



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Phytansäure, eine beinahe übersehene verzweigt-kettige Fettsäure in der menschlichen Ernährung

Verfasser

Wolfgang Robert Reininger

angestrebter akademischer Grad

Magister der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Ernährungswissenschaften

Betreuer:

Univ. Prof. Dr. Hans Goldenberg

Danksagung

Mein Dank gilt besonders Herrn Prof. Dr. Hans Goldenberg für seine freundliche, prompte und angenehme Art in der Betreuung meiner Diplomarbeit.

Dank geht auch an meine Eltern, insbesondere an meine Mutter für die Unterstützung und die bewiesene Geduld sowie an meine übrige Familie.

Ganz besonders danke ich Margarita Kwich, ihrem Bruder Peter und Mario Herzog, die immer wieder, auch in schwierigen Zeiten an mich geglaubt haben, für ihre emotionale und freundschaftliche Stütze.

Für computertechnische Ratschläge, kollegiale Fachgespräche und ihre Freundschaft bin ich besonders Gabriele Amon-Pfeffer und ihrer Familie sehr dankbar.

Ich danke auch meinen vielen weiteren FreundInnen Andreas, Astrid, Barbara, Beate, Brigitte, Charlie, Daniela, Doris, Gudrun, Kathi, Lilian, Mildred u. Ulli sowie Viktoria[†] für Zuspruch und ihre gedankliche Anteilnahme.

Plagiatserklärung

„Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben. Alle wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommenen Textpassagen und Gedankengänge sind durch genaue Angabe der Quelle in Form von Anmerkungen bzw. In-Text-Zitationen ausgewiesen. Dies gilt auch für Quellen aus dem Internet, bei denen zusätzlich URL und Zugriffsdatum angeführt sind. Mir ist bekannt, dass jeder Fall von Plagiat zur Nicht-Bewertung der Diplomarbeit führt und der Studienprogrammleitung gemeldet werden muss. Ferner versichere ich, diese Arbeit nicht bereits andernorts zur Beurteilung vorgelegt zu haben.“

Wien, im Oktober 2012

Einleitung

Am Center for Biological Sequence Analysis and Center for Advanced Food Studies des Departments of System Biology der Technischen Universität Lyngby in Dänemark übertitelte Lars I. Hellgren einen Artikel veröffentlicht in den "Annals of the New York Academy of Sciences" im März 2010; 1190:42-9 mit den treffenden Worten: „Phytanic acid – an overlooked bioactive fatty acid in dairy fat?“ Diesem Titel mag sich der Autor dieser Diplomschrift inhaltlich gerne anschließen, da auch bei uns im deutschsprachigen Raum diese verzweigt-kettigen Fettsäure im Index vieler ernährungswissenschaftlicher Fachbücher nicht immer zu finden ist, was vielleicht verwundern mag, da sie in der Literatur mit mehr lebensmittelchemischer Gewichtung¹⁶ sehr wohl Beachtung findet und beschrieben wird. In der Medizin hat die Phytansäure eine zentrale Bedeutung im Zusammenhang mit der Refsum-Krankheit, wo sie sich aufgrund eines peroxisomalen Enzymdefektes in den Geweben des Patienten ansammelt, nicht abgebaut wird und schwere klinische Bilder, insbesondere Krankheiten des peripheren Nervensystems zeigt. In der internationalen statistischen Klassifikation der Krankheiten u. verwandten Gesundheitsproblemen (ICD-10-WHO Version 2011) ist die Refsum-Krankheit im Kapitel VI, Krankheiten des Nervensystems unter G60.1 angeführt.

In der Pharmakologie ist die synthetisch hergestellte verzweigt-kettige Fettsäure, die sogenannte Valproinsäure VPA (2-Propylpentansäure), sowohl als Antiepileptikum, als auch als Wirkstoff in Medikamenten bei bipolaren Störungen, in der akuten Manie, und als stimmungsstabilisierend wirksam, bekannt.⁵ Interessanterweise wurde die antiepileptische Wirksamkeit der VPA 1962 eher zufällig bei Tierversuchen entdeckt, wo sie als vermeintlich inertes organisches Lösungsmittel zum Einsatz kam.³⁹ Diese neurologische Wirksamkeit und die Gewichtszunahme⁴ als ein „Side effect“ dieses Medikaments hat schließlich die Aufmerksamkeit des Autors auf einen natürlichen Vertreter dieser verzweigt-kettigen Fettsäuren, die Phytansäure gelenkt. Überraschenderweise scheint sie auch in der Bergbauliteratur auf, da sie Bestandteil von Erdölen sein kann, und hier dem weiteren Abbau über Millionen von Jahren getrotzt hat. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit ist der Versuch, die gesundheitliche Relevanz dieser kaum beachteten, verzweigt-kettigen Fettsäure zu beleuchten und ihre mögliche ernährungswissenschaftliche Bedeutung aufzuzeigen.

Inhalt

Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VI
1 Chemische Grundlagen der Phytansäure.....	1
1.1 Geschichte der Phytansäure.....	1
1.2 Struktur und Nomenklatur.....	1
1.3 Vorkommen.....	1
1.4 Eigenschaften der verzweigt-kettigen Fettsäuren.....	5
1.5 Analytik.....	7
2 Physiologie und Biochemie der Phytansäure.....	8
2.1 Peroxisomen.....	8
2.1.1 Morphologie.....	8
2.1.2 Funktionen der Peroxisomen in Säugetieren.....	10
2.1.2.1 Lipidmetabolismus.....	10
2.1.2.2 Aminosäurenmetabolismus.....	11
2.1.2.3 H ₂ O ₂ Metabolismus.....	11
2.1.3 Störungen der Peroxisomen.....	14
2.2 Peroxisomale Proliferatoren PP.....	14
2.2.1 Peroxisomale Proliferator aktivierende Rezeptoren PPARs	18
2.3 Metabolismus von Phytansäure im menschlichen Körper.....	22
2.3.1 Aufnahme.....	22
2.3.2 Resorption.....	23
2.3.3 Transport.....	24
2.3.4 Barrierefunktion des Darmepithels.....	25
2.3.5 Abbau der Phytansäure im Menschen.....	27

3	Gesundheitliche Relevanz der Phytansäure in der Ernährung.....	31
3.1	Das Refsum Syndrom.....	31
3.1.1	Polyneuropathien.....	31
3.1.2	Klinik.....	33
3.1.3	Diätetisches Behandlungsprinzip beim Refsumsyndrom.....	37
3.2	Phytansäureaufnahme und Krebs.....	40
4	Zusammenfassung.....	44
5	Literatur.....	46

Abbildungsverzeichnis

- Abb.1.1** Chemische Strukturen von Chlorophyll, Phytol und Phytansäure (3,7,11,15-Tetramethylhexadekansäure) und deren Abbauweg im Wiederkäuermagen
- Abb.2.1** Katalase
- Abb.2.2** Überblick über die subzellulären Mechanismen zum Abbau von H₂O₂. SOD, Glutathion (GSH), Glutathion-Disulfid (GSSG)
- Abb.2.3** Ein Modell über die Rolle der PPAR α in der Karzinogenese induziert durch Peroxisomale Proliferatoren PPs
- Abb.2.4** PPAR α als Mediator von oxidativem Stress
- Abb.2.5** Ausgewählte Fettsäuren als Aktivatoren von PPAR α
- Abb.2.6** Überblick über ausgewählte Proteine und metabolische Faktoren, die indirekt durch Vorhandensein der Adipocyten sezerniert werden, z.B. TNF α
- Abb.2.7** Expression levels of PPAR α in various human tissues
- Abb.2.8** Die α – Oxidation der Phytansäure
- Abb.3.1** α -Methylacyl-CoA Racemase AMACR und Krebs

Tabellenverzeichnis

- Tab.3.1** Auswertung und Phytansäurekonzentration im Blut der n=104 Teilnehmer von Xu et al. 2005

1 Chemische Grundlagen der Phytansäure

1.1 Geschichte der Phytansäure

Wilstätter und Mitarbeiter gaben 1911 bei Untersuchungen über das Phytol dieser methylverzweigt-kettigen, gesättigten Fettsäure den Namen Phytansäure. Als Bestandteil von Chlorophyll ist Phytol das am häufigsten vorkommende azyklische Isoprenoidlipid in der Biosphäre.⁸¹

Karrer et al. konnten 1940 ihre Struktur darstellen³³, während die Struktur des Phytols bereits 1928 von Fischer und Löwenberg aufgeklärt wurde. Der niedrige Schmelzpunkt von -7°C ist durch die Methylverzweigung bedingt.⁵¹

Phytansäure wurde sowohl in lebenden, als auch in fossilen Organismen gefunden.⁴⁷ Die Phytansäure als natürlichen Bestandteil des Butterfettes detektierten Bjurstam et al. mittels Massenspektrometer.⁸

1.2 Struktur und Nomenklatur

Die Phytansäure, eine 3,7,11,15- Tetramethylhexadecansäure mit der Summenformel $\text{C}_{20} \text{H}_{40} \text{O}_2$ ist ein Isoprenlipid. Vier Isopreneinheiten bilden hier dieses Diterpen. Auch der Alkohol Phytol (3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexendecen-1-ol) dessen oxidiertes Metabolit die PS ist, besitzt diese Diterpenstruktur. Dieser lipophile, ungesättigte Phytolschwanz in trans - Konfiguration ist auch Teil der Strukturen von Vitamin E, Vitamin K1 und dem Chlorophyll.^{16,7}

1.3 Vorkommen von verzweigt-kettigen Fettsäuren und Phytansäure

Der Mensch konsumiert täglich ca. 0,5g **verzweigt-kettige Fettsäuren**. Von der Stearinsäure 18:0 werden dazu im Vergleich 8,54 g täglich mit der Nahrung aufgenommen. In Milch und Milchprodukten von Wiederkäuern können bis zu 30 verschiedene verzweigt-kettige Fettsäuren nachgewiesen werden. Im Allgemeinen konnten mehr als 400 verschiedene Fettsäuren in Milchfett detektiert werden¹³, viele davon besitzen regulatorische Wirkungen. Sowohl in Käse als auch im Milchfett sind niedermolekulare Fettsäuren wichtige Komponenten des Aromas. Die Humanmilch

enthält mehr als zehn verschiedene verzweigtkettige Fettsäuren,⁸⁵ aber laut Angaben im Magnetic Resonance of Myelination and Myelin Disorders von Van der Knaap und Valk, keine Phytansäure.⁷³ Sie kommen in der menschlichen Haut vor und sind Bestandteil des Epidermisfettes verschiedener Tiere.⁸⁵ Darüber hinaus sind verzweigtkettige Fettsäuren Bestandteil von Rindertalg, marinen Organismen, Algen, Tabak, den Samen und Ölen von Bäumen. Bis zu 80 % des bakteriellen Fettsäuremusters besteht aus verzweigtkettigen Fettsäuren. Verzweigtkettige Fettsäuren sind auch als Additive zur Herstellung von Lebensmittelbedarfsgegenständen aus Kunststoff zugelassen.⁸⁵

Phytansäure ist in hohen Konzentrationen in der menschlichen Ernährung als Bestandteil des Fettes von Wiederkäuern, Leber, Thunfischkonserven, generell Fisch und Meeresfrüchten, Schinken und Milchprodukten enthalten.^{65, 72}

Phytansäure kann aus dem Diterpen-Alkohol Phytol im menschlichen Körper endogen nicht synthetisiert werden, da Chlorophyll von Säugetieren nicht metabolisiert werden kann³⁷, bzw. kann chlorophyllgebundenes Phytol nicht abgespalten werden³², da dem menschlichen Organismus die enzymatische Fähigkeit dazu fehlt, sodass die daraus entstehende Phytansäure ausschließlich über die Nahrung aufgenommen wird⁶², im Besonderen aus Wiederkäuerfetten.

Im Verdauungstrakt von Wiederkäuern jedoch kann der Phytolschwanz des Chlorophylls mithilfe der bakteriellen Enzyme abgespalten werden³⁷, wo auch die Umwandlung von Phytol zu Phytansäure stattfindet.^{54,23} Phytol selbst ist nur in minimalen Mengen in Lebensmitteln enthalten³², stellt aber einen Aktivator der PPAR α dar.²⁰ (siehe Kapitel 2)

Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang auch, dass nicht nur Phytol aus dem Chlorophyllabbau limitierend für die Entstehung der PS ist, sondern Phytol auch limitierend für die Tocopherol (Vitamin E)- Synthese in der Pflanzenzelle, wo wie beim Chlorophyll die Isoprenoidseitenkette der Membranverankerung dient. Die große Bedeutung des Chlorophylls für heutiges Leben auf der Erde macht den daraus hydrolytisch entstandenen Alkohol Phytol zum am häufigsten vorkommenden azyklischen Isoprenoidlipid in der Biosphäre⁷⁴.

Im Springer-Lehrbuch, Kinderheilkunde von Koletzko wird die gesicherte positive Beeinflussung des Krankheitsbildes beim Refsumsyndrom (Heredopathia atactica polyneuritiformis) durch Vermeidung von Milchprodukten angegeben, jedoch auch eine mögliche diätetische Beeinflussung durch Chlorophyllkarenz.⁷⁵

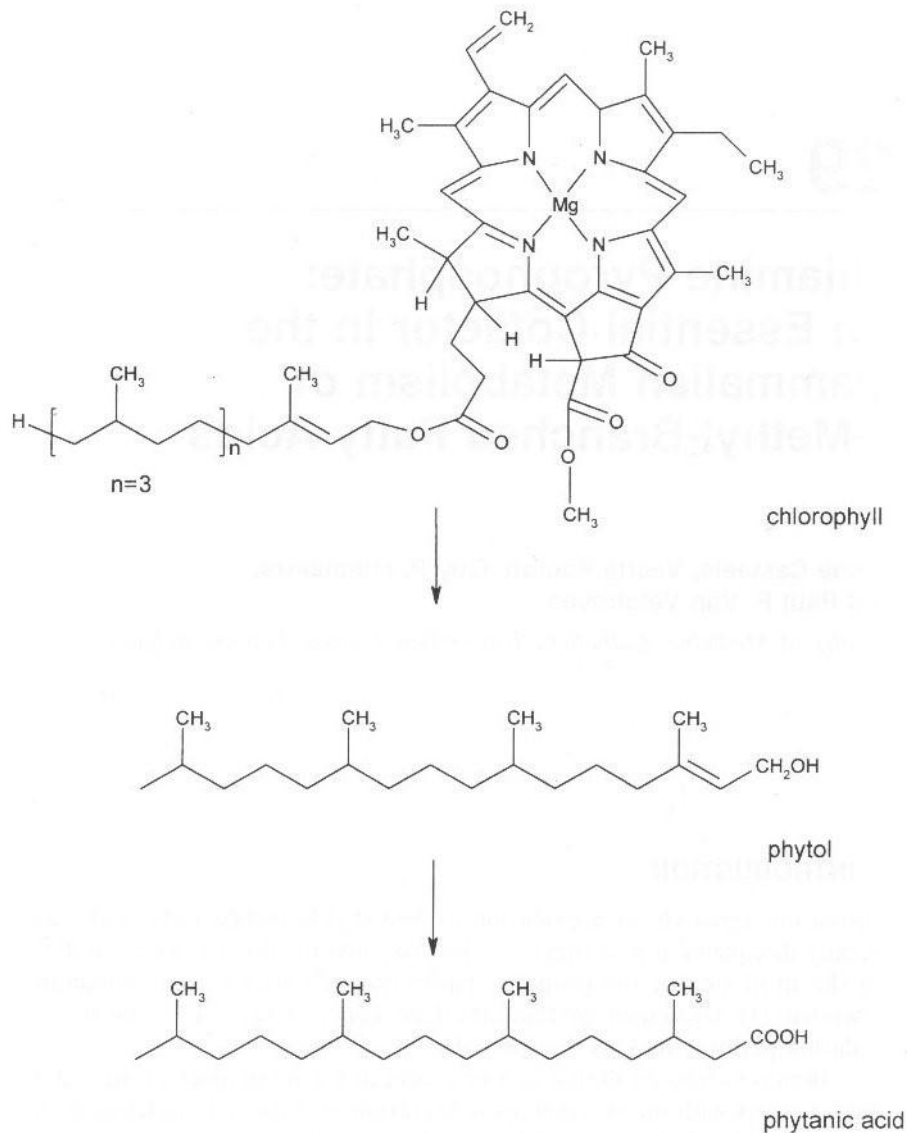


Abb. 1.1: Chemische Strukturen von Chlorophyll, Phytol und Phytansäure (3,7,11,15 – Tetramethylhexadekansäure) und deren Abbauweg im Wiederkäuermagen³²

Das im Auftrag des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (Bonn) bekannte Standardwerk über die Zusammensetzung der Lebensmittel von Souci, Fachmann, Kraut enthält keine Angaben zum Phytansäuregehalt von Lebensmitteln.⁶⁷

Phytan- und Pristansäure sind aus rezenten, als auch aus fossilen Organismen unterschiedlichster Art isoliert worden. Das jeweilige Vorkommen von Phytan- und

Pristansäure sowohl im Butterfett, als auch im kalifornischen Erdöl bzw. Rohöl und im Schiefer mag verwundern. Da erscheint die Detektion dieser beiden verzweigtkettigen Fettsäuren im Rinderplasma und im Sediment schon weniger ungewöhnlich.^{47,72}

Da Pflanzen, laut Vetter et al.⁷², generell nur das Chlorophyll enthalten und keine Mikroorganismen oder Eigenschaften besitzen, die den Phytolschwanz abspalten bzw. zu Phytansäure metabolisieren können, sind Gemüse und Früchte aller Art, Getreide, Nüsse und Sojaprodukte frei von messbaren Phytansäuregehalten, ebenso wie Pflanzenöle.⁷²

In Lebensmitteln liegt der Anteil der **Phytansäure** insgesamt bei 0,5 bis 4 %, und bei 100-500mg/100g Lipiden⁷². Dieser Gehalt in Lebensmitteln ist vergleichbar mit Gehalten an konjugierter Linolsäure oder dem Gehalt an trans-Fettsäuren. Wie bereits erwähnt ist Phytansäure fast ausschließlich in Wiederkäuerfleisch, Milch und Milchprodukten, aber auch in Fisch und Meeresfrüchten enthalten. Ihr Gehalt beläuft sich auf 100 – 500mg/100g Fett.⁷² Die **Menge der detektierten Phytansäure** reicht von 0,01 – 0,3% vom gesamten Fettsäurepool **kann aber sogar die 10% Marke (!) in Milch überschreiten, wenn die Kühe mit Silagefutter (fermentiertes Gras) im Winter versorgt werden.**⁷¹

Van den Brink et al. konnten mittels humaner Fibroblastenzellkulturen, die vom Forscherteam selbst stammten, zeigen, dass auch menschliches Bindegewebe befähigt ist, aus Phytol Phytansäure zu metabolisieren, wobei Phytensäure als Zwischenprodukt gebildet wurde.⁷¹

Die besondere Rolle von Wiederkäuern ist ersichtlich aus dem viel höheren Phytansäuregehalt in Rindfleisch, mit 50 – 300mg/100g Fett, verglichen mit Schweineschmalz mit 4g/100g Fett. Messungen von Fisch und marinen Stichproben ergab einen Gehalt von <100 bis ~ 750mg/100g Fischöl und stellen damit eine weitere bedeutende Quelle von Phytansäure dar. Während in Schweine- und Geflügelfleisch kaum nennenswerte Mengen an PS nachgewiesen wurden. Fast keine PS findet sich in Gemüse.⁷¹

Wie bereits angeführt, enthält die über die Nahrung aufgenommene Menge beim Menschen zwischen 50 und 100mg Phytansäure pro Tag, die hauptsächlich aus

Milchprodukten stammt. Die einzige hinzukommende natürliche Phytansäurequelle sind Fisch, Fischöl und Meeresfrüchte.^{71,72}

Um die durchschnittlich täglich aufgenommene Phytansäuremenge mit bestehenden Ernährungsempfehlungen zu veranschaulichen sei erwähnt, dass zwei Fischmahlzeiten pro Woche (ca. 30-40g Fisch täglich), eine Aufnahme von 300-400mg langkettiger Fettsäuren bedeuten, ohne die Phytansäuremenge selbst zu berücksichtigen. Solche Empfehlungen macht die International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids, der Arbeitskreis Omega-3-Fettsäuren, sowie andere, ähnliche Institutionen.³⁴ Dies liegt 3 bzw. 4 Mal so hoch wie die durchschnittlich täglich aufgenommene Menge an Phytansäure, wo bis dato keine Empfehlung für gesunde Menschen vorliegt, bzw. institutionellerseits lanciert wird.

