

Aus dem Institut für  
Physiologie, physiologische Chemie und Tierernährung der  
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Geschäftsführender Vorstand: Univ.-Prof. Dr. H.-J. Gabius

---

Arbeit angefertigt unter der Leitung von  
Prof. Dr. W. A. Rambeck

**Einfluss der Matrix-Zusammensetzung von Vitamin E auf  
die Bioverfügbarkeit bei wachsenden Schweinen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung tiermedizinischer Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Juliane Lang  
aus  
Berlin

München 2006

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer  
Referent: Prof. Dr. W. Rambeck  
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. A. Scholz

Tag der Promotion: 10. Februar 2006

Für meine Eltern

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung und Problemstellung</b>	<b>5</b>
<b>2. Schrifttum</b>	<b>7</b>
<b>2.1 Eigenschaften von Vitamin E</b>	<b>7</b>
2.1.1 Historie	7
2.1.2 Chemische und physikalische Eigenschaften	10
2.1.3 Biosynthese	13
<b>2.2 Stoffwechsel</b>	<b>14</b>
2.2.1 Absorption	14
2.2.2 Plasmatransport und Gewebeversorgung	16
2.2.3 Biotransformation und Elimination	22
2.2.4 Bioverfügbarkeit und biologische Aktivität	24
<b>2.3 Wirkungsweise</b>	<b>31</b>
2.3.1 Antioxidative Wirkungsweise	31
2.3.2 Prooxidative Wirkungsweise	36
2.3.3 Zelluläre Wirkungsweise und Genexpression	37
<b>2.4 Medizinische Bedeutung von Vitamin E</b>	<b>41</b>
2.4.1 Wechselwirkungen	42

---

2.4.2	Hypervitaminosen	43
2.4.3	Hypovitaminosen	44
2.4.4	Einflüsse bei der Zucht	46
<b>3.</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>48</b>
<hr/>		
<b>3.1</b>	<b>Versuchsaufbau</b>	<b>48</b>
<b>3.2</b>	<b>Tiere und Tierhaltung</b>	<b>49</b>
3.2.1	Tiere	49
3.2.2	Versuchsgruppen	49
3.2.3	Tierhaltung	51
3.2.4	Tierfutter	51
3.2.5	Versuchspräparate	55
3.2.6	Versuchsdurchführung	56
<b>3.3</b>	<b>Bestimmung des <math>\alpha</math>-Tocopherol-Gehaltes im Blut</b>	<b>58</b>
3.3.1	Testprinzip	58
3.3.2	Reagenzien	59
3.3.3	Apparate	59
3.3.4	Vitamin-E-Extraktion	60
3.3.5	HPLC-Analytik	60
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>62</b>
<hr/>		
<b>4.1</b>	<b>Klinische Beobachtungen</b>	<b>62</b>
4.1.1	Gesundheitszustand	62
4.1.2	Gewichtsentwicklung	62

---

<b>4.2</b>	<b><math>\alpha</math>-Tocopherol-Konzentration im Serum während der Depletationsphase</b>	<b>63</b>
<b>4.3</b>	<b><math>\alpha</math>-Tocopherol-Konzentraion während des Versuchs</b>	<b>64</b>
4.3.1	$\alpha$ -Tocopherol-Konzentration der Kontrollgruppe	65
4.3.2	$\alpha$ -Tocopherol-Konzentration der Versuchsgruppe	66
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>67</b>
<hr/>		
<b>5.1</b>	<b>Diskussion des Versuchsaufbaus und der Versuchsdurchführung</b>	<b>67</b>
5.1.1	Ziele der Untersuchung	67
5.1.2	Versuchstiere und ihre Haltung	68
5.1.3	Wirkstoffzuteilung und Verabreichung	69
5.1.4	Probengewinnung	71
5.1.5	Laborbestimmungen	71
<b>5.2</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>72</b>
5.2.1	Depletions-Phase	72
5.2.2	Plasmareponse-Versuch	73
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>77</b>
<hr/>		
<b>7.</b>	<b>Summary</b>	<b>79</b>
<hr/>		
<b>8.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>81</b>
<hr/>		
<b>9.</b>	<b>Anhang</b>	<b>100</b>
<hr/>		

<b>9.1</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>100</b>
<b>9.2</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>103</b>
<b>9.3</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>105</b>
<b>10.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>107</b>
<b>11.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>108</b>

## **1. Einleitung und Problemstellung**

Vitamin E ist ein essentielles fettlösliches Vitamin, das vom Schwein nicht selbst synthetisiert werden kann und daher über das Futter zugeführt werden muss. Als Bestandteil biologischer Membranen und als wichtiges Antioxidans hemmt es peroxidative Kettenreaktionen, schützt ungesättigte Fettsäuren vor Autoxidation und unterbindet die Oxidation sauerstoffempfindlicher Substanzen wie Vitamin A.

Da bei der heutigen intensiven Landwirtschaft, aber auch bei der kommerziellen Haustierfütterung, meist auf kommerziell hergestellte Futtermittelmischungen zurückgegriffen wird, ist eine Unterversorgung mit Vitamin E hauptsächlich dann gegeben, wenn die Rationen nicht dem jeweiligen Leistungsstand des Tieres (Wachstum, Trächtigkeit, Laktation, beeinträchtigende äußere Einflüsse etc.) angepasst sind. Weitere Ursachen von Hypovitaminosen sind Störungen der Vitaminaufnahme und deren Verstoffwechslung, wie beispielsweise bei dem Fett-Malabsorptions-Syndrom (z. B. bei Lebererkrankung), bei genetischen Defekten des  $\alpha$ -Tocopherol-Transferproteins oder an Genen, die zuständig sind für die Lipoproteinsynthese (z. B. Lipoproteinämia).

Eine bedarfsgerechte Vitamin-E-Versorgung beeinflusst auch die Lebensmittel tierischer Herkunft positiv. So kann ein erhöhter Vitamin-E-Gehalt im Schweinefutter zu einer verbesserten Lagerungseigenschaft des Fleisches, ansprechenderen Fleischfarbe und weniger Saftverlust beitragen.

Prionen, welche die Erreger der Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien (TSE) sind, zu denen auch Scrapie, BSE und die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit zählen, sind außerordentlich resistent gegen physikalische und chemische Einflüsse. Verglichen mit den Bedingungen während der Gelatineproduktion überstanden sie in den Experimenten die 10-fache Säurekonzentration, die 20-fache Laugenkonzentration und eine um 220°C höhere Trocknungstemperatur. Da sich die Prozeduren der Gelatineherstellung nicht ohne erhebliche Verluste an Ausbeute und Qualität verschärfen lassen, und nur aus gesunden Tieren Gelatine sicher hergestellt werden kann, ist es wichtig, nach Alternativen für sie zu suchen.



Durch einen Verzicht auf Zusatzstoffe tierischen Ursprungs könnten mögliche Bedenken des Verbrauchers hinsichtlich einer Gefahr der Übertragung (TSE) auf das Schwein - und damit auch eventuell auf den Menschen als Endnutzer – verhindert werden.

In dem vorliegenden Versuch sollte die Möglichkeit überprüft werden, die Gelatine-Matrix – ein Zusatzstoff tierischer Herkunft - bei einem Vitamin-E-Präparat, das in der Schweinefütterung eingesetzt wird, durch einen pflanzlichen Trägerstoff zu ersetzen, ohne dabei Einbußen in der Bioverfügbarkeit des Vitamin E zu erhalten.

Zu diesem Zweck sollten 14 Ferkel nach dem Absetzen im Alter von 4 Wochen über 60 Tage mit einer Vitamin-E-reduzierten Diät depletiert werden. Im Anschluss daran sollten sie in 2 Gruppen eingeteilt und jeweils einmalig einen Bolus mit 3 I.E.  $\alpha$ -Tocopherol/kg KM des Präparates mit oder ohne tierische Zusatzstoffe erhalten.

Während des Zeitraums der Depletion und bis 144 Stunden nach der Supplementation sollte die Anflutung des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes im Serum überprüft werden.

---

## 2. Schrifttum

---

### 2.1 Eigenschaften von Vitamin E

#### 2.1.1 Historie

Bishop und Evans wiesen 1922 als Erste auf einen essentiellen fettlöslichen Faktor hin (Evans und Bishop 1922). Im Tierexperiment entdeckten sie, dass Ratten Reproduktionsstörungen entwickeln, wenn sie eine bestimmte reduzierte Diät bekamen. Als die Nahrung mit Salat und später mit Getreidekeimen angereichert wurde, verschwanden die Probleme. Der fehlende Stoff wurde zunächst Faktor X benannt. Man stellte fest, dass sich dieser Faktor in dem Lipidextrakt des Salats befand und daher fettlöslich sein musste. Im Jahr 1923 konnten Evans et al. den Faktor X auch in Alfalfa, Weizen, Hafer und Butterfett nachweisen. Unabhängig von diesen Erkenntnissen machte im Jahr 1924 auch Sure die Entdeckung, dass ein fehlender Stoff in der Diät bei Ratten zu Sterilität führt.

Er nannte diesen Stoff Vitamin E.

Im Jahr 1936 isolierten Evans und Emerson zwei, im biologischen Test an der Ratte wirksame Faktoren aus dem Weizenkeimöl, die sie als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tocopherol bezeichneten (Evans *et al.* 1936).

Der Name „Tocopherol“ leitet sich von den altgriechischen Wörtern: τόκος/tókos "Geburt" und φέρειν/phérein "tragen" bzw. "bringen" ab. Mit der Silbe "ol" wird auf die Hydroxylgruppe des Moleküls hingewiesen.

Zwei Jahre später gelang es Karrer und seinen Mitarbeitern, noch bevor die Strukturformel des  $\alpha$ -Tocopherols endgültig sichergestellt war, das Vitamin E synthetisch durch Kondensation von Trimethylhydrochinon und Phytolbromid zu erhalten.

In den folgenden Jahren erfolgte der Nachweis der Bedeutung dieses Vitamins nicht nur für die Funktion der Keimdrüsen („Fertilitätsvitamin“), sondern auch für die Herz- und Skelettmuskulatur („antidystrophisches Vitamin“) sowie für die Verhütung der Arteriosklerose und des Myokardinfarktes.

Heute ist Vitamin E ein Sammelbegriff für Substanzen, die eine Tocopherolwirkung aufweisen. Dies sind zum einen die natürlichen Tocopherole (d- $\alpha$ -, d- $\beta$ -, d- $\gamma$ - und d- $\delta$ -

Tocopherol) und die natürlichen Tocotrienole (d- $\alpha$ -, d- $\beta$ -, d- $\gamma$ - und d- $\delta$ -Tocotrienol), sowie auch die synthetischen Vertreter und Ester aller Tocopherole und Tocotrienole (Machlin 1991).

Da weder der menschliche noch der tierische Organismus in der Lage ist, Vitamin E selbst zu synthetisieren - weil ihnen der Shikimatweg des Stoffwechsels fehlt, bei welchem der aromatische Ring der Shikimisäure aus Tyrosin gebildet wird - muss es exogen zugeführt werden (Elmadfa und Wagner 1997).

$\alpha$ -Tocopherol in der Fütterung stammt aus verschiedenen Quellen. Zum Ersten direkt aus natürlichen Rohstoffen, wie z. B. aus pflanzlichen Ölen, wo es gemeinsam mit einer Vielzahl anderer Tocopherole, besonders  $\gamma$ -Tocopherol und Tocotrienole, vorkommt.

Zum Zweiten wird es mittels organischer Lösungsmittel und anschließender Aufbereitung, um die Stabilität des gewonnenen  $\alpha$ -Tocopherols zu erhöhen, aus verschiedenen Ölsaaten extrahiert. Beide Formen liegen jeweils in der RRR-Konfiguration vor und werden als natürliches  $\alpha$ -Tocopherol bezeichnet.

Als Drittes gibt es das synthetische  $\alpha$ -Tocopherol, welches heute großtechnisch aus Trimethylhydrochinon und Isophytol hergestellt wird. Es enthält alle 8 Stereoisomere (RRR, RRS, RSS, RSR, SSS, SRR, SSR, SRS) und wird daher als all-racemisches- $\alpha$ -Tocopherol (all-rac- $\alpha$ -Tocopherol) genannt (Hoppe und Krennrich 2000).

Der Vitamin-E-Bedarf hängt stark von der Rationszusammensetzung (ungesättigte Fettsäuren, Selen) ab und ist daher schwierig festzulegen. Man kann den Bereich des Bedarfs bei Schweinen von 0,3 - 0,5 I.E. Vitamin E kg/Körpermasse schätzen. Bei Ferkeln sollte die Versorgung auf 0,8 I.E. Vitamin E kg/Körpermasse angehoben werden (Kirchgeßner 2004).

Diese Vitaminkonzentration wird von Grünfutter, und in der Regel auch von Silagefutter erreicht. Die Konzentration in Getreide, Mühlennachprodukten, Extraktionsschroten, proteinreichen Konzentraten tierischer Herkunft und Maissilagen liegt deutlich niedriger (siehe Tabelle 1).

Getreide deckt in der Regel den Bedarf in der Schweinemast. Während der Bearbeitung und Lagerung der Futtermittel bilden sich Peroxide, durch welche Vitamin E bereits verbraucht wird, und damit im Futtermittel zum Zeitpunkt der Fütterung nur noch vermindert vorhanden ist. Bei der Lagerung von Feuchtgetreide unter Zusatz von Propionsäure sinkt der Vitamin E Gehalt auf nahezu null ab (Ulbrich *et al.* 2004).

**Tabelle 1: Gehalt an  $\alpha$ -Tocopherol in Futtermitteln in mg je kg Trockensubstanz (nach Ulbrich *et al.* 2004)**

<b>Futtermittel</b>	<b><math>\alpha</math>-Tocopherol</b>
Grünfutter	120-350
Trockengrünfutter	50-70
Grünfuttersilage	150-250
Heu	40-130
Hafer, Gerste, Weizen	10-40
Mais	10-25
Karotten	30-40
Extraktionsschrote	1-0
Vollmilch	1-2
Fischmehl	5-20
Kleie	10-70
Weizen-, Maiskeime	100-180

## 2.1.2 Chemische und physikalische Eigenschaften

Vitamin E ist eine Sammelbezeichnung, die für eine Gruppe von 8 fettlöslichen Antioxidantien, wie  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol sowie die entsprechenden  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocotrienole steht. Charakterisiert werden sie durch einen mit Methylgruppen substituierten Chromanring und einer Phytylseitenkette (Birringer *et al.* 2001). Die Verbindungen unterscheiden sich in der Zahl und der Position (5, 7, 8) der Methylgruppen am aromatischen Ring.

Die Tocotrienole sind auf die gleiche Weise am Chromanring substituiert wie die Tocopherole, aber ihre C16 isoprenoid Seitenkette ist ungesättigt und besitzt Doppelbindungen an C3', C7', und C11' (Schneider 2005). Tocopherole besitzen 3 Chiralitätszentren an C2, C4' und C8'; daher können acht stereoisomere Formen entstehen. Man bezeichnet sie nach der Lage ihrer Isomeriezentren (R oder S), so beispielsweise das d- $\alpha$ -Tocopherol als RRR- $\alpha$ -Tocopherol.

Die natürlich vorkommenden Isomere haben eine R-Konfiguration auf allen drei Positionen (RRR- $\alpha$ -Tocopherol). Bei synthetisch hergestelltem  $\alpha$ -Tocopherol handelt es sich um racemische Gemische aus 8 verschiedenen Stereoisomeren (RRR, RRS, RSR, RSS, SRR, SRS, SSR, SSS), man nennt es all-rac- $\alpha$ -Tocopherol oder d,l- $\alpha$ -Tocopherol.

Tocotrienole besitzen nur ein Chiralitätszentrum an C2. Dafür kann ihre Seitenkette sowohl in cis- als auch trans-Form auftreten, was ihnen somit ebenfalls die Möglichkeit für 8 Isomere gibt.

Tocopherole und Tocotrienole werden mit  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - oder  $\delta$ - bezeichnet, je nach Anzahl und Position der Methylgruppe am Chromanring (Blatt *et al.* 2001).

Jedes dieser Moleküle besitzt antioxidative Fähigkeiten, wobei  $\alpha$ -Tocopherol chemisch und biologisch die höchste Aktivität besitzt. Die anderen natürlich vorkommenden Formen von Vitamin E ( $\beta$ -,  $\gamma$ - oder  $\delta$ -Tocopherole und Tocotrienole) besitzen eine niedrigere antioxidative Aktivität, da sie zwar absorbiert, aber zumindest beim Menschen, nicht in  $\alpha$ -Tocopherol umgewandelt und dadurch schlecht durch das selektive  $\alpha$ -Tocopherol-Transfer-Protein ( $\alpha$ -TTP) in der Leber erkannt werden (Schneider 2005). Ihr weiterer Transport ist somit eingeschränkt.

Die Seitenkette wirkt bei der Verankerung in den Liposomen mit und unterdrückt den Transfer von Vitamin E zwischen den liposomalen Membranen (Niki *et al.* 1985).

Neben den klassischen Tocopherol-Homologen sind noch weitere Tocopherol-Derivate von Bedeutung. Dies ist zum einen das am aromatischen Ring vollkommen unsubstituierte Tocol, das in der Chromatographie häufig als interner Standard Verwendung findet, zum anderen die Acetat- und Succinat-Formen. Diese werden aufgrund der oxidationsempfindlichen Hydroxylgruppe am Chromanring des Tocopherols häufig anstelle der Alkoholform, die das unmittelbar wirksame Antioxidans darstellt und damit zwangsläufig durch Luftsauerstoff gefährdet ist, in natürlich und synthetisch hergestellten Vitamin-E-Supplementierungen verwendet. Diese Ester werden im Verdauungstrakt zu dem freien, biologisch aktiven Tocopherol hydrolysiert (Weiser und Vecchi 1982).

Alle wichtigen Tocopherol-Homologen, als auch ihre Derivate und Gemische sind zusammen in Tabelle 2 und 3 dargestellt.

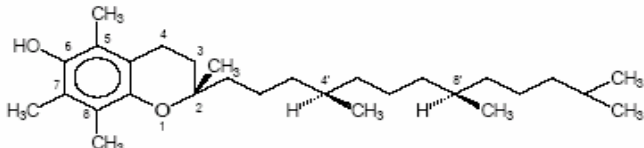
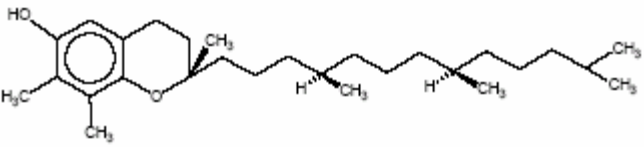
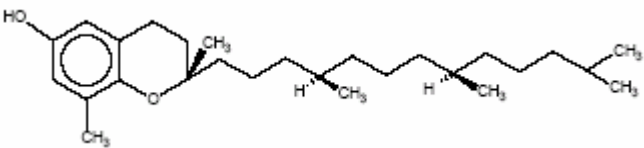
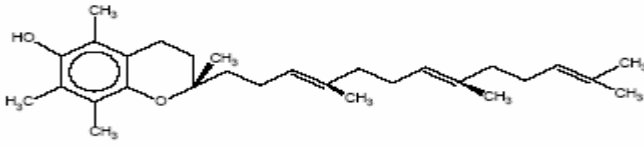
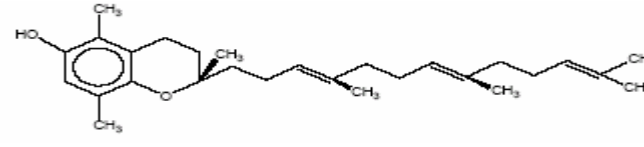
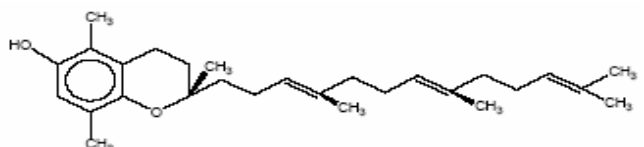
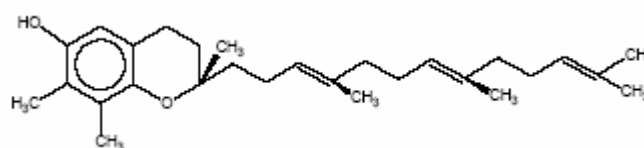
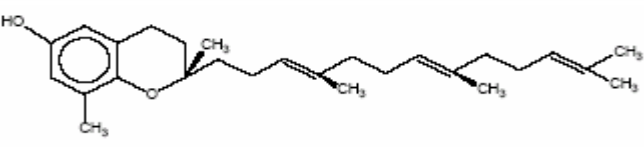
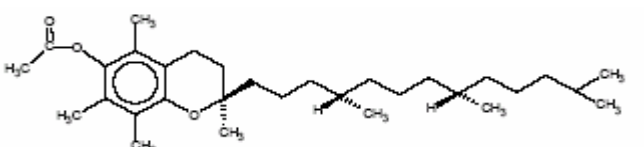
$\alpha$ -Tocopherol besitzt einen flüssigen Aggregatzustand und einen hellgelben Farbton. Es ist praktisch unlöslich in Wasser, aber nahezu vollständig löslich in Ölen, Fett, Azeton, Alkohol, Chloroform, Äther, Benzene und anderen Fettlösungsmitteln.

Seine Dichte liegt bei  $0,95 \text{ g/cm}^3$  bei einer Molmasse von  $430,72 \text{ g/mol}$ .

Der Schmelzpunkt liegt bei  $2,3 - 3,5^\circ\text{C}$ , der Siedepunkt bei  $393^\circ\text{C}$  und der Flammpunkt bei  $420^\circ\text{C}$ .

Sie sind in Abwesenheit von Sauerstoff gegenüber Hitze und Alkanen stabil. Bei Säuren bleiben sie bis zu einer Temperatur von  $100^\circ\text{C}$  unverändert.

**Tabelle 2: Natürliche und synthetische Vitamin-E-Verbindungen (nach Pryor 1995; Elmadfa und Wagner 1997)**

Bezeichnung	Strukturformel	*Aktivität in mg	
		D- $\alpha$ -Tocopherol-Äquivalent	I.E. Vit. E
<b>D-<math>\alpha</math>-Tocopherol (=RRR-<math>\alpha</math>-Tocopherol)</b>		1,00	1,49
<b>D-<math>\beta</math>-Tocopherol</b>		0,50	0,75
<b>D-<math>\gamma</math>-Tocopherol</b>		0,25 <sup>1</sup>	0,37
<b>D-<math>\delta</math>-Tocopherol</b>		0,01 <sup>1</sup>	0,02
<b>D-<math>\alpha</math>-Tocotrienol</b>		0,33 <sup>1</sup>	0,05
<b>D-<math>\beta</math>-Tocotrienol</b>		0,05	0,08
<b>D-<math>\gamma</math>-Tocotrienol</b>		unbekannt	
<b>D-<math>\delta</math>-Tocotrienol</b>		unbekannt	
<b>D-<math>\alpha</math>-Tocopherylacetat (=RRR-<math>\alpha</math>-Tocopherylacetat)</b>		0,91	1,36

\*im Fertilitätstest an Ratten ermittelt (Weiser und Vecchi 1982)

Tabelle 3: Tocopherolgemische (nach Pryor 1995; Elmadfa und Wagner 1997)

Bezeichnung	Strukturformel	*Aktivität in 1mg	
		D- $\alpha$ -Tocopherol-Äquivalent	I.E. Vit E
DL- $\alpha$ -Tocopherol (= all-rac- $\alpha$ -Tocopherol)	Gemisch aus 8 Stereoisomeren	0,74	1,10
DL- $\alpha$ -Tocopherylacetat (=all-rac- $\alpha$ -Tocopherylacetat)	Gemisch aus 8 Stereoisomeren	0,67	1,00

\*im Fertilitätstest an Ratten ermittelt (Weiser und Vecchi 1982)

### 2.1.3 Biosynthese

Die Biosynthese von Tocopherolen ist in Abbildung 1 dargestellt. Sie erfolgt in den Chloroplasten höherer Pflanzen und Algen über 4-Hydroxyphenyl-Pyruvatsäure und Homogentisinsäure. Dabei entsteht zunächst  $\delta$ -Tocopherol. Durch zusätzliche Methylierung werden daraus die  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Homologen gebildet (Schultz 1990).

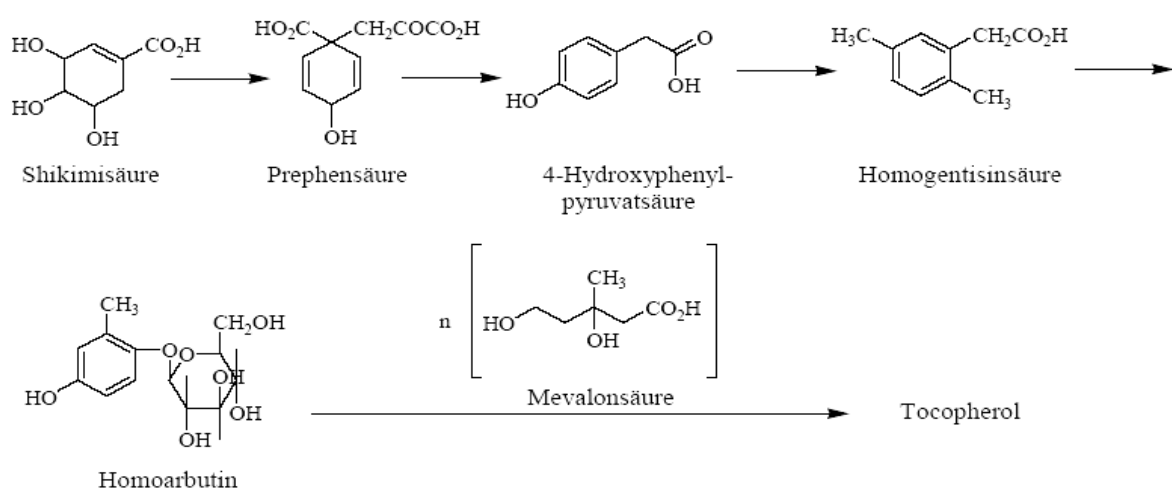


Abbildung 1: Vereinfachte Darstellung der Tocopherol-Biosynthese



Die erste Tocopherol-Synthese wurde im Jahr 1938 von Karrer vorgestellt, der eine Kondensation von Trimethylhydrochinon mit dem Isoprenoid-Rest eines natürlichen Phytols durchführte. Dabei entstand ein Gemisch aus RRR- $\alpha$ -Tocopherol und seinem Diastereomer 2-epi- $\alpha$ -Tocopherol, genannt 2-ambo- $\alpha$ -Tocopherol. Bei der Totalsynthese durch Kopplung von Trimethylhydrochinon mit synthetischem Isophytol dagegen entsteht all-rac- $\alpha$ -Tocopherol, da in diesem Fall auch die Konfigurationen der Seitenkette nicht festgelegt sind (Jucker 1959; Eugster 1972).

## 2.2 Stoffwechsel

### 2.2.1 Absorption

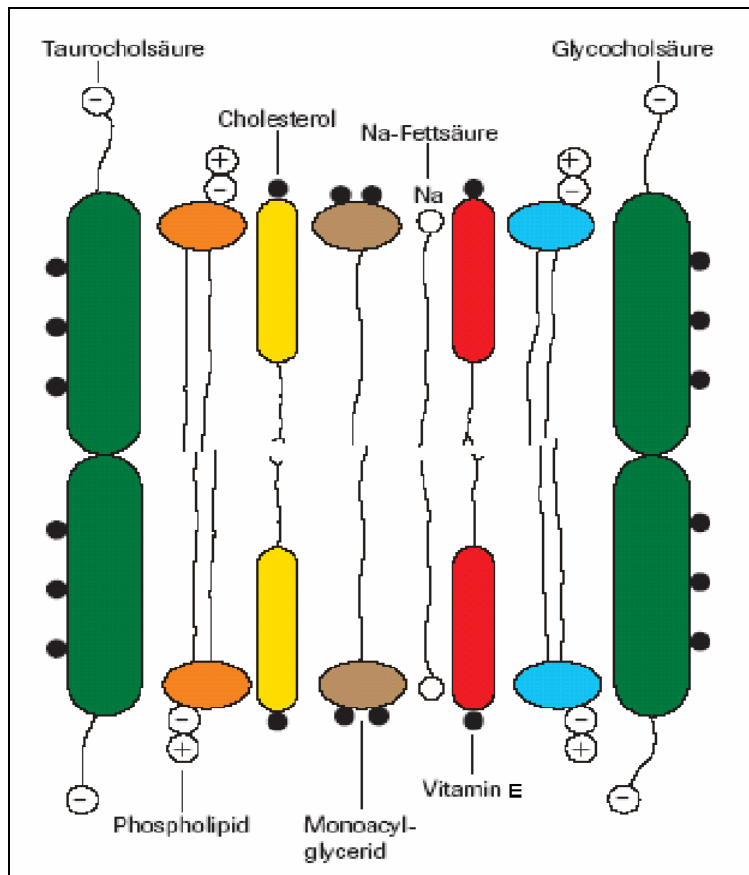
Die Verdauung von Vitamin E im Dünndarm unterscheidet sich nicht von den intraluminalen und intrazellulären Vorgängen, die auch für die Nahrungsfette wie Triglyceride oder Cholesterin gelten. Für ihre Absorption ist, wie bei allen fettlöslichen Vitaminen, eine intakte Fettverdauung Voraussetzung (König und Elmadfa 1995).

