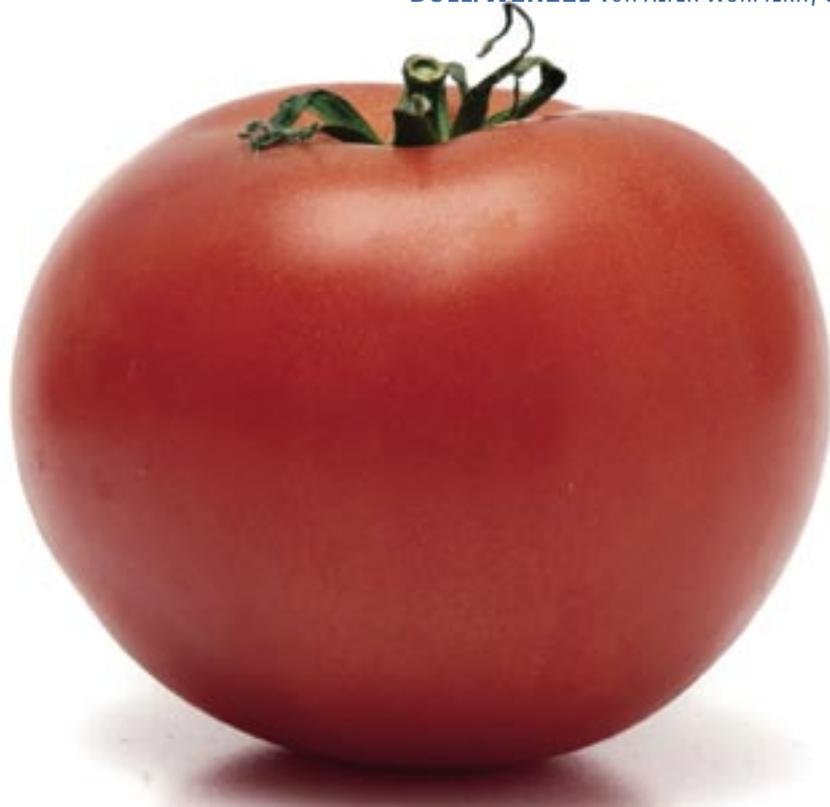




Abb. 1: Modellorganismus *Caenorhabditis elegans*.

Von alten Würmern, Genen und Tomaten

Einflüsse von Nahrungsfaktoren auf Alterungsprozesse am lebenden Organismus



Von Uwe Wenzel und Michael Boll

Um Einflüsse von Nahrungsfaktoren auf Alterungsprozesse am lebenden Organismus schnell zu erfassen, bedarf es einfacher Modelle. Ein solches stellt der Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* dar, dessen Lebensspanne etwa 30 Tage beträgt. In *C. elegans* wurden Gene mit zentraler Steuerfunktion für die Lebensspanne identifiziert. Die Beeinflussung solcher Gene durch Nahrungsfaktoren kann erklären, warum eine reduzierte Kalorienzufuhr oder die Zufuhr bestimmter sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe zur Lebensverlängerung in diesem Modellorganismus führen.

Altern ist ein physiologischer Prozess, der durch fortschreitende funktionelle Einbußen zellulärer Vorgänge charakterisiert ist. Ziel moderner Forschung ist es einerseits die Mechanismen zu identifizieren, die zur Alterung beitragen, und andererseits Faktoren zu finden, die Alterungsprozesse verzögern und damit ein hohes Gesundheitsniveau erhalten können. Als Modell für grundlegende Fragen der Alterungsforschung bietet sich der Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* an (Abb. 1), ein aus 959 Zellen bestehender Organismus, dessen mittlere

Lebensspanne von ca. 17 Tagen und maximale Lebensspanne von ca. 30 Tagen erlaubt, Alterungsprozesse in einem überschaubaren Zeitraum zu untersuchen. Desweiteren weisen viele Krankheits- und Alterungs-relevante Gene von *C. elegans* eine hohe Ähnlichkeit mit denen des Menschen auf, was eine gewisse Übertragbarkeit der erhobenen Befunde zulässt. In *C. elegans* konnten Mutationen in einzelnen Genen identifiziert werden, die eine bis zu fünffach verlängerte Lebensspanne dieser Tiere im Vergleich zum Wildtyp (normale Würmer) zur Folge hatten.