Aus diesem Grund, haben Fleischesser eine 6,7fach höhere Phytansäurekonzentrationen im Blutplasma im Vergleich zu Veganern. Phytansäurekonzentrationen im Blutplasma von Vegetariern im Vergleich zu Veganern sind ca. 4,5mal so hoch. Somit könnte Phytansäure als Marker für die Aufnahme von Nahrungsfett dienen.

Es muss festgehalten werden, dass der Schlüsselfaktor für die Bildung von Phytansäure im Menschen die Verfügbarkeit von freiem Phytol ist. Tatsächlich ist auch der menschliche Organismus selbst fähig, geringe Mengen Phytansäure aus freiem Phytol zu bilden, nicht jedoch aus chlorophyllgebundenem Phytol. Infolge dessen stieg der Phytansäurespiegel im Plasma eines Freiwilligen, der 3,5kg gekochten Spinats innerhalb von zweieinhalb Tagen aufnahm, nicht, innerhalb des Experiments, da das enthaltene Chlorophyll nicht absorbiert wurde.⁷² Bereits Mitte der 60er Jahre des letzten Jahrhunderts, wurde der Abbau von freiem Phytol über die Phytensäure zur Phytansäure in der Ratte nachgewiesen.⁵¹

1.4 Eigenschaften der verzweigt-kettigen Fettsäuren⁸⁵

Physikochemische Eigenschaften wie die Phasenumwandlungstemperatur von Lipiden werden durch die Verzweigung am Kettenende verändert. Der Druck wird durch eine endständige Verzweigung am Kettenende erhöht und die Enthalpieänderung beim Phasenübergang reduziert. Iso- und Anteiofettsäuren verändern die Lipidmembraneigenschaften vergleichsweise in ähnlicher Form wie

dies bei der geänderten Orientierung (Knick) von Doppelbindungen der Fall ist. Um die Lipidfluidität wechselnden Temperaturen anpassen zu können, verändern Bakterien die Fettsäurezusammensetzung ihrer Membranlipide, auch als homeoviskose Adaption bezeichnet. 3 derzeit bekannte Strategien stehen dabei zur Verfügung:

1. eine Erhöhung des Anteil an einfach ungesättigten Fettsäuren
2. die Verkürzung der durchschnittlichen Kettenlänge und/oder
3. die vermehrte Synthese verzweigt-kettiger Fettsäuren

Die Erreger der Listeriose (*Listeria monocytogenes*) beispielsweise passen bei Abkühlung im Kühlschrank ihre Membranfluidität durch vermehrte Bildung von verzweigt-kettigen Fettsäuren an.

Besonderes ernährungswissenschaftliches Interesse gewinnt die Überlegung, dass beispielsweise bei der Haltbarmachung von Milchprodukten, wie der Pasteurisation als Zielparameter die Keimzahl ermittelt wird, die größtenteils inaktivierten bzw. abgetöteten Mikroorganismen und deren Membranen dennoch vorhanden sind.

Weiters ist auch ein anzunehmender steigender Gehalt von verzweigt-kettigen FS in Milchprodukten erwähnenswert, die Lebkulturen, wie z.B. Lactobacillen enthalten, die zwar ebenso aus hygienischen Gründen eine lückenlose Kühlkette vom Produzenten bis zum Konsumenten erfordern. Durch die Kühlung wird jedoch eine Veränderung der Mikroorganismen und damit des Lebensmittels selbst bewirkt. In unserer westlichen Industriegesellschaft mit einem beträchtlichen Verzehr von Milch- und Milchprodukten aus dem Kühlregal erscheint diesbezüglich eine ernährungswissenschaftliche Betrachtung samt ihrer gesundheitlichen Auswirkungen sinnvoll.

Verzweigt-kettige gesättigte Fettsäuren besitzen darüber hinaus eine sehr gute Oxidationsbeständigkeit, einen niedrigen Schmelzpunkt und ein außergewöhnlich gutes Spreitungsvermögen (womit das Einziehvermögen und gute Verteilbarkeit in die Haut gemeint ist), daher werden sie auch als Bestandteil von Kosmetika verwendet.

1.5 Analytik

Langkettige, verzweigte, gesättigte und ungesättigte Alkansäuren sind in lebenden Organismen weit verbreitet, beispielsweise findet man sie als Bestandteile der Bürzeldrüsen und Federwaxse von Vögeln oder sie stellen interessante Antibiotika (z.B. Radiclonsäure) dar. In der Natur kommen diese Verbindungen allerdings nur in geringer Konzentration und als Bestandteile komplizierter Mischungen vor.⁴⁷

In der (Lebensmittel-) Analytik wird als Standardsubstanz der Methylester der Phytansäure neben geeigneten phytansäurehaltigen Proben, wie Milch oder Milchfett, usw. verwendet. Der Methylester der Phytansäure ist keine natürliche vorkommende Verbindung und wird chemisch als racemischer Standard hergestellt, da die 3 chiralen Zentren der Phytansäure zu $2^3 (=8)$ Stereoisomeren führen, einschließlich 4 Paaren von Enantiomeren (die allerdings nicht in einer nicht-chiralen Trennsäule getrennt werden können.) Folglich erscheinen 4 Peaks nach einer nicht-chiralen GC-Trennsäule. Dementsprechend wird im Peakbild des Chromatogramms, der zentrale, der größte Peak, von zwei Diastereomeren verursacht. Wegen der unterschiedlichen Eigenschaften der Diastereomere kann die biologische Aktivität der Phytansäure nicht mithilfe dieses Standards bestimmt werden.⁷²

Für die korrekte Detektion von Phytansäure in Milch kann der Flammenionisationsdetektor FID verwendet werden. Die umständliche Analyse aufgrund der vergleichsweise niedrigen Konzentrationen von Phytansäure in Lebensmitteln schränkt die Analyse der Phytansäure ein.

Die meisten dieser Probleme, bzw. Nachteile können durch die Verwendung der Massenspektrometrie überwunden werden.

Die empfohlene und naheliegendste Detektion von Phytansäure in Lebensmitteln ist die mittels Massenspektrometrie, GC/MS wird auch für die Bestimmung von Phytansäurekonzentrationen im Humanplasma herangezogen.⁷²

2 Physiologie und Biochemie der Phytansäure

2.1 Peroxisomen

Da der Abbau der Phytansäure, die α -Oxidation, beim Menschen in den Peroxisomen stattfindet, seien diese an dieser Stelle beschrieben.

Peroxisomen wurden von J. Rhodin (1954) mittels Transmissionselektronenmikroskop (TEM) zum ersten Mal im proximalen Tubulus der Mäuseniere beobachtet. Er prägte den Begriff „Microbodies“, um diese mit einer einfachen Membran umhüllten Organellen zu bezeichnen. Latter, Touiller und Bernhard beschrieben (1956) ähnliche Organelle in der Rattenleber.

Später, 1966, prägten De Duve und Baudhuin den Begriff "Peroxisomen" weil sie erkannten, dass Enzyme, wie die Flavin-Oxidase Wasserstoffperoxid (H_2O_2) erzeugen. Dieses wird von der Katalase dann zu H_2O und O_2 abgebaut.³¹ Bis Mitte der 90er Jahre konnten bereits mehr als 60 peroxisomale Enzyme in Säugetierzellen identifiziert werden.

2.1.1 Morphologie

Peroxisomen sind cytoplasmatische Organellen, die eine homogene, granuläre und „elektronendichte“ Matrix aufweisen, die von einer Einfachmembran umgeben ist⁵⁵, in der Literatur häufig als kugel- oder eiförmig beschrieben. Eine wichtige Eigenschaft der peroxisomalen Membran ist, dass sie in vitro unterschiedliche Permeabilitätseigenschaften zeigt: Sie ist hochdurchlässig für kleinere Moleküle wie etwa Zuckermoleküle, kleine Substrate und anorganische Ionen jedoch widerstandsfähig gegen Lyse durch Digitonin, ein Saponin des Fingerhutes, welches beispielsweise die Membran von roten Blutkörperchen aufzulösen vermag (Hämolyse).⁴⁹

Peroxisomen können ein breites Größenspektrum aufweisen. Sie konnten praktisch in allen Zelltypen nachgewiesen werden, einschließlich pflanzlichen Zellen, Hefen und Flagellaten⁶².

In Leber und Niere reicht ihr Durchmesser von 0,1 bis 1,5 μm , in den meisten anderen Geweben von 0,3 bis 0,9 μm . Die meisten Hepatozyten enthalten zwischen 400 und 600 Peroxisomen. Diese machen aber nur etwa 2% des Zellvolumens aus. Es wird jedoch geschätzt, dass 10-30% des Sauerstoffverbrauchs der Leber auf die Peroxisomen entfallen.

Die Membran von Peroxisomen ist eine Einfachmembran, die eine dreischichtige Struktur mit einer Dicke von 4,5 bis 8 nm aufweist und somit dünner ist, als die der Lysosomen, der Plasmamembran und den meisten anderen einzelnen membrangebundene Zelleinschlüssen. Sie ist in ihrer Dicke vergleichbar mit jener des Endoplasmatischen Retikulums.⁴⁹

In allen menschlichen Zellen finden sich Peroxisomen. Einzig die kernlosen Erythrozyten bilden hier die Ausnahme, indem ihnen diese Organellen, deren Matrix mehr als 50 Enzyme für anabole und katabole Stoffwechselwege beherbergen, fehlen. Als Beispiele für anabole Funktionen, wurde deren Essentialität für Plasmalogenbiosynthese, Cholesterin- und Gallensäuresynthese schon erwähnt. Abbau von Wasserstoffperoxiden, von überlangkettigen Fettsäuren sowie von der hier beschriebenen Phytan- bzw. Pristansäure fallen natürlich in die katabolen Funktionen. Störungen dieser Funktionen zeigen autosomal-rezessiv und X-chromosomal vererbte Erkrankungen, die in zwei Gruppen unterteilt werden⁷⁷:

In der Gruppe I fehlt die Bildung der Peroxisomen gänzlich, oder diese werden nur unvollständig aufgebaut. Diese Erkrankungen werden auch als Peroxisomenbiogenesedefekte (PBD) bezeichnet, wie das Zellweger-Syndrom (Zerebro-hepato-renales Syndrom), Atypisches Zellweger-Syndrom (Pseudozellweger-Syndrom), Neonatale Adrenoleukodystrophie (NALD), Infantiler Morbus Refsum, Rhizomelia chondrodysplasia punctata. Gruppe II: Isolierte Defekte peroxisomaler Stoffwechselwege, wie bei der X-chromosomalen Adrenoleukodystrophie, Beta-Oxidationsdefekte, Refsum Syndrom, Morbus Refsum (Heredopathia atactica polyneuritiformis, hereditäremotorische und sensible Neuropathie (Reuter, 2004), Hyperoxalurie Typ I, Glutarazidurie Typ III

2.1.2 Funktionen der Peroxisomen in Säugetieren

E. Baumgart und D. Fahimi, die beiden Autoren der Universität Heidelberg vom Institut für Zellbiologie, heben die geringe Beachtung, die die Peroxisomen bisher über Jahrzehnte in der Forschung erfahren haben, besonders hervor. Für die Entdeckung der lebenswichtigen Funktionen der bisher verkannten Zellorganellen, sowie erstmalige Beschreibung der Lysosomen erhielt De Duve 1974 den Nobelpreis. Dariush Fahimi konnte in den Sechziger Jahren die Katalase mittels Licht- und Elektronenmikroskopie in den Peroxisomen sichtbar machen.⁸⁷

2.1.2.1. Lipidmetabolismus

Peroxisomen besitzen auch wichtige anabole Funktionen im **Lipidstoffwechsel** und katalysieren beispielsweise einige der ersten Reaktionen in der Etherlipidsynthese (Plasmalogene) sowie der Synthese von Cholesterin und Gallensäuren.⁵⁹ Nach aktuellem Verständnis ist eine normale Cholesterinsynthese in Säugetierzellen nicht ohne funktionelle Peroxisomen möglich.⁴⁹ Peroxisomen sind wie bereits erwähnt sowohl zur **β -Oxidation** als auch zur **α -Oxidation** befähigt.

In Peroxisomen läuft speziell die **β -Oxidation** von VLCFA (Very-long-chain fatty acids), welche mehr als 22 Kohlenstoffatome in der Kette aufweisen, ab. Weitere Aufgaben sind der α -oxidative Abbau verzweigtkettiger Fettsäuren, BCFA (branched-chain fatty acids), zu denen eben die Phytansäure gehört, sowie der Abbau der Seitenketten von Xenobiotika wie etwa Arzneimitteln oder Pestiziden, der Abbau von Dicarbonsäuren und ungesättigter Fettsäuren inklusive Metaboliten der Arachidonsäure.

Peroxisomale Oxidation spielt auch im Gallensäurestoffwechsel eine bedeutende Rolle, wobei bekanntermaßen Derivate des Cholesterins als Ausgangssubstanzen dienen.

Eine weitere signifikante Funktion der Peroxisomen ist ihre Beteiligung am Prostaglandinmetabolismus und verwandten Verbindungen, wie Leukotrienen, Thromboxanen und Prostacylinen, die als Endoperoxide aus Arachidonsäure oder Eicosapentaensäure gebildet werden.⁴⁹

In den letzten Jahren wurde das Hauptaugenmerk auf die Beteiligung der Peroxisomen am Lipidmetabolismus gerichtet²⁹, da mehr als die Hälfte aller peroxisomalen Enzyme dem Lipidstoffwechsel dienen. Trotzdem gibt es eine Vielzahl weiterer metabolischer Beteiligungen dieser Organelle, die über die Lipidsynthese hinaus reichen und es verdienen beachtet zu werden. Beispielsweise folgende Substrate: Aminosäuren, Glutaryl-CoA, Purine, Polyamine, Ethanol, Methanol, Pipecolinsäure, und verschiedenen Radikale.⁴⁹

2.1.2.2. Aminosäurenmetabolismus

Im Großen und Ganzen betrachtet gibt es viele nachgewiesene Verbindungen zwischen dem Aminosäuremetabolismus und den Peroxisomen, allerdings zu umfangreich, um im Rahmen dieser Diplomarbeit behandelt zu werden, daher soll hier nur schematisch darauf hingewiesen werden.

2.1.2.3. H₂O₂ Metabolismus

Bei vielen enzymatischen Vorgängen in der Zelle bilden sich ROS wie Wasserstoffperoxid H₂O₂, das Hydroxylradikal OH* und das Superoxidradikal O₂⁻. Es ist bekannt, dass die Phagozytose, welche selbst nicht peroxisomal ist, zu einer ausgesprochenen Erhöhung der Sauerstoffaufnahme führt, infolgedessen Superoxidradikal und Wasserstoffperoxid gebildet wird. Um die Zelle vor diesen aggressiven Nebenprodukten zu schützen, werden solche Reaktionen in eigenen kleinen Vesikeln, eben den Peroxisomen, vorgenommen die gleichsam als „sicheres Containment“ dienen.

Somit nehmen Peroxisomen eine zentrale Stellung in der Bildung und dem Abbau von H₂O₂ ein, sind aber natürlich nicht die alleinige Quelle von H₂O₂ in der Zelle. H₂O₂ ist in beträchtlichen Mengen im Endoplasmatischen Reticulum, in den Mitochondrien und im Cytoplasma enthalten.

Beim Sauerstoffverbrauch in der Zelle entsteht Oxidationswasser, wobei der molekulare Sauerstoff gänzlich zu Wasser reduziert wird (es werden dabei bekanntermaßen 4 e⁻ aufgenommen). Es besteht jedoch die Möglichkeit der nur teilweisen Reduktion, bzw. der Bildung toxischer Substanzen. Zum

Beispiel: Nimmt molekularer Sauerstoff nur $2e^-$ auf, bildet sich Wasserstoffperoxid, nimmt das Sauerstoffmolekül nur $1e^-$ auf, entsteht ein Superoxidradikal O_2^- . Wobei das H_2O_2 extrem toxisch ist und imstande Proteine, Nukleinsäuren und Lipide zu schädigen.

Ein effizienter Stoffwechselweg zur Detoxifikation dieser radikalen Zwischenprodukte ist die Einschaltung der Superoxiddismutase SOD und der Catalase CAT. Beide Enzyme wurden sowohl innerhalb als auch außerhalb der peroxisomalen Matrix detektiert.