Nach der Aufnahme der Nahrungsfette beginnt im Magen die Emulsifizierung mittels mechanischer Kräfte, wobei die großen Öltröpfen in kleinere Partikel aufgebrochen werden. Dieser Prozess wird im Dünndarm fortgesetzt. Der Chymus wird dort durch den Pankreas mit Lipasen versetzt, welche die Triglyceride zu Monoglyceriden und Fettsäuren hydrolysieren und mit den in der Leber gebildeten Gallensalzen dispergieren. Durch die pankreatische Carboxylesterhydrolase und Gallensäure werden die Tocopherylester, wie z. B. die Acetate und Succinate, hydrolysiert (Nakamura *et al.* 1975; Muller *et al.* 1976; Lauridsen *et al.* 2001).

Damit das Tocopherol als stark hydrophobes Molekül durch die dicke Wasserschicht, welche die Mikrovilli der intestinalen Mukosa umgibt, hindurch diffundieren kann, wird es in Mischmizellen inkorporiert, welche einen lipophilen Kern besitzen. Die äußere Mizellenoberfläche wird dagegen durch die umgebende Wasserphase hydratisiert. Aus dem wässrigen Milieu erfolgt die Aufnahme in die intestinalen Mukosazellen. Der Aufbau einer Mizelle ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt.

Die Mischmizellen bestehen aus amphiphilen Gallensäuren, Phospholipiden und  $\beta$ -Monoglyceriden (Cohn *et al.* 1992).

Die Mischmizellen, die nur 1,5 bis 5 nm groß sind, können durch den „unstirred water layer“ zu den Enterozyten diffundieren (Carey und Small 1970). Die  $\alpha$ -Tocopherol-Absorption ist abhängig von der Menge und Zusammensetzung der gleichzeitig aufgenommenen Nahrungsfette, da diese die Ausgangsstoffe für die Mischmizellen liefern.



**Abbildung 2: Aufbau einer Mizelle aus Gallensäure (nach Schenk und Kolb 1990)**

Die einzelnen Vitamere gelangen zum Großteil in unveränderter Form, d. h. als Tocopherole oder Tocotrienole, in die Mukosazellen (Hollander 1981). Tocopherylester werden hingegen präabsorptiv durch eine pankreatische Carboxyl-Hydrolase gespalten. Ein geringer Teil wird auch in seiner Esterform in die Mukosazelle aufgenommen und dort durch mukosale oder intrazelluläre Esterasen gespalten (Mathias *et al.* 1981).

Durch passive Diffusion gelangt die Mischmizelle mit dem enthaltenen Vitamin E in den Enterozyten. Die maximale Absorption findet dabei im proximalen Jejunum statt. In den Enterozyten werden die Tocopherole in Chylomikronen verpackt und in die Lymphe ausgeschleust.

Tocopherole und Tocotrienole werden unspezifisch und gleich gut durch die intestinalen Mukosazellen absorbiert. Die Aufnahme erfolgt passiv und ist nicht sättigbar (Traber 1999).

Leonard et al zeigten kürzlich auf, dass die Dispersion von Vitamin E mit Nahrungsfetten im Darm, die Vitamin-E-Verdauung und Absorption merklich beeinflussen kann. Diese Erkenntnis könnte die Erklärung für die unterschiedliche Bioverfügbarkeit von Vitamin E sein, je nach dem, ob es aus der Nahrung oder aus einem Präparat stammt, bei dem es in konzentrierter Form vorliegt (Leonard *et al.* 2004).

Traber stellte jüngst die Hypothese auf, dass die intestinale Absorption von Vitamin E komplexe Mechanismen umfassen könnte, wie z. B. intrazellulär verhandelnde Proteine, die Modulation von Kernrezeptoren und die Aktivität eines ATP-Kassetten-Transporters (ABC). Ähnliche Mechanismen wurden erst kürzlich für Cholesterol beschrieben (Traber 2004). Dabei handelt sich um Membranproteine, die als gemeinsames Strukturelement eine ATP-bindende Kasette besitzen und den Transport eines Substrats durch eine Zellmembran katalysieren. Da dieser Transport normalerweise gegen einen Konzentrationsgradienten geschieht, muss für den Vorgang Energie aufgewandt werden; das geschieht durch die Bindung und Hydrolyse von ATP an der ABC-Einheit.

### 2.2.2 Plasmatransport und Gewebeversorgung

Die in Chylomikronen verpackten Tocopherole gelangen, nach dem sie über den Duktus thoracicus sekretiert werden, in den Kreislauf. Dort werden die Triglyceride der Chylomikronen durch endothelial gebundene Lipoprotein-Lipase (LPL) hydrolysiert, wobei freie Fettsäuren und Monoacylglycerole abgespalten werden. Dabei verkleinern sich die Partikel durch den Verlust von Oberflächenmaterial. Während dieses Prozesses wird ein Teil der Vitamin E enthaltenden Oberflächenüberreste zu Lipoproteinen hoher Dichte (HDL) transferiert. Ein kleiner

Teil wird hingegen durch die Lipoproteinlipase (LPL), welches als Transferprotein fungieren kann, zu extrahepatischem Gewebe wie Haut, Fett- und Muskelgewebe transportiert (Traber *et al.* 1985). Der Hauptanteil des Vitamin E verbleibt jedoch in den Chylomikronen-Restpartikeln (Hacquebard und Carpentier 2005).

Diese werden durch Endozytose hauptsächlich in die Leber, aber auch in viele andere Gewebe aufgenommen. Ein Großteil dieses Prozesses wird über Rezeptoren, wie z. B. den LDL-Rezeptor oder das LDL-receptor-related-Protein, vermittelt (Cooper 1997).

Die bisherigen Prozesse sind für alle Vitamin-E-Formen, die man bisher getestet hat, gleich.

In der Leber angekommen, durchleben die verschiedenen Isomere unterschiedliche Schicksale. Das  $\alpha$ -Tocopherol-Transfer-Protein ( $\alpha$ -TTP) im Zytosol bindet, im Vergleich zu  $\gamma$ -Tocopherol, bevorzugt an RRR- $\alpha$ -Tocopherol und überträgt es auf Lipoproteine sehr geringer Dichte (VLDL) (Fechner *et al.* 1998). Die anderen Isomere werden in die Galle sekretiert oder nicht weiter aufgenommen und mit der Fäzes ausgeschieden (Drevon 1991).

Der Hauptverteilungsweg, über den  $\gamma$ -Tocopherol in den Kreislauf gelangt, ist via Transferproteine, wie die Lipoprotein-Lipase (Bramley *et al.* 2000).

Nicht nur das spezielle Auswählen der  $\alpha$ -Tocopherole kennzeichnet das  $\alpha$ -TTP, sondern auch seine Vorliebe für 2R Stereoisomere. Dabei kann es zwischen der Nummer und Position der Methylgruppen am Chromanolring unterscheiden, aber auch zwischen verschiedenen Tocopherol-Stereoisomeren. Burton *et al.* demonstrierten, dass die Bioverfügbarkeit von synthetischem all-rac- $\alpha$ -Tocopherol, welches die gleiche Menge von allen 8 Stereoisomeren enthält, bei Menschen nur halb so groß war, wie die von natürlichem RRR- $\alpha$ -Tocopherol, dessen 2R Stereoisomeren bevorzugt aufgenommen und seine 2S Stereoisomere eliminiert wurden (Burton *et al.* 1998).

Hosomi *et al.* untersuchten die  $\alpha$ -TTP-Liganden-Spezifität und ermittelten die relative Affinität von verschiedenen Tocopherol-Analoga. Sie zeigten, dass die 3 Methylgruppen am Chromanolring wichtig für die Erkennung durch die  $\alpha$ -TTP sind - und dass hierbei vor allem diejenige an Position 5 von herausragender Bedeutung ist (siehe Tabelle 4). Die Affinität der Vitamin-E-Analoga zu  $\alpha$ -TTP ist eine der kritischen Determinanten für ihre biologische Aktivität (Hosomi *et al.* 1997). Die relative Affinität der verschiedenen Tocopherole zu  $\alpha$ -TTP ist in Tabelle 4 aufgezeigt.

**Tabelle 4: Relative Affinität des  $\alpha$ -Tocopherol-Transfer-Proteins zu verschiedenen Vitamin-E-wirksamen Verbindungen (nach Hosomi *et al.* 1997)**

Substanz	$\alpha$ -TTP-Affinität
$\alpha$ -Tocopherol	100
$\beta$ -Tocopherol	38
$\gamma$ -Tocopherol	9
$\delta$ -Tocopherol	2
$\alpha$ -Tocopherolacetat	2
$\alpha$ -Tocopherolquinone	2
SRR $\alpha$ -Tocopherol	11
$\alpha$ -Tocotrienol	12
Trolox	9

Yokota und sein Team fanden heraus, dass eine genetischer Defekt am  $\alpha$ -TTP-Gen verantwortlich ist für einen schweren Vitamin-E-Mangel, der durch neurodegenerative Erkrankungen mit Ataxie zum Ausdruck kommt (Yokota *et al.* 1997).

Der exakte Mechanismus, durch welchen  $\alpha$ -TTP die intrazellulären Vorgänge und die Sekretion von  $\alpha$ -Tocopherol ins Plasma reguliert, ist bis jetzt noch nicht völlig geklärt. Man nahm zunächst an, dass  $\alpha$ -TTP die  $\alpha$ -Tocopherol Sekretion mittels VLDL über einen Golgi-vermittelten Weg ermöglicht. Eine Studie, bei welcher der Golgi-Apparat gehemmt wurde zeigte jedoch, dass die  $\alpha$ -Tocopherol-Sekretion nicht an den Zusammenschluss mit VLDL oder ihrer Sekretion gekoppelt ist (Arita *et al.* 1997).

In gesunden Testpersonen scheint eine hohe Vitamin-E-Dosis die regulatorische Funktion von  $\alpha$ -TTP zu überschreiten und es kommt zu einem Anstieg der  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration, die aber nicht über das 3 bis 4-fache steigt, unabhängig von Dauer, Dosis (>100 mg) oder der Häufigkeit der  $\alpha$ -Tocopherol-Supplementierung (Traber 1999). Der Mechanismus dieser Stagnation ist nicht bekannt. Mögliche Ursachen hierfür könnten sein: eine Sättigung des  $\alpha$ -TTP, einhergehend mit

verminderter hepatischer  $\alpha$ -Tocopherol-Sekretion, oder dessen vermindertem Schutz vor dem Abbau, aber auch eine Umverteilung von  $\alpha$ -Tocopherol im Gewebe - vorzugsweise im Fettgewebe (Traber 1999). Eine Abnahme der intestinalen Absorptionseffektivität konnte als Grund ausgeschlossen werden, nachdem man eine Studie mit deuteriertem RRR- $\alpha$ -Tocopherol in steigender Dosis vornahm. Sie zeigte, dass der Serum  $\alpha$ -Tocopherol-Spiegel zwar optisch unverändert blieb, jedoch beim Berechnen der Fläche unter der Kurve (AUC), welche die Gesamtmenge des Serum RRR- $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes darstellt, die tatsächliche Aufnahme linear mit der Dosis anstieg (Traber *et al.* 1998).

Die VLDL Triacylglycerole werden, wie auch die Lipoproteinlipase, auf der endothelialen Seite des peripheren Zielgewebes abgebaut. Die beteiligten Oberflächenreste, in welchen das  $\alpha$ -Tocopherol enthalten ist, werden zu benachbarten HDL-Partikeln transferiert. Ein Teil des  $\alpha$ -Tocopherol gelangt möglicherweise in angrenzendes Gewebe.

Ungefähr 50 - 60% der VLDL-Restpartikel (IDL) werden von der Leber durch Rezeptor-vermittelte Endozytose aufgenommen. Der Rest (40 - 50%) wird durch die hepatische Lipase weiter zu LDL abgebaut, wobei ein Grossteil des Vitamin E während der Umwandlung von IDL zu LDL im Partikel verbleibt (Hacquebard und Carpentier 2005).

In den verschiedenen extrahepatischen Geweben des Körpers erfolgt die Aufnahme durch unterschiedlich stark ausgeprägte LDL-Rezeptoren, was zu einem großen Konzentrationsunterschied von  $\alpha$ -Tocopherol in den verschiedenen Geweben führen kann.

Es gibt aber auch einen nicht Rezeptor-vermittelten Weg, der durch das LPL (Traber *et al.* 1985; Sattler *et al.* 1996) und das LPL-Transfer-Protein (PLTP) ermöglicht wird (Kostner *et al.* 1995; Desrumaux *et al.* 1999). Die Hauptfunktion von PLTP ist es, den Phospholipidaustausch zwischen den Lipoproteinpartikeln zu unterstützen, die unveresterten Cholesterole und  $\alpha$ -Tocopherole zu transportieren, sowie die Größe und Zusammensetzung von HDL zu modulieren (Huuskonen und Ehnholm 2000; van Tol 2002).

Im Kreislauf erhalten HDL-Partikel das  $\alpha$ -Tocopherol hauptsächlich über den Austausch von Lipoproteinen, die Apolipoprotein B enthalten (VLDL und LDL) und

durch die Übernahme von Oberflächenresten während der Lipolyse von triacylglycerolreichen Lipoproteinen.

HDL ist wichtig für den Vitamin-E-Transport im Kreislauf zu steroidalem (z. B. Nebenniere, Ovarien und Hoden), sowie nicht steroidalem Gewebe (Leber, Lunge und Gehirn).

Die Aufnahme von  $\alpha$ -Tocopherol durch diese Gewebe scheint selektiv mit Hilfe eines speziellen SR-BI-Rezeptors (scavenger receptor class B type) zu erfolgen, an den die Partikel binden (Kolleck *et al.* 1999; Mardones *et al.* 2002; Balazs *et al.* 2004; Mardones und Rigotti 2004). Witt und sein Team fanden heraus, dass der Zellspiegel von Vitamin E die SR-BI-Expression reguliert. Durch ein Absinken des Vitamin E-Zellgehaltes kommt es zu einem vermehrten SR-BI-Auftreten und umgekehrt (Witt *et al.* 2000).

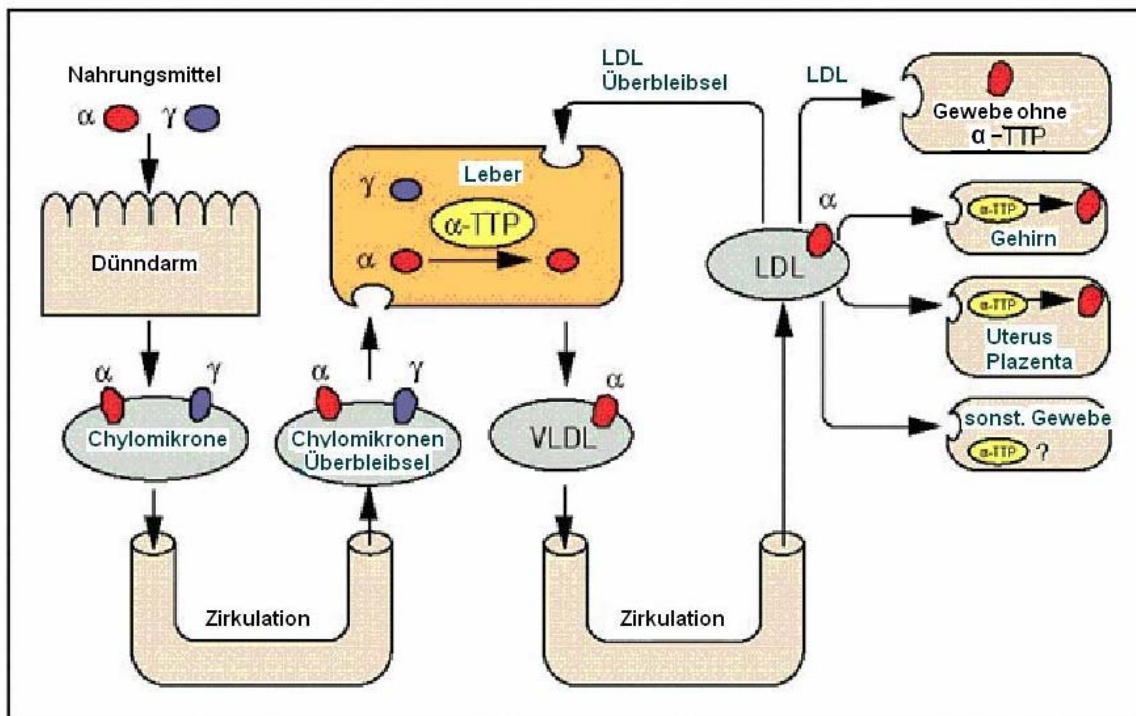
Ist das Vitamin E durch die Zellen aufgenommen worden, werden deren Gehalt und die Verteilung durch spezifisch  $\alpha$ -Tocopherol-bindende Proteine (z. B.  $\alpha$ -TTP) reguliert.

Man ging früher davon aus, dass  $\alpha$ -TTP ausschließlich in der Leber vorkommt. Mittlerweile fand man  $\alpha$ -TTP m-RNA auch im Gehirn und in Milz, Lunge und Niere von Ratten (Hosomi *et al.* 1998) sowie in menschlichen Gehirnen (Copp *et al.* 1999). Des Weiteren ist  $\alpha$ -TTP in trächtigen Mäuseuteri sowie menschlicher Plazenta zu finden (Jishage *et al.* 2001; Kaempf-Rotzoll *et al.* 2002; Kaempf-Rotzoll *et al.* 2003).

Neben  $\alpha$ -TTP wurden kürzlich noch zwei weitere intrazelluläre  $\alpha$ -Tocopherol-Transporter in unterschiedlichem Gewebe entdeckt: tocopherol-associated-Protein (TAP) und tocopherol-binding-Protein (TBP) (Zimmer *et al.* 2000; Kaempf-Rotzoll *et al.* 2003; Kempna *et al.* 2003). TAP bindet  $\alpha$ -Tocopherol und spielt möglicherweise eine wichtige Rolle in der Vitamin-E-induzierten Genexpression.

TBP scheint bei der intrazellulären Vitamin-E-Verteilung beteiligt zu sein (Hacquebard und Carpentier 2005).

Der Mechanismus der Vitamin-E-Aufnahme, der Transport, die Gewebeversorgung sowie die Rolle, die  $\alpha$ -TTP dabei spielt, ist in Abbildung 3 dargestellt.



**Abbildung 3: Funktion des  $\alpha$ -Tocopherol-Transfer-Proteins  $\alpha$ -TTP (nach Kaempf-Rotzoll *et al.* 2003)**

Das aus den Plasma-Lipoproteinen in die Zelle aufgenommene Vitamin E wird hauptsächlich in den Membranen der Mitochondrien und Mikrosomen gespeichert, wo es auch seine Hauptfunktionen als Membranstabilisator und Oxidationsschutz ausübt. Die Gewebekonzentration verhält sich dabei proportional zum Logarithmus der Plasmakonzentration. Dies gilt jedoch nicht für das Fettgewebe, das kontinuierlich  $\alpha$ -Tocopherol akkumuliert. Gespeichertes Vitamin E liegt im Körper offensichtlich nicht nur in Form des Tocopherols, sondern auch nach post-absorptionaler Veresterung als Tocopherylester vor (König und Elmadfa 1995).

Die Aufnahmerate von Vitamin E unterscheidet sich in den verschiedenen Geweben stark. Am schnellsten erfolgt die Aufnahme in der Lunge, gefolgt von Leber, Milz, Niere und roten Blutzellen. Am langsamsten im Gehirn, Fettgewebe und Rückenmark (Burton *et al.* 1990). Desgleichen sinkt die Konzentration während Zeiten von verminderter Aufnahme viel schneller in Plasma und Leber, als in Fettgewebe, Gehirn, Rückenmark und neuronalem Gewebe (Goss-Sampson *et al.* 1988; Bourre und Clement 1991).



Der größte Anteil von Vitamin E im Körper befindet sich im Fettgewebe und in der Nebenniere, wobei letztere die höchste Konzentration pro Gramm Gewebe aufweist (Drevon 1991). Dies beruht möglicherweise auf der spezifischen Bindung von HLP durch die Nebenniere und die darauf folgende Aufnahme des Tocopherols (Gwynne und Hess 1980).

Dennoch können weder Fett noch die Nebennieren als klassische Speicherorgane angesehen werden, da Tocopherol nicht kurzfristig mobilisiert werden kann (Schaefer *et al.* 1983).

### 2.2.3 Biotransformation und Elimination

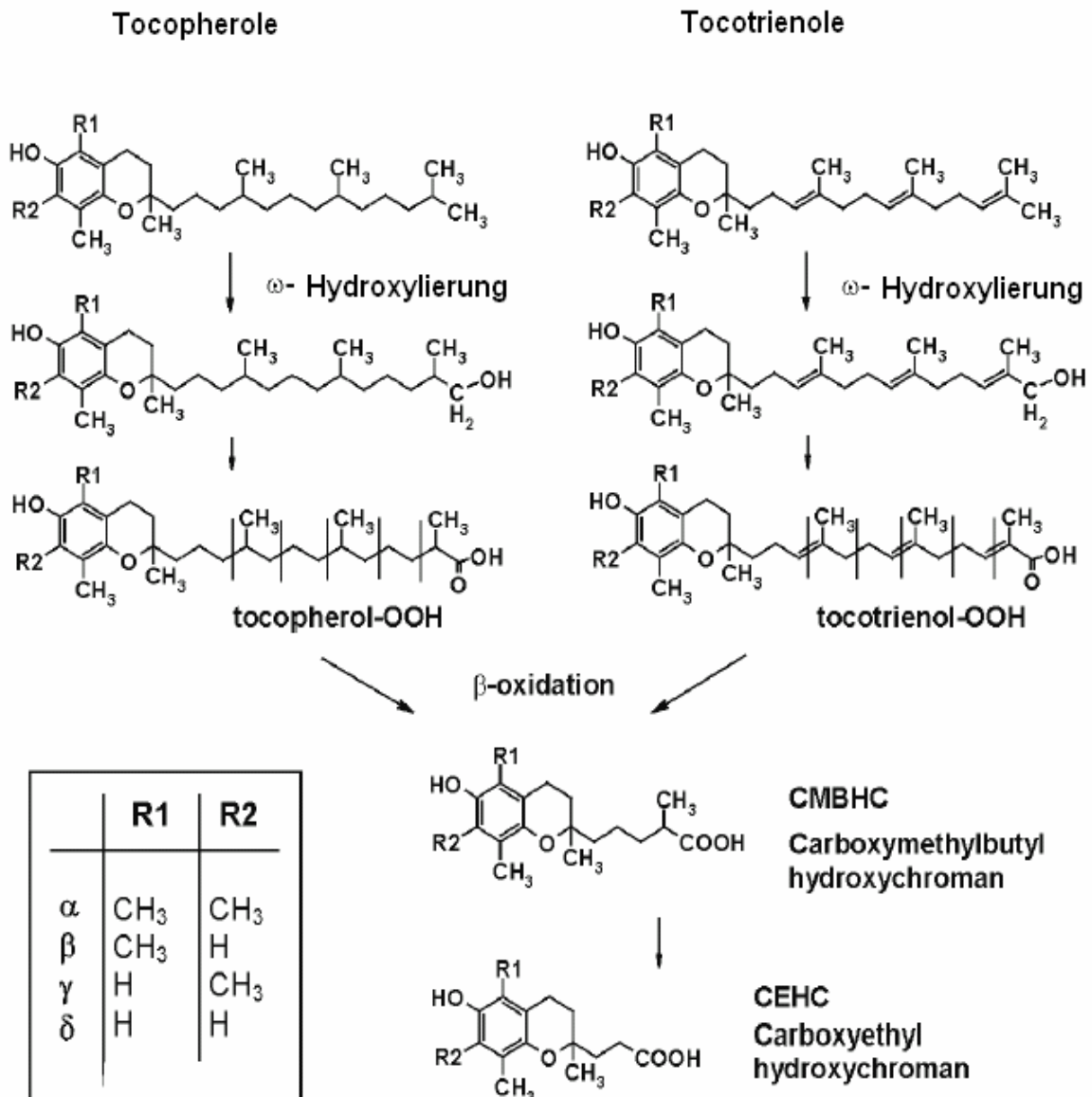
Der Mechanismus der Verstoffwechslung von Vitamin E ist bis heute noch nicht eindeutig aufgeklärt. Da es aber nicht, wie andere fettlösliche Vitamine, in der Leber bis zu toxischen Mengen angereichert wird, scheint es wichtig zu sein, dies durch Exkretion und Metabolismus zu verhindern (Traber 2005).

Bei einem Überschuss von  $\alpha$ -Tocopherol wird es mit den anderen Isomeren in die Galle abgegeben oder durch Seitenkettenabbau metabolisiert. Es ist nahe liegend, dass dies in der Leber geschieht, da bisher noch kein anderes Gewebe gefunden wurde, in dem dieser Prozess ebenfalls stattfindet.

Der Prozess des Vitamin-E-Abbaus ist in Abbildung 4 veranschaulicht.

Vitamin E scheint auf gleiche Weise wie die Xenobiotika abgebaut zu werden.

Der Seitenkettenabbau beginnt mit einer  $\omega$ -Oxidation durch Cytochrom P450 (CYP), auf die dann  $\beta$ -Oxidationen folgen, bei welchen 2 Kohlenstoffeinheiten abgespalten werden (Birringer *et al.* 2001; Birringer *et al.* 2002; Sonntag und Parker 2002). Danach werden die entstandenen Metaboliten durch Sulfatierung oder Glucuronidierung konjugiert (Swanson *et al.* 1999; Pope *et al.* 2002). Die entstandenen Abbauprodukte  $\alpha$ -CEHC (2,5,7,8-tetramethyl-2-(2'-carboxyethyl)-6-hydroxychroman) und  $\gamma$ -CEHC (2,7,8-trimethyl-2-(2'-caboxyethyl)-6-hydroxychroman) haben eine verkürzte Seitenkette mit Carboxylgruppe. Ihre Exkretion erfolgt über den Urin (Brigelius-Flohe und Traber 1999) oder die Galle (Kiyose *et al.* 2001).



**Abbildung 4: Vitamin-E-Metabolismus (Pfluger *et al.* 2004)**

Eine hohe  $\alpha$ -Tocopherol-Aufnahme, wie es bei den meisten Supplementierungen vorkommt, führt zu einem Anstieg des  $\alpha$ -Tocopherol-Plasmaspiegels und zu einer Abnahme des  $\gamma$ -Tocopherolspiegels (Handelman *et al.* 1985). Gleichzeitig kommt es zu einer vermehrten  $\alpha$ -CEHC (Schultz *et al.* 1997), wie auch  $\gamma$ -CEHC-Exkretion (Lodge *et al.* 2001; Smith *et al.* 2003).

Die vermehrte  $\gamma$ -CEHC-Ausscheidung ist auf die vermehrte Metabolisierung von  $\gamma$ -Tocopherol - im Vergleich zu  $\alpha$ -Tocopherol - zurück zu führen (Traber *et al.* 1998; Swanson *et al.* 1999; Lodge *et al.* 2001).

$\alpha$ -Tocopherol wird vermehrt durch das  $\alpha$ -TTP gebunden und dadurch vor einer schnellen  $\omega$ -Oxidation und dem darauf folgenden Abbau geschützt.

Nur überschüssiges  $\alpha$ -Tocopherol wird zu CEHC abgebaut und ist im Urin zu finden. Dagegen wird  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol in Abhängigkeit von der aufgenommenen Menge als jeweiliges  $\gamma$ - und  $\delta$ -CHEC ausgeschieden (Brigelius-Flohe und Traber 1999).

#### 2.2.4 Bioverfügbarkeit und biologische Aktivität von Vitamin E

Für die Bioverfügbarkeit oder biologische Verfügbarkeit einer Substanz gibt es verschiedene Definitionen. Schöffling beispielsweise beschreibt sie als die Geschwindigkeit oder das Ausmaß, mit der ein Wirkstoff oder die wirksame (=aktive) Komponente aus einem Arzneimittel freigesetzt wird und letztendlich im Blut oder am Wirkort erscheint (Schöffling 2003).

Andere sehen sie als das Verhältnis des aufgenommenen und resorbierten Stoffes, welcher intestinal absorbiert wird und dem Körper zur Verwertung bereit steht (Bramley *et al.* 2000).

Die biologische Aktivität bezieht sich auf die Wirksamkeit einer Substanz. Sie gibt an, welchen biologischen Effekt eine bestimmte Menge einer Substanz im Körper erzielt. Die biologische Aktivität von Vitamin E wird in mg  $\alpha$ -Tocopherol-Äquivalent (mg  $\alpha$ -TÄ) bzw. in Internationalen Einheiten (I.E.) angegeben, wobei eine I.E. definiert ist als 1 mg all-rac- $\alpha$ -Tocopherol. Man geht davon aus, dass die Bioverfügbarkeit einer Substanz Voraussetzung für ihre biologische Aktivität ist. Denn nur der Teil einer Dosis, der in den Körper aufgenommen wurde, kann dort wirken.