Professur für Molekulare Ernährungsforschung

Die Professur für Molekulare Ernährungsforschung befasst sich in Lehre und Forschung mit den Auswirkungen von Nahrungsinhaltsstoffen auf degenerative Prozesse, die im Zentrum von Krebs, Arteriosklerose und Altern stehen. Besonderes Interesse unter den Nahrungsinhaltsstoffen gilt den Flavonoiden. Bei den Flavonoiden handelt es sich um sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe mit großer struktureller Vielfalt und mannigfaltigen pharmakologischen Eigenschaften, die im Pflanzenreich weit verbreitet sind. An der Professur werden unter Verwendung von Zellkulturmodellen die Wirkungen unterschiedlicher Flavonoide auf das Verhalten humaner Dickdarmkrebszellen untersucht. Hierbei werden Effekte auf die Differenzierung, Proliferation und Apoptose gemessen, die in Krebszellen in charakteristischer Weise verändert sind. Des Weiteren werden Arteriosklerose-relevante Prozesse und ihre Beeinflussbarkeit durch die in Soja vorkommenden Isoflavonoide befolgt. Schließlich werden an einem lebenden Organismus, dem Fadenwurm *Caenorhabditis elegans*, die Effekte von Flavonoiden auf verschiedene Parameter der Alterung untersucht.