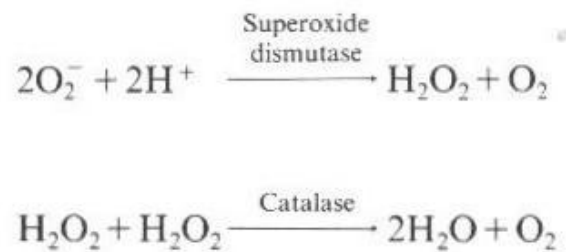
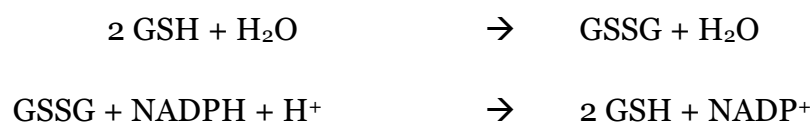


Abb.2.1: Katalase ⁴⁹

Sowohl Wasserstoffperoxid aus dem Cytoplasma als auch aus den Peroxisomen und/oder Organellen vermögen Schäden an Membranen und anderen zellulären Komponenten zu verursachen. Daher ist ein rascher und effizienter Abbau angezeigt.⁴⁹ Die Katalase ist sowohl in den Peroxisomen als auch im Cytoplasma aktiv, darüber hinaus ermöglichen die Glutathionperoxidase und Glutathionreduktase im Cytoplasma und den Mitochondrien den weiteren Abbau von Wasserstoffperoxid. Die Glutathionperoxidase ist auch befähigt, organische Peroxide zu beseitigen.¹⁹

SOD und Glutathionperoxidase sind beide in den Peroxisomen vorhanden. Glutathionperoxidase katalysiert den Abbau von H_2O_2 und gleichzeitig wird reduziertes Glutathion GSH zu Glutathiondisulfid GSSG umgewandelt. Wohingegen die Glutathionreduktase die Umkehrreaktion katalysiert.



Während bei Mitochondrien über 90% des aufgenommenen Sauerstoffs in Wasser übergeführt wird, reagiert lediglich der Rest zu O_2^{*-} ,⁵⁹ wohingegen in Peroxisomen der aufgenommene Sauerstoff zum aggressiven H_2O_2 reagiert und eine kleine Menge zum O_2^{*-} Radikal.

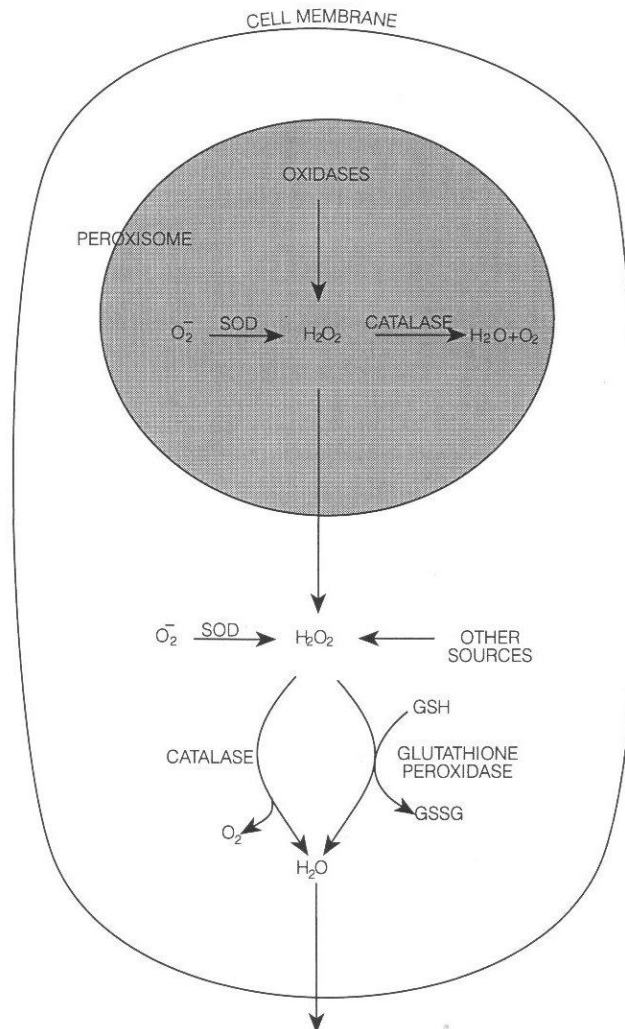


Abb.: 2.2: Überblick über die subzellulären Mechanismen zum Abbau von H_2O_2 . SOD, GSH, und GSSG⁴⁹

So wird sichtbar, dass, im Unterschied zu den Mitochondrien, in den Peroxisomen eine bedeutend große Menge Wasserstoffperoxid anfällt, die dann vor Ort mittels Katalase in Wasser und Sauerstoff zerlegt wird, zusammengefasst veranschaulicht lässt sich sagen, dass Mitochondrien als Energieerzeuger durch die Atmungskette dienen, Peroxisomen als „zelluläre Müllverbrenner“ durch oxidativen Substratabbau.

2.1.3 „Störungen der Peroxisomen“

Hervorzuheben ist, dass peroxisomale Störungen schwere Folgen nach sich ziehen: in den *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 804 waren bis zum Jahr 1995 zumindest 16 Erkrankungen bekannt. Zu den einschlägig bekannteren Störungen zählen das Refsum-Syndrom, auf das ich später genauer eingehen werde, das Cerebro-Hepato-Renale Syndrom (CHRS), bei dem sich in den Zellen zytochemisch keine Peroxisomen nachweisen lassen, sowie die Adrenoleukodystrophie. Diese Erkrankung, die durch den Film „Lorenzos Öl“ weitere Bekanntheit erlangte, auch Addison-Schilder-Syndrom genannt, ein seltenes Erbleiden, tritt im Kindesalter auf und bringt einen schnellen neurologischen Verfall mit sich, bis hin zu schweren Hirnschäden.⁸⁷

2.2 Peroxisomale Proliferatoren PPs

Eine der äußerst interessanten Aspekte der peroxisomalen Eigenschaften ist die Fähigkeit, dass die Anzahl dieser Organellen in der Zelle vermehrt werden kann. Induziert wird diese Organellenvermehrung durch eine Vielzahl von sogenannten Peroxisomalen Proliferatoren PPs.⁴⁹

PPs werden im Zellkern an spezifische Rezeptoren gebunden, welche im ligierten Zustand Gene von peroxisomalen Enzymen zu aktivieren vermögen, deren Expression die Peroxisomenproliferation bewirkt. Deshalb werden diese Rezeptoren auch als Peroxisomen-Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs) bezeichnet.²⁹ PPs umfassen eine große Zahl unterschiedlichster Verbindungen, exogenen und endogenen Ursprungs, die imstande sind, eine Erhöhung der Peroxisomenzahl in der Zelle bei Ratten *in vivo* zu verursachen ^{49,76}. Es scheint, als ob die Peroxisomenzahl erhöht wird, um einer Flut schwer abbaubarer Substrate, PPs, wie zum Beispiel verzweigtkettigen Fettsäuren, wie der Phytansäure Herr zu werden, sozusagen als Autoregulativ.

Einige nennenswerte Beispiele für exogene Proliferatoren sind die zur Gruppe der hypolipämisch wirkenden Pharmaka zählenden Fibrate (synthetische Liganden der PPAR α), aber auch hypoglykämisch wirkende Pharmaka. Darüber hinaus verursachen auch Wachstoffsstoffe bzw. Wachstoffsstoffherbizide sog. Aryloxyfettsäuren und

Derivate²⁵ wie 2,4-D (2,4-Dichlorphenoxyessigsäure) oder MCPA (3-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure)^{28,48} peroxisomale Proliferation. Das Herbizid MCPA führt beim Tier nach akuter, oraler Exposition gegenüber hoher Dosen zur Senkung der Triglyceride neben anderen Zeichen zu einer Störung der Bewegungsabläufe³⁰ 2,4-D und MCPA finden häufig als Kombinationspräparate im Getreide als Unkrautvernichtungsmittel Verwendung. Bei den Aryloxyphenoxypropionsäuren wird die monokotyle chloroplastidäre Acetyl-CoA-Carboxylase vom eukaryontischen Typ, mit der die Fettsäuresynthese beginnt, gehemmt. Der Chloroplast ist der einzige Ort in höheren Pflanzen, wo Fettsäuren synthetisiert werden können. Zweikeimblättrige Pflanzen haben eine prokaryontische Acetyl-CoA-Carboxylase, daher sind sie äußerst unempfindlich gegen diese Wirkstoffe.²⁵ Aus historischen Gründen sei noch das 2,4,5-T, (2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure) erwähnt, dass auch in einer Tabelle bei Moody, 1994 als PP angeführt wird⁵² und einschlägig bekannt als Formulierung mit 2,4-D unter der Bezeichnung Agent Orange als Entlaubungsmittel im Vietnamkrieg von der United States Air Force großflächig versprüht wurde.¹⁰

Sowohl der Lipidsenker Clofibrat 2-(p-chlorphenoxy)-2-methylpropionat, ein Clofibrinsäurederivat wird nach Resorption als Ester, hier als ein klassischer Prodrug⁶⁹ schnell gespalten, so dass im Blut vorwiegend 4-Chlorphenoxy-isobuttersäure, („Clofibratsäure“), die starke Bindung an Plasmaeiweiße zeigt, vorliegt.⁴² So wie das Wuchsstoffherbizid MCPA im Experiment bei Tieren gleichsam auch lipidsenkende Wirkung zeigt, und tatsächlich auch die Triglyceride senkt, so zeigen auf der anderen Seite der klassische Lipidsenker Clofibrat u. die Clofibrinsäure wachstumsregulierende Eigenschaften bei Pflanzen.¹⁰ Stötzer schreibt, dass es seit Jahren eine Reihe von „Modellsubstanzen“ in der experimentellen Krebsforschung gibt, mit deren Hilfe sich Pankreaskarzinome induzieren lassen. Bei den Medikamenten ist Clofibrat solch eine Modellsubstanz.⁶⁹ Eine ähnliche strukturelle Homologie von Wirkstoffen die sowohl als Arzneimittel als eben auch als Herbizide in der Landwirtschaft Verwendung finden, ist die Gruppe der verschiedenen Generationen der Sulfonylharnstoffe, die als kaliumkanalblockierende Typ II Antidiabetika mit hoher Plasmaeiweißbindung eingesetzt werden bzw. wurden, unter anderem mit der Nebenwirkung einer nicht erwünschten Gewichtszunahme.⁴⁰ Aber erst die moderneren Insulinsensitizer, Glitazone haben wieder Affinität zu PPARs,

genauer gesagt zu den NHR bzw. Kernrezeptoren der Untergruppe NR1C3, zu denen die PPAR γ ja gezählt werden. Glitazone (Pioglitazon, Rosiglitazon) stimulieren den PPAR γ , der dann zusammen mit anderen Proteinen als Transkriptionsfaktor-Komplex wirkt. Die Produktion des Glucosetransporters GLUT-4 wird unter anderem dadurch induziert.¹⁷ Glitazone induzieren auch die Differenzierung von Präadipozyten zu Adipozyten. Die Aufnahme freier Fettsäuren in die Zelle wird gefördert, freie Fettsäuren im Blut gesenkt. Eine Umverteilung des Fettgewebes wird eingeleitet, quasi wird aus dem Apfeltyp ein Birnentyp. Die stoffwechselaktiven, viszeralen Fettspeicher bei Typ-2-Diabetikern nehmen ab, während das subkutane Fettgewebe zunimmt. Die Insulinresistenz wird vermindert.⁴⁰ Dies zeigt welche Bedeutung PPARs auch bei der Körperfettverteilung besitzen.

Weiters bekannte PPs sind Holzschutzmittel wie Chlorphenole, Insektizide wie das Pyrethroid Dimethrin, das allseits bekannte Aspirin, Weichmacher wie Bis(2ethylhexyl)phthalat (DEHP), das Lösungs- bzw. Entfettungsmittel Perchlorethylen. Erdölprodukte (Schmieröle, organische Lösungsmittel), Valproinsäure (valproic acid) (Di-n-Propyl-Essigsäure) ein ursprünglich als inertes Lösungsmittel entwickeltes Antiepileptikum,³⁹ Sorbinsäure (sorbic acid) E 200, E202 (2,4-Hexadiensäure). Diese Fettsäure besitzt zwei zueinander konjugierte Doppelbindungen, eines der am häufigsten in Lebensmitteln verwendeten Konservierungsmittel.¹⁶ Die erwähnten PPs stehen beispielhaft für eine Vielzahl solcher regulatorisch wirkender Stoffe.

Immer wieder finden sich in der Literatur, wie bei Halliwell und Gutteridge in *Free Radicals in Biology and Medicine* gemeinsame Nennungen von den Wirkstoffen, wie Trichlorethylen (Lösungsmittel), Clofibrat und Weichmachern (Phtalatderivate) und die auch schon erwähnten Phenoxyessigsäureherbizide wie 2,4-D. Gemeinsam ist ihnen, dass sie zu einer Vergrößerung der Leber führen und sowohl Anzahl als auch Gleichgewicht der Enzymaktivitäten in der Peroxisomen verändern.²²

Auch Wallace machte die Beobachtung, dass Peroxisomale Proliferation und oxidative DNA-Schädigung assoziiert sind mit der Hepatokarzinogenese.⁷⁶

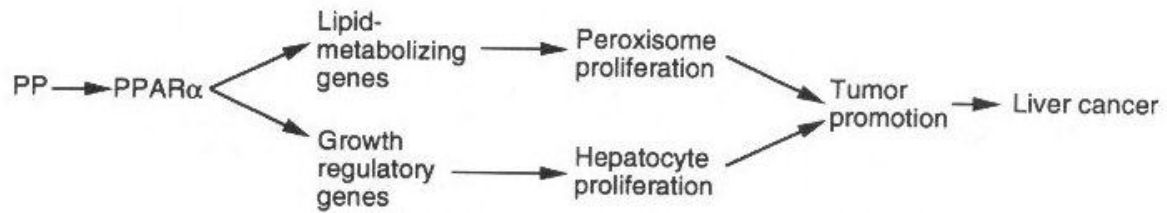


Abb. 2.3: Ein Modell über die Rolle der PPAR α in der Karzinogenese induziert durch Peroxisomale Proliferatoren PPs.⁵⁷

Im Tierversuch an n=24 Ratten wurde die Rückbildung einer Clofibrat – induzierten Peroxisomenproliferation untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass im Vergleich zur Kontrollgruppe bei den mit Clofibrat gefütterten Tieren, eine 45%ige Zunahme des absoluten und relativen Lebergewichtes zu verzeichnen war, aufgrund der Verdreifachung der hepatischen Peroxisomenanzahl am Cytoplasmavolumen. Am dritten Tag nach Absetzen des Clofibrats lag der Mittelwert des Lebergewichtes bei den Versuchstieren noch um 38% über jenen der Kontrolltiere.²⁷ Bereits vor beinahe 30 Jahren konnte festgestellt werden, dass peroxisomale Proliferatoren zu einer signifikanten Erhöhung des Lebergewichtes führen, und dass nach Absetzen des Liganden primär der Abbau der proliferierten Peroxisomen durch zelluläre Autophagie erfolgt.²⁷ Peroxisomale Proliferation ist durchwegs mit Hepatomegalie (Lebervergrößerung) assoziiert, welche sowohl auf eine Hypertrophie, eine Volumenzunahme der Hepatozyten, als auch auf Hyperplasie, einer Erhöhung der Anzahl der Zellen zurückzuführen ist.

Man kann davon ausgehen, dass PPs in der Lage sind, zelluläre DNA-Schädigungen zu induzieren.⁷⁶ Das leicht messbare 8-OHdG, 8 – Hydroxydeoxyguanosin, wurde in vielen Studien über PPs als Biomarker, bzw. Indikator für oxidative DNA-Schädigung und oxidativen Stress herangezogen.

Eine verblüffende Beobachtung ist, dass mitochondriale Änderungen (Anzahl, Ausmaß der DNA-Schädigung) insgesamt an PP induzierten DNA-Veränderungen ausschlaggebend beteiligt und eingebunden sind. (Wallace, 1997)

Wie bereits erwähnt, haben Beobachtungen gezeigt, dass Peroxisomen eine wichtige Funktion beim Abbau bestimmter Umweltgifte haben.

