozent der Kontrollwerte) in LDL, die mit 2 μ M Flavonoiden inkubiert und über 30 Minuten einem konstanten Strom von Peroxylradikalen ausgesetzt wurden.

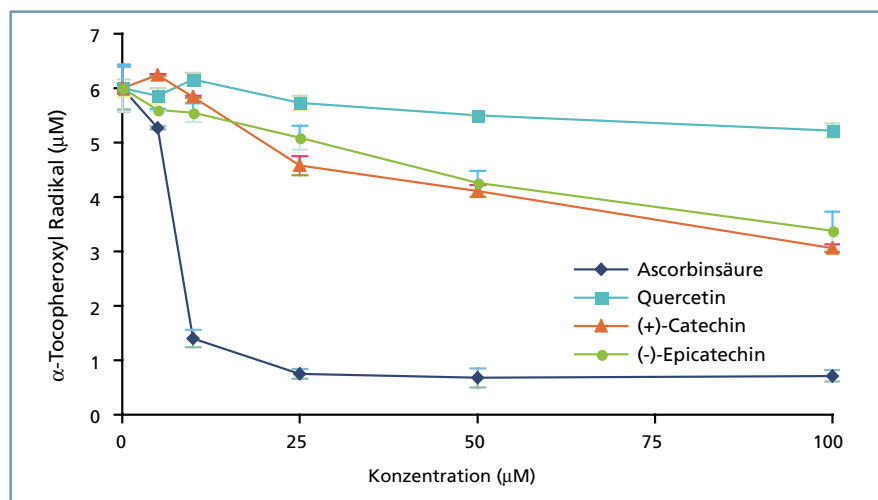


Abb. 5: Konzentrationen des α -Tocopheroxyradikals in Natriumlaurylsulfatmizellen, die mit 0–100 μ M der angegebenen Antioxidanzien inkubiert wurden (Fehlerindikator = Standardfehler)

unraffiniertem Sesamöl zur gewöhnlichen Kost von schwedischen Frauen über einen Zeitraum von 4 Wochen erhöhte die γ -Tocopherolkonzentrationen im Blut um 42% [65].

Um die Bedeutung von oral applizierten Sesamlingen auf den Vitamin-E-Status und die renale Ausscheidung von Vitamin-E-Metaboliten in gesunden Probanden zu untersuchen, wurde eine Humaninterventionsstudie konzipiert. Dabei wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Aufnahme einer einzelnen Dosis Sesamlinge zu einer verminderten Ausscheidung von γ -CEHC mit dem Urin führt. Zu diesem Zweck verzehrten 5 gesunde Frauen und 5 gesunde Männer in einer Crossover-Studie mit 4 Wochen Washout-Phase jeweils zwei mit Sesamöl (insgesamt 94 mg Sesamin und 42 mg Sesamolin) oder Mais-

keimöl (Kontrolle) gebackene Muffins gleichzeitig mit einer Kapsel mit jeweils 50 mg α - und γ -Tocopherol (insgesamt 100 mg). Die beiden Sesamöl-Muffins enthielten jeweils 2,4 mg α -Tocopherol und 13,0 mg γ -Tocopherol und die Maiskeimöl-Muffins enthielten 2,8 mg α -Tocopherol und 13,2 mg γ -Tocopherol. Die mit den Kapseln zugeführten Tocopherole waren mit unterschiedlichen Mengen Deuterium stabil markiert (d_6 - α -Tocopherol und d_2 - γ -Tocopherol), um zwischen Metaboliten unterscheiden zu können, die aus aufgenommenen oder bereits endogen vorhandenen Tocopherolen gebildet wurden [66].

Die renale Ausscheidung von Vitamin-E-Metaboliten war grundsätzlich geringer bei Probanden die Sesamöl-Muffins verzehrt hatten als bei Probanden, die Maiskeimöl-Muffins