Der gestation-fetal-resorptions-Test ist der gängigste Test, um bei Tieren die Vitamin-E-Aktivität zu bestimmen. Dabei wird weiblichen Ratten über einen Zeitraum von mindestens 3 Monaten eine Vitamin-E-Mangeldiät gefüttert, um einen Defizit zu erzeugen. Diese Tiere werden dann mit nicht defizienten männlichen Ratten verpaart. Danach bekommen die weiblichen Ratten verschiedene Tocopherole oder Tocotrienole an unterschiedlichen Tagen der Trächtigkeit. Während des 16. - 20. Tages der Trächtigkeit wird dann die Anzahl der lebenden bzw. toten Feten und die fetalen Implantationsstellen bestimmt. Man spricht von einer positiven Antwort bei mindestens einem oder mehr lebenden Feten (Ames *et al.* 1963; Leth und Sondergaard 1977; Weiser *et al.* 1985). In den meisten Untersuchungen spricht man

dann von „Wurf-Effizienz“ (Prozentsatz von positiv angesprochenen Weibchen) oder von der „mittleren Fertilitäts-Dosis“ (MFD). Ein MFD von 50 stellt die Dosis dar, bei der die einzelnen Isomere eine Wurf-Effizienz von 50% bewirken und dem ED<sub>50</sub> (Dosis effectiva media = mittlere wirksame Dosis)-Begriff entspricht (Blatt *et al.* 2004).

Weitere biologische Tests, die zur Bestimmung der biologischen Aktivität beschrieben werden, sind der Muskeldystrophy-Test bei Ratten, Hühnern und Hasen, der Enzephalomalazie-Test bei Hühnern und ein Myopathie-Heil-Test bei Ratten (Weiser *et al.* 1985; Cohn 1999; Bramley *et al.* 2000).

Um die Bioverfügbarkeit zu bestimmen werden Plasma-response-Studien durchgeführt, da sich die Verfügbarkeit eines Wirkstoffes am Zielgewebe nur in Ausnahmefällen feststellen lässt. Bei einer Einzeldosis-Studie wird die maximale Plasmakonzentration ( $C_{max}$ ), die Zeit bis zum Erreichen des Maximums ( $t_{max}$ ) und der Bereich unter der Plasma-Konzentrations-Kurve (AUC) bestimmt. Dies ist der zuverlässigste Parameter, da hierbei die gesamte Antwort über den Zeitverlauf reflektiert wird, im Gegensatz zu  $C_{max}$ , welches nur den Messwert zu einem bestimmten Zeitpunkt darstellt. AUC repräsentiert das Ausmaß der Bioverfügbarkeit. Man unterscheidet zwischen der absoluten und relativen Bioverfügbarkeit:

- *Die absolute Bioverfügbarkeit* gibt die Menge eines Arzneistoffes in Prozent an, die nach der Resorption im Vergleich zu einer intravenös gegebenen gleichen Dosis im Blut messbar ist. Die intravenöse Verfügbarkeit beträgt definitionsgemäß 100%:

$$\frac{AUC_{Test}}{AUC_{iv}} \cdot 100 = \text{absolute Bioverfügbarkeit (\%)}$$

- *Die relative Bioverfügbarkeit* wird als ein Vergleich von Darreichungsformen mit gleichen Verabreichungswegen in Prozent definiert (z. B. Tablette und Lösung):

$$\frac{AUC_{Test}}{AUC_{ref}} \cdot 100 = \text{relative Bioverfügbarkeit (\%)}$$

Besitzen zwei wirkstoffgleiche Arzneiformen eine Bioverfügbarkeit in vergleichbarem Ausmaß und Geschwindigkeit kann man sie als Bioäquivalent bezeichnen. Dies drückt aus, dass die getesteten Präparate austauschbar und therapeutisch gleichwertig sind (Schöffling 2003).

Die Bioverfügbarkeit von Vitamin E hängt, wie bei allen fettlöslichen Vitaminen, in erster Linie von der ausreichenden Fettverdauung, Fettabsorption und einem funktionierenden Fetttransport im Plasma ab.

Des Weiteren wird sie u. a. beeinflusst durch die Struktur der verschiedenen Vitamere, der Fettsäurezusammensetzung der Nahrung, der Dosishöhe, der Applikationsart und der galenischen Präparation sowie dem Gehalt synergistischer bzw. antagonistischer Komponenten (König und Elmadfa 1995).

Normalerweise unterscheiden sich natürliche Vitamine, wie sie in Lebensmitteln vorkommen, in ihrer chemischen Struktur nicht von Vitaminen, die durch chemische Synthese hergestellt wurden. Vitamin E stellt hierbei eine Ausnahme dar, denn natürliches (RRR- $\alpha$ -Tocopherol) und synthetisches Vitamin E (all-rac- $\alpha$ -Tocopherol) weisen in ihrer Struktur und daher auch in ihrer Bioverfügbarkeit Unterschiede auf (Veris 2002).

Ernährungswissenschaftler erachten generell all-rac- $\alpha$ -Tocopherol und RRR- $\alpha$ -Tocopherol äquivalent in ihrer Vitamin-E-Aktivität, aber sind sich uneinig darüber, ob dafür ein Verhältnis der Dosis von 1,36:1 oder 2:1 benötigt wird.

Blatt u. a. stellen die Hypothese auf, dass all-rac- und RRR- $\alpha$ -Tocopherol in keiner Dosierung äquivalent sind. Sie begründen dies durch vorangegangene Studien, die zeigen, dass die Verteilung und Elimination über sättigbare, stereospezifische Wege erfolgt, was nahe legt, dass die relative Bioverfügbarkeit von all-rac- und RRR- $\alpha$ -Tocopherol zwischen den jeweiligen Geweben, der Dosis, der Zeit nach der Dosierung und der Laufzeit der Dosierungen variiert (Blatt *et al.* 2004).

All-rac- $\alpha$ -Tocopherol besitzt zu gleichen Anteilen alle 8 Stereoisomere (RRR, SRR, RRS, RSS, RSR, SSR, RSS, SSS) (Weiser und Vecchi 1981). RRR- $\alpha$ -Tocopherol ist dabei die einzige, natürliche vorkommende Form (Traber 1999).

Die Unterschiede zwischen den Stereoisomeren in ihrer Struktur sind für ihre Aktivität wichtig, da endogene Proteine, wie Enzyme und Rezeptoren, sehr stereospezifische Substanzen sind, die entsprechend stereospezifisch reagieren.

Stereoisomere von Substanzen können sich in der Absorption, Bioverfügbarkeit, Proteinbindung, Halbwertszeit, Metabolismus sowie im Konkurrieren um die Bindung

an sättigbare Enzyme unterscheiden (Mehvar und Jamali 1997; Lane und Baker 1999; Mascagni *et al.* 2000; EkatoDRAMIS und Borgeat 2001; Gristwood 2002; Nau und Strichartz 2002).

Demnach sehen Pharmakologen Wirkstoffgruppen, die aus verschiedenen Stereoisomeren bestehen, eher als unterschiedliche Wirkstoffe an - und nicht als unterschiedliche Formulierungen des gleichen Wirkstoffes. Dagegen betrachten Ernährungswissenschaftler RRR- $\alpha$ -Tocopherol und all-rac- $\alpha$ -Tocopherol als unterschiedliche Formen des gleichen Nährstoffes (Blatt *et al.* 2004).

Die relative Bioverfügbarkeit variiert abhängig von dem Zeitpunkt der Verabreichung, da RRR- $\alpha$ -Tocopherol und all-rac- $\alpha$ -Tocopherol in gleichem Maße absorbiert werden, aber sich im Ausmaß der Retention unterscheiden. Nach den ersten 6 - 12 Stunden nach Verabreichung weisen sie eine vergleichbare Bioverfügbarkeit von 1:1 auf. Da aber die 2R-Form bevorzugt zurückbehalten und die 2S Form wieder ausgeschieden wird, kommt es nach einiger Zeit nach der einmaligen Gabe zu einem Anstieg im Verhältnis RRR- $\alpha$ -Tocopherol zu all-rac- $\alpha$ -Tocopherol von annähernd 2:1.

Die Bioverfügbarkeit des Vitamin E für den Organismus hängt davon ab, wie ähnlich es dem natürlichen RRR- $\alpha$ -Tocopherol ist. Denn während der Transportvorgänge in der Leber kommt es zu einer spezifisch Selektion durch  $\alpha$ -TTP. Dieses bindet bevorzugt an das natürlich vorkommende RRR-  $\alpha$  -Tocopherol, aber auch an die 2R-Formen von  $\alpha$ -Tocopherol. Die übrigen synthetischen Formen werden weitgehend abgebaut und über Galle und Urin ausgeschieden (Traber *et al.* 1990; Acuff *et al.* 1994; Traber *et al.* 1994; Weiser *et al.* 1996; Kiyose *et al.* 1997; Burton *et al.* 1998; Traber *et al.* 2001). Dieses Verhältnis vergrößert sich noch, wenn die Applikation häufiger erfolgt. Weiser und sein Team stellten dabei fest, dass bei der Verfütterung von all-rac- $\alpha$ -Tocopherylacetat die 2R und 2S Formen nach 8 Tagen ein Verhältnis von 75 % zu 25 % aufwiesen und nach 90 Tagen ein Verhältnis von 86 % zu 14 % (Weiser *et al.* 1996).

Die relative Verfügbarkeit von synthetischem und natürlichem  $\alpha$ -Tocopherol variiert, je nach dem, um welches Zielgewebe es sich handelt, wobei es hierbei ebenfalls Unterschiede gibt, hinsichtlich der Häufigkeit der Dosierung (Ingold *et al.* 1987; Behrens und Madere 1991; Weiser *et al.* 1996; Acuff *et al.* 1998; Burton *et al.* 1998; Lauridsen *et al.* 2002).

Ingold et al. führten einen Versuch durch, bei dem Ratten eine äquimolare Menge von deuteriertem RRR- und SRR- $\alpha$ -Tocopherylacetat gefüttert wurde. Nach 154 Tagen war im Gewebe folgende Verteilung festzustellen:

Gehirn: 5,3, Erythrozyten: 3,6, Plasma: 2,4, Herz: 1,9, Leber: 1,2.

Bei Ratten, die nur 8 Tage mit derselben Ration gefüttert wurden, betragen die Gehalte:

Gehirn: 1,4, Erythrozyten: 2,0, Plasma 1,6, Herz: 0,88, Leber: 0,67 (Ingold *et al.* 1987).

Die Ursache für die verschiedene Bioverfügbarkeit der einzelnen Stereoisomere könnte mit einem unterschiedlichen Absorptions- und/oder Retentionsverhalten zusammenhängen.

Der einzig bekannte Mechanismus, der die stereospezifischen Unterschiede zwischen Geweben bezüglich der Retention von  $\alpha$ -Tocopherol erklären würde, ist die Anwesenheit von  $\alpha$ -TTP, da dieses sehr spezifisch an  $\alpha$ -Tocopherol bindet und für dessen Transport benötigt wird.

Man hat es bisher in Leber, Gehirn und dem graviden Uterus gefunden (nicht jedoch im nicht-graviden Uterus) sowie in Spuren auch in Lunge, Milz und Niere (Hosomi *et al.* 1998; Copp *et al.* 1999; Jishage *et al.* 2001).

TTP-Aktivität kann jedoch nicht der einzige Mechanismus sein, durch den sich die  $\alpha$ -Tocopherol-Retention in den verschiedenen Geweben unterscheidet, da solche Enzyme nur zwischen den 2R- und 2S-Stereoisomeren unterscheiden und daher keine größeren Verhältnisse zwischen RRR- $\alpha$ -Tocopherol und all-rac- $\alpha$ -Tocopherol als 2:1 aufkommen lassen können (Blatt *et al.* 2004).

Im Gegensatz dazu wurden aber auch Untersuchungen gemacht, die diesen Wert übersteigen. Acuff et al analysierten fetales Blut bei der Geburt, nachdem die schwangeren Frauen während der letzten 5 bis 9 Tage der Schwangerschaft eine äquimolare Menge an deuteriertem RRR- und all-rac- $\alpha$ -Tocopherylacetat zu sich genommen hatten. Diese Verhältnisse betragen für das fetale Blut 3,42:1 und für das maternale 1,86:1 (Acuff *et al.* 1998).

Weiser und Vecchi haben für jedes einzelne Stereoisomer die relative Potenz mit der von RRR- $\alpha$ -Tocopherylacetat verglichen. Dabei zeigte sich eine bis zu 3-fache Differenz in der relativen Potenz der 2R- und 2S-Formen im Verhältnis zu ihren jeweiligen Diastereoisomeren (siehe Tabelle 5). Sie zeigten im Gegensatz zu manchen Theorien, nach denen die 2R- und 2S-Konformation für die Aktivität des

jeweiligen Stereoisomeres bestimmend ist, dass es Unterschiede in der Aktivität von RRR und RSR sowie zwischen allen vier 2S-Stereoisomeren untereinander gibt (Weiser und Vecchi 1982). Diese Untersuchungen zeigen, dass die 2R- und 2S-Konformation nicht der einzige bestimmende Faktor ist, der die relative Aktivität der Stereoisomere beeinflusst, obgleich diese Konformation die primäre Determinante der Affinität zu dem stereospezifischen TTP darstellt.

**Tabelle 5: Relative Potenz der verschiedenen 2R- und 2S-Stereoisomere von  $\alpha$ -Tocopherylacetat (Weiser und Vecchi 1982)**

Relative Potenz des einzelnen Stereoisomers	
<i>RRR</i>	100
<i>SRR</i>	31
<i>RRS</i>	90
<i>SRS</i>	37
<i>RSS</i>	73
<i>SSS</i>	60
<i>RSR</i>	57
<i>SSR</i>	21

Für die Ermittlung des Bedarfs an Vitamin E muss neben den Faktoren, welche die Bioverfügbarkeit beeinflussen, auch die unterschiedliche Wirksamkeit der einzelnen Isomere berücksichtigt werden.



Bei der antioxidativen Aktivität und damit bei der Wirksamkeit des jeweiligen Tocopherols ist die Hydroxylgruppe am C<sub>6</sub>-Atom des Chromanolringes von essentieller Bedeutung. Diese kann ein Wasserstoffatom abgeben und damit die Kettenreaktion der Autoxidation unterbrechen.

In vitro ist dabei die antioxidative Aktivität abhängig von dem Sättigungsgrad der Methylgruppen am aromatischen Ring (Schneider 2005). Die Hydroxylgruppe in Para-Stellung zur Ethoxy-Gruppe ist dabei von besonderer Bedeutung. Durch die elektrochemischen Eigenschaften der einzelnen CH<sub>3</sub>-Gruppen am Chromanolring ergibt sich die unterschiedliche Wirksamkeit der verschiedenen Tocopherole. So weist das α-Tocopherol mit drei CH<sub>3</sub>-Gruppen die höchste Wirksamkeit auf, während das β-Tocopherol mit zwei CH<sub>3</sub>-Gruppen nur 50 % der Wirksamkeit des α-Tocopherols aufweist, γ-Tocopherol mit ebenfalls zwei CH<sub>3</sub>-Substituenten 25 % und das δ-Tocopherol mit einer CH<sub>3</sub>-Gruppen nur noch 1 %.

Auch die Seitenkette hat Einfluss auf die Wirksamkeit des Vitamin E, da es stabilisierend auf die Struktur und Integrität der zellulären Membranen wirkt. Dadurch haben die Tocotrienole, welche eine dreifach ungesättigte Isoprenoidkette am Chromanolring besitzen, eine 3-fach niedrigere Aktivität als die Tocopherole (König und Elmadfa 1995).

## 2.3 Wirkungsweise

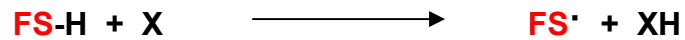
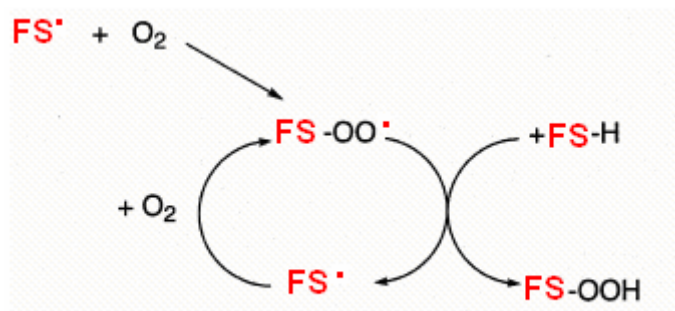
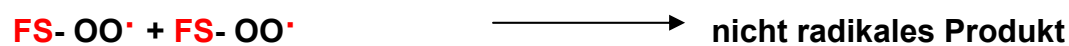
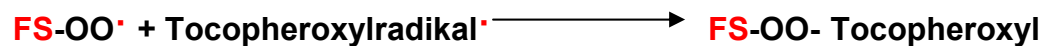
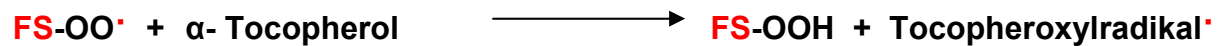
### 2.3.1 Antioxidative Wirkungsweise

Die zentrale Bedeutung des Vitamin E im Zellstoffwechsel liegt in seiner Rolle als zelluläres Antioxidans. Dabei vertritt man die Hypothese, dass es in der Lage ist, Gewebeschädigungen (z. B. durch Angriff der zellulären Lipide, Proteine oder DNA), welche durch freie Radikale ausgelöst werden, zu verhindern. Diese könnten eine Schlüsselrolle bei der Pathogenese einer großen Gruppe von degenerativen Prozessen, wie kardiovaskulären Erkrankungen, bestimmten Formen von Krebs, Entzündungen, neurologische Funktionsstörungen, Katarakt und altersbedingter Makuladegeneration, Beeinträchtigung des Immunsystems und/oder photosensitiven Erkrankungen, spielen (Ziegler 1991; Block *et al.* 1992; Stocker 1999; Virtamo 1999; Bramley *et al.* 2000).

Das Vitamin E findet sich angereichert in verschiedenen Zell- und Zellfraktionsmembranen. Der Chromanolring des Tocopherols vernetzt sich dabei mit der polaren Membranaußenfläche, die Phytol-Seitenkette mit dem nichtpolaren inneren Bereich der Membran, deren Phospholipide aufgrund ihrer hohen Anteile an Linol-, Linolen- und Arachidonsäure stark oxidationsgefährdet sind. Dadurch kann Vitamin E eine Unterbindung oder Unterbrechung zellschädigender oder zellzerstörender peroxidischer Kettenreaktionen bewirken. Diese der Struktur angepasste Platzierung unterscheidet Vitamin E von anderen antioxidativen Substanzen.

Die Autoxidation von Fettsäuren ist ein Prozess, der durch Radikale ausgelöst wird. Verantwortlich für dessen Auslösung sind verschiedene natürliche und synthetische Reagenzien, wie z. B. Metallionen ( $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Fe}^{2+}$ ), UV- und  $\mu$ -Strahlung, Zellen, die aktive oxygene Verbindungen bilden können und Fettsäureperoxyradikale.

Die initiale Reaktion des Prozesses ist die Abspaltung eines Wasserstoffs von der Fettsäure, wobei dies besonders leicht bei mehrfach ungesättigten Fettsäuren gelingt. Kommt es zur Bildung eines Fettsäureradikals, reagiert dieses sofort mit einem Sauerstoffmolekül und bildet ein Peroxyradikal. Dieses entzieht daraufhin einer anderen Fettsäure ein Wasserstoffmolekül, wobei es zum Hydroperoxid wird und ein neues Fettsäureradikal hinterlässt. Es kommt zur Ausbreitung einer Kettenreaktion. Der Prozess der Autoxidation ist in Abbildung 5 dargestellt.

A. InitiierungB. Ausbreitung (Autooxidative Kettenreaktion)C. Termination (Antioxidative Reaktion)**Abbildung 5: Stadien der autooxidativen Kettenreaktion**

(A.) Initiale Abspaltung des Hydrogens (H) von einer mehrfach ungesättigten Fettsäure (FS).

(B.) Die Reaktion des Fettsäureradikals (FS) mit molekularem Sauerstoff ist sehr schnell. Die eigentliche Kettenreaktion ist die Abspaltung eines Hydrogens von dem

Fettsäureperoxyradikal ( $\text{FS-OO}^\bullet$ ) einer anderen Fettsäure. Dies ist der langsamste Schritt der radikalischen Reaktion - und das Peroxyradikal der Hauptangriffspunkt der Antioxidantien.

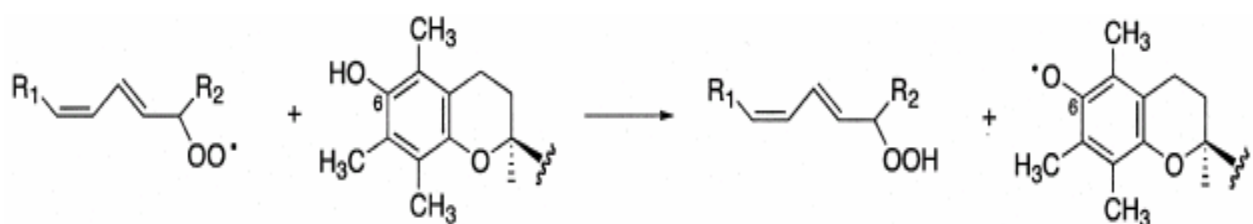
(C.)  $\alpha$ -Tocopherol gibt ein Wasserstoff an das Fettsäureperoxyradikal ab, um ein stabiles Hydroperoxid ( $\text{FS-OOH}$ ) und ein Tocophoxyradikal zu bilden (siehe Abbildung 6)

Weitere Wege, die zum Abbruch der Kettenreaktion führen, sind die Reaktion eines Tocophoxyradikals mit einem Fettsäureperoxyradikal oder die Dimerisierung zweier Peroxyradikale (Schneider 2005).

Das antioxidative Tocopherol vermag den Prozess der autooxidativen Kettenreaktion effizient zu unterbrechen und damit die Radikalketten unterbrechen, bei der es ansonsten u. a. zu oxidativen Schäden von Membranfettsäuren kommen kann. Es selbst ist aber zu reaktionsträge, um ein Wasserstoffatom aus einer ungesättigten Fettsäure abzuspalten.

Die Reaktion eines Radikals mit einem  $\alpha$ -Tocopherol ist in Abbildung 6 veranschaulicht.

Vitamin E reagiert neben Peroxyradikalen auch mit einatomigem Sauerstoff und Peroxynitriten und gilt somit, im Vergleich zu anderen fettlöslichen Antioxidantien, als das wirksamste in der Fettphase (Niki 1987).

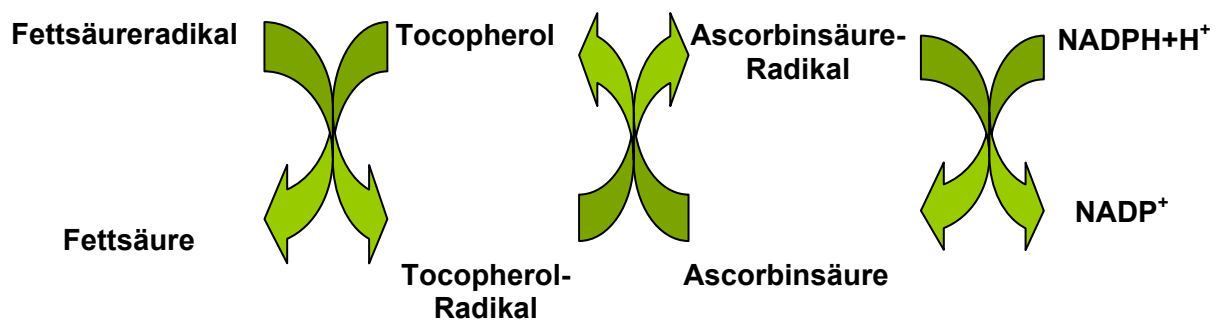


**Abbildung 6: Reaktion eines Radikals mit einem Antioxidans ( $\alpha$ -Tocopherol) (Schneider 2005)**

Durch die Bildung von relativ stabilen Produkten wird das Wachstum von Radikalketten unterbrochen und die Lipidperoxidation gehemmt.

Tocopherole zeigen mit vielen Verbindungen synergistische Effekte. Besonders hervorzuheben ist dies für die L-Ascorbinsäure. Durch sie erfolgt eine Regeneration des Tocopheroxyradikals.

Der in Abbildung 7 dargestellte Mechanismus ist ein wesentlicher Bestandteil des komplexen in vivo Schutzsystems vor dem Angriff freier Radikale gegen ungesättigte Fettsäuren. Weitere Synergismen werden mit Glutathion und Ubichinon beschrieben (Elmadfa und Wagner 1997).



**Abbildung 7: Entgiftungsmechanismus und Regeneration des Tocopherols durch den Synergisten L-Ascorbinsäure (nach Machlin 1991)**

Vitamin E vereint in seinen Funktionen zwei antioxidative Mechanismen. Es überträgt Wasserstoff wie ein technisches Antioxidans und kann darüber hinaus Wasserstoff im eigenen Molekül binden. Als metabolisches Antioxidans schützt es Vitamin A, Carotinoide, sowie ungesättigte Fettsäuren nach deren Absorption.

Vitamin E ist das stärkste fettlösliche Antioxidans, das bekannt ist. Erst in jüngster Zeit wurden neuartige synthetische Antioxidantien entwickelt, die diese Kapazität noch übertreffen (Wijtmans *et al.* 2003).

Überträgt man die molekularmechanischen Reaktionsmechanismen auf differenzierte Organ- und Gewebsstrukturen, so erhält man 2 Funktionsbereiche des Vitamin E:

1. Begleitung und Stabilisierung der mit einem Sauerstoffumsatz verbundenen Stoffwechselprozesse, d. h. Schutz der Zellwände, besonders bei erhöhter Sauerstoff-, Ozon-, Peroxid- oder Radikalbelastung. Ist der Vitamin-E-Gehalt zu niedrig, kommt es zu einer Verschiebung des zelleigenen Redoxpotentials in Richtung Peroxidation, in deren Folge es durch Membranschäden zum Gewebszerfall in Muskulatur, Lunge, Herz, Leber, Nervenbahnen und Drüsenorganen kommen kann. Aber auch die Blutbestandteile werden in Mitleidenschaft gezogen. So kommt es bei den Erythrozyten zu  $H_2O_2$  induzierter Hämolyse, Agglomeration der Blutplättchen und Schädigung der aktiven Immunzellen.
2. Spezifische Schutzwirkung der Lipide und Phospholipide mit hohem Anteil an vielfach ungesättigten Fettsäuren (polyunsaturated fatty acids = PUFA), die sich in Zellmembranen und an anderen Stellen befinden, sowie sonstiger gefährdeter Verbindungen, wie einzelne Vitamine, Carotinoide oder Geschmacksstoffe, vor peroxidischer Veränderung.  
Beispiele hierfür sind Schutzwirkung des Vitamin E gegen die prooxidativ induzierte Eisen-Intoxikation der Zelllipide bei der Eisen-Injektion neugeborener Ferkel, sowie die sog. Gelbfettkrankheit, bei der es zur Oxidation von Depotfett kommt.

Chemisch ist  $\alpha$ -Tocopherol die aktivste Form von Vitamin E, da aufgrund seines Sättigungszustandes an der Methylengruppe des Chromanolringes, die C-6-Hydroxylgruppe besonders reaktionsfreudig ist, ein Hydrogen zu einem Peroxyl zu transferieren (Burton und Ingold 1981).

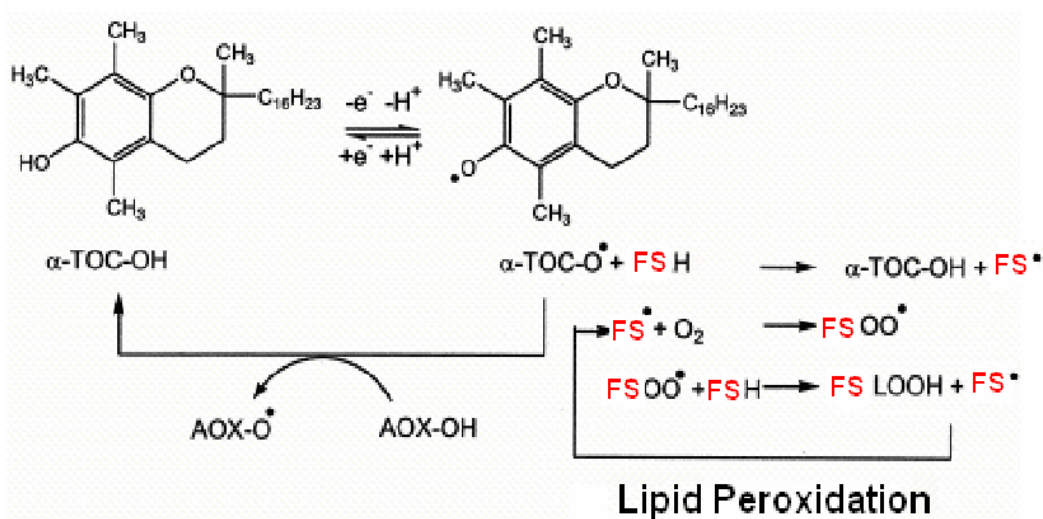
Biologisch ist  $\alpha$ -Tocopherol aufgrund seiner Bevorzugung durch die Transportmechanismen in der Leber ebenfalls die aktivste Form. Ob nun  $\alpha$ -Tocopherol wirklich in der Lage ist, Krankheiten vorzubeugen, die durch oxidativen Stress ausgelöst werden, wird von einigen Wissenschaftlern in Frage gestellt, da es bei vielen Untersuchungen nicht möglich war, diese Wirkung nachzuweisen (Brigelius-Flohe *et al.* 2002; Upston *et al.* 2003).

### 2.3.2 Prooxidative Wirkungsweisen

Im Gegensatz zu den beschriebenen, antioxidativen Fähigkeiten von Vitamin E, wurde sowohl *in vitro* als auch *in vivo* aufgezeigt, dass die Lipidperoxidation von LDL bei Anwesenheit von  $\alpha$ -Tocopherol schneller verläuft (Stocker 1999; Upston *et al.* 1999).

Vitamin E hat neben seinem antioxidativen somit auch einen prooxidativen Effekt.