Untersuchungen von Fahimi und Baumgart⁸⁷ haben gezeigt, dass bestimmte Umweltgifte, die als PPs wirken, zu einer starken Vermehrung der Peroxisomen in den Verdauungsdrüsen von Meeresmuscheln führen. Die Bedeutung der Peroxisomenproliferation als Bioindikator für die Meeresverschmutzung wurde angedacht.⁸⁷

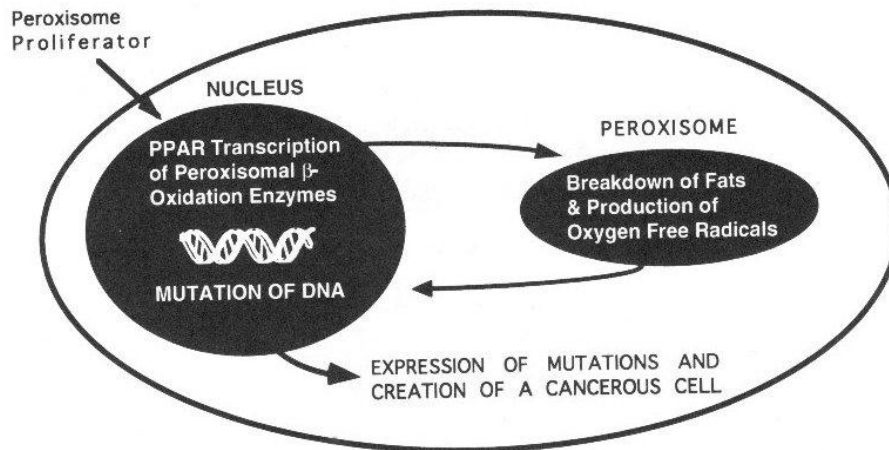


Abb. 2.4: PPAR α als Mediator von oxidativem Stress. PPAR α als Bestandteil der klassischen oxidativen Stress Hypothese, einschließlich seiner Rolle als Transkriptionsregulator der peroxisomenspezifischen β -Oxidationsenzyme.²

2.2.1 Peroxisom – Proliferator – aktivierte Rezeptoren PPARs

PPARs sind Transkriptionsfaktoren, die zur Familie der nukleären Hormonrezeptoren (NHR) zählen, wobei die PPARs zur Unterfamilie NR1C gehören. Die Bezeichnung NHR und NR⁸² wird synonym, je nach Autor verwendet. PPARs umfassen insgesamt 48 humane ligandeninduzierbare Transkriptionsfaktoren, die durch Steroide und Lipidmetaboliten regulierbar sind. Drei verschiedene PPAR Gene für PPAR α , PPAR β auch genannt PPAR δ und PPAR γ , konnten in allen Metazoen (Vielzellern) identifiziert und zugeordnet werden. PPARs sind funktionell an der Adipocytendifferenzierung, Fettspeicherung und der Glukosehomöostase des Fettgewebes, des Gehirns, der Plazenta und der Haut beteiligt. Sie sind gut untersucht in Bezug auf ihre physiologischen und pathophysiologischen Auswirkungen, und spielen aber eine bedeutende Rolle in der Pathogenese von verschiedenen Störungen des zentralen Nervensystems, wie Multiple Sklerose, amyotrophe Lateralerkrankung, Morbus Alzheimer und Parkinson.⁴¹

Phytansäure und Pristansäure (Metabolit der Phytansäure) sind natürlich vorkommende Liganden für PPAR α und RXR (Retinoid – X – Rezeptor). Phytansäure bindet mit sehr hoher Affinität an die PPAR α und induziert die Expression von gencodierenden Enzymen der Fettsäureoxidation in Peroxisomen und Mitochondrien.⁴⁸

Ernährungsabhängiges Zellwachstum, sowie Differenzierung, und die Regulation der Expression bestimmter Gene durch Stimulierung bzw. Aktivierung von PPAR α und PPAR- Isoformen ist in der Fachliteratur mehrfach belegt worden.^{2,62} Während viele dieser Effekte vorteilhaft für die menschliche Gesundheit sind, werden Nahrungsfette anscheinend dann zum Problem, wenn Menschen bzw. Tiere einen zu hohen Anteil an Fett und/oder einen unverhältnismäßig hohen Anteil von gesättigten Fettsäuren oder PUFAS an der Nahrung verzehren. Eine Vielzahl von epidemiologischen, klinischen Studien und Tierversuchen untersuchten den Zusammenhang von Nahrungsfett mit dem Beginn und Verlauf von chronischen Erkrankungen, wie Brust-, Colon- und Prostatakrebs, koronare Herzerkrankungen, Insulinresistenz, Bluthochdruck und Übergewicht.²

Vereinfacht zusammengefasst kann gesagt werden, dass in vivo und in Zellkulturen bestätigt ist, dass Nahrungsfette die Zellfunktionen verändern. Beispielsweise verursachen gesteigerte zelluläre Fettsäurekonzentration eine höhere Fettsäureoxidation (sowohl mitochondrial, als auch peroxisomal), und eine verminderte Glucoseaufnahme und Glykolyse und begünstigen die Glukoneogenese. Möglicherweise könnte es sich dabei um die „Basis“ für fettsäureninduzierte Insulinresistenz in Muskeln und Leber handeln.² Peroxisomen reagieren somit auf diätetische und hormonelle Einflüsse. Ernährungsformen mit hohem Fettanteil, insbesondere mit langkettigen Fettsäuren und Cholesterin, Tocopherolmangel und Thyreoidhormone verursachen einen moderaten Anstieg sowohl des hepatischen Peroxisomengehalts als auch dem Anteil hepatischer peroxisomaler Enzyme.⁵²

Bemerkenswert ist, dass VLCFAs, PUFAs und Eicosanoide natürliche Aktivatoren der PPAR α sind⁴⁸, aber auch hydroxyliertes Sojabohnenöl und konjugierte Linolsäure.⁶²

Heim et al. konnten 2002 bei Ratten zeigen, dass Phytansäure über mehrere PPAR- Isoformen die Expression von Genen moduliert, die mit dem Glucosemetabolismus

im Zusammenhang stehen, damit spielt die Phytansäure möglicherweise eine Rolle in der Regelung der Insulinresistenz.²⁴

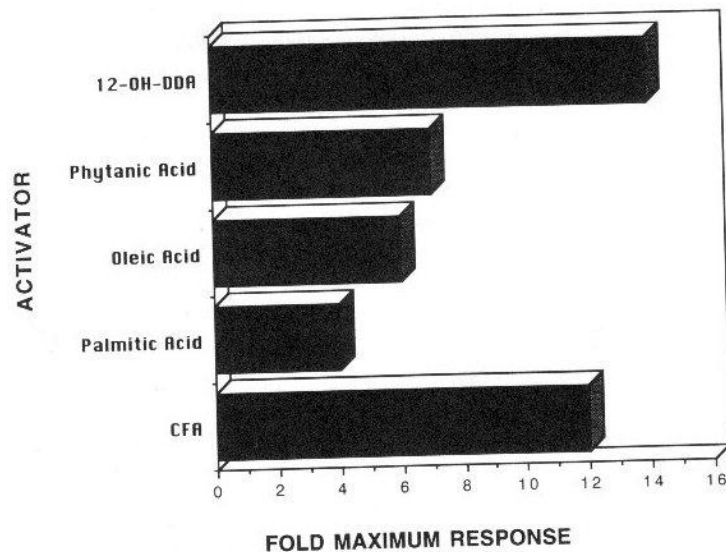


Abb.2.5: Ausgewählte Fettsäuren als Aktivatoren von PPAR α . Die Fettsäuren wie die 12-Hydroxylaurinsäure (12-OH-Dodecansäure, 12-OH-DDA) Phytansäure (3,7,11,15-Tetramethylhexadecansäure(C20)), Ölsäure (C18:1), Palmitinsäure (C16:0), zusammen mit dem klassischen PP, Clofibratmetaboliten Clofibrin acid CFA (Clofibrinsäure, 2-(4-Chlorphenoxy)-2-methylpropansäure).²

Ölsäurereiche Quellen sind Olivenöl, Mandelöl, Erdnussöl, Körper- und Milchfette von Landtieren, und Fischtran. Palmitinsäure findet sich ebenfalls in großen Mengen in Körper- und Milchfetten von Landtieren.¹⁶

Die Wichtigkeit von PPAR α in ihrer Gesamtheit in der Glucose- und Fettsäurehomöostase konnte mithilfe von PPAR α -/- defizienten Mäusen gezeigt werden, ihnen fehlte die Fähigkeit, bei Ernährungsrestriktion ihre Fettsäureoxidation zu erhöhen und sie entwickelten einen Diabetes Typ II, erhöhte Triglyceridwerte im Blut, Steatosis hepatis und Hyperglykämie.³⁶

Die essentielle Rolle der PPAR α in der Lipidoxidation wurde dadurch unterstrichen, dass bei Hyperglykämie die PPAR α -Genexpression unterdrückt wird, und die Expression von PPAR γ induziert wird, ein Anstieg von Lipiden in β -Zellen und Kardiomyozyten sowie Apoptose festgestellt werden konnte.³⁶ Als eine Antwort bzw. Reaktion auf PPAR γ -Aktivierung wird Adiponektin, ein Peptidhormon mit insulinsensitivierendem Effekt, von den Adipocyten exprimiert. Die im Zusammenhang mit Übergewicht und Diabetes stehende Insulinresistenz führt zu einer Downregulierung der Adiponektinrezeptoren in Skelettmuskulatur und Leber. Serum-

Adiponektinspiegel stehen in inverser Wechselbeziehung zum BMI und Leberfettgehalt, und deuten möglicherweise auf eine inhibierende Wirkung auf Übergewicht und Steatosis hepatis hin.

Rekombinantes Adiponektin verbessert im Mausmodell Übergewicht und Typ 2 Diabetes. Insulinsensitivierende Effekte könnten sich ergeben durch Fettsäureoxidation in der Muskulatur und erniedrigtem Fettsäuretransport in die Leber und in einem Rückgang der Anreicherung von Triglyceriden sowohl in den Muskeln als auch in der Leber. Leptin ist ein Peptidhormon, welches von reifen Adipozyten sezerniert wird und am Hypothalamus wirkt. Es dient gleichsam als Signal des Energiebedarfes. Es wird im Verhältnis zum Fettgewebeanteil produziert und wirkt günstig bei Patienten mit schwerer Lipodystrophie auf Insulinresistenz und Steatosis hepatis. Leptinspiegel im Serum sind bei NASH (Non alcoholic steatohepatosis) erhöht. Im Unterschied zu Leptin und Adiponektin die ausschließlich von den Adipozyten produziert werden, stammen andere Adipokine, wie der TNF-alpha, ein Zytokin, größtenteils von den Makrophagen des Fettgewebes. Bei adipösen Personen werden infolge der Makrophageninfiltration ins Fettgewebe erhöhte TNF-alpha-Spiegel gemessen, welche durch Überexpression bedingt durch die vergrößerten Adipozyten freigesetzt werden.⁸⁴

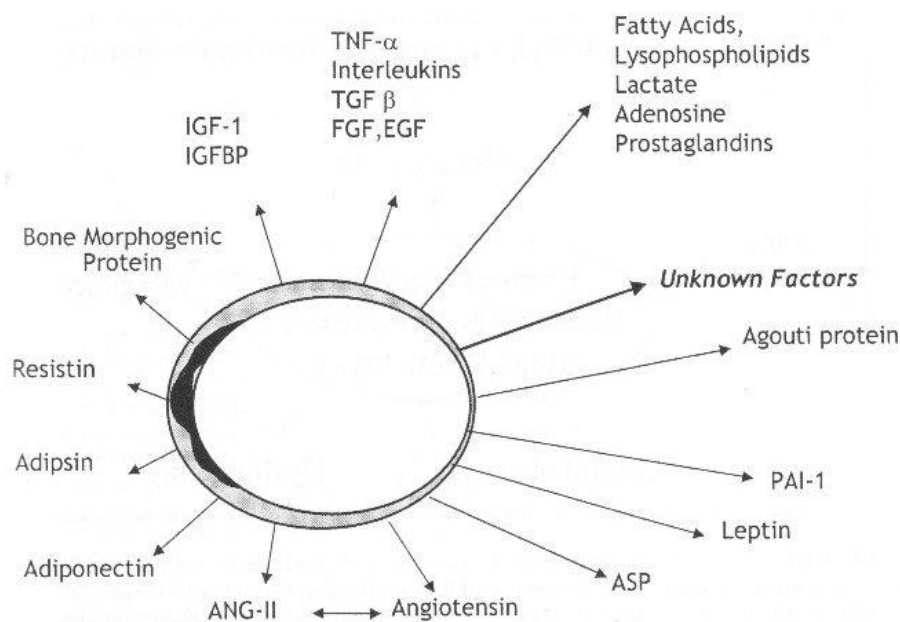


Abb.2.6: Überblick über ausgewählte Proteine und metabolische Faktoren, die indirekt durch Vorhandensein der Adipocyten sezerniert werden. Beispielsweise TNF α , er wird durch ins Fettgewebe eingewanderte Makrophagen freigesetzt.³⁶

Neben der Einbindung in zelluläre Prozesse des Lipid – und Lipoproteinstoffwechsels konnte eine PPAR α – Aktivierung auch bei Apoptose und der Entzündungsantwort beobachtet werden.⁶²

Aktivierte PPAR α konnten die cytokinininduzierte Aktivierung von zahlreichen Entzündungsgenen, wie das vascular cell adhesion molecule1 VCAM 1, Cyclooxygenase-2 und Interleukin-6 unterdrücken, durch beeinträchtigendes Eingreifen in die Transkriptionsaktivität des NF- κ B (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells). PPAR α induzieren die I κ B α (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha, hemmt NF- κ B) - Expression in humanen Aortamuskelzellen und in humanen Hepatocyten.⁶²

Auch in der metabolischen Adaption bei Nahrungskarenz spielt der Rezeptor PPAR α durch Induzieren von Genen der Fettsäureoxidation und der Ketogenese eine essentielle Rolle.⁶

2.3 Metabolismus von Phytansäure im menschlichen Körper

2.3.1 Aufnahme über die Nahrung

Wie bereits in Kapitel 1 angeführt, liegt der Anteil der Phytansäure in Lebensmitteln insgesamt bei 0,5 bis 4 %, und bei 100-500mg/100g Lipiden⁷². Dieser Gehalt in Lebensmitteln ist vergleichbar mit Gehalten an konjugierter Linolsäure oder dem Gehalt an trans-Fettsäuren.⁸⁵

Der durchschnittliche Phytansäure-Serumgehalt beim Menschen beträgt 0,16 – 0,21mg/100ml. Bei der Refsumschen Krankheit steigt die Konzentration auf über 50mg/100ml.⁴³

2.3.2 Resorption

Die Kettenlänge der Fettsäuren bestimmen in hohem Maße Verdauung und Resorption der Fette. Triglyceride, welche langkettige Fettsäuren enthalten werden bekanntermaßen als LCT (long chain triglycerides) bezeichnet. Die Fette mittelkettiger Fettsäuren führen die englische Bezeichnung MCT (middle chain triglycerides). Die mit der Nahrung aufgenommenen und von Gallenflüssigkeit und Pankreassaft hydrolysierten Spaltprodukten, werden vom Darmschleimhautepithel, welches aus Mikrovilli tragenden Enterocyten besteht, resorbiert. MCT werden im Darmlumen sowohl schnell hydrolysiert, als auch deren Spaltprodukte im Dünndarm rasch resorbiert. Die Resorption im Dünndarm erfolgt im Vergleich zu den LCT-Spaltprodukten ebenfalls rasch. Bekanntlich sind die Spaltprodukte, Mono-, in geringerem Maße Diglyceride, die freiwerdenden Fettsäuren, und der dreiwertige Alkohol Glycerin. Da kurz- u. v. a. mittelkettige Fettsäuren in der Mucosa nicht reverestert werden und im Blut direkt an Albumin gebunden werden, sind sie sowohl bei Fettresorptionsstörungen als auch bei evtl. eingeschränkter Lipaseaktivität sowie bei exokriner Pankreasinsuffizienz, welche sich durch Steatorrhoe manifestieren kann, indiziert.⁶⁰

Die Resorption von Spaltprodukten langkettiger Fette, deren Fettsäuren eine Kettenlänge von mehr als 12 C- Atomen aufweist, bedingt die Bildung von Micellen. Diese bilden sich überwiegend aus Gallensalzen und Monoglyceriden. Abgesehen von den Gallensalzen, die im Darmlumen verbleiben, werden die sonstigen Bestandteile in die Mucosazelle eingeschleust. Mittels Koppelung an ein wasserlösliches Trägerprotein, FABP (fatty acid binding protein), dass eine höhere Affinität zu ungesättigten als zu gesättigten Fettsäuren besitzt, erfolgt der Transport in der Darmschleimhautzelle. Intrazelluläre Lipasen bauen hier Mono- und Diglyceride so weit ab, bis nur noch freie Fettsäuren und der dreiwertige Alkohol übrigbleiben. Nur jene Fettsäuren, die eine Kettenlänge von mehr als zehn Kohlenstoffatomen aufweisen, also LCFA, werden zu Triglyceriden reverestert. Diese Triglyceride werden in Form von Lipoproteinpartikeln, den Chylomikronen³⁴ an die Lymphe abgegeben. MCFA passieren ohne Veränderung die Zellen und werden ins Pfortaderblut abgegeben. Anzunehmen ist, dass auch die Phytansäure mit ihrer Kohlenstoffkette von 16 C-Atomen, an denen noch 4 Methylgruppen als Verzweigungen substituiert sind, neben unverzweigten langkettigen Fettsäuren stufenweise über Mono- und Diglyceride bis zum vollständigen Triglycerid in den Ablauf der Reveresterung

eingebunden ist. Die Reveresterung in den Enterozyten wird von den Microsomen, die Fragmente des endoplasmatischen Retikulums darstellen, mittels spezifischer Enzyme vorgenommen. Es besteht auch die Möglichkeit, dass Glycerin aus der Triglyceridhydrolyse zur Reveresterung herangezogen wird.

2.3.3 Transport

Phytansäure wird zu 65% im Plasma von Patienten mit Refsumsyndrom an LDL, HDL und VLDL gebunden.⁷⁹ Natürlich stellt sich die Frage, ob es beim kranken im Vergleich zum gesunden Menschen, eine Verschiebung der Phytansäuregehalte in den einzelnen Transportpartikeln gibt.

Patienten mit dem Refsumsyndrom akkumulieren signifikante Mengen Phytansäure in Körperfett und Nervengewebe. Mithilfe einer geeigneten phytansäurearmen, bzw. freien Diät ist diese Speicherung reversibel. Der Transportmechanismus dieser Fettsäure ist noch nicht vollständig geklärt. Wierzbicki et al. untersuchten 1999 bei 11 Patienten mit Refsumsyndrom und 9 nichterkrankten Geschwistern die Verteilung der Phytansäure in den verschiedenen Lipoproteinfraktionen. Die gesamte Plasmaphytansäure war verteilt auf VLDL (16.2% +/- 12.2%), IDL (1.77% +/- 1.64%), LDL (34.8% +/- 12.6%) und HDL (14.3% +/- 7.87%).⁷⁹

Ein schwacher, nicht signifikanter Zusammenhang konnte zwischen der partiellen Verteilung von Phytansäure und VLDL Triglyceriden ($r = 0.35$; $p = 0.12$), Phytansäure und dem Plasma HDL-Cholesterin ($r = 0.32$; $p = 0.16$) und zwischen Phytansäure und der LDL:HDL – Cholesterin ratio ($r = 0.33$; $p = 0.14$) beobachtet werden. Eine signifikante Korrelation der partiellen Verteilung von Phytansäure konnte mit dem Apolipoprotein B: Apolipoprotein A1 Verhältnis ($r = 0.46$; $p = 0.03$), aber auch mit dem Apolipoprotein B: Apolipoprotein A1 Verhältnis in HDL₁ ($r = 0.53$; $p = 0.01$) verzeichnet werden.

Dies deutet darauf hin, dass die Aufnahme und Abgabe von Phytansäure in und aus dem Plasma im Zusammenhang steht mit dem Hin- und Rücktransport von Cholesterin in Lipoproteinpartikeln, aber kaum mit Plasmacholesterin und Triglyceriden. Diese Verhältniswerte bezogen auf die Apolipoproteinpartikel spielen möglicherweise eine signifikante Rolle in der Ermittlung der Phytansäureeliminierungsrate bei Patienten mit dem Refsumsyndrom.⁷⁹

Möglicherweise liegt hier eine größere Bedeutung vergraben, seit vielen Jahren wird auf die Schädlichkeit des Cholesterins (wobei es selbstverständlicherweise für die Bildung der Gallensäuren, Hormone, usw. essentiell ist und beispielsweise auch für die Gedächtnisleistung wichtig ist) verwiesen. Die Phytansäure blieb bis dato vollkommen unerwähnt, da diese beiden aber offensichtlich, was den Transport betrifft, im Zusammenhang stehen, könnte es sein, dass die Phytansäure gleichsam als blinder Passagier in der Wissenschaft bis heute gut unterwegs war und ihren hydrophilen Kopf vor einer genaueren Beobachtung offensichtlich immer einziehen konnte.