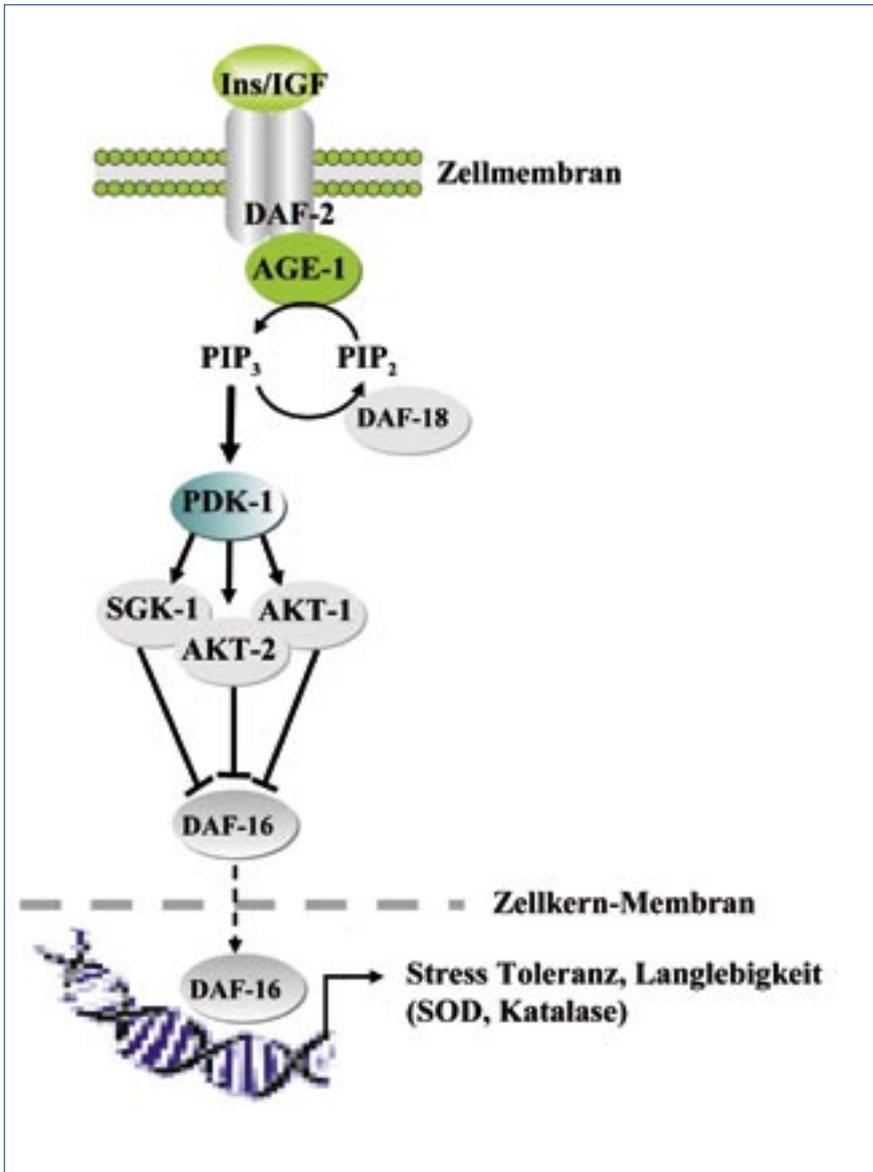


Abb. 2: Der durch Insulin und Insulin-ähnliche Wachstumsfaktoren (Ins) angeschaltete Signalweg in *C. elegans*. Der Rezeptor für Ins, DAF-2, beeinflusst die Stressantwort und Lebensspanne über den Transkriptionsfaktor DAF-16. Wird DAF-16 durch stromaufwärts gelegene Faktoren, wie AKT-1, AKT-2 and SGK-1 nach Aktivierung von DAF-2 verändert, verbleibt er außerhalb des Zellkerns. In Abwesenheit der Signalgebung durch Ins wandert DAF-16 in den Zellkern und führt dort zur Aktivierung von Genen, die Stresstoleranz und Langlebigkeit vermitteln.

Viele der lebensverlängernden Mutationen fanden sich in Genen, deren Produkte normalerweise die Wirkungen von Insulin und Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktoren (IGF, engl.: insulin-like growth factors) in Zellen vermit-

teln. Verliert beispielsweise der Rezeptor für Insulin/IGF seine Funktionalität, wie es in der Wurmmutante DAF-2 der Fall ist, oder das Protein AGE-1, das die Signale des Insulin/IGF-Rezeptors in der Zelle weiterleitet (Abb. 2), so wer-

den die Würmer doppelt so alt wie ihre Artgenossen des Wildtyps (1). Ein weiteres zentrales Element in der Regulation der Lebensspanne stellt der Transkriptionsfaktor DAF-16 dar (Abb. 2). Dieser wird in Folge der Aktivierung des Insulin/IGF-Rezeptors so verändert, dass er nicht mehr in den Zellkern wandert und dort die Aktivierung sogenannter Stress-Antwort-Gene vermitteln kann (Abb. 2). Die Bedeutung von DAF-16 für die Regulation der Lebensspanne wird daraus ersichtlich, dass Würmer, die einen DAF-16 Defekt aufweisen, deutlich kürzer leben als der Wildtyp, auch dann wenn DAF-2 oder AGE-1 nicht funktionell sind (2).

Interessanterweise zeigen alle langlebigen Mutanten von *C. elegans*, die sogenannten Methusalem-Würmer, einen sehr ähnlichen Phänotyp. Dieser kommt in einer erhöhten Resistenz gegenüber Infektionen und Muskeldegeneration, erhöhter Nahrungsaufnahme und -verdauung sowie vermehrter Bewegung, also insgesamt in einer erhöhten Fitness zum Ausdruck. Da dieser Phänotyp unabhängig von der genetischen Ursache der Langlebigkeit ist, muss man annehmen, dass ein gemeinsamer Mechanismus den lebensverlängernden Effekten in den langlebigen Mutanten zugrunde liegt. Ein solcher der Alterung zugrunde liegender Mechanismus könnte in der Bildung so genannter reaktiver Sauerstoffspezies (ROS, engl. reactive oxygen species) bestehen. Tatsächlich sind die meisten langlebigen Mutanten dadurch gekennzeichnet, dass sie entweder weniger ROS produzieren oder diese effizient entgiften (3). Insbesondere ROS, die in den Kraftwerken der Zelle, den Mitochondrien gebildet werden, scheinen zerstörerisches Potential zu besitzen, indem sie mitochondriale DNA und Proteine schädigen und dadurch letztendlich zum Tod der Zelle führen (3).