Dieser dualistische Nebenweg ist in Abbildung 8 verdeutlicht.



**Abbildung 8: Prooxidative Wirkung von Vitamin E (nach Rietjens *et al.* 2002)**

Dieser Weg zeigt, dass als Folge eines gesteigerten  $\alpha$ -Tocopherol-Spiegels, in Zusammenhang mit nachfolgendem oxidativem Stress, es zu einem erhöhten Auftreten von  $\alpha$ -Tocopherol-Radikalen kommen kann (Rietjens *et al.* 2002). Diese  $\alpha$ -Tocopherol-Radikale können nun ihrerseits selbstständig Prozesse, wie z.B. Lipid-Peroxidation, auslösen.

Ist das antioxidative Netzwerk ausgeglichen, wird diese prooxidative Eigenschaft der Vitamin E-Radikale durch Co-Antioxidantien (AOX), welche die Radikale zu Vitamin E zurück reduzieren, verhindert. Vor diesem Hintergrund lässt sich erklären, warum Lebensmittel, die einen verhältnismäßig niedrigen Anteil an Vitamin E, zusätzlich aber noch ein Co-Antioxidans enthalten, eine stärkere positive Wirkung auf die Gesundheit haben, als reine Vitamin-E-Supplemente (Stocker 1999).

Vitamin C kann das Tocopheroxyl-Radikal zurück zum  $\alpha$ -Tocopherol reduzieren, vor allem aber hat es die Fähigkeit, das Radikal aus dem LDL Partikel zu exportieren.

Wird das Vitamin E biologisch recycelt, kann ein einzelnes  $\alpha$ -Tocopherol-Molekül eine Vielzahl von HOO-Radikalen zu  $H_2O_2$  umwandeln. Diese akkumulieren jedoch, wenn sie nicht in der gleichen Zeit enzymatisch durch die Hilfe von Katalasen (Fe) oder Glutathionperoxidasen  $GP_x(Se)$  entfernt werden. Diese Ansammlung von Peroxiden, die auch als Peroxidstau bezeichnet wird, könnte ein Grund für den prooxidativen Effekt von Vitamin E sein (Setiadi *et al.* 2003).

Eine weitere Möglichkeit, durch die  $\alpha$ -Tocopherol seine prooxidative Wirksamkeit ausüben kann, liegt in seiner Fähigkeit begründet, oxidierte Metallionen wie  $Cu^{2+}$  und  $Fe^{2+}$  in ihren niedrigen energetischen Zustand zu reduzieren. Diese reduzierten Metallionen haben eine höhere Reaktionsrate mit Hydroperoxiden und Hydrogenperoxiden, als die oxidierten Formen (Niki und Noguchi 2004). Dieser Prozess kann zu einer homolytischen Spaltung der Hydroperoxide und der damit verbundenen Bildung von reaktiven Alkoxyradikalen führen (Schneider 2005).

### 2.3.3 Zelluläre Signalgebung und Genexpression

Es gibt Wirkungsweisen, die zwar durch das  $\alpha$ -Tocopherol, nicht aber durch  $\beta$ -Tocopherol ausgelöst werden können, obwohl beide eine vergleichbare antioxidative Aktivität besitzen. Dies lässt folgern, dass diese Funktionen unabhängig von dem antioxidativen Mechanismus des Vitamin E sind (Brigelius-Flohe und Traber 1999).

Einige Wissenschaftler fand heraus, dass  $\alpha$ -Tocopherol noch eine weitere Funktion als „Regulator der Genexpression“ hat (Marilley *et al.* 1996; Fazzio *et al.* 1997; Azzi *et al.* 1998).

Im Jahre 1988 wurde die bahnbrechende Entdeckung gemacht, dass Vitamin E in Zellen der glatten Muskulatur die Proteinkinase C (PKC) Aktivität hemmen kann (Mahoney und Azzi 1988). Damit wurde der Beginn eines neuen Zeitalters in der Vitamin-E-Forschung eingeläutet.

Man entdeckte, dass eine Reihe von Genen, die möglicherweise an der Zellproliferation und neuronalen Signalübertragung beteiligt waren, bei der Abwesenheit von  $\alpha$ -Tocopherol verändert wurden (Azzi *et al.* 2004).



Welche Rolle Vitamin E bei der zellulären Signalübertragung spielt, wurde von der Gruppe um Angelo Azzi gründlich studiert.

Sie fanden heraus, dass  $\alpha$ -Tocopherol zwei Hauptsignalwege moduliert, die als Zentrum die Proteinkinase C und Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) haben. Unter dem Begriff Proteinkinase C (PK C) fasst man eine aus mindestens 12 Mitgliedern bestehende Familie von Proteinkinasen zusammen, der die Aktivierung durch Proteolyse und Membranlipide sowie die Kalziumabhängigkeit gemeinsam ist. Dieses Protein spielt eine wichtige Rolle bei der hormonellen Signaltransduktion, sowie bei der Regulation von Wachstum, Differenzierung und möglicherweise auch bei der Entstehung von Karzinomen (Löffler 1997).

Die PI3K ist ein zentrales Element im sog. "Survival-Pathway" der Zelle. Als Lipidkinase katalysiert sie die Phosphorylierung des Membranbestandteils Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP<sub>2</sub>). Dabei entsteht Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphat (PIP<sub>3</sub>), welches u. a. von der Proteinkinase B (PKB) als Anker genutzt wird. Dieses Andocken der PKB an die Membran setzt eine Transduktionskaskade in Gang, die letztendlich die Hemmung verschiedener Apoptose auslösender Effektorproteine bewirkt (Kemény 2002).

Die Veränderungen der Aktivität dieser Kinasen führt zu Veränderungen der Zellen durch Proliferation, Plättchen-Aggregation und NADPH-Oxidase Aktivierung.

Die Tocopherole sind auch in der Lage, Gene auf direkte Weise zu beeinflussen, als auch auf indirekte Weise mit Hilfe der beiden Kinasen. Dabei regulieren sie einige Gene nach oben, die meisten aber nach unten (Azzi *et al.* 2004).

Diese Gene können in 5 Gruppen eingeteilt werden:

1. Gene, die beteiligt sind an der Aufnahme und am Abbau von Tocopherolen.
2. Gene, die in Verbindung gebracht werden mit der Fettaufnahme und Arteriosklerose.
3. Gene, die bei der Modulation von extrazellulären Proteinen mitwirken.
4. Gene, die mit Adhäsion und Entzündungsreaktionen in Verbindung stehen.
5. Gene, die in Zusammenhang stehen mit zellulärer Signalgebung und Zellzyklus-Regulation.

In Tabelle 6 sind einige Beispiele für  $\alpha$ -Tocopherol in den verschiedenen Gruppen dargestellt. Es zeigt ihre Wirkungsweise, welchen Pfad sie bestreiten, das Zielgewebe und ihren Einfluss auf die verschiedenen Tocopherole.

Die Modulation der Genexpression durch Vitamin E wurde durch eine Reihe von unabhängigen Experimenten bestätigt.

Auf der transkriptionalen Ebene reguliert Vitamin E die Expression verschiedener Gene, u. a. Kollagen  $\alpha 1$  und  $\alpha$ -TTP in der Leber (Chojkier *et al.* 1998; Shaw und Huang 1998), Kollagenase in der Haut (Ricciarelli *et al.* 1999), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) und monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1) in endothelialen Zellen (Zapolska-Downar *et al.* 2000), verschiedene Integrine in Erythroleukämie-Zellen (Breyer und Azzi 2001),  $\alpha$ -Trypomycin in glatten Muskelzellen (Aratri *et al.* 1999) und scavenger receptor class A (SR-A) und CD36 in Makrophagen und glatten Muskelzellen (Teupser *et al.* 1999; Ricciarelli *et al.* 2000).

Im Bereich nach der Translation hemmt  $\alpha$ -Tocopherol neben PKC auch die Cyclooxygenase-Aktivität in Monozyten, welche zu einem Absinken des Prostaglandin- $E_2$ -Spiegels führt (Wu *et al.* 2001).

Weiter potente, anti-inflammatorische Funktionen von Vitamin E könnten in Zusammenhang stehen mit einer verminderten Abgabe von Interleukin  $1\beta$ , aufgrund der Hemmung von 5-lipoxygenase durch  $\alpha$ -Tocopherol (Devaraj und Jialal 1999). Zusätzlich können  $\gamma$ -Tocopherol sowie  $\gamma$ -CEHC die Prostaglandin- $E_2$ -Synthese reduzieren, indem sie direkt die COX 2-Aktivität hemmen (Jiang *et al.* 2000).

Die positive und negative Regulation der verschiedenen Gene durch  $\alpha$ -Tocopherol wurde in unterschiedlichen Laboratorien untersucht. Man nimmt an, dass durch einen Liganden die Modulation von spezifischen Proteinen induziert wird. Dadurch wird auch gewährleistet, dass die Reaktion ausschließlich durch  $\alpha$ -Tocopherol und nicht durch strukturell ähnliche Moleküle ausgelöst werden kann.

Das  $\alpha$ -Tocopherol hat damit, im Vergleich zu anderen Tocopherolen, eine einzigartige zelluläre Funktion, welche assoziiert ist mit der Regulation von Genexpression. Diese erfolgt meist durch Interaktion mit spezifischen Transkriptionsfaktoren oder Rezeptoren. Die genauen Mechanismen, durch welche die Bindung von  $\alpha$ -Tocopherol an einen Rezeptor oder Transkriptionsfaktor die Gentranskription verändert, wird zur Zeit noch untersucht (Azzi *et al.* 2004).

Tabelle 6: Einfluss der Tocopherole auf verschiedene Gene (Azzi *et al.* 2004)

Gen	Pfad	Gewebe	Effekt
<b>Gruppe 1</b>			
$\alpha$ -TTP Cytochrom P 450 (CYP 3A)	PXR/RXR	Leber HepG2	$\uparrow$ $\alpha$ -Toc, $\delta$ -Toc $\downarrow$ $\beta$ -Toc, $\gamma$ -Toc, $\delta$ -Toc,
<b>Gruppe 2</b>			
CD36		Glatte Muskulatur	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
SR-BI		Monozyten, Makrophagen	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
SR-AI/II		Monozyten, Makrophagen	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
<b>Gruppe 3</b>			
Tropomyosin		Glatte Muskulatur	$\uparrow$ $\alpha$ -Toc
Kollagen a 1(1)	ARE	Leber Sternzellen	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
MMP-1	PKC	Fibroblasten	$\downarrow$ $\beta$ -Toc
MMP-19	PKC	THP-HL-60	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
<b>Gruppe 4</b>			
E-Selektin	NF- $\kappa$ B	Humane endothelial Zellen	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
ICAM-1		Keratinocyten, Neutrophile, Endothelialzellen, Monozyten	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
VCAM-1		THP-1 Monozyten	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
Integrine		Humane Erythroleukämiezellen	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
Glycoprotein IIb	PKC	Plättchen	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
CTGF	TGF- $\beta$ -RE	SMC, Fibroblasten	$\uparrow$ $\alpha$ -Toc
II-2		Mäuse T-Zellen	$\uparrow$ $\alpha$ -Toc
IL-4	NF- $\kappa$ B, AP1	Humane T-Zellen	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
IL-1 $\beta$	NF- $\kappa$ B, TLR4	THP-Monozyten, Neutrophile	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
<b>Gruppe 5</b>			
Zyklin D1		DU-145	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc, $\gamma$ -Toc
Zyklin E		DU-145	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc, $\gamma$ -Toc
Bcl2-L1		Rattenleber	$\uparrow$ $\alpha$ -Toc
P27		LNCaP, PC-3	$\uparrow$ $\alpha$ -Toc
CD95L	NF- $\kappa$ B, AP-1	T-Zellen	$\downarrow$ $\alpha$ -Toc
PPAR $\gamma$	SW480, LoVo		$\uparrow$ $\alpha$ -Toc, $\gamma$ -Toc

## 2.4 Medizinische Bedeutung von Vitamin E

Vitamin E hat aufgrund seiner verschiedenen Wirkungsmechanismen (antioxidativ, Regulation der Signalübertragung, Beeinflussung der Genexpression) ein sehr weites Wirkungsspektrum. Zu den physiologischen Funktionen zählen:

- Verhinderung der Bildung von Lipid-Peroxyradikalen aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren
- Antitoxische Wirkung im Zellstoffwechsel
- Verhinderung von Lebernekrose und Muskeldegeneration
- Antioxidative Wirkung, durch die eine Stabilisierung der oxidationsempfindlichen Phospholipide in der Zellmembran und sonstiger oxidationsempfindlicher Stoffe, wie Vitamin A und Carotinoide und deren Zwischenstufen, erreicht wird.
- Regulation des Hormonstoffwechsels über den Hypophysen-Vorderlappen
- Erhaltung der Stabilität der Membranen, insbesondere von Skelett und Herzmuskulatur
- Regulation der Funktion der Keimdrüsen
- Vorbereitung und Schutz der Trächtigkeit
- Stimulierung der Antikörperbildung und der Phagozytose sowie der bakteriziden Wirksamkeit von Phagozyten

Vitamin E hat durch seine schützende Wirkung auf die Membranen auch einen weiteren positiven Effekt auf das Immunsystem. Es stabilisiert die in den Membran-Lipiden der Leukozyten in großer Menge vorkommende Arachidonsäure. Unter dem Einfluss der Zyklooxygenase werden daraus Prostaglandine und unter dem Einfluss der Lipoxygenase Leukotriene gebildet. Die genannten Verbindungen spielen bei der Auslösung von Entzündungsreaktionen eine Rolle.

Homologe des Vitamins E wirken hemmend auf die Aktivität der Phospholipase 2, die Lipide zerlegt und dabei Arachidonsäure für die Bildung der Prostaglandine und Leukotriene zur Verfügung stellt.

Bei Mangel an Vitamin E ist die Bildung von entzündungsfördernden Verbindungen – wie Prostaglandin E<sub>2</sub> und von Leukotrien B<sub>4</sub> – erhöht.

## 2.4.1 Wechselwirkungen

### Mehrfach ungesättigte Fettsäuren:

Ist ihr Anteil im Futter erhöht, so steigt auch der Bedarf an Vitamin E, um sie vor Oxidation zu schützen.

### Selen:

Dieses ist mit Vitamin E synergistisch verbunden, da Selen in Form von Selencystein ein Bestandteil der Glutathion-Peroxidase ist, die u. a. für die Regeneration von oxidiertem Tocopherol zuständig ist. Beide zusammen sind ein Teil eines komplexen Abwehrsystems bei dem auch Vitamin C beteiligt ist (siehe Abbildung 7).

### Vitamin C:

Die Ascorbinsäure regeneriert membrangebundene Antioxidantien wie z.B. Vitamin E und wirkt dadurch antioxidativ. Möglicherweise kann ein Zulage von Ascorbinsäure den Bedarf an Vitamin E steigern (Chen *et al.* 1980).

### Vitamin A:

Eine vermehrte Aufnahme von Vitamin A wirkt sich antagonistisch auf das Vitamin E aus und bewirkt eine Absinkung des Tocopherol im Organismus (Blakely *et al.* 1991; Hoppe *et al.* 1992). Der Grund hierfür könnte sein, dass das Vitamin A die Absorption von Vitamin E hemmt.

### Vitamin K:

Vitamin E wirkt durch die Hemmung der Plättchen-Adhäsion und -Aggregation als Antagonist auf die Vitamin K abhängige Blutgerinnung. Des Weiteren konnte zwischen den Tocopherol-Chinonen und dem Phyllochinon-Hydrochinon der Vitamin K abhängigen  $\gamma$ -Carboxylase eine kompetitive Hemmung festgestellt werden (Dowd und Zheng 1995). Diese Carboxylase wird benötigt, um bestimmte Glutamyl-Reste in Proteine umzuwandeln, welche für die Gerinnung notwendig sind (Booth *et al.* 2004). Ein erhöhter Phyllochinon-Gehalt im Futter kann eine Koagulopathie, die durch eine hohe Vitamin E Aufnahme ausgelöst wurde, revidieren (Frank *et al.* 1997).

## 2.4.2 Hypervitaminose

Da Vitamin E nicht - wie andere fettlösliche Vitamine - in der Leber bis zu toxischen Mengen angereichert wird, kommt es selten zu einer Hypervitaminose. Zudem ist auch bei einer anhaltenden, stark erhöhten Aufnahme von Vitamin E mit dem Futter nicht mit Komplikationen zu rechnen, da sich die Resorption mit steigender Zufuhr vermindert.

Lediglich bei wiederholter parenteraler Applikation kann durch höhere Dosen eine Störung der Hodenfunktion ausgelöst werden. Eine bei Hamstern durchgeführte Studie zeigte, dass durch die tägliche s. c. Injektion von 75 mg  $\alpha$ -Tocopherol in ölgiger Lösung über einen Zeitraum von 4 Wochen das Gewicht der beiden Hoden auf 0,3 - 1 g abgenommen hat. Bei den Kontrolltieren betrug es 1,9 – 2,8 g. Auch die Bildung der Spermien ging deutlich zurück (Czyba 1966).

Bei Hühnern machten Sunder et al. die Beobachtung, dass überhöhte Vitamin-E-Gehalte im Futter die oxidative Stabilität des abdominalen Fettes, die Farbe des Eidotters und den Retinol-Gehalt in der Leber reduzierten. Bei einem Vitamin-E-Gehalt von 10000 und 20000 mg/kg nahm die Anzahl an lebend ausgebrüteten Kücken ab (Sunder et al. 1999).

Bei einer anderen Untersuchung an Hennen wurde festgestellt, dass nach 3-wöchiger Fütterung einer Diät, mit einem  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt von 10000 I.E./kg, es zu einer Anreicherung von 10250 mg/g im Eidotter kam. Die mitochondriale Phosphorylierung in der Leber, die AdP:O<sub>2</sub> Relation und die Succinat-Dehydrogenase und Cytochrom-C-Oxidase Aktivität waren durch die hohe Vitamin-E-Aufnahme signifikant vermindert (Surai 1992).

Auch bei Ratten zeigten Untersuchungen hinsichtlich ihrer Zuchtleistungen, dass bei einer überhöhten Vitamin-E-Gabe die Fertilität von inseminierten Tieren deutlich verringert ist (Yang und Desai 1977).

### 2.4.3 Hypovitaminosen

#### Ursachen:

Ein Mangel an Vitamin E kommt bei Pflanzenfressern bei einer einseitigen Verabreichung von betriebseigenen Futtermitteln, vor allem im Winter und zeitigem Frühjahr, vor. Generell nimmt bei der Lagerung pflanzlicher Futtermittel der Gehalt an Vitamin E deutlich ab. So sind im Heu nur noch etwa 20 – 40 % des Vitamin-E-Gehaltes von dem Grünfutter enthalten, das 40 - 80 mg/kg FM enthält. Der Abbau im Futter wird durch Fettsäure-Peroxyradikale gefördert und kann im Mischfutter durch einen Zusatz von Antioxidantien gehemmt werden.

Eine Verminderung des Gehalts an Vitamin E im Futter findet auch bei der Bearbeitung und Zubereitung des Futters statt. Bei Hitzebehandlung des Futters belaufen sich die Verluste je nach Dauer und Intensität auf 40 – 50 %.

Da die Aufnahme, Verwertung, Aktivierung, Speicherung und der Verbrauch von Vitaminen durch zahlreiche Faktoren beeinflusst wird, können relativ leicht Hypovitaminosen entstehen.

Bei Infektionskrankheiten, verschiedenen Parasitosen, bei Tumorentwicklung sowie Störungen der Funktion des Magen-Darmkanals nimmt der Verzehr von Futter, und damit auch die Vitaminaufnahme ab. Gleichzeitig herrscht durch die herabgesetzte Immunabwehr und/oder den Parasitenbefall ein erhöhter Verbrauch.

Bei zahlreichen Infektionskrankheiten und Parasitosen liegen Veränderungen in der Funktion und Struktur des Magen-Darmkanals vor, die zu einer Verminderung der Resorption von Vitaminen führen. Bei Schweinen kann die Aufnahme von Fusarientoxinen mit verpilztem Futter die Proteinsynthese in der Darmschleimhaut hemmen und dadurch zu Nekrosen mit Resorptionsstörungen führen.

Bei Störungen der Leberfunktion ist die Speicherung und Regulation im Blutplasma von Vitamin E beeinträchtigt. Dies kann z. B. aus der Aufnahme von Aflatoxinen und Ochratoxinen mit verpilztem Futter resultieren, in deren Folge es zu einer Abnahme der DNA- und RNA-Synthese in den Hepatozyten und damit zu einer Schädigung der Leber kommt.

Eine mangelnde Sekretion von Galle bzw. ein verminderter Übergang in den Dünndarm (z. B. bei Gallensteinen oder Leberegelbefall) führt zu einer verminderten Emulgierung der Fettstoffe und der Mizellbildung im Dünndarm. Dadurch wird die Resorption des Vitamin E herabgesetzt.

Auch bei ausreichender Versorgung der Sau werden die Ferkel nur mit einem geringen Gehalt an Vitamin E geboren, da dieses nur im geringen Umfang in die Feten übergeführt werden kann (Mahan 1991). Der Gehalt im Kolostrum und der Milch ist von der Versorgungslage des Muttertieres abhängig (Malm *et al.* 1976).

Bei Ferkeln führt die i.m.-Injektion von Fe-Dextran am 1. Tag nach der Geburt zur gesteigerten Bildung von Peroxyl und anderen Radikalen und damit zur Schädigung der Muskulatur, die letal enden kann. Eine gute Versorgung bewirkt eine bessere Verträglichkeit, da das Vitamin E die prooxidative Aktivität des Eisens senkt (Kolb und Hofmann 1988; Moreira und Mahan 2002).

Die Carboxylesterhydrolase (CEH) im Darm des Ferkels ist beim Absetzen noch nicht voll aktiv; daher sind Ferkel in diesem Zeitraum unzureichend mit Vitamin E versorgt (Lauridsen 2003).

1949 dokumentierten Adamstone *et al.* die ersten Defizitsymptome bei Schweinen (Adamstone *et al.* 1949).

### **Folgen:**

Die biologische Funktion des  $\alpha$ -Tocopherols konzentriert sich auf die Stabilisierung von Struktur und Funktion biologischer Membranen. Daher ist auch der höchste Vitamin-E-Gehalt in Membranen zu finden, die einen hohen Anteil ungesättigter Fettsäuren aufweisen und damit einem hohem Peroxidationsrisiko ausgesetzt sind. Vitamin E blockiert die peroxidative Membranzerstörung durch eine radikalische Reaktion.

Am häufigsten findet man degenerative Veränderungen an Skelett und Herzmuskulatur, aber auch hämolytische Anämien, Nekrosen im vaskulären System und im Nervensystem, Lebernekrosen, Enzephalomazie, sowie Fertilitäts- und Wachstumsstörungen.

Vitamin E ist für die Entwicklung der Muskulatur und die Erhaltung ihrer Leistungsfähigkeit von besonders großer Bedeutung. Bei Abnahme des Vitamin-E-Gehalts und der GP<sub>x</sub> nimmt der Gehalt an Lipid-Peroxidverbindungen in den Membranen der Muskelfasern zu; es findet ein hyalinscholliger Zerfall statt. Beim Ferkel ist der Gehalt an Vitamin E und Se-GP<sub>x</sub> im Plasma und in den Organen kleiner, als beim adulten Tier, so dass ein Mangel besonders schnell zu einer



Schädigung der Skelettmuskulatur führt. Wegen seiner stabilisierenden Wirkung auf die Membran wird Vitamin E auch als antidystrophisches Vitamin bezeichnet.

Beim Schwein bekannte Erkrankungen, die in Zusammenhang mit einer Vitamin E Hypovitaminose auftreten, sind:

- Muskeldegeneration beim Saugferkel nach Eisenapplikation (s. o.) und beim älteren Schwein.
- Weißmuskelkrankheit: dabei zerstören freie Radikale die Zellmembran, woraufhin die Calcium-Aufnahme nicht mehr geregelt werden kann und die Zellen absterben. Die betroffenen Muskelfasern verkalken und erscheinen weiß.
- Maulbeerherzkrankheit (diätetische Angiopathie): Gefäßerkrankung, die sich vorwiegend am Herzen manifestiert und bevorzugt bei Tieren im Alter von 3 bis 4 Monaten auftritt. Sie verläuft hochakut und führt rasch zum Tod durch Herz- bzw. Kreislaufversagen (Schlotke 1975).
- Toxische Leberdystrophie (Hepatosi dietetica): dabei kommt es zur Verflüssigungs-, (Kolloquations-) Nekrose der Leberzellen.
- Exsudative Diathese: dabei kommt es zu einer erhöhten Durchlässigkeit der Gefäße für Plasmaproteine.
- Gelbfettkrankheit (Steatitis): bei wachsenden Schweinen wird sie als gelb-braune Verfärbung des Fettgewebes sichtbar. Sie geht auf Ablagerungen von Lipopigmenten, wie das braune Ceroid, zurück, das vermutlich aus der Oxidation ungesättigter Fettsäuren stammt.
- Anämie durch die verkürzte Lebensdauer der roten Blutkörperchen.

Viele der genannten Krankheiten stehen aufgrund der synergistischen Effekte in einem engen Zusammenhang mit Selen.

#### 2.4.4 Einflüsse bei der Zucht

Vitamin E wurde schon früh als Fertilitätsvitamin bezeichnet. Es hat sowohl bei weiblichen, wie auch männlichen Tieren hohe Bedeutung in der Fruchtbarkeit.

Durch seine antioxidativen Eigenschaften kann Vitamin E - ebenso wie  $\beta$ -Carotin und Vitamin C - Peroxylradikale und andere reaktive  $O_2$ -Derivate in den Granulosa- und

Gelbkörperzellen abfangen. Diese werden bei der Ausreifung der Tertiärfollikel sowie der Rückbildung der Gelbkörper verstärkt gebildet (Aten *et al.* 1994).

Ferner ist Vitamin E für die Bildung und Erhaltung der Funktion der Plazenta notwendig. Bei Ratten konnte festgestellt werden, dass eine Vitamin-E-Depletion zu vermehrtem Fruchtverlust führt. Dabei zeigten die Uteri gelb-braune Verfärbungen, Fibrosierungen, Verdickungen der Wände und fettige Degeneration auf (Barrach *et al.* 1937; Barrie 1938). Bei lang anhaltendem Vitamin-E-Mangel kann es zur Sterilität kommen (Draper *et al.* 1964).

Beim männlichen Tier ist das Vitamin E für die Funktion der Hoden, der Nebenhoden und der akzessorischen Geschlechtsdrüsen notwendig. Es wird in den Membranen der Spermien angereichert. Bei Versuchen an 8 Monate alten Hähnen führte ein Mangel an Vitamin E - bei Aufnahme von Futter mit einem Fettgehalt von 10 % über 38 Wochen - zu einer Verminderung des Gewichts der Hoden und der Spermienbildung; der Anteil unbeweglicher Spermien im Ejakulat nahm zu. Bei einem Zusatz von Vitamin E von 32,4 mg/kg oder von Äthoxyquin von 7,5 mg/kg im Futter blieb die Fruchtbarkeit erhalten (Kuhns und Arscot 1969).

Bei beiden Geschlechtern spielen reaktive Sauerstoffspezies (ROS) eine große Rolle. Dies sind reaktive Sauerstoffverbindungen ohne Radikalcharakter - wie Wasserstoffperoxid, Singulett-Sauerstoff, hypochlorige Säure oder Ozon - die aus einer Imbalance zwischen freien Radikalen und Antioxidantien resultieren. Unter normalen Bedingungen sind sie hilfreich für die körpereigenen Abwehrsysteme, in dem sie Bakterien, Pilze oder Viren unschädlich machen.

Sie beeinflussen viele physiologische Prozesse, so z. B. die Oozyten - Reifung, die Fruchtbarkeit, die Embryonalentwicklung und die Schwangerschaft (Agarwal *et al.* 2005) beim Weibchen und die Spermienbeweglichkeit beim männlichen Tier (Armstrong *et al.* 1999).

Bei Zuchtsauen kann es in den Wintermonaten, bei Fütterung betriebseigener Produkte, relativ schnell zu einem Mangel an Vitamin E kommen. Dies führt bei den Ferkeln zu schlechter Entwicklung der Muskulatur bzw. zu Muskeldystrophie.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Versuchsaufbau**

Die vorliegende Untersuchung diente dem Vergleich zweier unterschiedlicher Vitamin-E-Präparate hinsichtlich ihrer biologischen Verfügbarkeit im Serum.

Für diesen Fütterungsversuch wurden 14 Ferkel der Rasse Piétrain x Deutsche Landrasse verwendet.

Die Versuchstiere wurden nach dem Absetzen zunächst 60 Tage mit einer Vitamin-E-reduzierten Diät ( $\alpha$ -tocopherol Gehalt < 2 ppm) gefüttert. In dieser Zeit wurden an Tag 0, Tag 14 und Tag 60 Serumproben genommen und der  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt bestimmt.

Nach Abschluss der Depletionsperiode wurden die Schweine in 2 Gruppen eingeteilt:

- Gruppe 1: Versuchspräparat herkömmliches Vitamin E (Alt VE)
- Gruppe 2: neues Testpräparat Vitamin E (Neu VE)

Beide Gruppen erhielten jeweils 3 I.E.  $\alpha$ -Tocopherol/kg KM als einmalige orale Gabe. Während der Testperiode wurde den Schweinen zu folgenden Zeitpunkten Blutproben entnommen: Stunde 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 96 und 144. Dadurch konnte die An- und Abflutung des Vitamin E im Blut gemessen werden.