Klassische genetische Disposition, aber auch Einflüsse, die epigenetische Wirkungen zeigen, wie z.B.: Hypomethylierung von CpG-Dinukleotiden im Redoxenzympromotor p66Shc (bedeutet hier konkret, dass die epigenetische Hochregulation von p66Shc, eine LDL-Cholesterininduzierte Endothelzell dysfunktion bewirkt).³⁵ Umweltfaktoren, Lebensstil, Ernährung und auch körperliche Aktivität sind eben maßgeblich an der Plasmakonzentration der Lipide beim Menschen beteiligt.

Die Plasmakonzentration und Zusammensetzung der Lipoproteine sind von der Aktivität verschiedener Enzyme (z.B. der Lipoproteinlipase LPL), der Konzentration von Apolipoproteinen von der Aktivität von Rezeptoren, die an der Zelloberfläche sitzen abhängig, und auch von Rezeptoren die am Zellkern durch geeignete Liganden aktiviert oder gehemmt werden können, wie z.B. die schon beschriebenen PPAR α – Rezeptoren.⁶⁴

2.3.4 Barrierefunktion des Darmepithels bzw. Barriereproteine

Der Dünndarm ist der hauptsächliche Ort für die Verdauung und selektive Absorption von Nährstoffen und anderen Nahrungsbestandteilen, die von einer Gruppe von Transportproteinen und metabolischen Enzymen vermittelt wird, oft zusammenfassend als „intestinale Barriereproteine“ bezeichnet. Ein wichtiger Rezeptor, der die Effekte der Nahrungslipide auf die Genexpression mediiert, ist der

PPAR α , der reichlich in Enterozyten exprimiert wird. Der Dünndarm wird oft großen Mengen PPAR α – Agonisten über die Nahrung ausgesetzt.

In dieser Studie wurde die Wirkung der sofort einsetzenden Aktivierung der PPAR α auf die Expression von Genen untersucht, die intestinale Barriereproteine codieren, nämlich von Transporter und Phase I/II Metabolismus Genen.

Genexpressionsanalysen wurden an Wildtyp- und PPAR α - Null-Mäusestämmen vorgenommen, Verwendung fanden Triglyceride aus identischen Fettsäuren. Als Standard diente der bekannte, synthetische PPAR α Agonist WY14643. 6 Stunden nach Aktivierung durch WY14643 identifizierten Bosch et al. 74 PPAR α – abhängige Barrieregene. Dabei aktivierte die EPA die Expression von 46, die DHA von 41 und die OA von 19 Genen, wobei sich deutliche Überschneidungen von EPA, DHA mit WY14643 regulierten Genen zeigten und geringere Überschneidungen zwischen OA und WY14643 regulierten Genen. Aus den vorliegenden Daten lässt sich der Schluss ziehen, dass es zu einer nährstoffaktivierten PPAR α – abhängigen Regelung bzw. Expression von Barrieregenen, und folglich von Transport und Phase I/II Metabolismus Enzymen kommt.⁷⁰

Allgemein sei hier erwähnt, dass Biotransformationsreaktionen insbesondere in der Pharmakologie eben in zwei Phasen unterteilt werden und diese benannt werden als: Phase-1-Reaktionen, sie führen zu einer Strukturveränderung des Pharmakons, z.B. Oxidation (auch die Reaktion beispielsweise, die Ethanol mittels Alkoholdehydrogenase zu Acetaldehyd oxidiert gehört hierher) weiters Reduktion und hydrolytische Spaltung. Die wichtigsten Phase-I-Enzyme sind Cytochrom-P450-Monooxygenasen. Die Biosynthese von Steroidhormonen, Prostaglandinen oder Leukotrienen wird von Cytochrom-P450-Enzymen katalysiert.¹⁷ Phase-2-Reaktionen sind Koppelungsreaktionen wie die Anbindung von Glucuronsäure.⁴²

Diese beiden Enzymgruppen sind involviert in die Fettsäureoxidation in den Cholesterin-, Glucose- und Aminosäuretransport und –Metabolismus, in die intestinale Darmmotilität und in die Abwehr von oxidativem Stress. Demzufolge lässt sich die Rolle von Nahrungsfett auf die Barrierefunktion des Darms besser verstehen

und unterstreicht die Wichtigkeit von PPAR α als Faktor in der Kontrolle dieser Schlüsselfunktion.^{14,70}

Hier drängt sich die Frage auf, wie viele und welche Gene die Phytansäure, nachdem sie über die Nahrung aufgenommen wurde, PPAR α abhängig aktiviert. Insbesondere in welche metabolischen Prozesse und Steuerungen sie dadurch in „PPAR α – reichen“ Organen, wie Nieren, Herz, Dünndarm und Leber eingebunden ist. Und natürlich welche Konsequenzen sich daraus ergeben bzw. ob sich nennenswerte Folgen aus den aus der Nahrung durchschnittlich aufgenommenen Mengen Phytansäure zeigen.

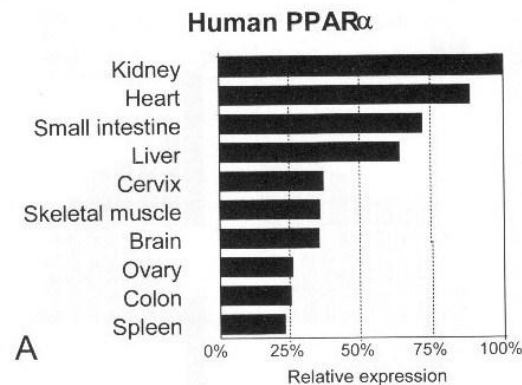


Abb.2.7: Expression levels of PPAR α in various human tissues⁷⁰

2.3.5 Der Abbau der Phytansäure im Menschen

Aufgrund der Methylgruppe am C3-Atom in der Kohlenstoffkette ist die Bildung des Zwischenproduktes 3-Ketoacyl-CoA nicht möglich. Demzufolge kann die Phytansäure nicht durch β -Oxidation abgebaut werden, welche eigentlich der normale Weg ist Fettsäuren stufenweise abzubauen. Um dieses Hindernis zu überwinden, beginnt der Start mit der **α -Oxidation:**

Die 3-Methyl-verzweigt-kettige Fettsäure **Phytansäure** (C₂₀H₄₀O₂) wird an Coenzym A gebunden, um sie zu aktivieren. Die Einschleusung des cytosolisch lokalisierten Acyl-CoA in die Peroxisomen ist nicht (wie in den Mitochondrien) Carnitin-abhängig,

sondern wird von einem spezifischen Transportprotein katalysiert, dem Adrenoleukodystrophie-Protein ALDP.⁴⁶

Die Adrenoleukodystrophie, die am längsten bekannte und am besten charakterisierte und häufigste peroxisomale Erkrankung, die mit einer Inzidenz von 1:20 000 bis 1: 100 000 Geburten auftritt, beruht auf einem Defekt des ALD-Proteins, ist gekennzeichnet durch schwere Schäden der Myelinscheiden der Nerven und ist allgemein bekannt geworden durch den Film „Lorenzos Öl“. ⁸⁷

Von der gleichsam stets verfügbaren Energieeinheit ATP wird Pyrophosphat abgespalten, um Energie für die Bildung des Thioesters **Phytanoyl-CoA** zu liefern.

In einem weiteren Schritt wird das 3-Methyl-Acyl-CoA in Position 2 hydroxyliert, mittels einer Dioxygenase (Cofaktoren: molekularer O₂, Eisen, 2-Oxoglutarat – Ascorbat, ATP/GTP, CoA und Mg²⁺). Dieses 2-Phytanoyl-CoA – Hydroxylase PAHX beinhaltet ein PTS2 Signal in der peroxisomalen Matrix. Das Produkt der PAHX katalysierten Reaktion ist ein **2-Hydroxyphytanoyl-CoA**.

Das 2-Hydroxy-3-methylacyl-CoA wird anschließend in der peroxisomalen Matrix durch die 2-Hydroxyphytanoyl-CoA-Lyase, die TPP als Cofaktor benötigt, geteilt. Produkte dieser Reaktion sind Formyl-CoA und das 2-Methyl-verzweigt-kettige Fettsäuren Aldehyd **Pristanal**. Pristanal wird zu der 2-Methyl-verzweigt-kettigen FS **Pristansäure** (2,6,10,14 – Tetramethylpentadekansäure, C₁₉H₃₈O₂) dehydriert, von einer NAD⁺ - abhängigen Aldehyd-Dehydrogenase aus der peroxisomalen Matrix. Die e⁻ dabei werden direkt an O₂ weitergegeben, sodass H₂O₂ entsteht. Dieses wird sofort durch die Katalase in H₂O und O₂ gespalten.¹⁵

Die α-Oxidation entfernt hier also einen C1-Rest, beginnt mit einer Hydroxylierung, erfordert kein Coenzym A und erzeugt auch kein ATP.^{38,58}

Die Pristansäure kann nun mithilfe von Coenzym A zu einem Thioester, dem Acyl-CoA aktiviert werden, und dieser kann schließlich die peroxisomale β – Oxidation durchlaufen. Im Gegensatz zur mitochondrialen β – Oxidation verläuft die peroxisomale nur über zwei bis maximal fünf Zyklen, sie dient möglicherweise eher der Verkürzung von langkettigen Fettsäuren als der vollständigen Oxidation.⁴⁶ Das Formyl-CoA wird schließlich im Peroxisom hauptsächlich enzymatisch zu Formiat (Ameisensäurenanion) hydrolysiert und zu CO₂ im Cytosol abgebaut.³²

Während ihrer Forschungstätigkeiten über die α -Oxidation von 3-methylverzweigten Fettsäuren konnten Casteels et al. von der medizinischen Fakultät der Universität in Leuven, Belgien, ein bis dahin neues Enzym entdecken, die 2-Hydroxyphytanoyl-CoA Lyase, welche den dritten Schritt des vorgeschlagenen Stoffwechselweges katalysiert und eine Abhängigkeit von Thiamin zeigt.³²

Der Hauptmetabolit der Phytansäure ist die Pristansäure, die normalerweise mit ihrem Vorläufermetaboliten Phytansäure in der Nahrung und in humanem Gewebe vorkommt. Pristansäure tendiert zu 3-4-fach niedrigeren Gehalten als Phytansäure.⁷²

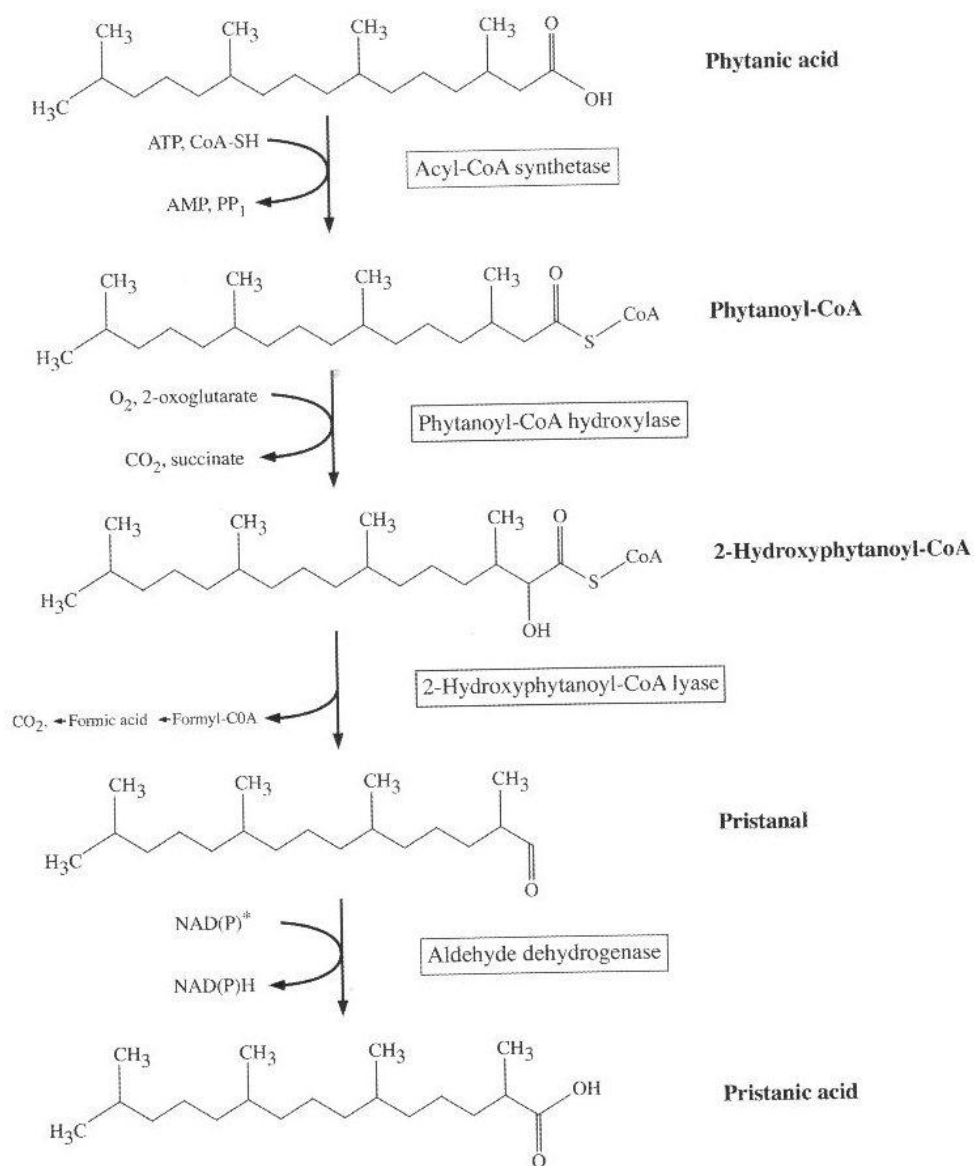


Abb.2.8: Die α - Oxidation der Phytansäure. Die Refsumsche Erkrankung wird verursacht durch einen Defekt der Phytanoyl-CoA-Hydroxylase⁶⁵

Eine Abbaustörung der Phytansäure liegt bei der sogenannten Refsumerkrankung vor, die mit einer Inzidenz von 1: 10^6 – 10^7 auftritt. Menschen, bei denen genetisch (autosomal rezessiv vererbt) ein Phytanoyl-CoA Hydroxylase Mangel vorliegt, ist der Abbau von Phytansäure zur Pristansäure nicht möglich. Dies hat zur Folge, dass Phytansäure in Blut und Geweben akkumuliert. Die Ernährungstherapie der Refsumpatienten hat zum Ziel phytansäurehaltige Lebensmittel zu meiden, die Phytansäureaufnahme sollte auf 10mg/d abgesenkt werden (diese Menge ist in ca. 100 – 200ml homogenisierter Vollmilch enthalten⁷²). Die Phytansäure kann für Ernährungswissenschaftler insofern von Interesse sein, da die unbehandelte Erkrankung aufgrund der pathologischen Akkumulation einen dramatischen Verlauf nimmt, und sich die Frage stellt, ob eventuell auch für gesunde Personen phytanreiche Kost, in größeren Mengen genossen, zu gesundheitlichen Problemen führen könnte.

3 Gesundheitliche Relevanz der Phytansäure in der Ernährung

3.1 Das Refsumsyndrom

Der norwegische Arzt Sigvald Refsum (1907-1991), nach dem die klassische Form dieser Erkrankung benannt ist, hat das Syndrom 1945 bei zwei norwegischen Familien beschrieben. Schon vorher, im Jahre 1939, erkannte Thiebaut et al. diese Krankheitszeichen als ein Erbleiden. Refsum selbst wählte 1945 den lateinischen Begriff *Heredopathia Atactica Polyneuritiformis* als Beschreibung für diesen Krankheitszustand.^{11,65}

Die Systematische Einordnung des Refsum-Syndroms: *Heredopathia atactica polyneuritiformis*, hereditäre motorische und sensible Neuropathie Typ IV, wie diese Erkrankung synonym noch bezeichnet wird⁶⁰ findet ihre systematische Einordnung in den Polyneuropathien und sonstigen Krankheiten des peripheren Nervensystems (G60-G64).

3.1.1 Polyneuropathien

Allgemein imponieren Polyneuropathien (PNP) durch eine systemische Schädigung peripherer Nerven. Bis auf wenige Ausnahmen beginnen diese Erkrankungen distal-symmetrisch und wandern langsam eben von der Peripherie zur Körpermitte hin, wobei die längsten Nerven, also die Äste des N. ischiadicus als erste betroffen sind. Die weltweit häufigste Ursache ist überraschenderweise die Lepra. Bei uns, in den westlichen Industrieländern, machen allerdings Diabetes und Alkohol zwei Drittel aller PNP aus.

Polyneuropathien unterscheiden sich durch erworbene und erblich bedingte Formen. Eine weitere Einteilung der PNP erfolgt der Ursache der Erkrankung nach, also ätiologisch. Hierzu zählen unterschiedlichste Ursachen z. B. toxischer Natur: Exogen-toxisch wie der Alkohol, Lösungsmittel, Lacke, Farben etc., oder endogen-toxisch wie Diabetes oder Urämie. Erwähnt sei auch, dass Personen, die an Polyneuropathie erkranken, ursächlich dadurch auch an Schmerzen leiden können. Dieser sog.

Neuropathische Schmerz kann aufgrund der Läsion im schmerzleitenden System selbst sich zu einer eigenständigen Erkrankung entwickeln. Durch die hohe Prävalenz von Neuropathien in der Bevölkerung, z.B. der diabetischen Polyneuropathie, sind neuropathische Schmerzen insbesondere durch Erkrankungen des PNS innerhalb der Gruppe der Polyneuropathien am häufigsten zu beobachten.⁶⁶ Auch Medikamente können die Ursache von PNP sein, ebenso ein Mangel an Vitaminen, wie Thiamin, Riboflavin, Pyridoxin, Cobalamin, Tocopherol und Folsäure. Zu den hereditären Polyneuropathien, die einen eher kleinen Teil der PNP ausmachen⁶¹ gehören die hereditären motorischen und sensiblen Neuropathien HSMN Typen I-IV. Auch Infektionskrankheiten wie Borreliose, HIV oder Diphtherie können pathogenetisch eine PNP hervorrufen. Weitere PNP können durch Gefäßerkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder paraneoplastische Erkrankungen, wie beispielsweise Karzinome oder Sarkome bedingt sein.