verzehrt hatten. Die Urinkonzentrationen von d_2 - γ -CEHC, welches aus dem mit den Muffins gemeinsam aufgenommenen d_2 - γ -Tocopherol gebildet wurde, war 6–12 h nach Applikation der Sesamöl-Muffins sowie zum Zeitpunkt der maximalen Urinkonzentrationen 12–24 h nach Verzehr der Muffins deutlich geringer als nach dem Verzehr von Kontroll-Muffins. Infolgedessen war auch die Gesamtmenge des in Form von d_2 - γ -CEHC im Urin wiedergefundenen d_2 - γ -Tocopherols nach Verzehr von Sesamöl-Muffins ($7,8 \pm 3,7\%$; arithmetisches Mittel \pm Standardabweichung) signifikant ($P < 0,05$) geringer als nach Verzehr von Maiskeimöl-Muffins ($12,3 \pm 5,6\%$). Auch die gesamte renale Ausscheidung von γ -Metaboliten (d_2 - γ -CEHC plus γ -CEHC) war nach dem Verzehr von Sesamöl-Muffins geringer als nach der Aufnahme von Kontroll-Muffins; statistische Signifikanz erreichte dieser Effekt aber lediglich 12 h nach dem Verzehr der Muffins [2, 66]. Abschließend kann also festgestellt werden, dass schon die Zufuhr einer einzigen Dosis von Sesamlingen den Abbau von γ -Tocopherol zu wasserlöslichem γ -CEHC und dessen Ausscheidung mit dem Urin zu reduzieren vermag.

Alkylresorcinole (Abb. 2) stellen eine Klasse von phenolischen Lipiden dar, die in Milligrammkonzentrationen in den Randschichten von Vollkorngetreide wie Roggen und Weizen vorkommt und von Menschen und Ratten absorbiert und verstoffwechselt wird [67]. In unserem Rattenmodell erhöhte die Zufuhr von Alkylresorcinolen mit dem Futter die γ -Tocopherolkonzentrationen in Leber und Lunge in Abhängigkeit von der aufgenommenen Dosis, hatte aber keinen Einfluss auf die α -Tocopherolspiegel (Abb. 3). Dieser Sachverhalt legte nahe, dass auch die Alkylresorcinole eine Erhöhung der γ -Tocopherolspiegel über die Hemmung der Tocopherol- ω -Hydroxylase erreichen. Tatsächlich verminderten die Alkylresorcinole die Bildung von Vitamin E-Metaboliten im Leberzellmodell [68]. Im Hinblick auf die Ähnlichkeit der Seitenketten der Alkylresorcinole mit der Seitenkette von Vitamin-E scheint es wahrscheinlich, dass beide Stoffklassen gleiche Stoffwechselwege durchlaufen und somit katabolische Enzyme konkurrieren. Die Identifizierung von wasserlöslichen Alkylresorcinol-Metaboliten im menschlichen Urin, welche ebenfalls

Zusammenfassung

Einfluss von Nahrungspolyphenolen auf den Vitamin-E-Status

Studien in Modellen zunehmender Komplexität – vom physikalisch-chemischen Experiment zur Humanstudie

Jan Frank, Kiel

Vitamin E fungiert im Körper unter anderem als wichtigstes fettlösliches, radikalkettenbrechendes Antioxidans, reguliert die Expression verschiedener Gene, beeinflusst Zellsignalkaskaden und übt somit eine Vielzahl von positiven Effekten auf die Gesundheit aus. Epidemiologische Studien belegen, dass hohe Blutspiegel von α - und γ -Tocopherol, den beiden quantitativ bedeutsamsten Formen von Vitamin E im Körper, mit einem geringeren Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und Krebs korrelieren. Die menschliche Nahrung enthält neben Vitamin E noch eine Vielzahl weiterer phenolischer Inhaltsstoffe, so genannte Polyphenole, welche vor allem reichlich in pflanzlichen Lebensmitteln enthalten sind. Viele Polyphenole sind, wie Vitamin E, potente Antioxidanzien, welche im Körper möglicherweise synergistisch mit Vitamin E interagieren können.