Nach Abschluss des Versuchs wurden die Schweine eingeschläfert und der Pathologie überlassen.

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 des deutschen Tierschutzgesetzes (TierSchG in der Fassung vom 25.05.1998, BGBl I S. 1105, zuletzt geändert am 06.08.2002, BGBl I S. 3082) durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

## 3.2 Tiere und Tierhaltung

### 3.2.1 Tiere

Als Versuchstiere wurden 14 männlich-kastrierte und weibliche Ferkel der für die Mast üblichen Gebrauchskreuzung Deutsche Landrasse x Piètrain verwendet. Die Schweine stammten aus verschiedenen Würfen und wurden über den Ferkelerzeugerring bezogen.

### 3.2.2 Versuchsgruppen

Am Tag der Einstellung wurden alle Tiere gewogen, tätowiert und zufällig auf Gruppen von jeweils 2 oder 3 Schweinen verteilt.

Erst unmittelbar vor der Testperiode wurden die Versuchstiere einzeln aufgestellt und in 2 Gruppen eingeteilt. Es wurde dabei auf eine möglichst gleichmäßige Geschlechter- und Gewichtsverteilung geachtet.

Das durchschnittliche Körpergewicht betrug zu dem Zeitpunkt der Aufteilung  $7,7 \text{ kg} \pm 0,8 \text{ kg}$  und bei Versuchsbeginn an Tag 60 schließlich  $40,5 \text{ kg} \pm 2,7 \text{ kg}$ .

Die genaue Gruppeneinteilung sowie die Einzel- und Durchschnittsgewichte und die entsprechende Menge an  $\alpha$ -Tocopherol sind in Tabelle 7 aufgezeigt.

**Tabelle 7: Aufstellung der Versuchsgruppen A und B mit Gewichten und supplementierter Menge an  $\alpha$ -Tocopherol**

Gruppe	Geschlecht	Anfangs-Gewicht	End-Gewicht	I.E. Vit. E
A	♂	8,1	40,5	81,49
A	♀	8,4	43,3	87,5
A	♂	7,6	40,1	80,64
A	♂	7,3	35,9	72,22
A	♂	8,9	44,4	89,30
A	♂	7,5	38,9	78,12
A	♀	6,4	37,0	74,31
B	♂	7,3	42,7	85,75
B	♀	6,3	37,3	75,00
B	♀	7,7	43,0	86,35
B	♀	7,1	41,2	82,73
B	♂	8,0	40,8	82,01
B	♂	8,9	43,7	87,84
B	♂	7,7	38,7	77,81
Durchschnittliches Gewicht $\pm$ Stabw.		7,7 kg $\pm$ 0,8	40,5 kg $\pm$ 2,7	

### 3.2.3 Tierhaltung

Die Ferkel wurden im Institut für Tierhygiene, Außenstelle Oberwiesefeld, aufgestellt. Jeweils 2 - 3 Tiere kamen dabei in eine Bucht von der Größe 1 m x 2 m. Zu einem späteren Zeitpunkt wurden die Buchten auf das 1,5- bzw. 2,5-fache vergrößert. Am Ende der Depletionsphase bekam jedes Schwein eine einzelne Bucht.

Die Haltung der Schweine erfolgte auf Steinboden, der mit Sägespänen der Firma Allspan eingestreut war, um dem Wühlbedürfnis der Schweine nachzukommen. Im vorderen Bereich der Bucht befand sich ein Teilspaltenboden, durch den die Exkremate der Tiere durchgetreten werden bzw. abfließen konnten, und das Wasser der an dieser Stelle angebrachten Nippeltränken ablaufen konnte. An der kurzen Seite entlang war ein Steintrog angebracht.

Die Buchten waren so konstruiert, dass die Schweine im vorderen Bereich Sicht- und Berührungskontakt zueinander hatten. Die Temperatur des Stalles wurde mit Hilfe eines Heißluftgebläses in einem für die Tiere angenehmen Bereich gehalten. Leuchtstoffröhren sorgten für eine optimale Beleuchtung von mindestens 8 Stunden täglich, bei einer minimalen Beleuchtungsstärke von 50 Lux, und waren somit - gemäß der Schweinehaltungsverordnung vom 8.12.1994 - dem Tagesrhythmus angeglichen.

Die Tiere wurden zweimal täglich - ihrem Alter und ihren Bedürfnissen entsprechend - gefüttert. Wasser war für sie jederzeit verfügbar.

Der Gesundheitszustand sowie das Verhalten der Tiere wurden bei der täglichen Fütterung kontrolliert.

Die Entwicklung des Körpergewichtes wurde durch Wiegen an den Tagen 0 und 60 verfolgt.

### 3.2.3 Tierfutter

#### **Futtermittel und ihre Zusammensetzung**

Die Herstellung der Futtermischung erfolgte unmittelbar vor Versuchsbeginn im Mischraum des Lehrstuhls für Tierernährung und Diätetik der LMU München. Dabei wurden verschiedene Mischer mit einem Trommelvolumen von 8 l, 50 l, 100 l und 500 l zum Durchmischen der Rationen benutzt.

Es wurde für die Schweine eine Vitamin-E-reduzierte Diät auf Getreidebasis gemischt, bei der der  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt < 2 ppm und der  $\gamma$ -Tocopherol-Gehalt < 1 ppm lag. Die Zusammensetzung des Futters ist in Tabelle 8 bis 12 aufgeführt.

**Tabelle 8: Zusammensetzung der Basisration**

<b>Rohstoffname</b>	<b>Anteil %</b>
Sojaöl	2,00
Cefkaphos	0,90
Calziumcarbonat	1,20
Natriumchlorid	0,25
Vitamin Vormischung	0,30
Spurenelemente	0,13
L-Lysin	0,24
Fischmehl 64%	2,00
Gerste geschrotet	46,00
Maisstärke	20,00
DL-Methionin	0,25
S-Casein	10,00
Calciumformiat	0,30
Weizenkleie	10,44
Anilac N	4,00
Cellulose	2,00
Summe	100,00

Die Spurenelemente und Vitamine wurden als Vormischung ins Futter eingebracht. Durch die auf Basis von Maisstärke hergestellte Vormischung wurde eine bessere Verteilung der Komponenten, die in kleinen Mengen zugesetzt wurden, gewährleistet.

**Tabelle 9: Zusammensetzung der Vitaminvormischung.**

<b>Rohstoffname</b>	<b>Anteil in %</b>
Retinol (500.000 I.E. Vit. A/g)	1,00
Cholecalciferol (500.000 I.E. Vit D3/g)	0,09
Ascorbinsäure (Vit. C)	3,00
Menadion (Vit. K3 51 %)	0,08
Thiamin (Vit. B1 98 %)	0,22
Riboflavin (Vit. B2 96 %)	0,31
Pyridoxin-HCl (Vit. B6 96 %)	0,12
Cobalamin (Vit. B12 0,1 %)	1,00
Nikotinsäure (Niacin)	1,80
Ca-Panthotenat (Reinsubstanz)	0,65
Folsäure	0,01
Biotin (d-Biotin 2 %)	0,15
Cholinchlorid (50 %)	34,57
Maisstärke	57,00
Summe	100



**Tabelle 10: Zusammensetzung der Spurenelementvormischung**

<b>Rohstoffname</b>	<b>Anteil in %</b>
Eisensulfat FeSo4 x 7 H2O	39,84
Kupfersulfat CuSo4 x H2O	15,71
Zinksulfat ZnSo4 x 7 H2O	32,00
Mangansulfat MnSo4 x H2O	0,05
Natriumselenit x 5 H2O	12,40
Summe	100,00

**Tabelle 11: Gehalt an Rohnährstoffen und Energie in der Ration**

<b>Rohstoffname</b>	<b>Anteil in %</b>
Rohprotein	18,63 %
Rohfaser	5,43 %
Rohfett	3,88 %
Rohasche	5,80 %
Trockensubstanz	89,3 %
Umsetzbare Energie	13,34 MJ/kg

**Tabelle 12: Gehalt der Ration an Calcium, Phosphor und essentiellen Aminosäuren**

<b>Rohstoffname</b>	<b>Anteil in %</b>
Calcium	1,07
Phosphor	0,30
Methionin und Cystin	0,56
Methionin	0,64
Lysin	1,35
Tryptophan	0,15
Threonin	0,90

### 3.2.5 Versuchspräparate

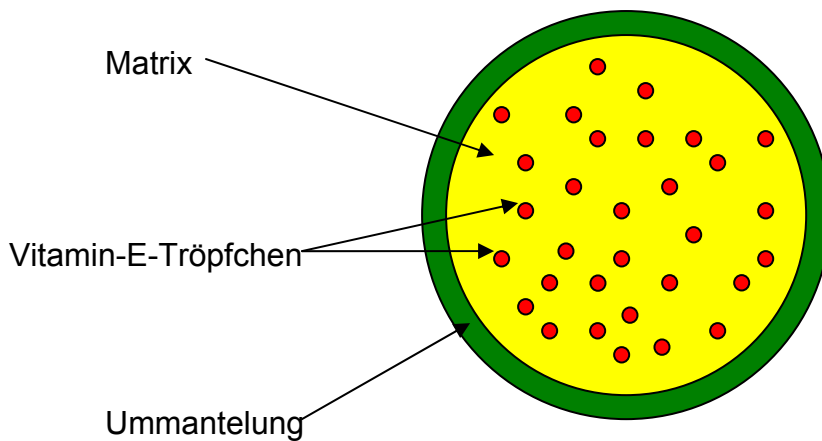
Bei beiden Vitamin-E-Versuchspräparaten handelt es sich um DL(all-rac)- $\alpha$ -tocopheryl-Acetat, welches durch Sprühtrocknung haltbar gemacht wurde.

Das Versuchspräparat Neu VE basiert, im Gegensatz zu dem Kontrollpräparat Alt VE, nicht mehr auf einer Matrix aus Gelatine - und war somit frei von Zusatzstoffen tierischer Herkunft.

Zusätzlich wurde hier eine veränderte Ummantelung aus Ligninsulfonat verwendet - ein Nebenprodukt aus der Zellstoffgewinnung.

Das Präparat der Versuchsgruppe war auf herkömmliche Weise mit Kieselsäure beschichtet.

In Abbildung 9 ist schematisch der Aufbau eines sprühgetrockneten Pulverpartikels mit Vitamin-E-Tröpfchen dargestellt.



**Abbildung 9: Sprühgetrocknetes Pulver mit schützender Matrix**

**Tabelle 13: Physikalische Eigenschaften von Alt VE und Neu VE**

	<b>Alt VE</b>	<b>Neu VE</b>
<b>Äußere Erscheinung, Farbe</b>	Feiner weißlicher Puder	Feiner bräunlicher Puder
<b>Partikelgröße Ø</b>	139,7	167,1
<b>Löslichkeit in kaltem Wasser</b>	schnell	schnell

### 3.2.6 Versuchsdurchführung

Für den Versuch wurden 14 Schweine über 60 Tage mit Vitamin-E-reduziertem Futter depletiert, um eine Absenkung des Tocopherolgehaltes im Blut zu erreichen.

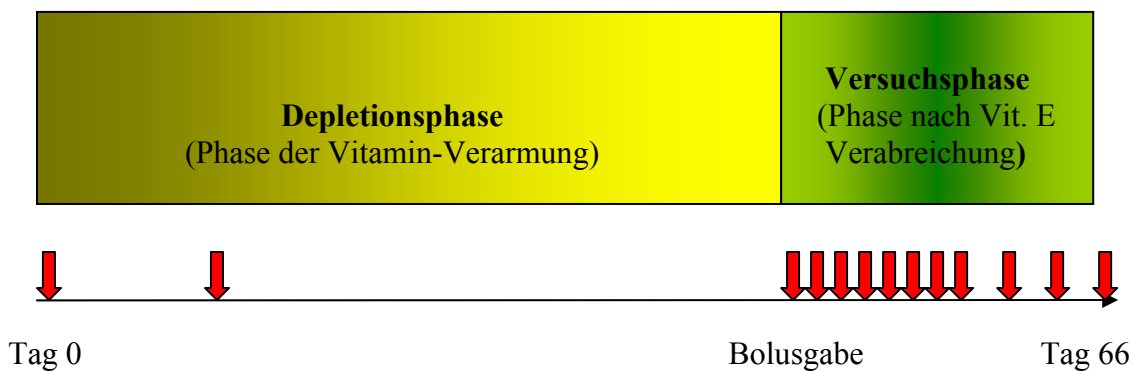
Nach Abschluss dieser Phase wurden die Schweine möglichst gleichmäßig hinsichtlich Geschlecht und Gewicht in 2 Gruppen aufgeteilt.

Am Versuchstag erhielt die Rationsgruppe A (Kontrollgruppe = Alt VE) 3 I.E./kg KM Vitamin E des herkömmlichen Präparates. Die Rationsgruppe B (Versuchsgruppe =

Neu VE) erhielt die gleiche Menge an Vitamin E von dem neuen, zu testenden Präparat. Bei beiden Gruppen wurden die Testsubstanzen mit einer kleinen Menge des täglichen Mischfutters vermengt und morgens, vor der Fütterung, im leicht angefeuchteten Zustand im Trog angeboten und von allen bereitwillig aufgenommen. Erst danach bekam jedes Schwein seine normale Futterration. Dadurch konnte ausgeschlossen werden, dass einzelne Schweine einen geringeren Teil des Präparates aufnahmen, oder es durch Stress, welcher bei Anwendung von Zwangsmaßnahmen aufgetreten wäre, zu Verfälschungen der Werte hätte kommen können. Anschließend wurden den Schweinen in vorgegebenen Zeitabständen Blutproben entnommen, um den Serumspiegel des Vitamin E zu verfolgen.

Der Zeitablauf des Versuches ist in Abbildung 10 dargestellt.

Während des 6-tägigen Versuchszeitraumes sind die gewohnten Haltungsbedingungen der Schweine nicht verändert worden.



Die Grüntöne symbolisieren die Höhe des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes im Blut, die roten Pfeile die Blutentnahmen.

**Abbildung 10: Schematische Darstellung des zeitlichen Versuchablaufes**

## Blutentnahme

Während der Depletionsphase wurde den Schweinen an Tag 0, Tag 14 und Tag 60 Blut abwechselnd aus der rechten und linken Vena jugularis entnommen, um den Basalspiegel des  $\alpha$ -Tocopherol-Spiegels im Serum zu ermitteln.

Während des Versuches wurde jedem Schwein zu gleichen Zeitabständen Blut abgenommen, um später den genauen Ablauf der An- und Abflutung dokumentieren und vergleichen zu können. Die einzelnen Blutentnahmen sind in Abb. 10 mit einem roten Pfeil schematisch dargestellt.

Das Serum wurde mit Hilfe von Serummonovetten (9 ml, Fa. Sarstedt) gewonnen. Anschließend wurde das Blut bei 3000 U/min zentrifugiert und das Serum in Eppendorfcups abpipettiert.

Die gewonnen Proben wurden bei  $-20^{\circ}\text{C}$  bis zur Analyse aufbewahrt.

### **3.3 Bestimmung der Vitamin-E-Konzentration im Serum**

Der Gehalt der Serumproben an Vitamin E wurde mittels HPLC gemessen.

#### **3.3.1 Testprinzip**

Die Vitamin-E-Konzentration im Serum wurde mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography) mit Fluoreszenzdetektor nach Anlehnung an die Methode von Vuilleumier gemessen (Vuilleumier *et al.* 1983). Nach Präzipitation der Serumproteine mit Ethanol wurde das Vitamin E mit Hexan extrahiert. Die Hexanphase wurde unter Stickstoffgas eingedampft und das trockene Vitamin E in einem Methanol-Ethanol-Gemisch für die HPLC-Analytik aufgenommen.

### 3.3.2 Reagenzien

- **Reinstwasser** für die Chromatographie, hauseigene Herstellung (Anlage Seralpur delta, Fa. Seral Reinstwasser-System, Ransbach-Baumbach)
- **Ethanol 96 %** vergällt, Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe
- **n-Hexan**, Rotisolv® HPLC, Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe
- **Methanol**, LiChrosolv, Fa. Merck KGaA, Darmstadt
- **$\alpha$ -Tocopherol**, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
- HPLC Fläschchen G8-1,5 br, 1,5 ml 32 x 11,5, braun, Fa. Chromatographie Handel Müller, Fridolfing
- Mikroeingsätze für HPLC Kappen, Öffn = 5 mm, 0,1 ml, 30,5 mm farblos, rund, Fa. Chromatographie Handel Müller, Fridolfing
- Schraubkappe G8 für HPLC Fläschchen, 1,3 mm, 35 S, silicon-weiß/PTFE-rot, Fa. Chromatographie Handel Müller, Fridolfing
- PS-1/2-Mikroküvette, Fa. Brand GmbH + Co KG, Wertheim

### 3.3.3 Apparate

- Vortex Schütteler, Fa. Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz
- Zentrifuge Eppendorf Centrifuge 5702 R, Fa. Eppendorf AG, Hamburg
- HPLC Anlage
  - Elite La Chrom Version 3.1.3 Firma Merck Hitachi
  - Fluoreszenzdetektor Hitachi
  - Pumpe Fa. Merck Hitachi L-2480
  - Autosampler Fa. Merck Hitachi L-2200
  - Chromatographiesäule Firma Grom Lichrosorb Si 50, 5 $\mu$ m, 125 x 4 mm,  
Fa. Alltech Grom GmbH, Etwiesenstraße 37, D-72108 Rottenburg-Hailfingen

### 3.3.4 Vitamin-E-Extraktion

Zu Beginn wurden die tief gefrorenen Proben bei Raumtemperatur aufgetaut.

Danach wurden 200  $\mu$ l Serum sowie 200  $\mu$ l destilliertes Wasser in ein Glaszentrifugenröhrchen gegeben und mit 750  $\mu$ l 96 %-igem Ethanol versetzt und kurzzeitig, mittels eines Vortex-Schüttlers, vermengt. Dadurch wird die Ausfällung der Serumproteine erreicht.

Zur Extraktion des Vitamin E wurde 1 ml n-Hexan zugegeben, die Probe wieder mit Hilfe des Vortex-Schüttlers vermischt und anschließend 5 Minuten bei 3000 Umdrehungen/min zentrifugiert.

Anschließend wurde die obere Hexan-Phase, in welcher das Vitamin E enthalten ist, abpipettiert und in ein weiteres Glasröhrchen verbracht. Dieser Schritt der Extraktion mit n-Hexan wurde noch einmal wiederholt und die Überstände vereinigt.

Unter Stickstoffeinleitung wurde das n-Hexan bis zur Trockene eingedampft.

Der Rückstand wurde mit 200  $\mu$ l eines Methanol-Ethanol-Gemisches (80:20) aufgenommen.

Davon wurde ein Aliquot von 150  $\mu$ l in ein HPLC Fläschchen mit Einsatz überführt.

Die Proben wurden bis zur weiteren Verwendung wieder tief gefroren.

### 3.3.5 HPLC-Analytik

Die weitere Vitamin-E-Bestimmung erfolgt mittels HPLC. Hierbei wird eine Standardlösung mit bekanntem Vitamin-E-Gehalt genommen und deren Peak ins Verhältnis zu denen der Probenlösung gesetzt.

Zur Erstellung des Standards, der für den späteren Vergleich mit der Probenlösung benötigt wird, wurde ein Tropfen  $\alpha$ -Tocopherol in 100 ml Ethanol gelöst. Danach wurde die Extinktion bei 295 nm photometrisch gemessen. Durch den Extinktionskoeffizienten von  $\alpha$ -Tocopherol (75,8) und das Molekulargewicht (430,69 g/mol) wurde die molare Konzentration der Standardlösung bestimmt. Sie wurde anschließend mit Methanol soweit verdünnt, bis ein dem Schweineserum entsprechender Vitamin-E-Gehalt erreicht wurde.

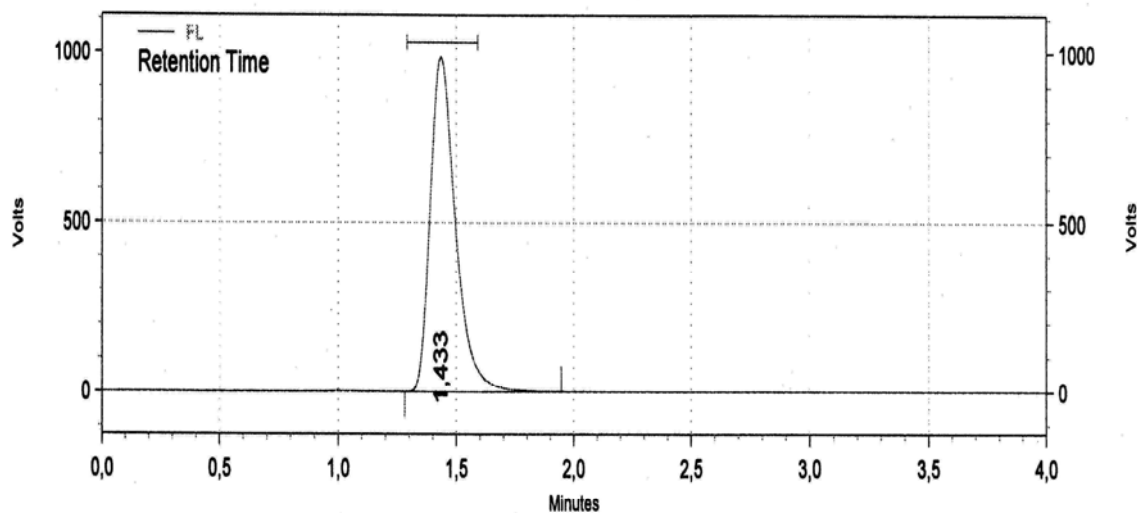
Als mobile Phase diente Methanol. Die Messung erfolgte bei Raumtemperatur. Es wurden 20  $\mu$ l der vorbereiteten Probe injiziert und bei einer Flussrate von 1,0 ml/min eluiert.

Der Vitamin-E-Gehalt wurde bei einer Exzitation von 295 nm und einer Emission von 330 nm fluoreszenz-photometrisch bestimmt.

Nach einer Retentionszeit von 1,43 min wurde der  $\alpha$ -Tocopherol-Peak detektiert. In Abbildung 11 ist ein Vitamin-E-Peak eines Chromatogrammes dargestellt.

Die Berechnung des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes erfolgte nach der Formel:

$$\alpha\text{-Tocopherol } \mu\text{g/ml} = \frac{\text{Fläche Probe} \times \text{Konzentration Standard}}{\text{Fläche Standard}}$$



#### FL Results

Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1,433	29593074	100,00	3954657	100,00

Abbildung 11: Chromatographische Darstellung eines Vitamin-E-Peaks



## 4. Ergebnisse

### 4.1 Klinische Beobachtungen

#### 4.1.1 Gesundheitszustand

Das Allgemeinbefinden der Schweine war ungestört. Sie zeigten keinerlei Verhaltensauffälligkeiten. Die Vitamin-E-reduzierte Diät hatte während der Depletionsphase augenscheinlich keinen negativen Einfluss auf den Gesundheitszustand der Tiere.

#### 4.1.2 Gewichtsentwicklung

Das Gewicht der Tiere betrug zu Versuchsbeginn, bei einem Alter von 4 Wochen, zwischen 6,3 kg und 8,9 kg ( $\bar{x} = 7,7 \pm 0,8$  kg) und erhöhte sich bis zum Ende der Depletionsphase mit 3 Monaten um das 7-fache, auf Werte zwischen 35,9 kg und 44,4 kg ( $\bar{x} = 40,5 \pm 2,7$  kg)

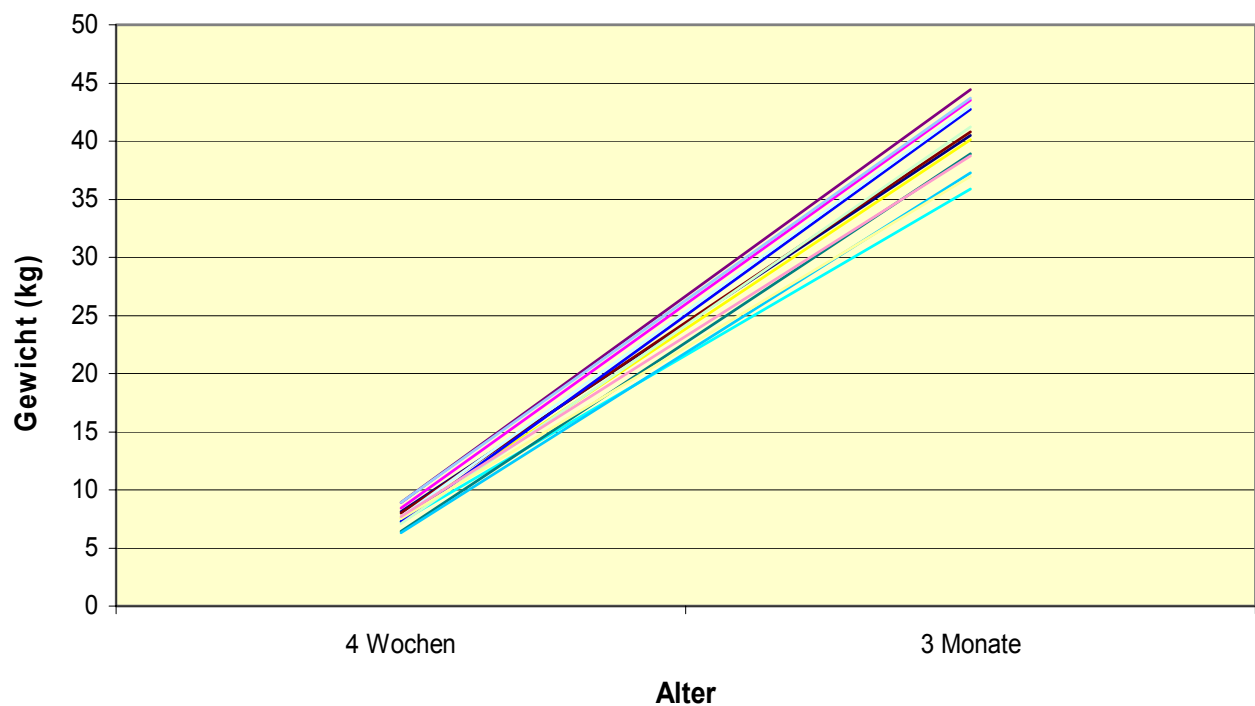


Abbildung 12: Gewichtsentwicklung der Schweine zu Beginn und Ende der Depletionsphase

## 4.2 $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration im Serum während der Depletionsphase

In Tabelle 14 werden die bei der Serum-Analyse der Schweine erhaltenen Einzelwerte, sowie der Gesamtmittelwert mit Standardabweichung zu den Zeitpunkten Tag 0 (Beginn der Depletionsphase), Tag 14 und Tag 60 (angegeben in  $\mu\text{g/ml}$ ) dargestellt.

**Tabelle 14: Mittlerer  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt im Serum der Schweine während der Depletionsphase zu den Zeitpunkten Tag 0, 14 und 60 in  $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  Stabw)**

Schwein	Tag 0	Tag 14	Tag 60
1	6,42	0,90	0,90
2	3,15	0,89	0,73
3	4,71	1,02	0,93
4	4,42	0,99	0,87
5	5,45	0,96	0,83
6	4,06	0,96	0,96
7	5,53	0,84	0,72
8	6,09	1,02	0,75
9	4,73	0,96	0,66
10	5,66	1,07	0,85
11	4,6	0,85	0,78
12	5,49	0,93	0,86
13	2,39	0,80	0,83
14	1,91	0,94	0,67
<b>Mittelwert mit Standardabweichung Stabw</b>	<b>4,62 <math>\pm</math> 1,35</b>	<b>0,94 <math>\pm</math> 0,08***</b>	<b>0,81 <math>\pm</math> 0,09***</b>

\*\*\* ( $p < 0,001$ ): hoch signifikanter Unterschied vs. Tag 0

Insgesamt ist bei allen Schweinen eine Abnahme im Vitamin-E-Spiegel zu sehen, der sich zwischen Tag 14 und 60 nur noch geringfügig verändert.

Bei Beginn der Depletionsphase lag der mittlere  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt bei  $4,62 \pm 1,35$   $\mu\text{g/ml}$ .

Zwischen Tag 0 und Tag 14 kam es zu einer Absenkung um 80 %, auf  $0,94 \pm 0,08$   $\mu\text{g/ml}$ . Bis zu Tag 60 ging der Spiegel weiter bis auf einen durchschnittlichen Wert von  $0,81 \pm 0,09$   $\mu\text{g/ml}$  zurück, was einer Gesamtabnahme von 82 % entspricht.

Beide Werte unterscheiden sich hoch signifikant zum Ausgangswert an Tag 0 bei Beginn der Depletation.

### 4.3 $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration während des Versuchs

Die Schweine wurden für den Versuch hinsichtlich ihres Geschlechtes und Gewichtes in zwei möglichst homogene Gruppen geteilt.

- Gruppe A war die Kontrollgruppe und erhielt das herkömmliche Vitamin-E-Präparat (Alt VE).
- Gruppe B war die Versuchsgruppe, der das zu testende Präparat verabreicht wurde (Neu VE).

In Tabelle 15 ist der Anstieg und Abfall des Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Gehalts in  $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  Stabw) zu den Zeitpunkten 0 (=Versuchsbeginn), +1h, +2h, +3h, +4h, +6h, +8h, +12h, +24h, +48h, +96h, +144h dargestellt.