Liegen der Einteilung pathologisch-anatomische Kriterien der primär betroffenen Struktur des Nervs zugrunde, ist also primär das Axon geschädigt spricht man von einer

1. axonalen PNP (z.B. alkoholbedingt, diverse toxische Substanzen, die schon erwähnten Neoplasmen, wie Karzinome und Sarkome). Sind andererseits primär die Myelinscheiden geschädigt handelt es sich um eine
2. demyelinisierende Neuropathie, wo neben anderen auch der Morbus Refsum dazugehört, Diabetes und metabolische Erkrankungen von Leber und Niere⁹

Es werden 7 klinische Formen von hereditären und idiopathischen Polyneuropathien unterschieden, vom Typ HMSN I-VII. Diese werden beinahe immer autosomal dominant oder rezessiv vererbt. Bis auf die HMSN II sind die hereditären Polyneuropathien primär demyelinisierend. Es handelt sich hierbei um einen chronischen Prozess von De- und Remyelinisierung. Histopathologisch sind ineinander gewundene multiple Schichten von Schwann-Zell-Fortsätzen, die von Bindegewebe getrennt sind und wie Zwiebelschalen aussehen, erkennbar. (Die verdickten Nerven, wie z.B. beim Morbus Refsum sind mitunter als subkutane Verdickungen tastbar.) Die Ausprägung der Zwiebelschalenformationen sind typisch für die HMSN I, III und IV.

Der Morbus Refsum wird als Typ IV klassifiziert. (Buchta, 2006) Der Morbus Refsum, die hereditäre motorisch- sensible Neuropathie HMSN IV, (ICD 10: G60.1), ist eine rezessive Erkrankung mit Ataxie als fakultativem Symptom [ICD-10:G60.] Noch einmal hervorgehoben, zählt er nicht zu den erworbenen, sondern zu den viel selteneren hereditären Polyneuropathien, die von manchen AutorInnen auch den Polyneuropathien bei Stoffwechselstörungen beziehungsweise den Ataxien zugeordnet werden.⁴⁴

Ataxien sind nichtfokale (nicht sich von einem Herd ausbreitende) Erkrankungen des Kleinhirns und seiner Verbindungen, deren Leitsymptom eben die chronische Ataxie ist. (Im Gegensatz dazu sind fokale oder multifokale Erkrankungen des Kleinhirns, wie Schlaganfälle, Tumore oder MS und PNP werden nicht zu der Krankheitsgruppe der Ataxien gezählt, auch wenn hier Ataxie sich als Hauptsymptom manifestiert. Die Ataxien werden in erbliche und nichterbliche degenerative oder erworbene symptomatische Ataxien eingeteilt. In dieser Systematik wird der Morbus Refsum natürlich in die erblichen Ataxien (als rezessiv, mit Ataxie als fakultativem Symptom) eingeordnet. Erwähnenswert im ernährungswissenschaftlichen Zusammenhang ist die Ataxie mit isoliertem Vitamin E Defizit, die ebenso zu dieser Gruppe zählt.⁴⁴

3.1.2 Klinik

Was die Genetik betrifft, ist festzustellen, dass Patienten die Mutationen an der PHYH aufweisen, ein isoliertes Defizit in der α – Oxidation zeigen. Patienten mit Mutationen im PEX7 haben ein Defizit der PHYH, der Alkyl-dihydroxyacetonphosphat synthase und auch die peroxisomale Thiolase ist mangelhaft.

Aufgrund der Entdeckung einer 2-methylacylCoA Racemase bei Patienten mit Retinitis pigmentosa und in der Alters- bzw. spät auftretenden (late-onset sensory neuropathy) peripheren sensorischen Neuropathie, wird die genetische Heterogenität des Refsumsyndroms sichtbar. Bei diesen Patienten, ist sowohl der Pristan- als auch der Phytansäurespiegel erhöht, im Gegensatz zu den klassischen Refsumsyndrompatienten, wo nur die Phytansäure erhöht ist. Auch in der

Fachpublikation *Magnetic Resonance of Myelination und Myelin Disorders* von Van der Knaap wird hingewiesen, dass PS ausschließlich exogenen, also über die Nahrung zugeführten Ursprungs ist. Es existiert kein Beweis bzw. Hinweis über eine endogene Synthese.⁷³ Auch Van der Knaap gibt als Hauptaufnahmequelle Milchprodukte, Wiederkäuerfette und deren –fleisch und bestimmte Fische an. Phytol kann, wie bereits erwähnt, vom Menschen zu Phytansäure metabolisiert werden, allerdings ist der überwiegende Anteil von Phytol in grünem Gemüse an Chlorophyll gebunden und nur ein kleiner Teil wird resorbiert. Folglich ist der Beitrag von (ungebundenem) Phytol auf die Plasmaphytansäurekonzentration im Menschen klein. In Anbetracht der hohen Aufnahme und dem Auftreten von Spuren in gesundem menschlichem Gewebe, muss der katabole Stoffwechselweg, der die Phytansäure eliminiert, sehr effizient sein. Die Anreicherung großer Mengen dieser ungewöhnlichen Fettsäure in verschiedenen Geweben und Lipidklassen beim Refsumsyndrom ist wahrscheinlich, wie schon erwähnt, der Grund für eine Serie von sowohl akuten als auch chronischen Symptomen. PS wird leicht in Phospholipide eingebaut. Es ist wahrscheinlich, dass der Einbau in die Myelinscheiden zu einer minder stabilen bzw. haltbaren Myelinstruktur führt. Die Methylverzweigung der PS stört wahrscheinlich die Verpackung der Kohlenwasserstoffschwänze in der bimolekularen Falblattstruktur aufgrund sterischer Hinderung und destabilisiert auf diese Art und Weise das Myelin. Sobald Phytansäurespiegel einen kritischen Punkt erreichen, erfolgt die Myelinauflösung. Die Phytansäurespiegel sind im Myelin der peripheren Nerven höher als im Myelin des ZNS. Darüber hinaus setzt die Demyelinisation bzw. Demyelinierung im Peripheren Nervensystem früher ein als im ZNS und zeigt einen schwereren Verlauf. Hier wird natürlich die interessante Frage aufgeworfen, warum die Phytansäurekonzentration im Myelin der Myelinscheiden des peripheren Nervensystems höher ist als im Myelin des ZNS. Die mögliche Antwort liegt in der höheren Turnoverrate des Myelins des peripheren Nervensystems als jenem von Gehirn und Rückenmark. Darüber hinaus hat die Tatsache Gewicht, dass die Blut-Nervenschranke im PNS weniger restriktiv wirkt als die Blut-Hirnschranke des ZNS, wodurch die PS im PNS einen rascheren Anstieg zeigt als in Gehirn und Rückenmark. Die Verteilung der Demyelinisierung im ZNS mit vorzugsweiser Involvierung des Hirnstammes und des Kleinhirnes harrt noch einer schlüssigen Erklärung.

Bezüglich der Therapie sei nochmals betont, dass es keine Notwendigkeit gibt, Phytol einzuschränken. Angemerkt sei noch, dass in Phasen von starker Körpergewichtsreduktion, kataboler Stoffwechsellage oder auch im Zuge fiebriger Erkältungen bzw. Infektionen PS aus den Körperspeichern freigesetzt wird und so es zu einem Anstieg des PS-Serumspiegels kommen kann, ohne nennenswerte Zufuhr von PS über die Nahrung. Die Folgen davon können aufgrund erheblicher Verschlechterungen der neurologischen und myokardialen Situation zum Tod des am Refsum Syndrom Erkrankten führen.⁷³

Die Phytansäureakkumulation erfolgt in großen Mengen in den Epithelzellen der distalen Tubuli (convoluted tubuls) und in Mesenchym- und Parenchymzellen der Leber. Allgemein wurde Phytansäure im Gehirn in bedeutend größeren Mengen in der weißen Substanz (Substantia alba), die aus Nervenfasern, Gliazellen und Blutgefäßen aufgebaut ist, als in der grauen Substanz (Substantia grisea), die bekanntermaßen aus den Körpern der Nervenzellen und ihren Fortsätzen aufgebaut ist, detektiert. Wenn auch erhebliche Mengen von PS gemessen werden konnten, so gab es gleichzeitig keine nennenswerten Änderungen beim Gesamtfettgehalt zu verzeichnen. Analysen der Lipidzusammensetzung des ZNS machen deutlich, dass das Verhältnis der übrigen Lipide nahezu normal ist. PS ist eher in Cholinphosphoglyceriden als in anderen Phosphoglyceriden zu finden. Die PS akkumuliert vor allem im Myelin und wird eben dort in höheren Konzentrationen in den schon erwähnten Cholinphosphoglyceriden gefunden.⁷³ Das Verhältnis der PS im Myelin der peripheren Nerven ist sogar höher. In verschiedenen Organen ausgenommen vom NS finden sich Akkumulationen von Neutralfetten, insbesondere in der Leber und in der Milz. Ein großer Anteil der Fettsäuren, die in Cholesterinestern und Triglyceriden eingebaut sind, besteht aus Phytansäure. Der Herzmuskel und das Blut enthalten ebenso große Mengen Phytansäure.⁷³

Die im 1.-3. Lebensjahrzehnt beginnende Neuropathie ist demyelinisierend. Interkurrierend können Schwerhörigkeit und Kardiomyopathie vorliegen.⁴⁴ Es ist bemerkenswert, dass Patienten mit der Refsumschen Erkrankung, die Phytansäure akkumulieren, mit einer Häufigkeit von 10-20 % an einem plötzlichen Tod versterben.⁷⁸ Diese langsam fortschreitende Störung des Lipidmetabolismus ist mit neurologischen Störungen verbunden. Bleibt die Krankheit unbehandelt, verschlechtert sich das klinische Zustandsbild progressiv, unterbrochen von symptomlosen Intervallen.⁶⁸ Bevor bekannt wurde, dass der Krankheitsverlauf

therapeutisch durch phytansäurearme Diät beeinflusst, bzw. zum Stillstand gebracht werden kann, verstarb von den unbehandelten Patienten ca. die Hälfte vor dem Erreichen des 30. Lebensjahres, hauptsächlich an den Folgen der Kardiomyopathie.⁶⁸

Das klinische Bild der progressiven Refsumschen Erkrankung zeichnet sich durch vier Hauptmerkmale aus: Retinitis pigmentosa, periphere Polyneuropathie (inklusive Cerebellärer Ataxie), kardiale und dermatologische Auffälligkeiten. Daneben geringgradiger Nystagismus (Augenzittern) und Anosmie (Verlust des Geruchssinns).⁵⁰

Retinitis pigmentosa ist eine allgemeine Bezeichnung für eine angeborene degenerative Erkrankung der Netzhaut mit einer Häufigkeit von 1:4000.⁶⁵ Ihr atypisches klinisches Erscheinungsbild beim Morbus Refsum zeigt sich als Nachtblindheit, hochgradiger konzentrischer Gesichtsfeldeinschränkung mit einer erheblichen Verminderung der Sehschärfe, wobei primär die Stäbchen, später auch die Zapfen betroffen sind.⁶⁰ Später kommt es zur Atrophie des Nervus opticus. Ohne Therapie führt die tapetoretinale Degeneration zu fast gänzlicher Erblindung.

Die typische Form der erblichen Retinitis pigmentosa, bzw. Retinopathia pigmentosa konnte erfolgreich mit dietätischen Maßnahmen und einer Supplementierung mit 5,4mg/d (!) Vitamin A behandelt werden, einhergehend mit einer Verbesserung der krankheitsbedingten Gesichtsfeldeinschränkung.³

Bei ca. 60% der Refsumpatienten kommt es zu sensomotorischer Polyneuropathie, geprägt von Kraftverlust zunächst in den unteren, dann den oberen Extremitäten und schließlich im Stamm, später von Muskelatrophien mit neuronaler Schädigung. Die Schwere des klinischen Bildes korreliert mit der Höhe der Plasmakonzentration von Phytansäure.⁶⁸

Hirnnervenstörungen: Bei 80 – 100% der Patienten tritt bereits sehr früh Mikrosomie (Kleinwuchs) auf. Weiters kommt es zu einer Hörminderung (Erhöhung der Hörschwelle) und einer starken Beeinträchtigung des Sprachverständnisses. Darüber hinaus treten zerebelläre Symptome, vor allem Ataxie im späteren Krankheitsverlauf bei ca. 50% der Patienten auf.

Kardiale Symptome sind bei Refsumpatienten weit verbreitet, häufig besteht eine hypertrophe Kardiomyopathie mit Gefahr des Herzversagens. Auch die Rhythmusstörungen korrelieren mit der Serumkonzentration von Phytansäure.⁶⁸

Das Ausmaß der dermatologischen Veränderungen ist sehr variabel, das klinische Spektrum ist groß. Ichthyosis mit Verhornungsstörungen mit epidermaler Hyperkeratose treten bei ca. 20% der Patienten auf, auch hier korreliert die Ausprägung der Hautveränderungen mit dem Plasmaphytansäurespiegel.

3.1.3 Diätetisches Behandlungsprinzip beim Refsumsyndrom

Als diätetisches Behandlungsprinzip bei Refsumsyndrom wird von Heepe und Wigand die weitestmögliche Eliminierung von Phytansäure, deren Hauptvorkommen im Milchfett und im Fettanteil des Fleisches von Wiederkäuern ist, aus der Kost empfohlen. Dabei soll eine Herabsetzung der Phytansäurezufuhr von ca. 60 – 90mg/d bei üblicher Ernährungsweise beim Erwachsenen auf < 20mg/d angestrebt werden. Ziel der diätetischen Maßnahme ist ein Phytansäureplasmaspiegel von <10µmol/l (<3mg/l).²⁶

Die mittlere effektive Konzentration, die sogenannte EC₅₀ der Phytansäure auf PPARα konnte schon bei ca. 40µmol/l beobachtet werden, was über dem normalerweise gemessenen PS-Spiegel von gesunden Menschen liegt. Die PS-Konzentration die bei Refsumpatienten ermittelt wurde ist allerdings noch viel höher und liegt bei >1mmol/l.⁷¹

Wenn die volle Wirkung bei 100% angenommen wird, hier bezogen auf die Phytansäurekonzentration, entspricht die EC₅₀ der Konzentration, bei der die halbmaximale Wirkung erreicht wird.⁴⁰

Substanzen mit großer Potenz haben eine hohe Affinität zum Rezeptor und wirken deshalb bereits in sehr niedrigen Konzentrationen. Wie bereits in Kap. 2 erwähnt, besitzt die PS eine sehr hohe Affinität zum PPARα und ist somit ein potenter Ligand.

Darüber hinaus konnte eine direkte toxische Wirkung von PS beobachtet werden. Einige Hinweise deuten darauf hin, dass dieser toxische Effekt durch einen Anstieg der intrazellulären Ca²⁺ Konzentration mediiert wird und begleitet wird von einem

langsamen Abfall des Membranpotentials der Mitochondrien, was zu einem Abfall der ATP-Produktion und einem Ansteigen von ROS führt. Beides konnte in Zellkulturen und in aus neuronalem Gewebe isolierten Mitochondrien nachgewiesen werden.⁷¹

Der elektrochemische Protonengradient setzt sich aus dem mitochondrialen Membranpotenzial und dem pH – Gradienten zusammen, wobei das mitochondriale Membranpotenzial den Hauptanteil der Energie dieses elektrochemischen Gradienten beinhaltet. Das mitochondriale Membranpotenzial kann somit als ein Indikator für den Energiestatus dieser Organelle betrachtet werden. Für die Funktion und Integrität von Zellen mit hohem Energieverbrauch ist die Aufrechterhaltung des Membranpotentials von großer Wichtigkeit. Einflüsse von Erkrankungen können über Abweichungen vom normalen Membranpotential abgeleitet werden. Hier sei auf die Bedeutung von Mitochondriopathien hingewiesen.²¹

Der direkte zytotoxische Effekt von Phytansäure konnte auch von Schönfeld et al. in Rattenhirnmitochondrien gezeigt werden.⁶³ PS fördert die Expression von verschiedensten Proteinen, die mögliche Modulatoren der mitochondrialen ATP-Produktion sind. Die kurzzeitigen, direkten Effekte von Phytansäure auf energieabhängige, mitochondriale Funktionen in Nervenenden (Synaptosomen) an isolierten Rattenhirnmitochondrien wurden untersucht. Hirnmitochondrien sind Gegenstand mehrerer aktueller Untersuchungen, da verschiedene neurodegenerative Erkrankungen assoziiert sind mit teilweiser verschlechterter mitochondrialer ATP – Bildung. Phytansäure ist assoziiert mit Auftreten von degenerativen Prozessen in neuralem Gewebe: dabei werden zwei Hauptmechanismen verantwortlich gemacht: Eine Reduktion (erstens) der mitochondrialen ATP-Produktion, aufgrund (zweitens) der Interaktion von PS mit dem AAC (ATP/ADP Carrier), der als ein Modulator der PTP (permeability transition pore) in der innere Mitochondrienmembran gilt. Dabei scheint die PS auch in sehr geringen Mengen (<5µMol) die Öffnung der permeability transition pore zu erleichtern.⁶³

Die praktische Umsetzung erfolgt durch einen gänzlichen Verzicht auf jede Art von fetthaltigen Molkereiprodukten, wie Butter, Käse, Schlagobers, Vollmilch, usw. sowohl von Ziegenmilch und –käse aber auch von Milchprodukten vom Schaf. Rind- und Kalbfleisch sind zu meiden. Jedoch auch Fleisch von Lamm, Schaf, Hammel,

Ziege, Hirsch, Reh, Elch, Ren, und in der mitteleuropäischen Ernährung exotische Tiere wie Kamel, Giraffe, Antilope und Büffel sind aus der Kost zu nehmen, vorsorglich auch Hase und Kaninchen. Tierische Streichfette wie Butter, Joghurtbutter etc. können Phytansäure in hohen Mengen enthalten, daher ist die ausschließliche Verwendung von Pflanzenmargarine angezeigt. Heepe empfiehlt sogar Analysenwerte des Phytansäuregehalts anzufordern, da dieser in der Regel nicht angegeben ist. Da die so zusammengestellte Diät relativ fett- und eiweißarm ist, erfordert sie eine sorgfältige Kalkulation bezüglich der ausreichenden Versorgung mit allen essentiellen Mikro- und Makronährstoffen, im Besonderen: Ca, Retinol, Calciferol. Erschwerend ist das bisher völlige Fehlen zuverlässiger Phytansäureanalysendaten für viele Lebensmittel und auch für Fisch. Hier sei nochmals erwähnt, dass selbst das umfangreiche Werk von Souci Fachmann Kraut über Nährwerttabellen keine Angaben über den Phytansäuregehalt in Lebensmitteln macht. Als Hilfestellung kann mit phytansäurearmen Formeldiäten der Speiseplan ergänzt werden. Der Verzicht von chlorophyllhaltigem grünem Gemüse ist entgegen alter und auch neuer (!) Fachliteratur aufgrund falscher Hintergrundinformationen als Diätregime zu verwerfen. Analogien zum zu hoch angeführten Eisengehalt in Spinat drängen sich hier auf.