Um Nahrungspolyphenole zu identifizieren, die die Blut- und Leberkonzentrationen von α - und γ -Tocopherol erhöhen können, wurden ausgewählte Polyphenole einem standardisierten Rattenfutter beigemischt und über einen Zeitraum von 4 Wochen an männliche Sprague-Dawley-Ratten verfüttert. Die Flavanoide (-)-Epicatechin und (+)-Catechin, das Flavonol Quercetin sowie das synthetische Antioxidans Butylhydroxytoluol (BHT) erhöhten die α -Tocopherolgehalte im Plasma und der Leber deutlich. Die drei Flavonoide waren darüber hinaus in der Lage, α -Tocopherol in LDL vor oxidativer Zerstörung zu bewahren und in Natriumlaurylsulfat Mizellen generierte α -Tocopheroxyradikale zu reduzieren. Dies legt nahe, dass sie α -Tocopherol auch in vivo zu regenerieren oder vor der oxidativen Zerstörung zu schützen vermögen. Das im Sesam vorkommende Sesamin und Alkylresorcinole aus Vollkorngetreide erhöhten die γ -Tocopherolkonzentrationen in der Leber stark. Sesamin erhöhte die γ -Tocopherolspiegel auch im Plasma. Humane Leberkarzinomzellen (HepG2), die mit Sesamin oder Alkylresorcinolen inkubiert wurden, wiesen eine deutlich reduzierte Bildung wasserlöslicher Vitamin E-Metabolite auf. Gesunde Probanden, die mit Sesamlingen angereicherte Muffins verzehrten, hatten eine deutlich geringere renale Ausscheidung von Vitamin E-Metaboliten als Kontrollpersonen.

Die Ergebnisse der vorgestellten Studien belegen, dass mit der Nahrung aufgenommene Polyphenole die Blut- und Gewebekonzentrationen von α - und γ -Tocopherol über verschiedene Mechanismen beeinflussen und somit zu einer Verbesserung des Vitamin-E-Status beitragen können.

Ernährungs-Umschau 54 (2007), S. 52–59

Glossar

Apoptose = auch „programmierter Zelltod“, „Selbstmord der Zelle“; systematischer Abbau von Zellen als normaler und kontrollierter Vorgang während des Wachstums und der Entwicklung eines Organismus.

Chiralitätszentrum = Begriff aus der Stereochemie, beschreibt ein Kohlenstoffatom mit 4 unterschiedlichen Substituenten; *Chiralität*, griech.: *Händigkeit*, bezeichnet das Phänomen, dass eine Struktur und ihr Spiegelbild sich nicht miteinander zur Deckung bringen lassen; chirale Moleküle, die sich wie Bild und Spiegelbild verhalten, bezeichnet man als Enantiomere.

Genexpression = die komplex regulierte Umsetzung der in der DNS festgelegten Information (Genotyp) in körperliche Merkmale bzw. Eigenschaften (Phänotyp).

Lipoproteine = umgangssprachlich Blutfette; Proteine (Eiweiße), mit Fett- und Kohlenhydratanteil. Die unterschiedlichen Gruppen der L. haben große Bedeutung für den Transport und den Stoffwechsel der aufgenommenen Nahrungsfette und ihre Mengenverhältnisse haben Auswirkung auf die Entstehung der Atherosklerose. Wichtige Gruppen der L. sind z. B. die **Chylomikronen** (triglyceridreich, transportieren Nahrungsfett über die Lymphe zur Leber), VLDL (L. sehr geringer Dichte), LDL (L. geringer Dichte, transportieren Cholesterin zu den Körperzellen, werden u.a. von den sog. **Scavenger-Rezeptoren** aus dem Blutplasma aufgenommen), HDL (L. großer Dichte, transportieren Cholesterin aus den Körperzellen) sowie Lipoprotein a.

Plättchenadhäsion, -aggregation = Anhaftung bzw. Zusammenballung der Blutplättchen (Thrombozyten) als physiologische Grundlage der Blutgerinnung. Überschießende P. im Zusammenhang mit artherosklerotischen Prozessen kann zur Bildung von Blutgerinnseln führen.

Proliferation = starke Vermehrung von Zellen durch Teilung, z. B. unkontrollierte P. von Krebszellen, kontrollierte P. von Zellen bei der Wundheilung.

Redoxpotenzial = die Fähigkeit (bio-)chemischer Reaktionspartner, im Verlauf einer chemischen Reaktion reduziert bzw. oxidiert zu werden (Elektronen aufzunehmen oder abzugeben).

Transkription = das Umschreiben der in der DNS festgelegten genetischen Information in die sog. transfer-RNA als erster Schritt der Genexpression (s. dort).

