

## 6. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Es ist seit längerem bekannt, dass Nahrungsproteine den Lipidmetabolismus beeinflussen. Bisher ist allerdings die Zahl diesbezüglich untersuchter Proteine begrenzt. Die meisten Studien basieren auf Kasein als Vertreter tierischer Proteine und Sojaprotein als Vertreter pflanzlicher Proteine. Für Sojaprotein wurden im Vergleich zu Kasein hypocholesterinämische Wirkungen beschrieben.

Im Rahmen dieser Studie wurden 3 Fütterungsversuche durchgeführt, bei denen unterschiedliche tierische und pflanzliche Proteine eingesetzt wurden. In allen Versuchen wurden wachsende männliche Sprague Dawley-Ratten als Modelltier verwendet. Die Tiere wurden jeweils für ca. 3 Wochen gefüttert. Die Diäten variierten nur in der Proteinquelle; allerdings wurden im dritten Versuch die Diäten, die Erbsen-, Lupinen- oder Sojaprotein enthielten, mit DL-Methionin und die Lupinenproteindiät zusätzlich mit Lysin supplementiert, um den Empfehlungen des AIN zu entsprechen. Um die Diät westlicher Industrieländer, die reich an gesättigten Fettsäuren und Cholesterin ist, zu imitieren, wurde Schweineschmalz als Diätfett gewählt und der Diät Cholesterin (0,5 g/kg) zugesetzt. Als Parameter wurden Cholesterin- und Triglyceridkonzentrationen in Leber, Plasma und Lipoproteinen bestimmt. Um den Effekt der Aminosäurezusammensetzung der Diätproteine zu erforschen, wurde die Aminosäurezusammensetzung von Diätproteinen und Plasma analysiert. Um Mechanismen auf der Ebene der Genexpression aufzuklären, wurden von RNA-Proben der Leber PCR zu ausgewählten Genen durchgeführt.

Das Hauptziel des ersten Versuchs war, die Effekte von Sojaprotein bzw. seinen Aminosäuren auf den Lipidstoffwechsel zu untersuchen und Wirkmechanismen auf der Ebene der Genexpression aufzudecken. Um mögliche Beeinflussungen durch andere Komponenten zu minimieren, wurde Ethanol-gewaschenes Sojaproteinisolat verwendet. Im Vergleich zu Kasein führte Sojaprotein zu einer deutlichen Senkung der Cholesterinkonzentration in Leber und VLDL sowie der Triglyceridkonzentration in Leber und Plasma und zu einem Anstieg der Gallensäureexkretion über Fäces. Sojaprotein führte zu niedrigeren mRNA-Konzentrationen des SREBP-2 sowie der SREBP-2-Zielgene HMG-CoA-Reduktase und LDL-Rezeptor, die beide eine wesentliche Rolle im Cholesterinmetabolismus spielen. Sojaprotein führte außerdem zu einer niedrigeren Expression von SREBP-1c sowie seiner Zielgene FAS und G6PDH. Die Aktivität von FAS und G6PDH wurde ebenfalls durch Sojaprotein gesenkt. Dies lässt vermuten, dass Sojaprotein die Fettsäuresynthese in der Leber senkt. Die Genexpression von Insig 1 und 2 wurde nicht beeinflusst. Sojaprotein reduzierte mRNA-Konzentration und

Aktivität von MTP sowie mRNA- und Proteinkonzentration von ApoB-100, wodurch eine verringerte Bildung und Freisetzung von VLDL-Partikeln resultierte und somit verringerte Plasmalipidkonzentrationen. Sojaprotein hatte keinen Effekt auf die Partikelgröße der VLDL.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Sojaprotein die zelluläre Lipidhomöostase über eine *down regulation* von SREBP-2 und SREBP-1c sowie assoziierter Zielgene beeinflusst.

In der menschlichen Ernährung spielen bei den tierischen Proteinen neben dem Kasein vor allem Proteine aus Rind-, Schweine- und Geflügelfleisch sowie Fisch weltweit eine bedeutende Rolle. Deshalb sollten in einem zweiten Versuch Proteine, die aus Rind-, Schweine- und Putenfleisch sowie Filets vom Seelachs isoliert wurden, mit Kasein und Sojaprotein bezüglich ihrer Wirkung auf den Lipidstoffwechsel verglichen werden. Diese Studie zeigte, dass Proteine von Rind-, Schweine- und Putenfleisch ähnliche Wirkungen auf den Cholesterinstoffwechsel der Ratte haben wie Kasein. Die bemerkenswertesten Unterschiede zwischen den tierischen Proteinen zeigten sich bei ihren Wirkungen auf den Triglyceridstoffwechsel. Ein interessantes Ergebnis hierbei war der Triglycerid-senkende Effekt von Proteinen aus Schweinefleisch im Vergleich zu Kasein. Obwohl weder die Konzentration noch die Genexpression des SREBP-1c gemessen wurde, weist die verminderte Aktivität von FAS und G6PDH in der Leber auf eine verminderte Lipogenese hin, vermittelt über SREBP-1c. Proteine aus Rind- und Putenfleisch reduzierten ebenfalls die Triglyceridkonzentrationen in Leber und Plasma im Vergleich zu Kasein, die Unterschiede waren allerdings nicht signifikant.