In beiden Gruppen war in der Versuchsperiode, ab dem Zeitpunkt der Bolusgabe, ein deutlicher Anstieg sowie ein Abfall des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalts nach 4 Stunden im Serum festzustellen.

Am stärksten war der Anstieg im Serum der Kontrollgruppe, bei welcher der  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt um bis zu 300 Prozent anstieg.

Zu keinem Untersuchungszeitpunkt bestanden zwischen den Gruppen signifikant unterschiedliche Werte.

### 4.3.1 $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration der Kontrollgruppe

In Tabelle 15 sind die mittleren  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalte aus dem Serum der Kontrollgruppen-Schweine (Alt VE) aufgeführt. Sie zeigt einen deutlichen Anstieg ab dem Zeitpunkt der Verabreichung, der bei  $0,83 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$  lag, bis zu einem Maximalspiegel von  $2,51 \pm 0,60 \mu\text{g/ml}$  nach 4 Stunden. Dies entspricht einem Anstieg von 300 %. Danach nahm der Wert ab, bis zu einem durchschnittlichen Minimalwert von  $0,63 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$ , was somit noch  $0,2 \mu\text{g/ml}$  unter dem Ausgangswert am Ende der Depletionsphase liegt.

Die Werte zu den Zeitpunkten + 2h, + 3h, +4h, +6h und +8h sind, auf den Beginn des Versuches auf Zeitpunkt 0 bezogen, signifikant erhöht.

**Tabelle 15: Mittlerer  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt im Serum der Kontrollgruppe während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten 0, +1h, +2h, +3h, +4h, +6h, +8h, +12h, +24h, +48h, +96h, +144h in  $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  Stabw)**

Schwein	1	2	3	4	5	7	12	MW $\pm$ Stabw
<b>Ztp 0</b>	0,90	0,73	0,93	0,87	0,83	0,72	0,86	0,83 $\pm 0,08$
<b>+1h</b>	0,92	0,74	1,05	0,97	0,93	0,95	1,27	0,97 $\pm 0,16^*$
<b>+2h</b>	1,43	1,26	2,09	1,45	1,92	2,01	1,84	1,71 $\pm 0,33^*$
<b>+3h</b>	1,78	1,60	2,65	1,90	2,65	1,83	2,33	2,11 $\pm 0,43^*$
<b>+4h</b>	2,22	1,88	3,28	2,30	3,23	1,85	2,81	2,51 $\pm 0,60^*$
<b>+6h</b>	1,50	1,82	1,54	2,24	1,85	1,47	2,19	1,80 $\pm 0,32^*$
<b>+8h</b>	1,13	1,55	1,49	1,25	1,32	1,14	1,50	1,34 $\pm 0,18^*$
<b>+12h</b>	1,11	1,39	1,39	1,12	1,12	1,14	1,42	1,24 $\pm 0,15$
<b>+24h</b>	1,04	1,16	1,15	1,05	1,18	1,03	1,00	1,09 $\pm 0,07$
<b>+48h</b>	1,00	0,90	0,90	0,78	0,82	0,89	0,83	0,87 $\pm 0,07$
<b>+96h</b>	0,83	0,72	0,67	0,69	0,70	0,77	0,67	0,72 $\pm 0,06$
<b>+144h</b>	0,60	0,64	0,70	0,64	0,60	0,56	0,67	0,63 $\pm 0,04$

\* ( $p < 0,05$ ): signifikanter Unterschied vs. Tag 60

### 4.3.2 $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration der Versuchsgruppe

In der Versuchsgruppe (Neu VE) wurde der Maximalspiegel ebenfalls nach 4 Stunden erreicht und lag bei  $2,19 \pm 0,77 \mu\text{g/ml}$ , was einen Anstieg von 280 % bedeutet.

Der niedrigste Wert wurde auch hier am letzten Messzeitpunkt nach 144 Stunden erreicht und lag bei  $0,62 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$  - und damit ebenfalls unter dem Ausgangswert zu Zeitpunkt 0.

Die Werte zu den Zeitpunkten + 2h, + 3h, +4h, und +6h sind, auf den Beginn des Versuchs zum Zeitpunkt 0 (vor Bolusgabe) bezogen, signifikant verschieden

Die einzelnen Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Werte der Scheine sind in Tabelle 16 aufgelistet.

**Tabelle 16: Mittlerer  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt im Serum der Versuchsgruppe während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten 0, 60 +1h, +2h, +3h, +4h, +6h, +8h, +12h, +24h, +48h, +96h, +144h in  $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  Stabw)**

Schwein	6	8	9	10	11	13	14	MW $\pm$ Stabw
<b>Zpt. 0</b>	0,96	0,75	0,66	0,85	0,78	0,83	0,67	0,79 $\pm 0,12$
<b>+1h</b>	1,51	1,21	1,57	0,96	0,96	0,86	1,19	1,18 $\pm 0,28$
<b>+2h</b>	2,40	2,14	1,51	1,41	1,74	1,32	1,91	1,78 $\pm 0,40^*$
<b>+3h</b>	2,98	3,18	1,53	1,84	1,92	1,53	1,44	2,06 $\pm 0,72^*$
<b>+4h</b>	3,08	3,32	1,50	1,67	2,00	1,39	2,48	2,19 $\pm 0,77$
<b>+6h</b>	2,50	1,72	1,23	1,54	1,76	1,12	1,16	1,58 $\pm 0,48^*$
<b>+8h</b>	1,72	1,26	1,17	1,04	1,20	0,80	0,85	1,15 $\pm 0,31^*$
<b>+12h</b>	1,58	1,20	1,03	0,95	1,24	0,79	0,85	1,09 $\pm 0,27$
<b>+24h</b>	1,48	11,5	1,00	0,95	1,24	0,79	0,85	1,07 $\pm 0,24$
<b>+48h</b>	0,97	0,90	0,74	0,73	0,68	0,66	0,71	0,77 $\pm 0,12$
<b>+96h</b>	0,68	0,78	0,74	0,77	0,66	0,67	0,64	0,71 $\pm 0,06$
<b>+144h</b>	0,60	0,64	0,70	0,65	0,57	0,64	0,54	0,62 $\pm 0,06$

\* ( $p < 0,05$ ): signifikanter Unterschied vs. Tag 60

---

## 5. Diskussion

---

Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Bioverfügbarkeit zweier  $\alpha$ -Tocopherol-Präparate, die sich hinsichtlich ihrer Zusatzstoffe unterschieden, an depletierten Schweinen zu untersuchen.

Der Kontrollgruppe wurde ein herkömmliches Vitamin-E-Präparat verabreicht, welches auf einer Gelatinematrix basierte.

Bei dem Präparat der Versuchsgruppe wurde auf tierische Proteine verzichtet.

Für den Versuch wurden die Tiere über einen Zeitraum von 60 Tagen depletiert. Nach dem Verabreichen des jeweiligen Präparates wurde der Verlauf des Serumspiegels in den folgenden 144 Stunden dokumentiert.

### 5.1.1 Diskussion des Versuchsaufbaus und der Versuchsdurchführung

#### 5.1.2 Ziele der Untersuchung

Für den Vergleich der Bioverfügbarkeit von Vitamin-E-Präparaten wurden junge Schweine gewählt, da sie aus verschiedenen Gründen einen erhöhten Bedarf haben. Da bei Ferkeln die Carboxylesterhydrolase (CEH) im Darm zum Zeitpunkt des Absetzens noch nicht voll aktiv ist, haben die Tiere zu diesem Zeitpunkt eine unzureichende Vitamin-E-Versorgung (Lauridsen 2003), was eine Erleichterung bei der Depletion von Tieren in diesem Alter darstellt.

Zudem ist ein Vitamin-E- Defizit bei jungen Tieren verbreiteter, als bei älteren, da sie in dieser Phase durch rasches Wachstum und Zell-Hypertrophie einen höheren Bedarf an Tocopherol haben (Chung *et al.* 1992). So fanden Meyer und sein Team heraus, dass die Serum-Tocopherol-Konzentration bei Schweinen in den ersten 2 Wochen nach dem Säugen, auch bei Vitamin-E-angereichertem Futter abnimmt (Meyer *et al.* 1981).

### 5.1.3 Versuchstiere und ihre Haltung

Für den Versuch wurden 14 Ferkel im Alter von 12 Wochen, mit einem Durchschnittsgewicht von  $7,7 \text{ kg} \pm 0,2 \text{ kg}$ , über 60 Tage mit einer Vitamin-E-reduzierten Diät depletiert, um einen erwarteten Serumspiegel-Abfall zu erhalten. Eine Kontrollmessung wurde nach 14 Tagen angesetzt, um die Abnahme zu dokumentieren.

Diese Zeiträume wurden gewählt, da während eines Vitamin-E-Entzuges nach 2 Wochen die Hälfte des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes aus der Leber und dem Herz verschwunden ist. Der Rest des  $\alpha$ -Tocopherol verlässt das Gewebe deutlich langsamer. Es wird angenommen, dass es zwei verschiedene Vitamin-E-Speicherpools in den verschiedenen Geweben gibt. Der eine, bei hohen Spiegel in im Gewebe, ist schnell mobilisierbar, der andere findet sich bei einem niederen Vitamin-E-Spiegel und nimmt nur langsam ab (Machlin 1991). Man vermutet den langsamen, nicht mobilisierbaren Speicher in der Zellmembran (Friedrich 1988).

Um sicher zu stellen, dass beide Gewebsspeicher-Pools nahezu geleert sind, wurden bei unserem Versuch die Schweine deutlich länger als 2 Wochen depletiert.

Während des gesamten Zeitraumes der Versuchsdurchführung war trotz der Vitamin-E-Depletion keine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens der Ferkel, wie z. B. Hypovitaminosen, festzustellen. Dies ist damit zu begründen, dass eine Mangelkrankung von Vitamin E ein chronischer Prozess ist, der sich über einen längeren Zeitraum entwickelt. Faktoren, die dieses begünstigt hätten, wurden vermieden.

So erhielten die Schweine eine rezessive Fütterung, die einem beschleunigten Wachstum mit vermehrter Fetteinlagerung und dem damit verbundenen erhöhten Vitamin-E-Bedarf entgegen wirkte. Die Versorgung mit Proteinen und Selen war ausgewogen, da ein simultanes Defizit dieser Stoffe ein chronisches Missverhältnis noch verstärkt hätte.

Mit einem durchschnittlichen  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt von  $0,81 \text{ } \mu\text{g/ml}$  lagen die Schweine auch leicht über der Grenze von  $0,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$ , welche die Grenze zwischen suffizienten und defizienten Schweinen markiert (Hoppe 1991).

#### 5.1.4 Wirkstoffzuteilung und Verabreichung

Mit der Dosierung von 3 I.E. DL(all-rac)- $\alpha$ -tocopheryl-Acetat/kg KM, welche einer Menge von 3 mg/kg KM entspricht, orientierte man sich über dem normalen Bedarf eines Schweins in der Anfangsmast, der mit 0,3 bis 1 I.E./kg KM angegeben wird (Kamphues *et al.* 2004; Kirchgeßner 2004).

Einzelne Empfehlungen zur Versorgung junger Schweine mit Vitamin E - in Bezug auf die verabreichte Futtermenge - sind in Tabelle 17 aufgeführt.

Eine toxische parenterale Dosierung bei neugeborenen Schweinen gab Hale *et al.* mit 100 I.E./kg KM an, welche jeweils an 5 aufeinander folgenden Tagen verabreicht wurde (Hale *et al.* 1995).

Studien an Tieren zeigen, dass bei oraler Verabreichung von Vitamin E die Gefahr einer akuten oder chronischen Toxizität sehr niedrig ist und es keine mutagene, karzinogene oder teratogene Wirkung zeigt (Bendich und Machlin 1988). In vielen Spezies wird die orale LD-50 erst bei  $\geq 2$  g/kg KM erreicht (FASEB 1975).

Da bei dem vorliegenden Versuch nicht eine spezifische Wirkung des Vitamin E im Vordergrund lag, sondern die Bioverfügbarkeit eines Präparates unter praxisrelevanten Dosierungen gezeigt werden sollte, hielt man sich bei der verabreichten Menge an eine Größenordnung, wie sie in der Schweinefütterung bei einer Bolusgabe realistisch wäre.

Da die Schweine unseres Versuches restriktiv gefüttert wurden, um ein zu weites Auseinanderwachsen und damit eine Inhomogenität in den Versuchsgruppen zu vermeiden, erhielten sie am Ende des Versuches maximal 2 kg Futter pro Tier, verteilt auf 2 Mahlzeiten mit einer Trockensubstanz von 89,3 %.

Es wurde vermieden, eine zu hohe Dosis an Vitamin E zu füttern, da bei steigender Dosis der Anteil, der absorbiert wird, sinkt (Schmandke *et al.* 1969). Gleichzeitig durfte die Menge aber nicht zu gering sein, da nur bis zu 50 % der aufgenommenen Menge an Vitamin E auch tatsächlich absorbiert wird und der Serumverlauf bei zu geringem  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt schwer darzustellen gewesen wäre (Machlin 1991).

Die Verabreichung einer größeren Menge an Vitamin E in der Praxis ist nötig, wenn es zu einer krankhaften Veränderung aufgrund einer unzureichenden Vitamin-E-Versorgung gekommen ist, oder, um dieser in spezifischen Situationen mit erhöhtem Bedarf vorzubeugen.



In unserem Versuch wurde das Vitamin E als DL- $\alpha$ -tocopheryl-Acetat verabreicht, da dies, aufgrund seiner weitestgehenden Stabilität während der Lagerung und in Mischfuttermitteln eine gängige Form ist, die für Schweine-Diäten verwendet wird (Chung *et al.* 1992).

Die Verabreichung der jeweiligen Testsubstanz erfolgte unmittelbar mit dem Futter, um den Verlauf der  $\alpha$ -Tocopherol-Anflutung unter den gleichen Bedingungen zu dokumentieren, wie sie bei einem Vitamin-E-Präparat, das mit einem Mischfutter verabreicht wird, vorliegen würden.

Die verabreichte Bolus-Menge des  $\alpha$ -Tocopherols lag zwischen dem Bedarf pro kg/KM und der empfohlenen Menge an I.E. pro kg Futter TS.

**Tabelle 17: Bedarfsangaben zur Vitamin-E-Versorgung von Schweinen aus verschiedenen Quellen**

Empfehlungen	I.E./kg TS
(Ges. f. Ernähr.-Phys. 1987)	15
(A.W.T. 1984)	60-80
(Jensen <i>et al.</i> 1988)	31
(Kolb 1980)	60-80
(N.R.C. und (US) 1998)	11
(Friesecke 1988)	20-30
(Ulbrich <i>et al.</i> 2004)	15

#### 5.1.4 Probengewinnung

Ziel des Versuches war es festzustellen, welche Menge der jeweiligen Testsubstanz nach oraler Aufnahme tatsächlich vom Tier absorbiert - und damit für den Stoffwechsel zugänglich gemacht werden konnte.

In verschiedenen Experimenten wurde gezeigt, dass die Serum-Konzentration von Vitamin E die tägliche Aufnahme dieses Stoffes reflektiert, wohingegen der Gehalt im Skelettmuskel und Fettgewebe die Aufnahme über einen längeren Zeitraum reflektiert (Bieri 1972; Machlin *et al.* 1979; Roneus *et al.* 1986; Jensen *et al.* 1988); (Traber 2002)

Über den gemessenen Blutspiegel kann bei Vitamin E, im Gegensatz zu wasserlöslichen Vitaminen, ein Rückschluss auf die Gewebsversorgung gezogen werden. So erhöht sich bei hohen Dosen an Vitamin E, die an Tiere verabreicht werden, der Gewebsspiegel proportional zu dem Logarithmus der verabreichten Dosis (Machlin 1991).

Für die Untersuchung der Bioverfügbarkeit der beiden verabreichten Testsubstanzen wurde die Bestimmung des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes im Blut gewählt, da dies eine sehr praktische und brauchbare Methode ist, um den Vitamin-E-Status zu bestimmen (Kolb 1980).

Es wurden keine Organproben genommen, da es für Vitamin E kein spezifisches Speicherorgan gibt, wie beispielsweise die Leber bei Vitamin A, bei der bis zu 90 % des aufgenommenen Vitamins in der Leber akkumuliert (Strohmaier 2003).

#### 5.1.5 Laborbestimmung

Während der Testperiode wurde den Schweinen zu folgenden Zeitpunkten Blutproben entnommen: Stunde 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 96 und 144. Dadurch sollte die An- und Abflutung des  $\alpha$ -Tocopherols im Blut gemessen werden.

Die Zeitabstände für die Messungen wurden bereits bei anderen Untersuchungen an Schafen, Kälbern, Schweinen und Menschen gewählt, da dort gezeigt wurde, dass in

dieser Spanne mit dem An- und Abstieg des  $\alpha$ -Tocopherols im Serum zu rechnen ist (Kovac 1977; Karpinski und Hidirolou 1990; Hoppe 1991; Lauridsen *et al.* 2002).

Für die Messung des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes im Serum wurde die High-Pressure Lipid-Chromatographie (HPLC) als physikalisch-chemische Methode gewählt.

Sie ist im Vergleich zur Spektrophotometrie, Fluorometrie und Gaschromatographie sehr schnell, relativ frei von Beeinflussung durch Verunreinigungen und eine einfach anzuwendende Methode bei sehr kleinen Probenmengen (Bieri *et al.* 1979). Zudem ist sie sehr spezifisch und ausgesprochen sensitiv. Durch die Fluoreszenz-Detektion können Mengen im Nanogramm-Bereich gemessen werden. Zudem ist die Separation und quantitative Erfassung der  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Isomere des Tocopherols und eine Differenzierung zwischen  $\alpha$ -Tocopherol,  $\alpha$ -Tocopheryl-Chinonen und Tocopherol-Dimeren möglich (Machlin 1991).

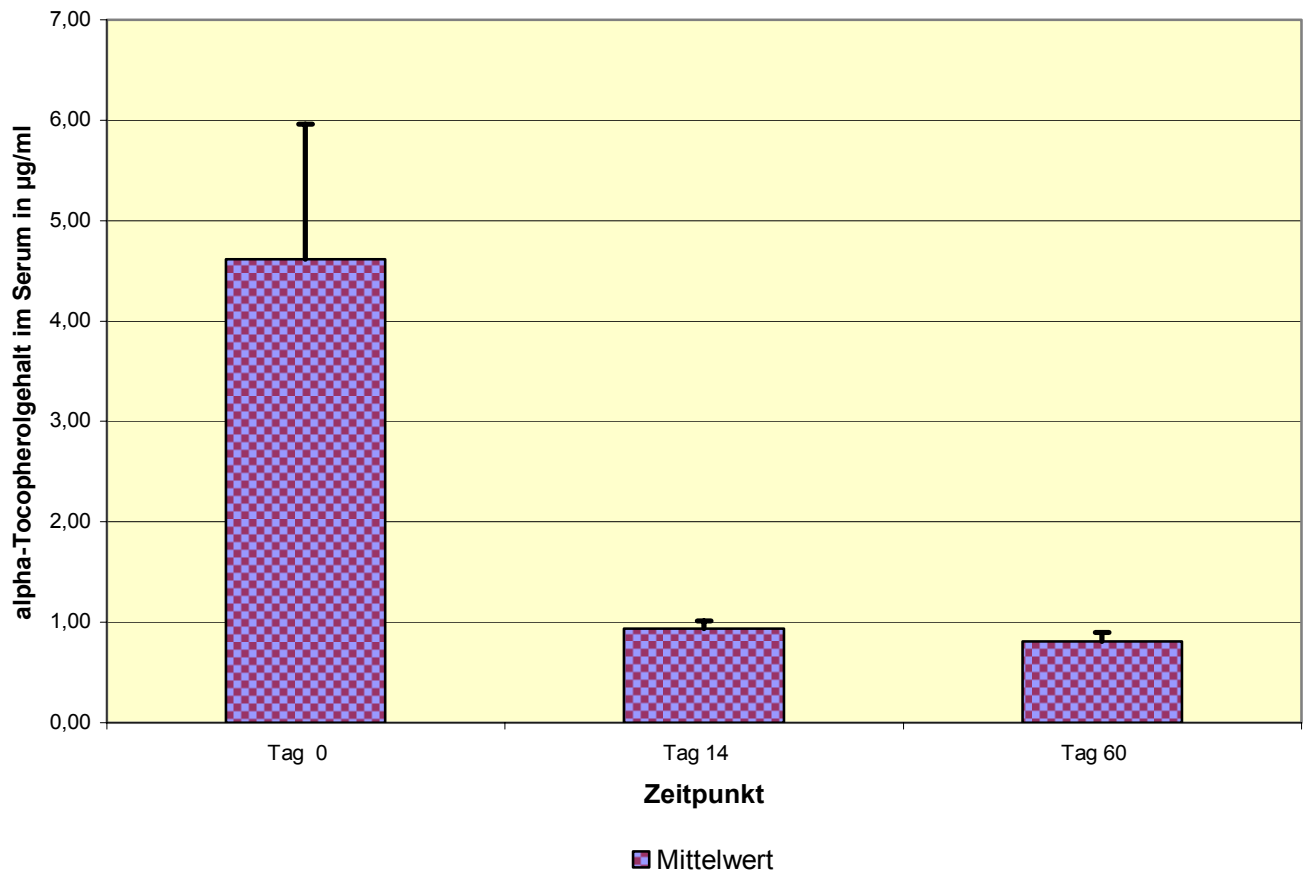
## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 Depletions-Phase

Im Verlauf der Depletionsperiode zeigten die Tiere eine Gewichtszunahme um das ca. 7-fache. Während dieses Zeitraumes wurde das Ziel erreicht, den Vitamin-E-Speicher deutlich zu leeren und den Gehalt im Blut absinken zu lassen.

Dabei war von Tag 0 bis Tag 14 ein deutlicher Abfall der Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration von 80 % zu verzeichnen. Bis zum Tag 60 sank dieser Wert dann nur noch um 2 % mehr, auf 82 % ab, was darauf schließen lässt, dass auch die mobilen Gewebespeicher zu dieser Zeit nahezu erschöpft waren.

Die Tocopherol-Verarmung ist in Abbildung 13 dargestellt.



**Abbildung 13: Verlauf des Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes in  $\mu\text{g/ml}$  während der Depletionsphase zu den Zeitpunkten Tag 0, 14 und 60**

Diese Entwicklung entsprach unseren Erwartungen, da nach 2 Wochen bereits die Hälfte des Tocopherols aus Leber und Herz abgebaut sind, während der Rest die Organe deutlich langsamer verlässt (Friedrich 1988; Machlin 1991). Dass dies bei allen Tieren nahezu vollständig abläuft, ist der geringen Standardabweichung am letzten Messzeitpunkt zu entnehmen, da sich dort die Werte der einzelnen Tiere sehr angenähert haben.

Die verbleibenden 20 % scheinen der Teil des beständigen Gewebepools zu sein, der in der Zellmembran verankert ist (Friedrich 1988).

### 5.2.2 Plasmaresponse-Versuchsphase

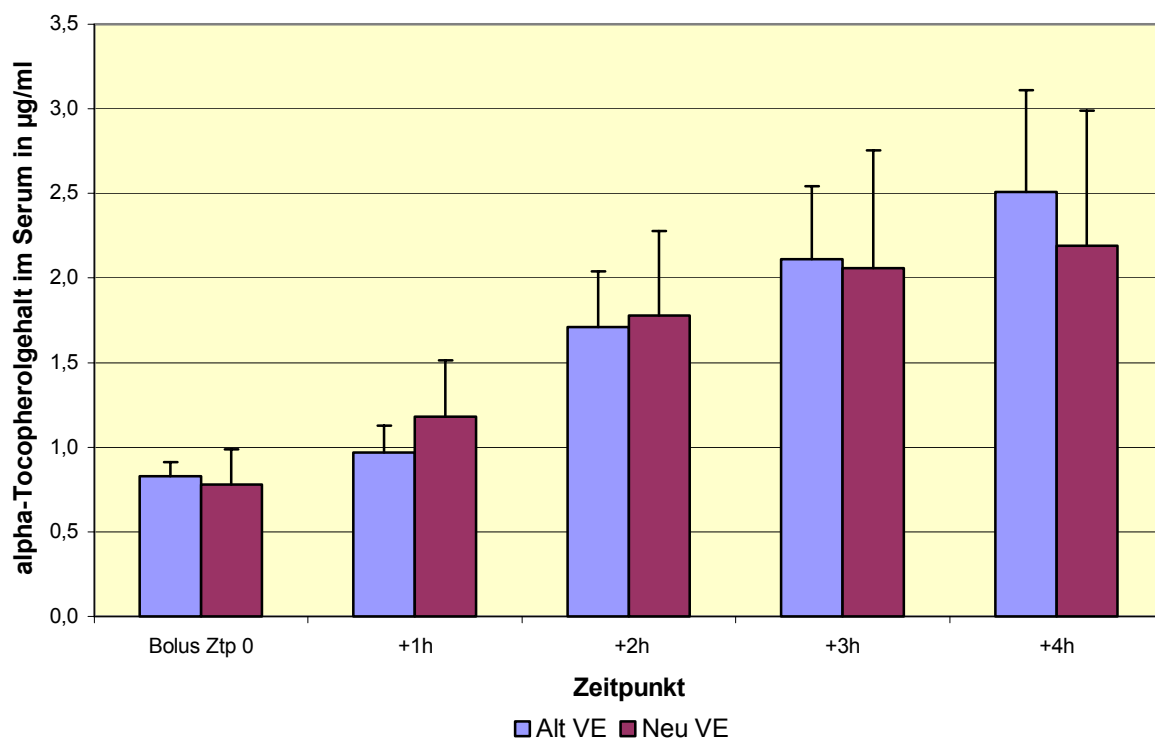
Während dieser Phase wurde die An- und Abflutung des  $\alpha$ -Tocopherol im Serum der beiden Versuchsgruppen verglichen.

## Anflutung des $\alpha$ -Tocopherols im Serum

Zu Beginn des Versuches war bei den Tieren nur noch ein Basalspiegel von  $\alpha$ -Tocopherol im Serum nachweisbar, welcher durch die Depletion zu erwarten war.

Nach dem Zeitpunkt der Einnahme müssen die  $\alpha$ -Tocopherylester - vor der Absorption in den Dünndarm - hydrolysiert werden. Danach gelangen sie in Form von Lipoproteinen über die Lamina-Propria in die Lymphe. Von dort werden sie der Zirkulation zugeführt (Cohn 1993). Erst ab diesen Zeitpunkt ist das  $\alpha$ -Tocopherol im Serum nachweisbar (Traber *et al.* 1994).

Am ersten Messzeitpunkt nach Verabreichung der jeweiligen Testsubstanz ist in beiden Gruppen ein deutlicher Anstieg im Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt festzustellen. Dieser ist während des ersten Messzeitpunktes (+1h) bei der Testgruppe Neu VE minimal höher, als in der Kontrollgruppe. Dieses Verhältnis wendet sich jedoch - ab drei Stunden post interventionem - zu Gunsten der Kontrollgruppe Alt VE. Aufgrund der starken Streuung sind diese Unterschiede aber zu keinem Zeitpunkt signifikant. (siehe Abbildung 14).



**Abbildung 14: Verlauf des Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes in  $\mu\text{g/ml}$  während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten 0 (Bolusgabe) + 1h, + 2h, + 3h und + 4h**

Der Maximalwert ist für beide Gruppen nach 4 Stunden gemessen worden. Es ist jedoch möglich, dass zwischen dem Zeitraum von 3 und 4 Stunden ein höherer Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Spiegel vorlag, der beim Messzeitpunkt + 4 h schon wieder am Absinken war. Es ist ebenso denkbar, dass dabei das Präparat Neu VE ein höheres Maximum hatte, als das Kontrollpräparat Alt VE. Der Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Peak nach 4 Stunden trifft zusammen mit dem Zeitpunkt des postprandialen Influx der Lymphe, der den Hauptweg für die Absorption des Vitamin E in öliger Form darstellt (Hoppe 1991).

Die Werte der Gruppen gegeneinander zeigten auch hier aufgrund der hohen Streuung keine signifikanten Unterschiede.

Innerhalb jeder Gruppe waren die Anstiege jedoch - im Vergleich zu Versuchsbeginn - signifikant erhöht.