Leider entstehen ROS in den Mitochondrien als Abfallprodukt der Energiegewinnung, so dass ihre Entstehung nicht vollständig verhindert werden kann. Allerdings zeigen Untersuchun-

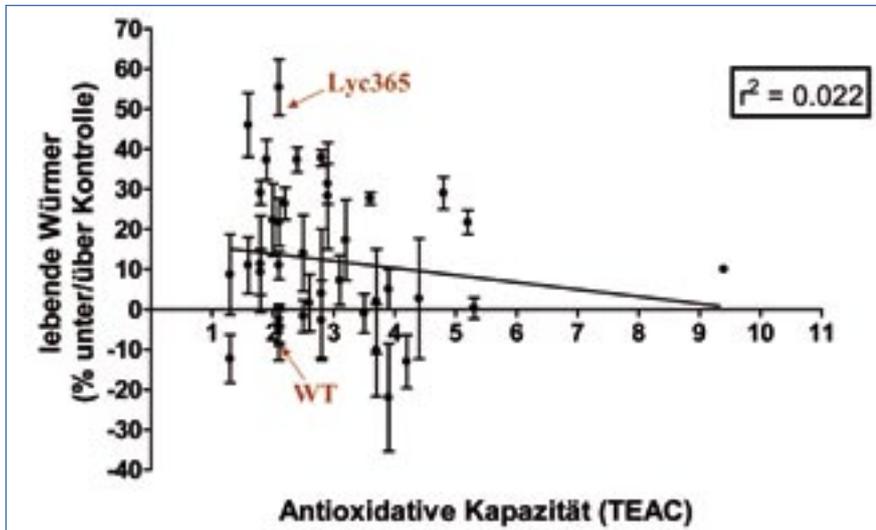


Abb. 3: Korrelation zwischen den Effekten unterschiedlicher Tomatenextrakte auf die Resistenz gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) im lebenden Wurm (Ordinatenachse) und der *in vitro* bestimmten antioxidativen Kapazität (TEAC) der Extrakte (Abszissenachse). Die Daten zeigen, dass es keinerlei Korrelation gibt zwischen der Fähigkeit der Extrakte im lebenden Organismus vor ROS zu schützen und ihrer Fähigkeit im Reagenzglas ROS abzufangen.

gen, dass ihre Menge drastisch reduziert wird, wenn weniger Makronährstoffe, also Kohlenhydrate, Fette und Proteine über die Nahrung aufgenommen und damit weniger ihrer Stoffwechselprodukte in den Mitochondrien verbrannt werden. Vom Einzeller über die Maus bis hin zum Primaten bewirkt eine solche Kalorienreduktion um 30% gegenüber der Kalorienzufuhr bei freiem Futterzugang, nicht nur eine Verminderung der in Mitochondrien produzierten ROS, sondern führt auch zu einer deutlichen Reduktion von Alterungsprozessen, eine adäquate Zufuhr von Mikronährstoffen, wie Vitamine und Mineralstoffe, vorausgesetzt (4).

Bei der Suche nach Genen, die durch die Kalorienrestriktion aktiviert werden, entdeckte man die so genannten Sirtuine. Ihren Namen haben die Sirtuine von ihrer Eigenschaft, andere Gene stillzulegen (*sir*, engl. silencing information regulators) (5). So führen Sirtuine z.B. dazu, dass bestimmte Proteine, die den programmierten Zelltod auslösen, nicht mehr gebildet werden. Dieser Mechanismus könnte wiederum dafür sorgen, dass Organe, die man als be-

deutende Regulatoren der Lebensspanne ansieht, wie z.B. das Gehirn, weniger schnell einen substantiellen Verlust im

Lebensverlauf erleiden. Darüber hinaus können Sirtuine die Wanderung von Transkriptionsfaktoren wie DAF-16 in den Zellkern bewirken und damit für die Aktivierung von Stress-Antwort- und Langlebigkeitsgenen sorgen (Abb. 2). Die Aktivierung dieser Gene scheint schließlich wiederum insbesondere die Entgiftung der ROS zu erhöhen.

Findige Forscher machten sich nun auf den Weg Substanzen zu finden, die zu einer Aktivierung der Sirtuine führen, ohne dass man dazu die Kalorienzufuhr verringern muss. Fündig wurden sie bei bestimmten Polyphenolen, wie sie insbesondere im Rotwein vorkommen. Tatsächlich konnten Untersuchungen an Mäusen zeigen, dass Konzentrationen des Rotwein-Polyphenols Resveratrol, die über einen moderaten Rotwein-Konsum durchaus im Plasma von Menschen zu erreichen sind, den Tod von Nervenzellen durch eine spezifische Aktivierung der Sirtuine verhindern konnten (5).