Zytochrom-P450-Enzyme = Gruppe von Enzymen, die an wichtigen Redox-Reaktionen des Stoffwechsels beteiligt sind und so z. B. Bedeutung für Entgiftungs-/Abbaureaktionen haben (vgl. z. B. MEOS im Beitrag Basiswissen aktualisiert: Alkohol auf S. 90–93).

durch β -Oxidation der Seitenkette entstanden sind, unterstützt diese Annahme [69]. Darüber hinaus fiel die Inhibierung der Tocopherol- ω -Hydroxylaseaktivität durch Alkylresorcinole deutlich geringer aus als die durch Sesamin, welches in HepG2-Zellen schon bei einer Konzentration von 2 μ M eine fast vollständige Inhibierung des Vitamin-E-Abbaus zur Folge hatte [68]. Entsprechend ihrer Wirkung auf den Seitenkettenabbau von Vitamin E erhöhte Sesamin die γ -Tocopherolspiegel in Ratten deutlich stärker als es die Alkylresorcinole vermochten [59, 68].

Substanzen, die wie Sesamin eine Methylendioxyphenylgruppe aufweisen, binden irreversibel an Cytochrom-P₄₅₀-Enzyme und inaktivieren diese somit vollständig [70]. Die dosisabhängige Inhibierung durch Alkylresorcinole andererseits legt eine (reversible) kompetitive Hemmung der Tocopherol- ω -Hydroxylase nahe.

Fazit

Die oben beschriebenen Versuche belegen, dass Polyphenole aus der Nahrung tatsächlich in der Lage sind, die Vitamin-E-Spiegel in Blutplasma und verschiedenen Geweben zu erhöhen. Sesamlignane und Alkylresorcinole bewirkten eine deutliche Steigerung der γ -Tocopherolkonzentrationen in Ratten und verminderten den Abbau von Vitamin E zu wasserlöslichen Metaboliten in humanen Leberzellen. Entsprechend führte die Gabe einer einzigen Dosis von Sesamlignan zu einem deutlich verminderten Seitenkettenabbau von γ -Tocopherol und einer stark reduzierten renalen Ausscheidung von γ -CEHC in weiblichen und männlichen Probanden. Die Flavonoide (-)-Epicatechin, (+)-Catechin und Quercetin sowie das synthetische Antioxidans Butylhydroxytoluol verbesserten deutlich den α -Tocopherolstatus von Ratten, ohne dabei den Sei-

tenkettenabbau von Vitamin E zu beeinflussen. Antioxidative Interaktionen und die Fähigkeit zur Regenerierung von Vitamin E konnten für die untersuchten Flavonoide nachgewiesen werden. Folglich könnte die vermehrte Aufnahme von Lebensmitteln, die reich an den genannten bioaktiven Substanzen sind, wie zum Beispiel Sessamsamen und -öl, grüner Tee, Zwiebeln, Vollkorngetreide und viele Gemüse- und Obstsorten zu einem verbesserten Vitamin-E-Status und positiven Effekten auf die Gesundheit führen.

Allerdings haben nicht alle Nahrungspolyphenole einen positiven Effekt auf die Vitamin-E-Spiegel. Das im Leinsamen reichlich vorhandene Lignan Secoisolariciresinoldiglukosid reduzierte z. B. die Konzentrationen von α - und γ -Tocopherol in Plasma und Leber von Ratten um ungefähr 50% [71] und Ferulasäure und Curcumin hatten gar keinen Einfluss auf den Vitamin-E-Status der Ratte [59, 72]. Weitere Forschung ist daher notwendig, um die zugrundeliegenden (molekularen) Mechanismen, Struktur-Wirkungs-Beziehungen und die Relevanz der beobachteten Effekte für die menschliche Ernährung und Gesundheit aufzuklären.

Danksagung

Der Autor dankt der Nutricia Research Foundation (Wageningen, Niederlande; Projekt 2005-T1) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (FR 2478/1-1) für finanzielle Unterstützung und den Mitverfassern der Arbeiten, auf denen diese Übersichtsarbeit basiert, für die fruchtbare Zusammenarbeit.

Die Literatur zu diesem Artikel finden Sie im Internet

Anschrift des Verfassers:

Dr. Jan Frank (Ph.D.)



Christian-Albrechts-Universität
Institut für Humanernährung und
Lebensmittelkunde
Hermann-Rodewald-Straße 6
24118 Kiel
Email: frank@foodsci.uni-kiel.de