Proteine, die aus Fischfilets isoliert wurden, beeinflussten den Cholesterinstoffwechsel. Ratten, die Fischproteine erhielten, hatten eine höhere Konzentration an Cholesterinestern in der Leber, eine höhere Gallensäureexkretion über Fäces und eine niedrigere Cholesterinkonzentration in den HDL. Außerdem führte die Fütterung von Fischprotein zu niedrigeren Triglyceridkonzentrationen im Plasma als die Fütterung von Kasein. Da erstens wenig über die Wirkung von Fischproteinen auf den Lipidmetabolismus bekannt ist und zweitens die beobachteten Effekte bestätigt werden sollten, wurde ein dritter Versuch durchgeführt. Neben Fischprotein und den beiden Kontrollen Sojaprotein und Kasein wurden Erbsen- und Lupinenproteine als weitere pflanzliche Proteine eingesetzt. In diesem Versuch wurden zusätzliche Genexpressionsanalysen mittels cDNA-Arrays durchgeführt. Die Haupteffekte des Fischproteins im Vergleich zu Kasein auf den Cholesterinstoffwechsel waren Anstieg der Cholesterinkonzentration in der Leber, Senkung der Cholesterinkonzentration in den HDL sowie stimulierte Genexpression von SR-BI, SREBP-2

und, in geringerem Umfang, von HMG-CoA-Synthase und LDL-Rezeptor, welche Zielgene von SREBP-2 sind und folglich auf eine Aktivierung dieses Transkriptionsfaktors hinweisen. Trotz erhöhter Cholesterinakkumulation in der Leber von Ratten, die Fischprotein erhielten, war die Cholesterinkonzentration im Plasma dieser Tiere nicht höher als bei denen, die Kasein erhielten. Möglicherweise hat die höhere Genexpression des LDL-Rezeptors in der Leber von Ratten der Fischproteingruppe zu einer höheren LDL-Aufnahme aus dem Plasma in die Leber beigetragen und somit eine Akkumulation von LDL im Plasma verhindert.

Die HDL vermitteln prinzipiell den Abtransport von überschüssigem Cholesterin aus den peripheren Geweben zur Leber. In den HDL-Metabolismus sind mehrere Gene involviert: Apo-AI, eine Strukturkomponente der HDL, SR-BI, verantwortlich für selektive Aufnahme von HDL-Cholesterin in die Leber, sowie LCAT, welches für die Veresterung des Cholesterins verantwortlich ist und somit für optimale Cholesterinaufnahme und Reifung der HDL entscheidend. Da die Expression von Apo-AI und LCAT bei den Tieren der Fischprotein- und der Kaseingruppe gleich waren, könnte bei der Fischproteingruppe die höhere Expression von SR-BI für das geringere HDL-Cholesterin verantwortlich sein.

Insgesamt weisen die Ergebnisse auf deutliche Effekte von Seelachsprotein auf Plasma- und Leberlipide hin, welche, zumindest teilweise, durch eine modifizierte Expression von Genen, die für den Lipidstoffwechsel relevant sind, bedingt sind.

Erbsen- und Lupinenprotein senkten die Cholesterinkonzentrationen in Leber und VLDL sowie die Triglyceridkonzentrationen in Leber, Plasma, VLDL und LDL. Wie auch für Sojaprotein festgestellt, konnten diese Proteine nicht die Cholesterinkonzentration im Plasma beeinflussen. Wir vermuten, dass die Wirkungen der beiden Proteine ebenfalls auf eine verminderte Lipidsynthese in der Leber zurückzuführen sind, obwohl weder Expression noch Aktivitäten von relevanten Proteinen gemessen wurde.

Da beschrieben wurde, dass Taurinsupplementierung die Triglyceridkonzentration in Leber und Plasma bei Ratten senkt, könnte auch die erhöhte Plasmataurinkonzentration, die bei den Tieren, die pflanzliche Proteine erhielten, gemessen wurden, zu den niedrigeren Lipidkonzentrationen beigetragen haben. Ebenso könnte die Aminosäurezusammensetzung der Diätproteine für die Effekte auf den Lipidstoffwechsel verantwortlich sein. Deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Proteinen betrafen hierbei Cystein, Glycin, Arginin, Lysin, Methionin, Asparaginsäure, Prolin und Valin.

Obwohl die Ergebnisse nicht direkt auf die menschliche Ernährung übertragen werden können, sind beim Menschen ähnliche Effekte auf den Lipidstoffwechsel zu erwarten.