Neben Rotwein sind Polyphenole reichhaltig in Obst und Gemüse vorzu-



Prof. Dr. Uwe Wenzel

Institut für Ernährungswissenschaft
Interdisziplinäres Forschungszentrum (IFZ)
Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392 Gießen
Telefon: 0641 99-39220
uwe.wenzel@ernaehrung.uni-giessen.de

Uwe Wenzel, Jahrgang 1964, vertritt seit 1. April 2006 das Fach Molekulare Ernährungsforschung am Fachbereich 09 – Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und Umweltmanagement. Nach Abschluss des Diplomstudiengangs Ökotrophologie, Fachrichtung Ernährungswissenschaft, 1990 in Gießen wurde Uwe Wenzel 1993 am Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Universität Gießen promoviert. Nach fünfjähriger Post-doc-Tätigkeit an der Professur für Biochemie der Ernährung in Gießen war er zunächst als Wissenschaftlicher Mitarbeiter, ab 2005 als Hochschuldozent am Lehrstuhl für Ernährungsphysiologie der TU München in Freising-Weihenstephan tätig. Dort habilitierte er sich im Jahr 2006 für das Fach „Physiologie und Biochemie der Ernährung“. Das Arbeitsgebiet von Prof. Wenzel umfasst die molekularen Wirkungen sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe auf degenerative Prozesse. Im Rahmen EU- und DFG-finanzierter Forschungsprojekte wird hierbei vor allem untersucht, wie Flavonoide die Entstehung von Krebs, Arteriosklerose und Alterung beeinflussen. Moderne Methoden der Genom- und Proteomanalyse finden Einsatz in Zellkulturen, einfachen Organismen wie dem Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* bis hin zum Menschen.

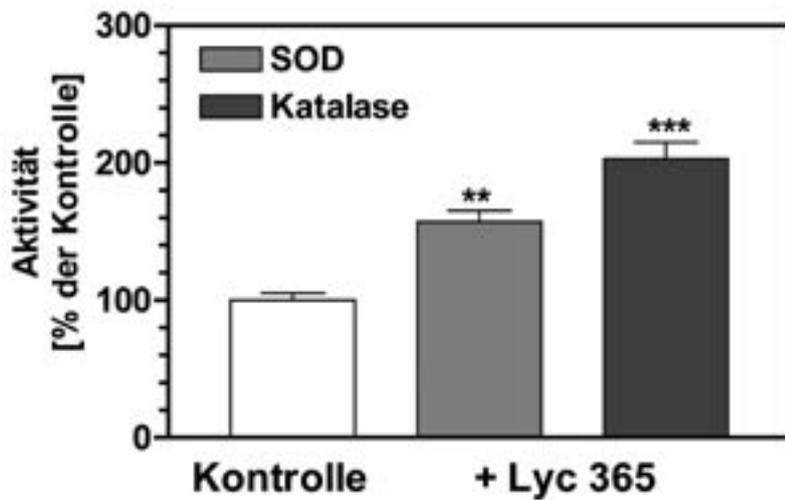


Abb. 4: Erhöhung der antioxidativen Kapazität durch Tomatenextrakt 365 im lebenden *C. elegans* durch Erhöhung der Aktivitäten antioxidativer Enzyme. Sowohl die Aktivität der Superoxiddismutase (SOD) als auch der Katalase, die beide an der Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies beteiligt sind, wurden signifikant durch die Aufnahme des Extraktes 365 in *C. elegans* erhöht.

finden. In unserer Arbeitsgruppe untersuchten wir, inwiefern Extrakte aus Tomatenschalen die Fähigkeit von *C. elegans* beeinflussen, hohe Konzentrationen einer Substanz zu tolerieren, die ROS generiert. Dazu wurden die Wür-

mer zunächst für zwei Tage in einem Flüssigmedium inkubiert, dem der entsprechende Tomatenextrakt zugesetzt war. Untersucht wurden die Extrakte von vierzig durch Züchtung hergestellten Tomatensorten, die sich deutlich in