Vermutlich beruht die falsche Diät Empfehlung auf dem Umstand, dass der Phytolschwanz zu Phytansäure metabolisiert wird, jedoch ist dies nur im Verdauungstrakt der Wiederkäuer möglich. Fälschlicherweise wurde scheinbar nur der biochemische Prozess angesehen, nicht jedoch der Ort richtig zugeordnet. Vereinfacht gesagt, wurden dem Menschen Wiederkäuerfähigkeiten zugeordnet. Es ist aber bekannt, dass Phytol selbst in geringen Mengen auch vom Menschen aufgenommen wird und in der Literatur PPAR α – wirksam ist, nicht jedoch nennenswert im menschlichen Organismus zu Phytansäure metabolisiert werden kann.

In zahlreichen älteren, aber auch aktuellen, einschlägigen Quellen finden sich daher fälschliche bzw. irrtümliche Angaben zur diätetischen Behandlung des Refsumsyndroms^{53,86}, was natürlich für Ernährungswissenschaftler trotz der niedrigen Inzidenz von Interesse sein kann. So schreibt Bodo Clemens Melnik 1990 in seiner Habilitationsschrift über Biochemie und Pathobiochemie des epidermalen Lipidstoffwechsels, dass Phytansäure ausschließlich durch pflanzliche Nahrung zugeführt werde.⁵⁰

3.2 Phytansäureaufnahme und Krebs

AMACR α -methylacyl-CoA Racemase ist ein Enzym, das essentiell für den Metabolismus von PS im Menschen ist und das übereinstimmend überexprimiert in hochgradig prostatic intraepithelialer Neoplasie und in der Mehrheit der Prostatakrebsfälle gefunden wurde.

AMACR ist sowohl beim Menschen als auch in der Ratte in Peroxisomen und in Mitochondrien lokalisiert worden.⁴⁵

AMACR wird als molekularer Marker für Prostatakrebs ins Auge gefasst und wurde bereits weitgehend in klinischen Diagnosen in Verbindung mit anderen basalen Zellmarkern untersucht. Die Wichtigkeit von PS, assoziiert mit Prostatakrebs und der Zufuhr von rotem Fleisch und Milchprodukten, lässt sich davon ableiten, dass PS nicht endogen synthetisiert wird und AMACR ein Enzym des PS Metabolismus beim Menschen ist. Für die Studie von Xu et al. 2005 wurden Blutproben von n=104 nicht fastenden Studienteilnehmern untersucht, die Unterteilung erfolgte in 49 Fälle und 55 Kontrollen im Alter von 65 bis 69. 45% der Fälle und 44% der Kontrolle waren Afro-Amerikaner (AA) die verbleibenden Europäische Amerikaner (EA). Die Phytansäurekonzentration wurde pro Probe zweimal mittels GC/MS ermittelt. Darüber hinaus wurden die Studienteilnehmer einem FFQ Food Frequency Questionnaire Programm unterzogen, das mithilfe eines Interviewers erstellt wurde. Überblick über die Ergebnisse, siehe Tab. unten.⁸³

Teilnehmer	[PS] im Plasma in mg/100ml	
	Durchschnitt	Schwankungsbreite
n= 104	0,09mg/100ml	(0,03 – 0,38mg/100ml)
EA	0,09mg/100ml	(± 0,05mg)
AA	0,08mg/100ml	(±0,05mg)
Prostatakrebsfälle	0,10mg/100ml	(±0,06mg)
gesunde Kontrollen	0,08mg/100ml	(±0,03mg)

Tab.3.1 Auswertung und Phytansäurekonzentration im Blut der n=104 Teilnehmer⁸³

Der statistische Unterschied zwischen den Prostatakrebsfällen und den gesunden Kontrollen zeigte eine signifikante positive Korrelation. Während der Unterschied zwischen den beiden Ethnien keinen signifikanten Zusammenhang zeigte. Zur statistischen Auswertung wurde der t-Test herangezogen.

Um Aussagen über die Beeinflussung des Phytansäurespiegels im Blut durch die Ernährung (exogene Zufuhr), bzw. Ernährungsgewohnheiten zu erhalten, wurde der statistische Zusammenhang zwischen dem Phytansäurespiegel und den ausgewerteten FFQ-Protokollen ermittelt. Eine ebenso signifikante positive Korrelation konnte zwischen Phytansäurekonzentration und Vitamin D-Aufnahme beobachtet werden, wahrscheinlich aufgrund der aufgenommenen Mengen an Vitamin D- haltigen Milchportionen ($P=0,03$). Außerdem konnten Xu et al. eine Korrelation zwischen der PS-Konzentration und roten Fleischportionen feststellen, allerdings keine statistisch Signifikanz ($P=0,09$).

Aufgrund der beschränkten Teilnehmerzahl an Testpersonen ist dies in der Betrachtung der statistischen Signifikanz zu berücksichtigen. Allerdings zeigen 16 von 22 Fall-Kontroll- und Kohortenstudien eine positive Korrelation zwischen Fleischkonsum und Prostatakrebs. Vor allem ein Zusammenhang zwischen Konsum von rotem Fleisch und Prostatakrebs konnte in weiteren 7 von 8 Studien gezeigt werden. Der Zusammenhang von Prostatakrebs und die Aufnahme von Milchprodukten konnte ebenso in 12 von 14 Fall-Kontrollstudien und in 7 von 9 Kohortenstudien erhärtet werden.⁸³

Price et al. konnten 2010 in der European Prospective Investigation ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen der Phytansäurekonzentration und der Aufnahme an Milchfett feststellen, wobei die Konzentration je nach EU-Mitgliedsland stark variierte und mit steigendem Alter sank.⁵⁶

In der EPIC – Oxford Studie (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) konnte ein weiteres Mal ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Plasmaphytansäurekonzentration und der Aufnahme von Milchfett festgestellt werden. ($P < 0,0001$) Dabei wurden die Phytansäurekonzentrationen im Blut von $n=96$ weiblichen Probanden zwischen 20 – 69 Jahren ermittelt und Korrelationen zu den jeweiligen Ernährungsstilen erstellt. Fleischesserinnen hatten im Durchschnitt 6,7 mal höhere Plasmaphytansäurewerte als Veganerinnen ($0,86\mu\text{mol/l}$, $P < 0,0001$) und 47% höhere Konzentrationen als Vegetarierinnen ($3,93\mu\text{mol/l}$, $P = 0,016$). Die

Phytansäurekonzentration wurde nicht mit dem Alter, auch nicht mit Lebensstilfaktoren assoziiert.¹

Wie bereits angeführt konnte AMACR überexprimiert in Prostatakrebs- und auch Nierenzellenkrebsgewebe nachgewiesen werden, aber auch andere Enzyme, die an der peroxisomalen β -Oxidation beteiligt sind, werden in den Krebsgeweben dieser Organe überexprimiert. Diese Entdeckung regte sofort Untersuchungen zur Rolle der Oxidationswege und der Peroxisomen in der Progression von Adipositas und Krebsformen an, die in Zusammenhang mit Insulinresistenz stehen.⁸⁰

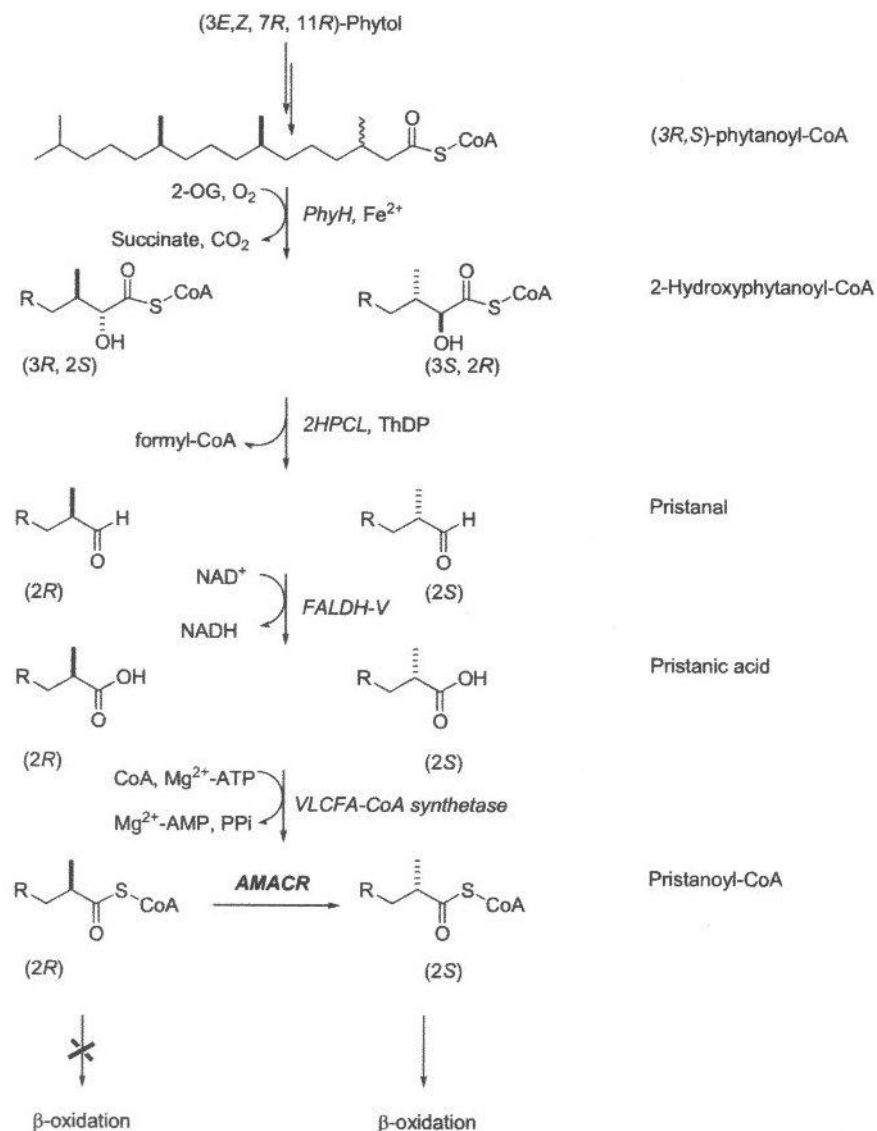


Abb. 3.1: α -Methylacyl-CoA Racemase AMACR und Krebs⁴⁵

Im Jahr 2001 wurden in der Literatur mehrere Berichte veröffentlicht, dass dieses AMACR-Protein bei verschiedenen Krebsarten überexprimiert wurde. Seither, alleine von 2001- 2008, erschienen mehr als 280 Berichte, die die Überproduktion von AMACR bei Krebs belegen, wobei die Mehrzahl der Untersuchungen ihren Fokus auf Prostatakrebs legten, bei denen immer wieder eine Überproduktion verzeichnet werden konnte. Im Vergleich zu gesunden Zellen war die AMACR-Überproduktion neunfach höher. Gemacht wurden die Proben mittels Biopsie mit einem Marker, der als P504S bekannt ist. AMACR, ein Androgen-unabhängiger Wachstumsregulator in Prostatakrebszellen, wird aber auch in einigen Nicht-Krebsprostatazellen, sowie bei abnormalen Befunden und Neoplasie überexprimiert.

Eine Überexpression wurde darüber hinaus in Brust, Colon und Niere beobachtet, obwohl eine erhebliche Heterogenität im Ausmaß der Überexpression festzustellen ist.

Eine große Zahl von Studien hat wieder bestätigt, dass die Aufnahme von verzweigtketigen Fettsäuren und im speziellen von Phytansäure über die Nahrung, zu einer Kaskade führt, die sich mit den erhöhten Phytansäuregehalten im Blut zeigt, danach die AMACR Überexpression induziert und schließlich Prostata- und andere Krebszellen vermehrt ausbildet. Andere Enzyme sind in der β -Oxidation von verzweigtkettigen Fettsäuren auch überexprimiert, z.B. Acyl-CoA Oxidase (ACOX)2. Bestimmte AMACR-Polymorphismen führen zu einzelnen Aminosäuresubstitutionen und sind auch mit erhöhten Prostatakrebs- und Colonkrebsraten assoziiert. Im Fall von Prostatakrebs zeigt die sogenannte M9V Polymorphismus – Variante des AMACR die größte Korrelation zu eben diesem Krebs. Inaktivierende Mutationen des AMACR-Enzyms verursachen ein im Erwachsenenalter auftretendes neurologisches Syndrom, das ähnlich dem klassischen Refsumsyndrom ist. Patienten mit Prostatakrebs-assoziierten Polymorphismen bilden keine neurologischen Symptome aus.⁴⁵

4 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war ausgehend von einem neurologisch wirksamen Medikament, der Valproinsäure, einem Antiepileptikum und auch Pharmakon bei bipolaren Störungen in der manischen Phase mit der Nebenwirkung der Gewichtszunahme, ob es neben diesem synthetisch hergestellten Vertreter einer verzweigt-kettigen Fettsäure auch relevante, die Gesundheit bzw. evtl. auch die Psyche beeinflussende verzweigt-kettige Fettsäuren in der menschlichen Ernährung gibt, die nicht nur für ErnährungswissenschaftlerInnen von Interesse sein könnten.

Der Blick fällt auf die Phytansäure, die wie die erwähnte Valproinsäure ein PPAR α – Ligand, bzw. peroxisomaler Proliferator PP ist, wie auch beispielsweise der klassische Lipidsenker Clofibrat. PPs im Allgemeinen sind in der Lage, zelluläre DNA-Schädigungen zu induzieren, PPAR α sind daher als Mediatoren von oxidativem Stress anzusehen. PPAR α zeigen in ihrer Gesamtheit besondere Wichtigkeit in der Glucose- und Fettsäurehomöostase³⁶, darüber hinaus sind sie eingebunden in die Apoptose und in die zelluläre Entzündungsantwort.⁶² Die nachgewiesene direkte toxische Wirkung von Phytansäure führt u.a. zu einem Anstieg von freien Radikalen.⁷¹ Ernährungsformen mit einem allgemein hohen Fettanteil führen zu einem Anstieg des hepatischen Peroxisomengehalts aber auch zu einem höheren Anteil hepatischer peroxisomaler Enzyme und beim klassischen PPAR α – Liganden Clofibrat zu einer Erhöhung des Organgewichtes.²⁷ Peroxisomen reagieren neben der Vielzahl an synthetischen Peroxisomalen Proliferatoren natürlich auch auf Komponenten der Ernährung und auf endogene und exogene hormonelle Einflüsse.

Phytansäure moduliert über mehrere PPAR-Isoformen die Expression von Genen, des Glucosemetabolismus und hat ebenso Bedeutung bei der Regulierung der Insulinresistenz.²⁴

In den letzten Jahren beschäftigten sich zahlreiche Untersuchungen mit der Rolle der Oxidationswege in den Peroxisomen in der Progression von Adipositas und Krebsformen, die in Zusammenhang mit Insulinresistenz stehen.⁸⁰

Die Bedeutung von PS assoziiert mit Prostatakrebs lässt sich mit dem Konsum von rotem Fleisch und Milchprodukten von Wiederkäuern belegen.^{83,56,45,1}

Phytansäure (3,7,11,15-Tetramethylhexadecansäure) ein Metabolit, der aus dem Phytolschwanz des Chlorophylls hauptsächlich im Verdauungstrakt von Wiederkäuern mithilfe deren Mikroflora gebildet wird, findet sich in Geweben und Fetten dieser Tiere wieder. In Lebensmitteln, wie Milch, Milchprodukten, Wiederkäuerfleisch, Fisch und Meeresfrüchten liegt der Anteil der Phytansäure insgesamt bei 0,5-4% und bei 100 – 500mg/100g Lipiden. Dieser Gehalt ist vergleichbar mit Gehalten an konjugierter Linolsäure oder dem Gehalt an trans-Fettsäuren, die in der Literatur, in der Fachdiskussion und auch in der Öffentlichkeit im Gegensatz zu verzweigt-kettigen Fettsäuren im Allgemeinen und Phytansäure im Speziellen, schon angemessene Berücksichtigung gefunden haben. In der Milch reicht die Menge der detektierten Phytansäure von 0,01 – 0,3% vom gesamten Fettsäurepool, hervorzuheben ist die Tatsache, dass der Phytansäuregehalt im Milchfett die 10% Marke überschreiten kann, wenn die Kühe mit chlorophyllhaltigem Silagefutter versorgt werden.^{72,71}

Bei der Refsumschen Erkrankung, wo diese Fettsäure sich aufgrund eines Enzymmangels der Peroxisomen in Geweben und Körperfett der Patienten anreichert, zeigt sie schwere neurologische Störungen, insbesondere Schädigung der Myelinscheiden, daraus resultierende periphere Neuropathie, cerebelläre Ataxie, Herzreizleitungsstörungen, Beeinträchtigung der Sehkraft, des Riechens und des Hörens. Da die Phytansäure aufgrund ihrer Methylverzweigung am C3-Atom nicht wie gewohnt für Fettsäuren in den Mitochondrien β -oxidiert werden kann, muss diese in den Peroxisomen, beginnend mit der α -Oxidation abgebaut werden. Der durchschnittliche Phytansäure-Serumgehalt beim Menschen beträgt 0,16-0,21mg/100ml, bei Patienten der Refsumschen Krankheit steigt die Konzentration auf über 50mg/100ml.⁴³

Die Phytansäure, die sich kurioserweise sowohl im Erdöl und Ölschiefer, als auch in der Butter detektieren lässt, hat nachweislich Bedeutung und gesundheitliche Relevanz in der menschlichen Ernährung, die bis jetzt eigentlich ihrem Stellenwert nach keine Berücksichtigung fand, aber Veranlassung dazu gibt, sich mit ihr bzw. praktisch dem daraus resultierenden Milchfett- und Wiederkäuerfleischkonsum näher auseinanderzusetzen.