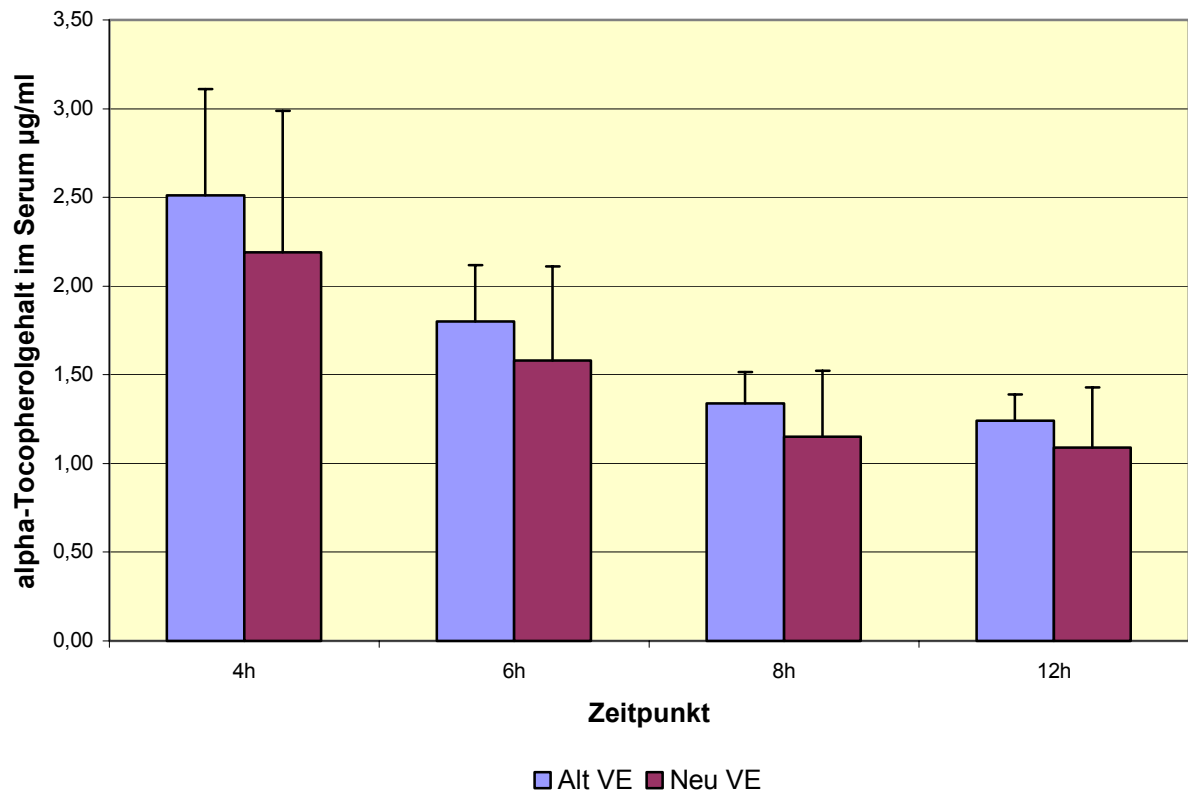
### Abflutung des $\alpha$ -Tocopherols im Serum

Da bei unserem Versuch aufgrund zu großer Schwankungen untereinander keine Signifikanz bezüglich der Höhe des Serumspiegels vorlag, besteht hier kein Unterschied in der Abflutung des  $\alpha$ -Tocopherols.

Die Abnahme des  $\alpha$ -Tocopherol-Spiegels im Serum lässt sich dadurch erklären, dass durch eine endogen gebundene Lipoprotein-Lipase (LPL) das gebundene  $\alpha$ -Tocopherol nun aus dem Blut hauptsächlich in die Leber, aber auch in das periphere Gewebe abgegeben wird (Cohn 1993).

Ein schnelleres Absinken lässt möglicherweise auf eine verbesserte Aufnahme ins Gewebe schließen, da auch einer Exkretion über die Niere eine Seitenkettendegeneration in der Leber vorangeht (Birringer *et al.* 2001; Birringer *et al.* 2002).

Die Verarmung des Serums an  $\alpha$ -Tocopherol ist in Abbildung 15 dargestellt.



**Abbildung 15: Verlauf des Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes in  $\mu\text{g/ml}$  während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten: + 4h, + 6h, + 8h, + 12h,**

Hoppe und Krämer nennen die Serum-steady-state-Konzentration als Maß für die Bioverfügbarkeit (Hoppe und Kraemer 2002). Da beim vorliegenden Versuch keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Schnelligkeit des Anstiegs und der maximalen Konzentration oder Dauer des Aufenthalts im Serum bestehen, können die beiden Präparate als bioäquivalent bezeichnet werden. Somit ist es möglich, das herkömmliche Vitamin-E-Präparat, welches eine Gelatinematrix enthält, durch die neue Zubereitungsform ohne tierische Zusatzstoffe zu ersetzen. Es konnten dabei keine Verluste hinsichtlich der Bioverfügbarkeit festgestellt werden.

## **6. Zusammenfassung**

---

In der vorliegenden Studie sollte die Bioverfügbarkeit eines herkömmlichen, in der Schweinefütterung eingesetzten Vitamin-E-Präparates, basierend auf einer Gelatine-Matrix, mit einem Präparat verglichen werden, bei dem auf Zusatzstoffe tierischer Herkunft verzichtet wurde.

Zu diesem Zweck wurden 14 Ferkel der Rasse Piétrain x Deutsche Landrasse nach dem Absetzen im Alter von 4 Wochen über 60 Tage mit einer Vitamin-E-reduzierten Diät depletiert. Während dieses Zeitraums wurden Serumsproben genommen, um den Rückgang des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes zu überprüfen.

Nach Abschluss der Depletionsphase wurden die Schweine in zwei Versuchsgruppen aufgeteilt. Den Schweinen der Kontrollgruppe wurden jeweils 3 I.E.  $\alpha$ -Tocopherol/kg KM des herkömmlichen Vitamin-E-Präparates mit Gelatine-Matrix verabreicht. Die Schweine der Testgruppe erhielten 3 I.E.  $\alpha$ -Tocopherol/kg KM der neuen Substanz, welche frei von Zusatzstoffen tierischer Herkunft ist. Beiden Gruppen wurde das Vitamin-Präparat als einmaliger oraler Bolus eingegeben.

Im Anschluss daran wurde über einen Zeitraum von 144 Stunden durch wiederholte Blutentnahmen die An- und Abflutung des  $\alpha$ -Tocopherols im Serum untersucht.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Die Abnahme des  $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes im Serum während der Depletionsphase um ca. 80 % verlief bei allen Schweinen in vergleichbarer Geschwindigkeit und war am Tag 14 bereits nahe dem Minimalwert angelangt.
- Beide Gruppen unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich des Verlaufs der  $\alpha$ -Tocopherol-An- und Abflutung im Serum.

Der Maximalwert wurde jeweils nach 4 Stunden erreicht und war um das dreifache höher als der Ausgangswert vor der Vitamin-E-Verabreichung.

In dem vorliegenden Versuch wurde nachgewiesen, dass sich der Verzicht auf Zusatzstoffe tierischer Herkunft bei der Vitamin-E-Supplementierung nicht negativ auf die Bioverfügbarkeit der Substanz auswirkt.



Gelatine wird auch heute noch in der öffentlichen Meinung von manchen als eine mögliche Gefahrenquelle für die Übertragung von TSE auf das Schwein angesehen. Die Angst des Endverbrauchers, sich möglicherweise über diese Zwischenstufe mit BSE bzw. der Creutzfeld-Jakob-Krankheit zu infizieren, könnte durch den Verzicht auf Zusatzstoffe tierischer Herkunft - und damit auch auf Gelatine - ausgeräumt werden.

## 7. Summary

---

Juliane Lang

### **Effect of the matrix composition of Vitamin E on bioavailability in growing pigs**

The purpose of the present study was to compare the bioavailability of a conventional, gelatine-matrix-based Vitamin E preparation used for feeding pigs with a preparation from which additives of animal origin had been omitted.

To this end, 14 piglets of the Piétrain x German Landrace breed, after weaning at the age of 4 weeks, underwent vitamin depletion with a Vitamin-E-reduced diet for a period of 60 days. During this period, serum samples were taken to check the fall in the  $\alpha$ -tocopherol level.

At the end of the depletion phase, the pigs were divided into two test groups. The pigs of the control group were each administered 3 IU  $\alpha$ -tocopherol/kg BM of the conventional Vitamin E preparation with the gelatine matrix. The pigs of the test group were given 3 IU  $\alpha$ -tocopherol/kg BM of the new substance, which is free of additives of animal origin. Both groups were given the vitamin preparation in a single oral bolus.

After this, over a period of 144 hours, the increase and decrease of the  $\alpha$ -tocopherol in the serum was investigated with repeatedly taken blood samples.

The results can be summarized as follows:

- The roughly 80% decrease in the  $\alpha$ -tocopherol level in the serum during the depletion phase took place at about a comparable rate in all the pigs and was already close to the minimal value on day 14.
- There was no significant difference between the two groups in terms of  $\alpha$ -tocopherol increase and decrease in the serum.

The maximal value was reached after 4 hours in each case and was three times higher than the initial value before administration of the Vitamin E.

The present test has verified that the omission of additives of animal origin in Vitamin E supplementation has no negative effect on the substance's bioavailability.

In the general public, gelatine is today still held by some to be a possible source of risk for the transmission of TSE to pigs. The end consumer's fear of a possible infection with BSE or Creutzfeld-Jakob disease via this intermediate stage could be countered by the omission of additives of animal origin – thus including gelatine.

---

## 8. Literaturverzeichnis

---

- A.W.T.** (1984). "Vitamins in animal nutrition". Bonn, Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung.
- Acuff, R. V., R. G. Dunworth, L. W. Webb and J. R. Lane** (1998). "Transport of deuterium-labeled tocopherols during pregnancy." Am J Clin Nutr 67(3): 459-64.
- Acuff, R. V., S. S. Thedford, N. N. Hidioglou, A. M. Papas and T. A. Odom, Jr.** (1994). "Relative bioavailability of RRR- and all-rac-alpha-tocopheryl acetate in humans: studies using deuterated compounds." Am J Clin Nutr 60(3): 397-402.
- Adamstone, F. B., J. L. Krider and M. F. James** (1949). "Response of swine to vitamin-E-deficient rations." Annals of the New York Academy of Sciences 52(3): 260-8.
- Agarwal, A., S. Gupta and R. K. Sharma** (2005). "Role of oxidative stress in female reproduction." Reprod Biol Endocrinol 3: 28.
- Ames, S. R., M. I. Ludwig, D. R. Nelan and C. D. Robeson** (1963). "Biological activity of an l-epimer of d-alpha-tocopheryl acetate." Biochemistry 2: 188-90.
- Aratri, E., S. E. Spycher, I. Breyer and A. Azzi** (1999). "Modulation of alpha-tropomyosin expression by alpha-tocopherol in rat vascular smooth muscle cells." FEBS Lett 447(1): 91-4.
- Arita, M., K. Nomura, H. Arai and K. Inoue** (1997). "alpha-tocopherol transfer protein stimulates the secretion of alpha-tocopherol from a cultured liver cell line through a brefeldin A-insensitive pathway." Proc Natl Acad Sci U S A 94(23): 12437-41.
- Armstrong, J. S., M. Rajasekaran, W. Chamulitrat, P. Gatti, W. J. Hellstrom and S. C. Sikka** (1999). "Characterization of reactive oxygen species induced effects on human spermatozoa movement and energy metabolism - Protective role of vitamin E." Free Radical Biology and Medicine, 26(7): 869-80.

- Aten, R. F., T. R. Kolodecik and H. R. Behrman** (1994). "Ovarian vitamin E accumulation: evidence for a role of lipoproteins." *Endocrinology* 135(2): 533-9.
- Azzi, A., D. Boscoboinik, A. Fazio, D. Marilley, P. Maroni, N. K. Ozer, S. Spycher and A. Tasinato** (1998). "RRR-alpha-tocopherol regulation of gene transcription in response to the cell oxidant status." *Z Ernährungswiss* 37 Suppl 1: 21-8.
- Azzi, A., R. Gysin, P. Kempna, A. Munteanu, Y. Negis, L. Villacorta, T. Visarius and J. M. Zingg** (2004). "Vitamin E mediates cell signaling and regulation of gene expression." *Ann N Y Acad Sci* 1031: 86-95.
- Azzi, A., R. Gysin, P. Kempna, A. Munteanu, L. Villacorta, T. Visarius and J. M. Zingg** (2004). "Regulation of gene expression by alpha-tocopherol." *Biol Chem* 385(7): 585-91.
- Balazs, Z., U. Panzenboeck, A. Hammer, A. Sovic, O. Quehenberger, E. Malle and W. Sattler** (2004). "Uptake and transport of high-density lipoprotein (HDL) and HDL-associated alpha-tocopherol by an in vitro blood-brain barrier model." *J Neurochem* 89(4): 939-50.
- Barrach, A. L., E. Allchorne and H. E. Glynn** (1937). "Investigation into the method of estimating vitamin E." *The Biochemical Journal* 31(2): 2287-92.
- Barrie, M. M. O.** (1938). "Vitamin E deficiency in rat." *The Biochemical Journal* 32(2): 2134-7.
- Behrens, W. A. and R. Madere** (1991). "Tissue discrimination between dietary RRR-alpha- and all-rac-alpha-tocopherols in rats." *J Nutr* 121(4): 454-9.
- Bendich, A. and L. J. Machlin** (1988). "Safety of oral intake of vitamin E." *Am J Clin Nutr* 48(3): 612-9.
- Bieri, J. G.** (1972). "Kinetics of tissue -tocopherol depletion and repletion." *Ann N Y Acad Sci* 203: 181-91.

- Bieri, J. G., T. J. Tolliver and G. L. Catignani** (1979). "Simultaneous determination of alpha-tocopherol and retinol in plasma or red-cells by high-pressure liquid-chromatography." Am J Clin Nutr 32(10): 2143-9.
- Birringer, M., D. Drozan and R. Brigelius-Flohe** (2001). "Tocopherols are metabolized in HepG2 cells by side chain omega-oxidation and consecutive beta-oxidation." Free Radic Biol Med 31(2): 226-32.
- Birringer, M., P. Pfluger, D. Kluth, N. Landes and R. Brigelius-Flohe** (2002). "Identities and differences in the metabolism of tocotrienols and tocopherols in HepG2 cells." J Nutr 132(10): 3113-8.
- Blakely, S. R., G. V. Mitchell, M. Y. Jenkins, E. Grundel and P. Whittaker** (1991). "Canthaxanthin and excess vitamin A alter alpha-tocopherol, carotenoid and iron status in adult rats." J Nutr 121(10): 1649-55.
- Blatt, D. H., S. W. Leonard and M. G. Traber** (2001). "Vitamin E kinetics and the function of tocopherol regulatory proteins." Nutrition 17(10): 799-805.
- Blatt, D. H., W. A. Pryor, J. E. Mata and R. Rodriguez-Proteau** (2004). "Re-evaluation of the relative potency of synthetic and natural alpha-tocopherol: experimental and clinical observations." J Nutr Biochem 15(7): 380-95.
- Block, G., B. Patterson and A. Subar** (1992). "Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence." Nutr Cancer 18(1): 1-29.
- Booth, S. L., I. Golly, J. M. Satchek, R. Roubenoff, G. E. Dallal, K. Hamada and J. B. Blumberg** (2004). "Effect of vitamin E supplementation on vitamin K status in adults with normal coagulation status." Am J Clin Nutr 80(1): 143-8.
- Bourre, J. M. and M. Clement** (1991). "Kinetics of rat peripheral nerve, forebrain and cerebellum alpha-tocopherol depletion: comparison with different organs." J Nutr 121(8): 1204-7.
- Bramley, P. M., I. Elmadfa, A. Kafatos, F. J. Kelly, Y. Manios, H. E. Roxborough, W. Schuch, P. J. A. Sheehy and K. H. Wagner** (2000). "Vitamin E." J Sci Food Agric 80(7): 913-38.

- Breyer, I. and A. Azzi** (2001). "Differential inhibition by alpha- and beta-tocopherol of human erythroleukemia cell adhesion: role of integrins." Free Radic Biol Med 30(12): 1381-9.
- Brigelius-Flohe, R., F. J. Kelly, J. T. Salonen, J. Neuzil, J. M. Zingg and A. Azzi** (2002). "The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research." Am J Clin Nutr 76(4): 703-16.
- Brigelius-Flohe, R. and M. G. Traber** (1999). "Vitamin E: function and metabolism." Faseb Journal 13(10): 1145-55.
- Burton, G. W. and K. U. Ingold** (1981). "Autoxidation of biological molecules .1. The antioxidant activity of vitamin-E and related chain-breaking phenolic antioxidants Invitro." J. Am. Chem. Soc. 103(21): 6472-7.
- Burton, G. W., M. G. Traber, R. V. Acuff, D. N. Walters, H. Kayden, L. Hughes and K. U. Ingold** (1998). "Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E." Am J Clin Nutr 67(4): 669-84.
- Burton, G. W., U. Wronska, L. Stone, D. O. Foster and K. U. Ingold** (1990). "Biokinetics of dietary RRR-alpha-tocopherol in the male guinea pig at three dietary levels of vitamin C and two levels of vitamin E. Evidence that vitamin C does not "spare" vitamin E in vivo." Lipids 25(4): 199-210.
- Carey, M. C. and D. M. Small** (1970). "Characteristics of mixed micellar solutions with particular reference to bile." Am J Med 49(5): 590-608.
- Chen, L. H., M. S. Lee, W. F. Hsing and S. H. Chen** (1980). "Effect of vitamin C on tissue antioxidant status of vitamin E deficient rats." Int J Vitam Nutr Res 50(2): 156-62.
- Chojkier, M., K. Houglum, K. S. Lee and M. Buck** (1998). "Long- and short-term D-alpha-tocopherol supplementation inhibits liver collagen alpha1(I) gene expression." Am J Physiol 275(6 Pt 1): G1480-5.
- Chung, Y. K., D. C. Mahan and A. J. Lepine** (1992). "Efficacy of dietary D-alpha-tocopherol and DL-alpha-tocopheryl acetate for weanling pigs." J Anim Sci 70(8): 2485-92.

- Cohn, W.** (1993). "Tocopherol Transport und Absorption" Vitamine und weitere Zusatzstoffe bei Mensch und Tier. Jena, Schubert, R. Flachowsky, G. Bitsch, R. 4: 71-82.
- Cohn, W.** (1999). "Evaluation of vitamin E potency." Am J Clin Nutr 69(1): 156-8.
- Cohn, W., P. Gross, H. Grun, F. Loechleiter, D. P. Muller and M. Zulauf** (1992). "Tocopherol transport and absorption." Proc Nutr Soc 51(2): 179-88.
- Cooper, A. D.** (1997). "Hepatic uptake of chylomicron remnants." J Lipid Res 38(11): 2173-92.
- Copp, R. P., T. Wisniewski, F. Hentati, A. Larnaout, M. Ben Hamida and H. J. Kayden** (1999). "Localization of alpha-tocopherol transfer protein in the brains of patients with ataxia with vitamin E deficiency and other oxidative stress related neurodegenerative disorders." Brain Res 822(1-2): 80-7.
- Czyba, J. C.** (1966). "Testicular atrophy in vitamin E treated hamsters." C R Seances Soc Biol Fil 160(4): 765-8.
- Desrumaux, C., V. Deckert, A. Athias, D. Masson, G. Lizard, V. Palleau, P. Gambert and L. Lagrost** (1999). "Plasma phospholipid transfer protein prevents vascular endothelium dysfunction by delivering alpha-tocopherol to endothelial cells." Faseb J 13(8): 883-92.
- Devaraj, S. and I. Jialal** (1999). "Alpha-tocopherol decreases interleukin-1 beta release from activated human monocytes by inhibition of 5-lipoxygenase." Arterioscler Thromb Vasc Biol 19(4): 1125-33.
- Dowd, P. and Z. B. Zheng** (1995). "On the mechanism of the anticlotting action of vitamin E quinone." Proc Natl Acad Sci U S A 92(18): 8171-5.
- Draper, H. H., J. G. Bergan, M. Chiu, A. S. Csallany and A. V. Boaro** (1964). "A further study of the specificity of the vitamin E requirement for reproduction." J Nutr 84: 395-400.
- Drevon, C. A.** (1991). "Absorption, transport and metabolism of vitamin E." Free Radic Res Commun 14(4): 229-46.



- Ekatodramis, G. and A. Borgeat** (2001). "The enantiomers: revolution or evolution." *Curr Top Med Chem* 1(3): 205-6.
- Elmadfa, I. and K. H. Wagner** (1997). "Vitamin E and stability of vegetable oils." *Fett-Lipid* 99(7): 234-8.
- Eugster, P. D. p. C. H.** (1972). "Das Portrait: Paul Karrer 1889-1971." *Chemie in unserer Zeit* 6(5): 147-53.
- Evans, H. M. and B. K. S. Bishop** (1922). "Fetal resorption." *Science* 55: 650-2.
- Evans, H. M., O. H. Emerson and G. H. Emerson** (1936). "The isolation from wheat germ oil of an alcohol,  $\alpha$ -tocopherol, having the properties of vitamin E." *J Biol Chem* 113: 319-32.
- FASEB** (1975). Evaluation of the health aspect of tocopherols and alpha-tocopheryl acetate as food ingredients. Washington, DC, Federation of American Societies for Experimental Biology.
- Fazio, A., D. Marilley and A. Azzi** (1997). "The effect of alpha-tocopherol and beta-tocopherol on proliferation, protein kinase C activity and gene expression in different cell lines." *Biochem Mol Biol Int* 41(1): 93-101.
- Fechner, H., M. Schlame, F. Guthmann, P. A. Stevens and B. Rustow** (1998). "alpha- and delta-tocopherol induce expression of hepatic alpha-tocopherol-transfer-protein mRNA." *Biochem J* 331 ( Pt 2): 577-81.
- Frank, J., H. Weiser and H. K. Biesalski** (1997). "Interaction of vitamins E and K: effect of high dietary vitamin E on phyloquinone activity in chicks." *Int J Vitam Nutr Res* 67(4): 242-7.
- Friedrich, W.** (1988). Vitamins. Berlin; New York, Walter de Gruyter, Inc.
- Friesecke, H.** (1988). Handbuch der praktischen Fütterung. München, Verlagsunion Agrar, BLV-Verlagsgesellschaft.

- Ges.f.Ernähr.-Phys.** (1987). Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung für Schweine. Frankfurt, DLG-Verlag.
- Goss-Sampson, M. A., C. J. MacEvilly and D. P. Muller** (1988). "Longitudinal studies of the neurobiology of vitamin E and other antioxidant systems, and neurological function in the vitamin E deficient rat." J Neurol Sci 87(1): 25-35.
- Gristwood, R. W.** (2002). "Cardiac and CNS toxicity of levobupivacaine: strengths of evidence for advantage over bupivacaine." Drug Saf 25(3): 153-63.
- Gwynne, J. T. and B. Hess** (1980). "The role of high density lipoproteins in rat adrenal cholesterol metabolism and steroidogenesis." J Biol Chem 255(22): 10875-83.
- Hacquebard, M. and Y. A. Carpentier** (2005). "Vitamin E: absorption, plasma transport and cell uptake." Curr Opin Clin Nutr Metab Care 8(2): 133-8.
- Hale, T. W., K. Rais-Bahrami, D. L. Montgomery, C. Harkey and R. W. Habersang** (1995). "Vitamin E toxicity in neonatal piglets." J Toxicol Clin Toxicol 33(2): 123-30.
- Handelman, G. J., L. J. Machlin, K. Fitch, J. J. Weiter and E. A. Dratz** (1985). "Oral alpha-tocopherol supplements decrease plasma gamma-tocopherol levels in humans." J Nutr 115(6): 807-13.
- Hollander, D.** (1981). "Intestinal absorption of vitamins A, E, D, and K." J Lab Clin Med 97(4): 449-62.
- Hoppe, P. P.** (1991). "Comparison of plasma alpha- and gamma-tocopherols after oral and intramuscular administration of RRR-alpha-tocopherol or RRR-gamma-tocopherol to weanling pigs." Int J Vitam Nutr Res 61(2): 114-9.
- Hoppe, P. P. and K. Kraemer** (2002). "Bioavailability and biopotencia of vitamin E in humans an ongoing controversy." The antioxidant vitamins C and E. B. Frei. Champaign, Illinois, AOCS Press. 1.

- Hoppe, P. P. and G. Krennrich** (2000). "Bioavailability and potency of natural-source and all-racemic alpha-tocopherol in the human: a dispute." Eur J Nutr 39(5): 183-93.
- Hoppe, P. P., F. J. Schoner and M. Frigg** (1992). "Effects of dietary retinol on hepatic retinol storage and on plasma and tissue alpha-tocopherol in pigs." Int J Vitam Nutr Res 62(2): 121-9.
- Hosomi, A., M. Arita, Y. Sato, C. Kiyose, T. Ueda, O. Igarashi, H. Arai and K. Inoue** (1997). "Affinity for alpha-tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs." FEBS Lett 409(1): 105-8.
- Hosomi, A., K. Goto, H. Kondo, T. Iwatsubo, T. Yokota, M. Ogawa, M. Arita, J. Aoki, H. Arai and K. Inoue** (1998). "Localization of alpha-tocopherol transfer protein in rat brain." Neurosci Lett 256(3): 159-62.
- Huuskonen, J. and C. Ehnholm** (2000). "Phospholipid transfer protein in lipid metabolism." Curr Opin Lipidol 11(3): 285-9.
- Ingold, K. U., G. W. Burton, D. O. Foster, L. Hughes, D. A. Lindsay and A. Webb** (1987). "Biokinetics of and discrimination between dietary RRR- and SRR-alpha-tocopherols in the male rat." Lipids 22(3): 163-72.
- Jensen, M., J. Hakkarainen, A. Lindholm and L. Jonsson** (1988). "Vitamin E requirement of growing swine." J Anim Sci 66(12): 3101-11.
- Jiang, Q., I. Elson-Schwab, C. Courtemanche and B. N. Ames** (2000). "gamma-tocopherol and its major metabolite, in contrast to alpha-tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells." Proc Natl Acad Sci U S A 97(21): 11494-9.
- Jishage, K., M. Arita, K. Igarashi, T. Iwata, M. Watanabe, M. Ogawa, O. Ueda, N. Kamada, K. Inoue, H. Arai and H. Suzuki** (2001). "Alpha-tocopherol transfer protein is important for the normal development of placental labyrinthine trophoblasts in mice." J Biol Chem 276(3): 1669-72.
- Jucker, E.** (1959). "The development of the chemistry of carotinoides - dedicated to Karrer, Paul on his 70th birthday." Angewandte Chemie-International Edition 71(8): 253-9.

- Kaempf-Rotzoll, D. E., M. Horiguchi, K. Hashiguchi, J. Aoki, H. Tamai, O. Linderkamp and H. Arai** (2003). "Human placental trophoblast cells express alpha-tocopherol transfer protein." *Placenta* 24(5): 439-44.
- Kaempf-Rotzoll, D. E., K. Igarashi, J. Aoki, K. Jishage, H. Suzuki, H. Tamai, O. Linderkamp and H. Arai** (2002). "Alpha-tocopherol transfer protein is specifically localized at the implantation site of pregnant mouse uterus." *Biol Reprod* 67(2): 599-604.
- Kaempf-Rotzoll, D. E., M. G. Traber and H. Arai** (2003). "Vitamin E and transfer proteins." *Curr Opin Lipidol* 14(3): 249-54.
- Kamphues, J., E. Kienzle, O. Simon, M. Coenen, J. Pallauf and J. Zentek** (2004). Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung. Alfeld-Hannover, M.&H. Scharper.
- Karpinski, K. and M. Hidiroglou** (1990). "Monitoring vitamin E pools in sheep tissue and plasma after intravenous dosing of radiotocopherol." *Br J Nutr* 63(2): 375-86.
- Kemény, M.** (2002). "Wirkmechanistische Untersuchungen zur Beeinflussung zellulärer Signalübertragungswege durch substituierte Pteridine." Chemie. Kaiserslautern, Technische Universität Kaiserslautern.
- Kempna, P., J. M. Zingg, R. Ricciarelli, M. Hierl, S. Saxena and A. Azzi** (2003). "Cloning of novel human SEC14p-like proteins: ligand binding and functional properties." *Free Radic Biol Med* 34(11): 1458-72.
- Kirchgeßner, m.** (2004). Tierernährung. Frankfurt am Main, DLG Verlag.
- Kiyose, C., R. Muramatsu, Y. Kameyama, T. Ueda and O. Igarashi** (1997). "Biodiscrimination of alpha-tocopherol stereoisomers in humans after oral administration." *Am J Clin Nutr* 65(3): 785-9.
- Kiyose, C., H. Saito, K. Kaneko, K. Hamamura, M. Tomioka, T. Ueda and O. Igarashi** (2001). "Alpha-tocopherol affects the urinary and biliary excretion of 2,7,8-trimethyl-2 (2'-carboxyethyl)-6-hydroxychroman, gamma-tocopherol metabolite, in rats." *Lipids* 36(5): 467-72.

- Kolb, E.** (1980). Vitamin Compendium. "Die Eigenschaften der Vitamine und ihre Bedeutung für die Ernährung von Mensch und Tier". Grenzach, Fa. Hoffmann-La Roche.
- Kolb, E. and U. Hofmann** (1988). "Zur Frage der zweckmäßigen Form der Anwendung von Fe-Dextran, seiner Verwertung sowie des Mechanismus einer möglichen Schädigung der Ferkel." Mh Vet Med 44: 497-501.
- Kolleck, I., M. Schlame, H. Fechner, A. C. Looman, H. Wissel and B. Rustow** (1999). "HDL is the major source of vitamin E for type II pneumocytes." Free Radic Biol Med 27(7-8): 882-90.
- König, J. and I. Elmadfa** (1995). "Vitamin E: Bioverfügbarkeit und Bedarf." Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. Jena, Schubert, R.Flachowsky, G. Bitsch, R. **5**: 111-22.
- Kostner, G. M., K. Oettl, M. Jauhiainen, C. Ehnholm, H. Esterbauer and H. Dieplinger** (1995). "Human plasma phospholipid transfer protein accelerates exchange/transfer of alpha-tocopherol between lipoproteins and cells." Biochem J 305 ( Pt 2): 659-67.
- Kovac, G.** (1977). "Vitamin E serum levels in calves after various methods of administration." Vet Med (Praha) 22(6): 327-32.
- Kuhns, R. V. and G. H. Arscot** (1969). "Effect of varying levels of ethoxyquin and vitamin E on reproduction in white leghorn males fed diets high in linoleic acid." Poultry Sci. 48: 1646 – 51.
- Lane, R. M. and G. B. Baker** (1999). "Chirality and drugs used in psychiatry: nice to know or need to know?" Cell Mol Neurobiol 19(3): 355-72.
- Lauridsen, C.** (2003). "Vitamin E Status in Ferkeln vor und nach dem Absetzen." DÄNEMARK - EXKURSION des GRK 820 Natürliche Antioxidantien -ihr Wirkungsspektrum in Pflanzen, Lebensmitteln, Tier und Mensch, Dänemark.
- Lauridsen, C., H. Engel, A. M. Craig and M. G. Traber** (2002). "Relative bioactivity of dietary RRR- and all-rac-alpha-tocopheryl acetates in swine assessed with deuterium-labeled vitamin E." J Anim Sci 80(3): 702-7.