ihrem Polyphenolgehalt und der Zusammensetzung der Polyphenole unterschieden. Nach zwei Tagen wurde der Extrakt von den Würmern entfernt, und danach wurden sie für weitere zwei Tage Konzentrationen der ROS-generierenden Substanz ausgesetzt, die in 50% der nicht mit Tomatenextrakt behandelten Kontrollgruppe den Tod verursachte. Während die Wildtyp-Tomate die Überlebensfähigkeit von *C. elegans* nicht beeinflusste, führte der Extrakt Lyc 365 zu einer im Vergleich zur Kontrolle 60% höheren Überlebensrate (Abb. 3). Interessanterweise ergab sich keinerlei Korrelation zwischen der Fähigkeit der Tomatenextrakte, die Resistenz gegenüber dem zugeführten ROS-Bildner *in vivo* zu erhöhen und der Fähigkeit der Extrakte *in vitro*, d.h. im Reagenzglas, ROS abzufangen (Abb. 3). Dementsprechend lag es nahe zu vermuten, dass die lebensverlängernden Effekte des Extraktes Lyc 365 auf seiner Fähigkeit beruhen, Enzyme zu aktivieren, die zum endogenen antioxidativen System gehören und Bestandteil des durch die Langlebigkeitsgene kodierten Abwehrsystems sind. Solche Enzyme sind z.B. die Superoxid-Dismutase und die Katalase, die in Zusammenarbeit in der Lage sind unterschiedliche ROS-Formen abzubauen. Tatsächlich konnten wir zeigen, dass sowohl die Aktivität der Superoxid-Dismutase als auch die der Katalase durch Inkubation mit Lyc 365 in *C. elegans* erhöht werden (Abb. 4). Diese Erhöhung der endogenen antioxidativen Kapazität geht einher mit reduzierten Spiegeln an ROS in Mitochondrien von *C. elegans* (Abb. 5A), sowie dem verminderten Auftreten des Alterungspigments Lipofuszin (Abb. 5B).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass ROS, insbesondere wenn sie in Mitochondrien entstehen, Alterungs-



Dr. Michael Boll
 Institut für Ernährungswissenschaft
 Interdisziplinäres Forschungszentrum (IFZ)
 Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392 Gießen
 Telefon: 0641 99-39221
 michael.boll@ernaehrung.uni-giessen.de

Michael Boll, Jahrgang 1968, arbeitet seit 1. April 2006 als Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Professur für Molekulare Ernährungsforschung am Fachbereich 09 – Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und Umweltmanagement. Nach Abschluss des Diplomstudiengangs Ökotrophologie, Fachrichtung Ernährungswissenschaft, 1995 an der Universität Gießen, wurde Michael Boll 1998 am Institut für Ernährungswissenschaft promoviert. Nach mehrjähriger Post-doc-Tätigkeit am Lehrstuhl für Ernährungsphysiologie an der Technischen Universität München, kehrte er im April 2006 an die Justus-Liebig-Universität Gießen zurück. Das Arbeitsgebiet von Dr. Boll umfasste bisher die Nährstoff- und Pharmakaresorption im Dünndarm und der Niere. In der Arbeitsgruppe von Prof. Wenzel untersucht Dr. Boll die Wirkung von Flavonoiden im Rahmen der Krebsentstehung, der Arteriosklerose und der Alterung.