5 Literatur

Zeitschriften, Bücher

1. Allen NE, Grace PB, Ginn A, Travis RC, Roddam AW, Appleby PN, Key T. Phytanic Acid. Measurement of plasma concentrations by gas – liquid chromatography- mass spectrometry analysis and associations with diet and other plasma fatty acids. *Br J Nutr* 2008; 99(3):653-9.
2. American Institute for Cancer Research. Dietary fat and cancer. Genetic and Molecular Interactions. New York: Plenum Press, 1997.
3. Anderson RE, La Vail MM, Hollyfield JG. (Hg.) Recent Advances in Retinal Degeneration. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol.613. New York: Springer Verlag, 2008.
4. Aronson JK, van Boxtel CJ (Hg.) Side effect of drugs annual 17 1993. A worldwide yearly survey of new data and trends. Amsterdam: Elsevier, 1994.
5. Bauer M. Neurobiologie und Therapie bipolarer Erkrankungen. Bremen: UNI-MED Verlag, 2005.
6. Berdanier CD, Moustaid-Moussa N. (Hg.) Genomics and Proteomics in Nutrition. New York: Marcel Dekker Inc., 2004.
7. Beyer H. Walter W. Francke W. Lehrbuch der Organischen Chemie. 24. Aufl. Stuttgart Leipzig: S. Hirzel Verlag, 2004.
8. Bjurstram N, Hallgren B, Ryhage R, Stållberg-Stenhagen S. zitiert in Stenhagen E. Massenspektrometrie als Hilfsmittel bei der Strukturbestimmung organischer Verbindungen, besonders bei Lipiden und Peptiden. *Z analyt Chem* 1961; 181: 462-480.
9. Buchta M., Höper DW, Sönnichsen A. Das Hammerexamen, Repetitorium für den 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. 1. Aufl. München Jena: Urban & Fischer Verlag, 2006.
10. Cutler HG, Cutler SJ, Biologically active natural products: agrochemicals. Boca Raton, Florida: 1999
11. Cervos – Navarro J. Pathologie des Nervensystems V. Berlin: Springer Verlag, 1991.
12. Chow CK. (Hg.) Fatty Acids in Health and Disease and their Health Implications. 2. Aufl. New York: Marcel Dekker Inc., 2000.
13. Chow CK. (Hg.) Fatty Acids in Foods and Their Health Implications. 3. Aufl. Boca Raton, Florida: CRC Press Taylor & Francis Group, 2008.
14. De Vogel-van den Bosch H, Bünger M, De Groot P, Bosch – Vermeulen H, Hooiveld GJEJ, Müller M. PPARalpha-mediated effects of dietary lipids on intestinal barrier gene expression. *BMC Genomics* 2008; 9:231.
15. Cox M, Nelson D. Lehninger Biochemie. 4. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer – Verlag, 2009.

16. Ebermann R, Elmadfa I. Lehrbuch der Lebensmittelchemie und Ernährung. 2. Aufl. Wien: Springer Verlag, 2011.
17. Efferth T. Molekulare Pharmakologie und Toxikologie. Biologische Grundlagen von Arzneimitteln und Giften. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2006.
18. Elmadfa I, Leitzmann C. Ernährung des Menschen. 4. Aufl. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer, 2004.
19. Elstner EF. Sauerstoffabhängige Erkrankungen und Therapien. Mannheim Leipzig Wien Zürich: BI Wissenschaftsverlag, 1993.
20. Goto T, Takahashi N, Kato S, Eqawa K, Ebisu S, Moriyama T, Fushiki T, Kawada T. Phytol directly activates peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) and regulates gene expression involved in lipid metabolism in PPARalpha-expressing HepG2 hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 337(2):440-5.
21. Gröber U. Arzneimittel und Mikronährstoffe. Medikationsorientierte Supplementierung. 2. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2012.
22. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 3. Aufl. New York: Oxford University Press, 1999.
23. Hansen RP. Occurrence of phytanic acid in rumen bacteria. *Nature*, 1966: 210, 841.
24. Heim M, Johnson J, Boess F, Bendik I, Weber P, Hunziker W, Fluhmann B. Phytanic Acid, a natural peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) agonist, regulates glucose metabolism in rat primary hepatocytes. *Faseb J.* 2002; 16(7):718-20.
25. Heitefuss R. Grundlagen der praktischen Phytomedizin. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag, 2000.
26. Heepe F, Wigand M. Lexikon Diätetische Indikationen. Spezielle Ernährungstherapie und Ernährungsprävention. 4. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2002.
27. Hesse SF. Elektronenmikroskopisch-morphometrische Untersuchungen zur Abbaukinetik nach Clofibratinduzierter Peroxisomenproliferation in Leberzellen der Ratte. Dissertation. Würzburg: Julius Maximilians Universität, 1983.
28. Hock B, Fedtke C, Schmidt RR. Herbizide. Entwicklung, Anwendung, Wirkungen, Nebenwirkungen. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag, 1995.
29. Hofmann E (Hg.) Medizinische Biochemie. Systematisch. 4. Aufl. Bremen: UNI-MED Verlag, 2006.
30. IVA Industrieverband Agrar e. V. Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln. Physikalisch-chemische und toxikologische Daten. 3. Aufl. München Wien Zürich: BLV-Verlag, 2000.
31. Jeon KW. A survey of cell biology. International review of cytology. Vol. 199. San Diego London: Academic Press, 2000.

32. Jordan F, Patel MS. Thiamine. Catalytic Mechanisms in Normal and Disease States. New York Basel: Marcel Dekker Inc., 2004.
33. Karrer P, Epprecht A, König H. Eine allgemeine Darstellungsmethode für 2-Methyl-3-alkylnaphthochinone. Konstitution und Vitamin K Wirkung. *Helv Chim Acta* 1940; 23:272-82.
34. Kasper H. Ernährungsmedizin und Diätetik. 10. Aufl. München: Elsevier, 2004.
35. Kim YR, Kim CS, Naqvi A, Kumar A, Kumar S, Hoffman TA, Irani K. Epigenetic upregulation of p66shc mediates low-density lipoprotein cholesterol-induced endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012; 303(2):189-96.
36. Klimes I, Sebkova E, Howard BV, Ravussin E (Hg.). Lipids and Insulin Resistance. The Role of Fatty acid Metabolism and Fuel Partitioning. *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 967. New York: 2002.
37. Klockgether T. Handbook of Ataxia Disorders. New York Basel: Marcel Dekker Inc., 2000.
38. Koolman J, Röhm KH. Taschenatlas der Biochemie. 2. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1998.
39. Krämer G, Laub M. Valproinsäure Pharmakologie Klinischer Einsatz Nebenwirkungen Therapierichtlinien. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 1992.
40. Küttler T. Allgemeine Pharmakologie und Toxikologie. 18. Aufl. München Jena: Urban & Fischer, 2002.
41. Kummer MP, Heneka MT. PPARs in Alzheimer`s Disease. PPARs in Neuroinflammation. *PPAR Research* Vol. 2008, 2008; Article ID 403896, 8 pages.
42. Kuschinsky G, Lüllmann H. Mohr K. Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 13. Aufl. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag, 1993.
43. Lang K. Biochemie der Ernährung. 4. Aufl. Darmstadt: Steinkopf Verlag, 1979.
44. Limmroth V, Diener HC. Neurologie für Praktiker. 2. Aufl. Darmstadt: Steinkopff Verlag, 2006.
45. Lloyd MD, Darley DJ, Wierzbicki AS, Threadgill MD. A-Methylacyl-CoA racemase – an obscure metabolic enzyme takes centre stage. *FEBS J* 2008; 275(6): 1089-102.
46. Löffler G. Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie. 7. Aufl. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2008.
47. Lorenz H. Strategien zum Aufbau enantiomerenreiner methylverzweigt-kettiger Fettsäuren, beschrieben am Beispiel von Phytan-, Pristan- und Mycolipinsäure. Dissertation. Stuttgart: Universität Stuttgart, 1985.
48. Mackie JT, Atshaves BP, Payne HR, McIntosh AL, Schroeder F, Kier AB. Phytol-induced Hepatotoxicity in Mice. *Toxicol Pathol* 2009; 37:201-208.
49. Masters C, Crane D. The Peroxisomen. A vital organelle. New York Melbourne: Cambridge University Press, 1995.
50. Melnik BC. Biochemie und Pathobiochemie des epidermalen Lipidstoffwechsels. Experimentelle Untersuchungen epidermaler Lipide bei

- Störungen der epidermalen Keratinisierung und Barrierefunktion. Univ. Habil.-Schr. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1990.
51. Molzer B. Phytansäure, eine verzweigt-kettige Fettsäure alimentären Ursprungs, Vorkommen und patho – physiologische Bedeutung. Dissertation. Wien: Universität f. Bodenkultur, 1981.
 52. Moody DE. (Hg.) Peroxisome Proliferators. Unique Inducers of Drug Metabolizing Enzymes. Boca Raton (Florida): CRC Press Inc., 1994.
 53. Müller MJ (Hg.). Ernährungsmedizinische Praxis. Methoden Prävention Behandlung. 2. Aufl. Heidelberg: Medizin Verlag, 2007.
 54. Patton S, Benson AA. Phytol metabolism in the bovine. *Biochim. Biophys. Acta*, 125, 22-32, 1966.
 55. Plaa GL, Hewitt WR (Hg.) Toxicology of the liver. 2. Aufl. Target Organ Toxicology Series. Washington London: Taylor & Francis, 1998.
 56. Price AJ, Allen NE, Appleby PN, Crowe FL, Jenab BM, Rinaldi S, Slimani M, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, Pischon T, Benetou V, Naska A, Trichopoulou A, Palli D, Sieri S, Tumino R, Vineis P, Bueno de Mesquita HB, Donale I, Gonzalez CA, Sanchez MJ, Chirlaque MD, Ardanaz E, Larranaga N, Khaw KT, Rodwell S, Gallo V, Michaud DS, Riboli E, Key TJ. Plasma phytanic acid concentration and risk of prostate cancer. Results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr* 2010; 91(6):1769-76.
 57. Puga A, Wallace KB (Hg.) Molecular Biology of the Toxic Response. New York: Taylor & Francis, 1999.
 58. Quant PA, Eaton S. (Hg.) Current Views of Fatty Acid Oxidation and Ketogenesis. From Organelles to Point Mutations. Advances in Experimental Medicine and Biology. Vol.466. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers, 1999.
 59. Reddy JK, Suga T, Mannaerts GP, Lazarow PB, Subramani S. Peroxisomes, Biology and Role in Toxicology and Disease. *Annals of the New York Academie of Sciences*. Vol. 804. New York: 1995.
 60. Reuter P. Springer Lexikon Medizin. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 2004.
 61. Rieß O, Schöls L. (Hg.) Neurogenetik. Molekulargenetische Diagnostik neurologischer Erkrankungen. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 1998.
 62. Roels F, Baes M, De Bie S. Peroxisomal Disorders and regulation of genes. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers, 2003.
 63. Schönfeld P, Kahlert S, Reiser G. In brain mitochondria the branched chain fatty acid phytanic acid impairs energy transduction und sensitizes for permeability transition. *Biochem J* 2004; 383(1): 121-8.
 64. Schwandt P, Parhofer KG (Hg.) Handbuch der Fettstoffwechselstörungen. Dyslipoproteinämien und Atherosklerose: Diagnostik, Therapie und Prävention. 3. Aufl. Stuttgart: Schattauer 2007.
 65. Semba RD. Handbook of Nutrition and Ophthalmology. Totowa New Jersey: Humana Press, 2007.

66. Sommer C. Therapie neuropathischer Schmerzsyndrome. 3. Aufl. Bremen: UNI-MED Verlag, 2008.
67. Souci SW, Fachmann W, Kraut H. Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwerttabellen. 6. Aufl. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 2000.
68. Stangler E. Molekularbiologische Analyse und Serumdiagnostik des Morbus Refsum. Dissertation. Medizinische Universität Wien: 2007.
69. Stötzer H. Toxische Arzneimittelwirkungen. Grundlagen, Systematik, Experimente. 2. Aufl. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1995.
70. Van den Bosch H. Regulation of small intestinal transport function by fatty acids and the role of PPAR α . Dissertation. Hageningen: Universität Hageningen Eigenverlag, 2008. ISBN 90-8504-866-4
71. Van den Brink DM, Wanders RJA. Phytanic acid metabolism and human disease. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63(15):1752-65.
72. Vetter W, Schröder M. Phytanic acid. A tetramethyl-branched fatty acid in food. *Lipid Technol.* 2011; 8:175-178.
73. Van der Knaap MS, Valk J. Magnetic Resonance of Myelination und Myelin Disorders. 3. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2005.
74. Volkman JK, Maxwell JR. Acyclic isoprenoids as biological markers. Amsterdam: Elsevier, 1986.
75. Von Harnack GA, Koletzko B. (Hg.) Kinder- und Jugendmedizin. 13. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2007.
76. Wallace KB.(Hg.) Free Radical Toxicology. Target Organ Toxicology Series. Washington London: Taylor & Francis, 1997.
77. Weller S, Gärtner J. Peroxisomale Stoffwechselerkrankungen. Entwicklungsstörungen von Peroxisomen. *Monatsschr Kinderheilkd* 2002; 150:226-237.
78. Wiekowski JT. Untersuchungen von Erregungsleitungsstörungen, die zum plötzlichen Herztod in Phytansäure akkumulierenden Sterol Carrier Protein 2- / Sterol Carrier Protein x-defizienten Mäusen führen. Dissertation. Münster: Institut für Arterioskleroseforschung an der Westfälischen Wilhelms-Universität, 2003.
79. Wierzbicki AS, Sankaralingam A, Lumb PJ, Hardman TC, Sidey MC, Gibberd FB. Transport of phytanic acid on lipoproteins in Refsum Disease. *J Inherit Metab Dis* 1999; 22(1): 29-36.
80. Wierzbicki AS. Peroxisomal Disorders affecting phytanic acid alpha – oxidation. A Review. *Biochem Soc Trans* 2007; 35(5):881-6.
81. Willstätter R, Mayer EW, Hüni E. Untersuchungen über Chlorophyll XII. Über Phytol I. *Justus Liebig`s Ann. Chem.*, 1911; 378: 73-153.
82. Wood PL. (Hg.) Neuroinflammation. Mechanisms and Management. Totowa New Jersey: Humana Press, 2003.
83. Xu J, Thornburg T, Turner AR, Vitolins M, Case D, Shadle J, Hinson L, Sun J, Liu W, Chang B, Adams TS, Zheng SL, Torti FM. Serum Levels of Phytanic Acid are associated with Prostate Cancer Risk. *The Prostate* 2005; 63:209-214.

84. Zeitler PS, Nadeau KJ. (Hg.) Insulin Resistance. Childhood Precursors and Adult Disease. Contemporary Endocrinology. Totowa New Jersey: Humana Press, 2008.

Internetquellen

85. Universität Hohenheim. Institut für Lebensmittelchemie. Arbeitskreis Vetter. Verzweigt-kettige und andere seltene Fettsäuren 2012. Internet:
<http://www.ilc.uni-hohenheim.de/vetter/dtsch/forschung/fettsaeuren.htm>

(Zugriff am 17.9. 2012)

86. Myelin Projekt Deutschland e.V. Gemeinsam gegen Multiple Sklerose und Leukodystrophie. Leipzig. Internet:
<http://www.myelin.de/Beschreibungen/refsum.htm>

(Zugriff am 17.2.2009)

87. Fahimi HD, Baumgart E. Kleine Ursache – tragische Wirkung. Universität Heidelberg. Institut für Anatomie und Zellbiologie. Abteilung Medizinische Zellbiologie. Uni Spiegel Ausg.2/1999 Internet:
http://www.uni-heidelberg.de/uni/presse/ruca99_2/zellbiologie.htm

(Zugriff am 9.9. 2012)

Lebenslauf

Wolfgang Robert Reininger

geboren am 13.3.1960 in 1190 Wien

Schulausbildung

1966 – 1970	Besuch der Volksschule 1200 Wien (Greiseneckergasse)
1970 – 1972	Bundesunterstufenrealsgymnasium Unterbergergasse, 1200 Wien
1972 – 1976	Bundesrealgymnasium Henriettenplatz , 1150 Wien
1976 – 1978	Handelsakademie HAK Plößlgasse, 1040 Wien
1978 – 1979	Präsenzdienst beim Österreichischen Bundesheer

Sekundäre Schulbildung, beruflicher Werdegang

1979 -1984	Abendrealgymnasium für Berufstätige, Henriettenplatz, 1150 Wien, Abschluss mit Matura 1984
1979 – 1983	Lagerarbeiten bei WD-Warren GesmbH 1210 Wien und Zustelldienst und Eilfahrten für die PTA
1984 – 1988	Studium der Biologie an der UNI Wien
seit 1989	Studium der Ernährungswissenschaften an der UNI Wien
1992 – 1994	Bürgerinitiative zur Beibehaltung der S45-Station Floridsdorferbrücke
1994	Abschluss des 1. Studienabschnittes EW
1995	vierwöchiges Studienpraktikum in der Lebensmitteluntersuchungsanstalt der Stadt Wien, Pestizidlabor
1996	vierwöchiges Studienpraktikum bei Bio-Olivenölproduzent Bläuel, Griechenland, Peloponnes

1997	Marketingberatung für biologische Nahrungsmittel, im Auftrag des REWE Konzerns für Produkte aus der Linie „Ja Natürlich“, Wiener Neudorf sowie
1998	für ArGe BioFisch, Wien
1998 – 1999	Freier Mitarbeiter bei KulturNetz und Aktionsradius Augarten
1999 – 2000	Freier Mitarbeiter beim VNÖ
seit 1999	Fachverkäufer für biologisches Obst und Gemüse am Biobauernmarkt auf der Freyung (hauptsächlich für Biohof Adamah), inkl. Fachberatung, Verkauf, Inkasso und Warenübernahme

Sonstige Schwerpunkte und besondere Kenntnisse

Mitarbeiter beim Verein „Bruder Baum“, Niederlassung Wien; Akquise von Sponsoren für Umweltschutzprojekte, gärtnerische Arbeiten (z.B. Auflockerung von Baumscheiben)

Sprachen: Französisch (konversationsfähig), Englisch (gut in Wort und Schrift)

EDV MS Office, MS Windows (User Level)