- Lauridsen, C., H. Engel, S. K. Jensen, A. M. Craig and M. G. Traber** (2002). "Lactating sows and suckling piglets preferentially incorporate RRR- over all-rac-alpha-tocopherol into milk, plasma and tissues." J Nutr 132(6): 1258-64.
- Lauridsen, C., M. S. Hedemann and S. K. Jensen** (2001). "Hydrolysis of tocopheryl and retinyl esters by porcine carboxyl ester hydrolase is affected by their carboxylate moiety and bile acids." J Nutr Biochem 12(4): 219-24.
- Leonard, S. W., C. K. Good, E. T. Gugger and M. G. Traber** (2004). "Vitamin E bioavailability from fortified breakfast cereal is greater than that from encapsulated supplements." Am J Clin Nutr 79(1): 86-92.
- Leth, T. and H. Sondergaard** (1977). "Biological activity of vitamin E compounds and natural materials by the resorption-gestation test, and chemical determination of the vitamin E activity in foods and feeds." J Nutr 107(12): 2236-43.
- Lodge, J. K., J. Ridlington, S. Leonard, H. Vaule and M. G. Traber** (2001). "Alpha- and gamma-tocotrienols are metabolized to carboxyethyl-hydroxychroman derivatives and excreted in human urine." Lipids 36(1): 43-8.
- Löffler, P.** (1997). Biochemie und Pathobiochemie. Berlin, Heidelberg, New York, Springer.
- Machlin, L. J.** (1991). Handbook of vitamins. New York, Marcel Dekker Inc.
- Machlin, L. J.** (1991). Vitamin E. New York/USA, Dekker Inc.
- Machlin, L. J., J. Keating, J. Nelson, M. Brin, R. Filipowski and O. N. Miller** (1979). "Availability of adipose tissue tocopherol in the guinea pig." J Nutr 109(1): 105-9.
- Mahan, D. C.** (1991). "Assesment of the influence of dietary vitamin E on sow and offspring in three parties: reproductive peformance, tissues tocopherol and effect on pregnancy." J Anim Sci 69: 2904-17.
- Mahoney, C. W. and A. Azzi** (1988). "Vitamin E inhibits protein kinase C activity." Biochem Biophys Res Commun 154(2): 694-7.

- Malm, A., W. G. Pond, E. F. Walker, M. Homan, A. Aydin and D. Kirtland (1976).** "Effect of polyunsaturated fatty-acids and vitamin-E level of sow gestation diet on reproductive-performance and on level of alpha-tocopherol in colostrum, milk and dam progeny blood serum." J Anim Sci 42(2): 393-9.
- Mardones, P. and A. Rigotti (2004).** "Cellular mechanisms of vitamin E uptake: relevance in alpha-tocopherol metabolism and potential implications for disease." J Nutr Biochem 15(5): 252-60.
- Mardones, P., P. Strobel, S. Miranda, F. Leighton, V. Quinones, L. Amigo, J. Rozowski, M. Krieger and A. Rigotti (2002).** "Alpha-tocopherol metabolism is abnormal in scavenger receptor class B type I (SR-BI)-deficient mice." J Nutr 132(3): 443-9.
- Marilley, D., G. Mosieniak, D. Boscoboinik and A. Azzi (1996).** "Correlation between human vascular smooth muscle cell proliferation and protein kinase C alpha-expression: effect of d-alpha-tocopherol." Biochem Mol Biol Int 40(4): 699-707.
- Mascagni, P., V. Sabbatini, L. Biordi, S. Martinotti, M. Allegretti, A. Marullo, G. Caselli and R. Bertini (2000).** "R- and S-isomers of nonsteroidal anti-inflammatory drugs differentially regulate cytokine production." Eur Cytokine Netw 11(2): 185-92.
- Mathias, P. M., J. T. Harries, T. J. Peters and D. P. Muller (1981).** "Studies on the in vivo absorption of micellar solutions of tocopherol and tocopheryl acetate in the rat: demonstration and partial characterization of a mucosal esterase localized to the endoplasmic reticulum of the enterocyte." J Lipid Res 22(5): 829-37.
- Mehvar, R. and F. Jamali (1997).** "Bioequivalence of chiral drugs. Stereospecific versus non-stereospecific methods." Clin Pharmacokinet 33(2): 122-41.
- Meyer, W. R., D. C. Mahan and A. L. Moxon (1981).** "Value of dietary selenium and vitamin-E for weanling swine as measured by performance and tissue selenium and glutathione-peroxidase activities." J Anim Sci 52(2): 302-11.

- Moreira, I. and D. C. Mahan** (2002). "Effect of dietary levels of vitamin E (all-rac-tocopheryl acetate) with or without added fat on weanling pig performance and tissue alpha-tocopherol concentration." J Anim Sci 80(3): 663-9.
- Muller, D. P., J. A. Manning, P. M. Mathias and J. T. Harries** (1976). "Studies on the intestinal hydrolysis of tocopheryl esters." Int J Vitam Nutr Res 46(2): 207-10.
- N.R.C. and N. R. c. (US)** (1998). "Nutrition requirements of swine". Washington, D. C., National Academy Press.
- Nakamura, T., Y. Aoyama, T. Fujita and G. Katsui** (1975). "Studies on tocopherol derivatives: V. Intestinal absorption of several d,1-3,4-3H<sup>2</sup>-alpha-tocopheryl esters in the rat." Lipids 10(10): 627-33.
- Nau, C. and G. R. Strichartz** (2002). "Drug chirality in anesthesia." Anesthesiology 97(2): 497-502.
- Niki, E.** (1987). "Antioxidants in relation to lipid peroxidation." Chem Phys Lipids 44(2-4): 227-53.
- Niki, E., A. Kawakami, M. Saito, Y. Yamamoto, J. Tsuchiya and Y. Kamiya** (1985). "Effect of phytol side chain of vitamin E on its antioxidant activity." J Biol Chem 260(4): 2191-6.
- Niki, E. and N. Noguchi** (2004). "Dynamics of antioxidant action of vitamin E." Acc Chem Res 37(1): 45-51.
- Pfluger, P., D. Kluth, N. Landes, C. Bumke-Vogt and R. Brigelius-Flohe** (2004). "Vitamin E: underestimated as an antioxidant." Redox Rep 9(5): 249-54.
- Pope, S. A., G. E. Burtin, P. T. Clayton, D. J. Madge and D. P. Muller** (2002). "Synthesis and analysis of conjugates of the major vitamin E metabolite, alpha-CEHC." Free Radic Biol Med 33(6): 807-17.
- Pryor, W. A.** (1995). "The forms of vitamin E: natural source vitamin E." Pryor, W.A. (Ed.): Vitamin E & Carotenoid Abstracts, Studies of lipid-soluble antioxidants. Illinois, USA, Veris, LaGrange. VII.



- Ricciarelli, R., P. Maroni, N. Ozer, J. M. Zingg and A. Azzi** (1999). "Age-dependent increase of collagenase expression can be reduced by alpha-tocopherol via protein kinase C inhibition." *Free Radic Biol Med* 27(7-8): 729-37.
- Ricciarelli, R., J. M. Zingg and A. Azzi** (2000). "Vitamin E reduces the uptake of oxidized LDL by inhibiting CD36 scavenger receptor expression in cultured aortic smooth muscle cells." *Circulation* 102(1): 82-7.
- Rietjens, I., M. G. Boersma, L. de Haan, B. Spenkelink, H. M. Awad, N. H. P. Cnubben, J. J. van Zanden, H. van der Woude, G. M. Alink and J. H. Koeman** (2002). "The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids." *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 11(3-4): 321-33.
- Roneus, B. O., R. V. Hakkarainen, C. A. Lindholm and J. T. Tyopponen** (1986). "Vitamin E requirements of adult standardbred horses evaluated by tissue depletion and repletion." *Equine Vet J* 18(1): 50-8.
- Sattler, W., S. Levak-Frank, H. Radner, G. M. Kostner and R. Zechner** (1996). "Muscle-specific overexpression of lipoprotein lipase in transgenic mice results in increased alpha-tocopherol levels in skeletal muscle." *Biochem J* 318 ( Pt 1): 15-9.
- Schaefer, E. J., R. Woo, M. Kibata, L. Bjornsen and P. H. Schreibman** (1983). "Mobilization of triglyceride but not cholesterol or tocopherol from human adipocytes during weight reduction." *Am J Clin Nutr* 37(5): 749-54.
- Schenk, M. and E. Kolb** (1990). Grundriss der physiologischen Chemie. Jena, Fischer Verlag.
- Schlotke, B.** (1975). "Die Maulbeerherzkrankheit oder diätetische Mikroangiopathie." *Tierärztl. Praxis* 3: 303-8.
- Schmandke, H., C. Sima and R. Maune** (1969). "Absorption of alpha-tocopherol in man." *Int Z Vitaminforsch* 39(3): 296-8.
- Schneider, C.** (2005). "Chemistry and biology of vitamin E." *Mol Nutr Food Res* 49(1): 7-30.

- Schöffling, U.** (2003). Arzneiformenlehre. Stuttgart, Deutscher Apotheker Verlag.
- Schultz, G.** (1990). "Biosynthesis of Alpha-Tocopherol in Chloroplasts of Higher-Plants." *Fett Wissenschaft Technologie-Fat Science Technology* 92(2): 86-91.
- Schultz, M., M. Leist, A. Elsner and R. Brigelius-Flohe** (1997). "alpha-Carboxyethyl-6-hydroxychroman as urinary metabolite of vitamin E." *Methods Enzymol* 282: 297-310.
- Setiadi, D. H., G. A. Chass, L. L. Torday, A. Varro and J. G. Papp** (2003). "Vitamin E models. Can the anti-oxidant and pro-oxidant dichotomy of alpha-tocopherol be related to ionic ring closing and radical ring opening redox reactions?" *J Mol Struct Theochem* 620(2-3): 93-106.
- Shaw, H. M. and C. Huang** (1998). "Liver alpha-tocopherol transfer protein and its mRNA are differentially altered by dietary vitamin E deficiency and protein insufficiency in rats." *J Nutr* 128(12): 2348-54.
- Smith, K. S., C. L. Lee, J. W. Ridlington, S. W. Leonard, S. Devaraj and M. G. Traber** (2003). "Vitamin E supplementation increases circulating vitamin E metabolites tenfold in end-stage renal disease patients." *Lipids* 38(8): 813-9.
- Sontag, T. J. and R. S. Parker** (2002). "Cytochrome P450 omega-hydroxylase pathway of tocopherol catabolism. Novel mechanism of regulation of vitamin E status." *J Biol Chem* 277(28): 25290-6.
- Stocker, R.** (1999). "The ambivalence of vitamin E in atherogenesis." *Trends Biochem Sci* 24(6): 219-23.
- Strohmaier, N.** (2003). "Der Leberspeichertest zur Überprüfung der Bioverfügbarkeit verschiedener Vitamin A Präparate beim Huhn." Institut für Tierernährung. München, Ludwig-Maximilians-Universität München: 120.
- Sunder, A., I. Halle and G. Flachowsky** (1999). "Vitamin E hypervitaminosis in laying hens." *Arch Anim Nutr - Arch Tierernähr* 52(2): 185-94.

- Surai, P. F. I. I. A.** (1992). "Some biochemical aspects of hypervitaminosis E in hens". 19th World's Poltry Congress, Amsterdam, Netherlands, Beekbergen, Netherlands: World's Poultry Science Association.
- Swanson, J. E., R. N. Ben, G. W. Burton and R. S. Parker** (1999). "Urinary excretion of 2,7, 8-trimethyl-2-(beta-carboxyethyl)-6-hydroxychroman is a major route of elimination of gamma-tocopherol in humans." J Lipid Res 40(4): 665-71.
- Teupser, D., J. Thiery and D. Seidel** (1999). "Alpha-tocopherol down-regulates scavenger receptor activity in macrophages." Atherosclerosis 144(1): 109-15.
- Traber, M. G.** (1999). "Vitamin E. Modern nutrition in health and disease." A. C. Ross. Baltimore, Williams&Wilkins. 9: 347.
- Traber, M. G.** (2002). "Vitamin E: evidence for 2:1 preference for RRR-compared with all-rac- $\alpha$ -tocopherols." The antioxidant vitamins C and E. B. Frei. Champaign, Illinois, AOCS Press: 161-80.
- Traber, M. G.** (2004). "The ABCs of vitamin E and beta-carotene absorption." Am J Clin Nutr 80(1): 3-4.
- Traber, M. G.** (2005). "Vitamin E regulation." Curr Opin Gastroenterol 21(2): 223-7.
- Traber, M. G., A. Elsner and R. Brigelius-Flohe** (1998). "Synthetic as compared with natural vitamin E is preferentially excreted as alpha-CEHC in human urine: studies using deuterated alpha-tocopheryl acetates." FEBS Lett 437(1-2): 145-8.
- Traber, M. G., T. Olivecrona and H. J. Kayden** (1985). "Bovine milk lipoprotein lipase transfers tocopherol to human fibroblasts during triglyceride hydrolysis in vitro." J Clin Invest 75(5): 1729-34.
- Traber, M. G., D. Rader, R. V. Acuff, H. B. Brewer, Jr. and H. J. Kayden** (1994). "Discrimination between RRR- and all-racemic-alpha-tocopherols labeled with deuterium by patients with abetalipoproteinemia." Atherosclerosis 108(1): 27-37.

- Traber, M. G., D. Rader, R. V. Acuff, R. Ramakrishnan, H. B. Brewer and H. J. Kayden** (1998). "Vitamin E dose-response studies in humans with use of deuterated RRR-alpha-tocopherol." Am J Clin Nutr 68(4): 847-53.
- Traber, M. G., R. Ramakrishnan and H. J. Kayden** (1994). "Human plasma vitamin E kinetics demonstrate rapid recycling of plasma RRR-alpha-tocopherol." Proc Natl Acad Sci U S A 91(21): 10005-8.
- Traber, M. G., L. L. Rudel, G. W. Burton, L. Hughes, K. U. Ingold and H. J. Kayden** (1990). "Nascent VLDL from liver perfusions of cynomolgus monkeys are preferentially enriched in RRR- compared with SRR-alpha-tocopherol: studies using deuterated tocopherols." J Lipid Res 31(4): 687-94.
- Traber, M. G., B. M. Winklhofer-Roob, J. M. Roob, G. Khoschsorur, R. Aigner, C. Cross, R. Ramakrishnan and R. Brigelius-Flohe** (2001). "Vitamin E kinetics in smokers and nonsmokers." Free Radic Biol Med 31(11): 1368-74.
- Ulbrich, M., M. Hoffmann and W. Drochner** (2004). Fütterung und Tiergesundheit. Stuttgart, UTB Eugen Ulmer GmbH.
- Upston, J. M., L. Kritharides and R. Stocker** (2003). "The role of vitamin E in atherosclerosis." Prog Lipid Res 42(5): 405-22.
- Upston, J. M., A. C. Terentis and R. Stocker** (1999). "Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement." Faseb J 13(9): 977-94.
- van Tol, A.** (2002). "Phospholipid transfer protein." Curr Opin Lipidol 13(2): 135-9.
- Veris** (2002). "Vitamin E aus natürlichen Quellen und synthetisches Vitamin E: Ein Vergleich", Veris Research Information System.
- Virtamo, J.** (1999). "Vitamins and lung cancer." Proc Nutr Soc 58(2): 329-33.
- Vuilleumier, J. P., H. E. Keller, D. Gysel and F. Hunziker** (1983). "Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part I: The fat-soluble vitamins A and E, and beta-carotene." Int J Vitam Nutr Res 53(3): 265-72.

- Weiser, H., G. Riss and A. W. Kormann** (1996). "Biodiscrimination of the eight alpha-tocopherol stereoisomers results in preferential accumulation of the four 2R forms in tissues and plasma of rats." J Nutr 126(10): 2539-49.
- Weiser, H. and M. Vecchi** (1981). "Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate: characterization of the samples by physico-chemical methods and determination of biological activities in the rat resorption-gestation test." Int J Vitam Nutr Res 51(2): 100-13.
- Weiser, H. and M. Vecchi** (1982). "Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate. II. Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation tests." Int J Vitam Nutr Res 52(3): 351-70.
- Weiser, H., M. Vecchi and M. Schlachter** (1985). "Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate. III. Simultaneous determination of resorption-gestation and myopathy in rats as a means of evaluating biopotency ratios of all-rac- and RRR-alpha-tocopheryl acetate." Int J Vitam Nutr Res 55(2): 149-58.
- Wijtmans, M., D. A. Pratt, L. Valgimigli, G. A. DiLabio, G. F. Pedulli and N. A. Porter** (2003). "6-Amino-3-pyridinols: towards diffusion-controlled chain-breaking antioxidants." Angew Chem Int Ed Engl 42(36): 4370-3.
- Witt, W., I. Kolleck, H. Fechner, P. Sinha and B. Rustow** (2000). "Regulation by vitamin E of the scavenger receptor BI in rat liver and HepG2 cells." J Lipid Res 41(12): 2009-16.
- Wu, D., M. G. Hayek and S. Meydani** (2001). "Vitamin E and macrophage cyclooxygenase regulation in the aged." J Nutr 131(2): 382S-8S.
- Yang, N. Y. and I. D. Desai** (1977). "Reproductive consequences of mega vitamin E supplements in female rats." Experientia 33(11): 1460-1.
- Yokota, T., T. Shiojiri, T. Gotoda, M. Arita, H. Arai, T. Ohga, T. Kanda, J. Suzuki, T. Imai, H. Matsumoto, S. Harino, M. Kiyosawa, H. Mizusawa and K. Inoue** (1997). "Friedreich-like ataxia with retinitis pigmentosa caused by the His101Gln mutation of the alpha-tocopherol transfer protein gene." Ann Neurol 41(6): 826-32.

**Zapolska-Downar, D., A. Zapolski-Downar, M. Markiewski, A. Ciechanowicz, M. Kaczmarczyk and M. Naruszewicz** (2000). "Selective inhibition by alpha-tocopherol of vascular cell adhesion molecule-1 expression in human vascular endothelial cells." *Biochem Biophys Res Commun* 274(3): 609-15.

**Ziegler, R. G.** (1991). "Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer." *Am J Clin Nutr* 53(1 Suppl): 251S-9S.

**Zimmer, S., A. Stocker, M. N. Sarbolouki, S. E. Spycher, J. Sassoon and A. Azzi** (2000). "A novel human tocopherol-associated protein: cloning, in vitro expression, and characterization." *J Biol Chem* 275(33): 25672-80.

## 9. Anhang

---

### 9.1 Abkürzungsverzeichnis

A	Ascorbinsäure
Abb.	Abbildung
ABC	ATP-binding-Cassette
$\alpha$ -CEHC	2,5,7,8-tetramethyl-2(2' carboxyethyl)-6-hydroxychroman
$\alpha$ -Toc	$\alpha$ -Tocopherol
$\alpha$ -TTP	alpha-Tocopherol-Transfer-Protein
AOX	Antioxidans
Alt VE	Altes Vitamin E (Kontrollpräparat)
AP1	Activating Protein-1
ATP	Adenosin-Triphosphat
AUC	Area under the curve
$\beta$ -Toc	$\beta$ -Tocopherol
BCL2-L1	B-cell leukämia/lymphoma2 like 1
BSE	Bovine spongiforme Enzephalopathie
CD36	Homo sapiens CD36 Antigen (Kollagen Typ 1 Rezeptor, Thrombospondin Rezeptor)
C°	Grad Celsius
C <sub>mac</sub>	Peak plasma concentration
COX	Cyclooxygenase
CTGF	Connective tissue growth factor
CYP	Cytochrom P 450
$\delta$ -Toc	$\delta$ -Tocopherol
DNA	Desoxyribonucleic Acid
DU-145	humane Prostata Karzinomazellen
Ed 50	Dosis effectiva media (Mittlere effektive Dosis)
Fa.	Firma
FM	Futtermittel
FS	Fettsäuren
$\gamma$ -Toc	$\gamma$ -Tocopherol
GP <sub>x</sub>	Glutathionperoxidase

---

GP <sub>x</sub> SE	Selenabhängige GP <sub>x</sub>
H	Hour (Stunden)
HepG2	Humane Hepatoblastom-Zelllinie
HDL	High Density Lipoprotein
HPLC	High performance liquid Chromatography
ICAM	Intecellular adhesion molecule
IDL	Intermediate-Density-Lipoprotein
I.E.	Internationale Einheiten
IL	Interleukin
i.m.	intra muskulär
KM	Körpermasse
LDL	Low Density Lipoprotein
MFD	Mittlere-Fertilitäts-Dosis
Min	Minuten
MJ	Mega Joule
MMP	Matrix Metalloproteinase
Neu Ve	Neues Vitamin E (Versuchspräparat)
NADP	β-Nikotinamidadenindinukleotidphosphat
NADPH+H <sup>+</sup>	reduziertes NADP
Nm	Nanometer
NF-κB	Nuclear Factor Kappa B
P27	cyclin-dependent kinase inhibitor (Kip1)
PI3K	Phosphatidylinositol-3-kinase
PIP <sub>2</sub>	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PIP <sub>3</sub>	Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphat
PKB	Protein Kinase B
PKC	Proteinkinase C
PPARγ	Peroxisome-proliferator-activatedreceptor γ
ppm	parts per million
PUFA	Polyunsaturated fatty acids
ROS	reactive oxygen species
S.c.	sub cutan
SR	Scavenger Rezeptor
SR-BI	scavenger receptor class B type I



---

Stabw	Standardabweichung
TAP	Tocopherol Associated Protein
TBP	Tocopherol Binding Protein
TGF- $\beta$ -RE	Transforming growth factor $\beta$ responsive enhancer
TierSchG	Tierschutzgesetz
TLR4	Toll-Like-Rezeptor 4
T <sub>max</sub>	Time to reach C <sub>max</sub>
TSE	Transmissible Spongiforme Enzephalopathie
VCAM	Vascular cell adhaesion molecule
Vit.	Vitamin
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
$\mu$ g	Mikrogramm
Zpt.	Zeitpunkt

## 9.2 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Vereinfachte Darstellung der Tocopherol-Biosynthese
- Abbildung 2:** Aufbau einer Mizelle aus Gallensäure (nach Schenk und Kolb 1990)
- Abbildung 3:** Funktion des  $\alpha$ -Tocopherol-Transfer-Proteins  $\alpha$ -TTP (nach Kaempf-Rotzoll *et al.* 2003)
- Abbildung 4:** Vitamin-E-Metabolismus (Pfluger *et al.* 2004)
- Abbildung 5:** Stadien der autooxidativen Kettenreaktion
- Abbildung 6:** Reaktion eines Radikals mit einem Antioxidans ( $\alpha$ -Tocopherol) (Schneider 2005)
- Abbildung 7:** Entgiftungsmechanismus und Regeneration des Tocopherols durch den Synergisten L-Ascorbinsäure (nach Machlin 1991)
- Abbildung 8:** Prooxidative Wirkung von Vitamin E (nach Rietjens *et al.* 2002)
- Abbildung 9:** Sprühgetrocknetes Pulver mit schützender Matrix
- Abbildung 10:** Schematische Darstellung des zeitlichen Versuchablaufes
- Abbildung 11:** Chromatographische Darstellung eines Vitamin-E-Peaks
- Abbildung 12:** Gewichtsentwicklung der Schweine zu Beginn und Ende der Depletionsphase
- Abbildung 13:** Verlauf des Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes in  $\mu\text{g/ml}$  während der Depletionsphase zu den Zeitpunkten Tag 0, 14 und 60

**Abbildung 14:** Verlauf des Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes in  $\mu\text{g/ml}$  während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten 0 (Bolusgabe) + 1h, + 2h, + 3h und + 4h

**Abbildung 15:** Verlauf des Serum- $\alpha$ -Tocopherol-Gehaltes in  $\mu\text{g/ml}$  während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten: + 4h, + 6h, + 8h, + 12h,

### 9.3 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b>	<b>Gehalt an <math>\alpha</math>-Tocopherol in Futtermitteln in mg/kg Trockensubstanz (nach Ulbrich <i>et al.</i> 2004)</b>
<b>Tabelle 2:</b>	<b>Natürliche und synthetische Vitamin-E-Verbindungen (nach Pryor 1995; Elmadfa und Wagner 1997)</b>
<b>Tabelle 3:</b>	<b>Tocopherolgemische (nach Pryor 1995; Elmadfa und Wagner 1997)</b>
<b>Tabelle 4:</b>	<b>Relative Affinität des <math>\alpha</math>-Tocopherol-Transfer-Proteins zu verschiedenen Vitamin-E-wirksamen Verbindungen (nach Hosomi <i>et al.</i> 1997)</b>
<b>Tabelle 5:</b>	<b>Relative Potenz der verschiedenen 2R- und 2S-Stereoisomere von <math>\alpha</math>-Tocopherylacetat (Weiser und Vecchi 1982)</b>
<b>Tabelle 6:</b>	<b>Einfluss der Tocopherole auf verschiedene Gene (Azzi <i>et al.</i> 2004)</b>
<b>Tabelle 7:</b>	<b>Aufstellung der Versuchsgruppen A und B mit Gewichten und supplementierter Menge an <math>\alpha</math>-Tocopherol</b>
<b>Tabelle 8:</b>	<b>Zusammensetzung der Basisration</b>
<b>Tabelle 9:</b>	<b>Zusammensetzung der Vitaminvormischung</b>
<b>Tabelle 10:</b>	<b>Zusammensetzung der Spurenelementvormischung</b>
<b>Tabelle 11:</b>	<b>Gehalt an Rohnährstoffen und Energie in der Ration</b>
<b>Tabelle 12:</b>	<b>Gehalt der Ration an Calcium, Phosphor und essentiellen Aminosäuren</b>
<b>Tabelle 13:</b>	<b>Physikalische Eigenschaften von Alt VE und Neu VE</b>

- Tabelle 14:** Mittlerer  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt im Serum der Schweine während der Depletionsphase zu den Zeitpunkten Tag 0, 14 und 60 in  $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  Stabw)
- Tabelle 15:** Mittlerer  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt im Serum der Kontrollgruppe während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten 0, +1h, +2h, +3h, +4h, +6h, +8h, +12h, +24h, +48h, +96h, +144h in  $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  Stabw)
- Tabelle 16:** Mittlerer  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalt im Serum der Versuchsgruppe während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten 0, +1h, +2h, +3h, +4h, +6h, +8h, +12h, +24h, +48h, +96h, +144h in  $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  Stabw)
- Tabelle 17:** Bedarfsangaben zur Vitamin-E-Versorgung von Schweinen aus verschiedenen Quellen

## **10. Danksagung**

---

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. W. A. Rambeck für die Überlassung des Themas, die jederzeit gewährte Unterstützung und die guten Anregungen beim Erstellen dieser Arbeit.

Ganz besonders danken möchte ich auch meinem Betreuer Dr. Ulrich Wehr für seine guten Anregungen, seine aufmunternden Worte und seine sonstige jederzeitige Unterstützung bei dieser Arbeit.

Meinen weiteren Dank spreche ich, vor allem für die Auswertung der Proben, dem Laborteam von Herrn Werner Hesselbach, Frau Elke Kleinert, Frau Antje Wetzels und Frau Jelena Lazic aus.

Für die statistische Auswertung meiner Ergebnisse darf ich mich bei Herrn Professor Dr. K. Osterkorn und Herrn J. Stanglmeier bedanken.

Danken möchte ich auch Frau Stadler für die Mischung der Futterrationen und Herrn Adrian Frille, der beim Versorgen der Schweine geholfen hat.

Zudem sage ich den vielen fleißigen Helfern beim Blut nehmen danke, allen voran Josef, Julia, Alice, Katja, Pia, Bernie.

Meinem Freund Markus Neumaier danke ich für seine moralische Unterstützung und das Korrekturlesen dieser Doktorarbeit.

Bei meiner Schwester Vroni Lang möchte ich mich herzlich für die Überarbeitung und Formatierung meiner Doktorarbeit bedanken.

Von ganzem Herzen danke ich schließlich meinen Eltern Daniela und Bernd Lang, die mir Studium und Promotion ermöglicht und mich während meiner gesamten Studien- und Doktorandenzeit unterstützt und großes Vertrauen in mich gesetzt haben.

## 11. Lebenslauf

---

**Name:** Juliane Lang  
**Heimatanschrift:** Burgunderweg 18  
69168 Wiesloch  
**Wohnanschrift:** Wirtsbreite 1  
80939 München  
**Geburtsdatum:** 23. Juli 1975  
**Geburtsort:** Berlin  
**Nationalität:** deutsch  
**Familienstand:** ledig

**1981/1985** Theodor-Heuss-Grundschule Sandhausen  
**1985/1989** Friedrich-Ebert-Gymnasium Sandhausen  
**1990/1992** Theodor-Heuss-Realschule Walldorf  
**1992/1995** Willy-Hellpach-Wirtschaftsgymnasium Heidelberg  
**1996/2002** Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität  
(LMU) München, Approbation zur Tierärztin  
**seit März 2004** Doktorandin des Instituts für Tierernährung der LMU München