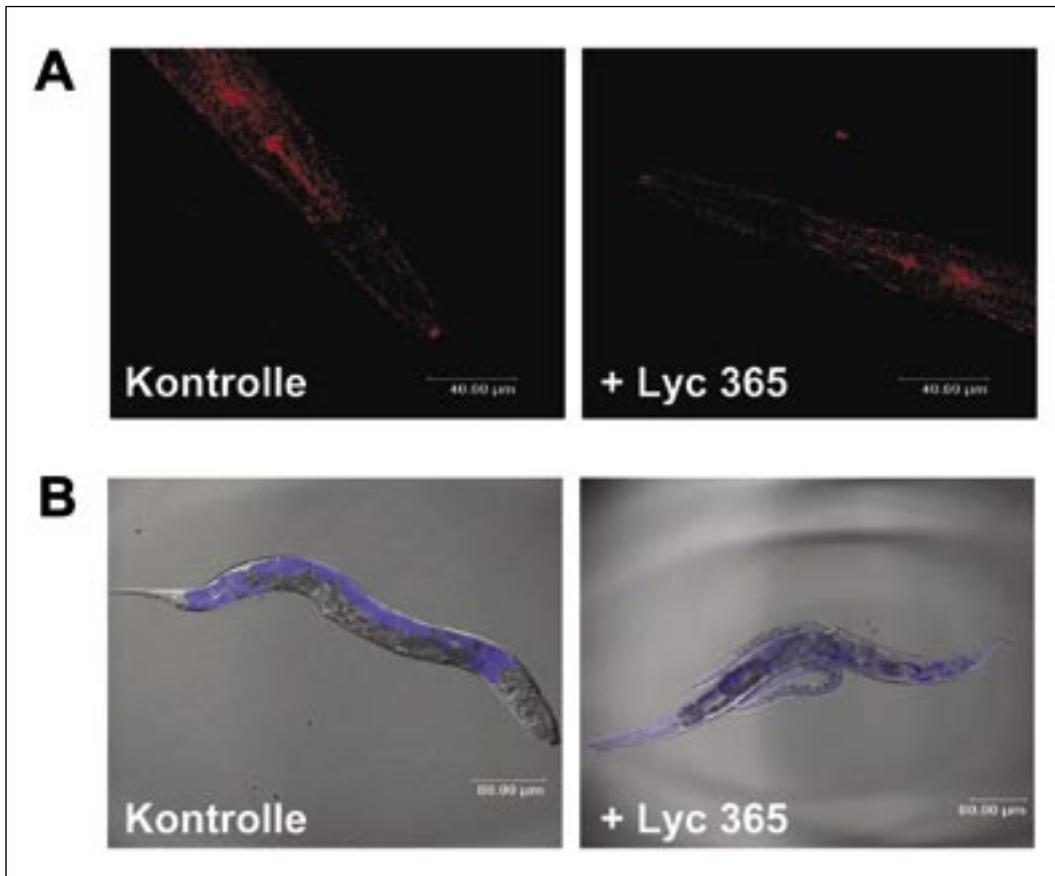


Abb. 5: (A) Nachweis reaktiver Sauerstoffspezies in den Mitochondrien lebender *C. elegans* nach Inkubation mit und ohne (Kontrolle) Tomatenextrakt Lyc 365. Die rote Fluoreszenz entsteht nach Oxidation eines Farbstoffes der sich selektiv in Mitochondrien einlagert. (B) Nachweis des Alterungspigments Lipofuszin nach Inkubation von *C. elegans* mit und ohne Extrakt Lyc 365. Lipofuszin ist eine Verbindung die autofluoreszent ist, d.h. sie besitzt leuchtende Eigenschaften, die mit Hilfe eines entsprechenden Mikroskops erfasst werden können (blaue Farbe). Lyc 365 verringert die Spiegel an reaktiven Sauerstoffspezies in den Mitochondrien und die Konzentration an Lipofuscin in *C. elegans*.

prozesse beschleunigen können. Kalorienrestriktion reduziert die Bildung mitochondrialer ROS und führt zur Aktivierung der Sirtuine, die viele Effekte der Kalorienrestriktion auf die Hemmung des Alterungsprozesses vermitteln. Bestimmte Polyphenole aus Rotwein oder Gemüse sind ebenfalls in der Lage, vermutlich durch die Aktivierung der Sirtuine, die Wirkung endogener antioxidativer Enzymsysteme zu erhöhen und dadurch die Entgiftung mitochondrialer ROS zu verbessern. Ob solche Inhaltsstoffe der Nahrung alle positiven beobachteten Effekte einer Kalorienrestriktion simulieren können, werden zukünftige Studien erst beweisen

müssen, auch wenn neueste Studien an Mäusen zeigen, dass Resveratrol die negativen Auswirkungen von Übergewicht und fettreicher Ernährungsweise auf die Lebensspanne bremsen kann.

LITERATUR

1. Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A & Tabtiang R (1993) A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature*, 366: 461-464.
2. Ogg S, Paradis S, Gottlieb S, Patterson GI, Lee L, Tissenbaum HA & Ruvkun G (1997) The Fork head transcription factor DAF-16 transduces insulin-

like metabolic and longevity signals in *C. elegans*. *Nature*, 389: 994-999.

3. Feng J, Bussiere F & Hekimi S (2001) Mitochondrial electron transport is a key determinant of life span in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Cell*, 1: 633-644.
4. Koubova J & Guarente L (2003) How does calorie restriction work? *Genes Dev* 17: 313-321.
5. Wenzel U (2006) Nutrition, sirtuins and aging. *Genes Nutr*, 1: 85-94.