

Von grünem Tee, schwarzem Pfeffer und Amyloidosen.

Klaus Altland, Rupert Schreiner, Werner Hunstein

Nach der Diagnose einer AL-Amyloidose im Jahr 2004 und konventioneller Behandlung mittels Chemotherapie begann Werner Hunstein (WH) im September 2006 mit dem Konsum von grünem Tee. Er hatte einen Hinweis auf eine Laboruntersuchung erhalten, die später in der Zeitschrift *Nature* detailliert beschrieben wurde (Ehrnhöfer et al. 2008). Aus dieser Arbeit geht hervor, dass der Hauptinhaltsstoff des grünen Tees, das Epigallocatechingallat (EGCG) in der Lage ist, eine Bindung an denaturiertes Eiweiß einzugehen und dadurch die Entstehung von unlöslichem Amyloid zu verhindern. Die untersuchten Eiweißstoffe waren in diesem Fall das α -Synuclein und das Amyloid- β -Protein, die bei der Entstehung der Parkinsonschen und Alzheimerischen Erkrankung eine Rolle spielen.

Nach einem halben Jahr Konsum von täglich etwa 2 Litern Grüntee (10-12 g pro Liter grüner Darjeeling gebrüht über 5 Minuten bei 70 °C) hatten sich seine verdickte Zunge und seine deutlich verdickten Herzwände wieder in die Nähe der Norm zurückentwickelt. Diese für ihn so erfreuliche Beobachtung hat er in einem Brief an den Herausgeber der Zeitschrift *Blood* dargestellt (Hunstein 2007).

Im Rahmen einer Untersuchung aus Hamburg konnte nachgewiesen werden, dass EGCG die Amyloidbildung aus einem Fragment der sauren Prostataphosphatase des menschlichen Samens verhindert und schon gebildete Amyloidfibrillen abgebaut werden (Hauber et al. 2009). Eine Laboruntersuchung aus Portugal kommt zu dem Ergebnis, dass EGCG die Bildung von Transthyretinamyloid hemmt und gebildetes Amyloid abbauen kann (Ferreira et al. 2009).

Aus einer Untersuchung handelsüblicher Grüntees durch Henning et al. (2003) geht hervor, dass nach 3 Minuten Brühen von 10 g Tee in einem Liter kochendem Wasser durchschnittlich 340 mg EGCG (range: 280 – 470 mg) zusammen mit 260 mg Koffein (range: 160 – 380 mg) in den Tee übergehen. Nach Brühen bei 70 °C über 5 statt 3 Minuten könnte eine ähnliche Ausbeute vermutet werden. Hieraus ergibt sich, dass Hunstein mit einem täglichen Konsum von 2 Litern Grüntee etwa 700 mg EGCG und 500 mg Koffein zu sich genommen haben könnte.

Grüner Tee ist seit über 4000 Jahren bekannt. In Südostasien ist der tägliche Konsum von >1,5 Litern nicht ungewöhnlich. Der Begriff „Asiatisches Paradox“ bezeichnet das Phänomen, dass in Bevölkerungen Asiens trotz eines extrem hohen Zigarettenkonsums eine niedrige Mortalität durch Herz-Kreislauf-erkrankungen und Lungenkrebs besteht (siehe: Sumpio et al. 2006). Der hohe Grüntee-Konsum wird hierfür verantwortlich gemacht. Eine prospektive Studie aus Japan kommt zu dem Ergebnis, dass ein erhöhter Grüntee-Konsum mit einer erniedrigten allgemeinen und Herz-Kreislauf-bedingten Mortalität einhergeht, die Sterberate durch Krebs bei hohem und niedrigem Teekonsum aber etwa gleichbleibt (Kuriyama et al. 2006). Eine andere (prospektive) Studie aus Japan kommt zu dem Ergebnis, dass das Risiko, an Blutkrebs zu erkranken, bei einem Konsum von > 0,5 Liter Grüntee deutlich erniedrigt ist (Naganuma et al. 2009). Zahlreiche andere Wirkungen werden dem Grüntee und seinen Inhaltsstoffen zugeschrieben. Wir möchten darauf an dieser Stelle nicht eingehen und auf die Literatur verweisen.

Der Gesundheit abträgliche Wirkungen eines hohen Grünteekonsums sind nicht bekannt oder das im Grüntee enthaltene Coffein wird hierfür verantwortlich gemacht. Bei Herzkreislaufpatienten ergibt sich gelegentlich das Problem, dass der Coffeingehalt und das mit einem hohen Grünteeconsum verbundene Flüssigkeitsvolumen nicht vertragen werden. Bei den sogenannten systemischen Amyloidosen muss damit gerechnet werden, dass die Erkrankung im Verdauungstrakt eine verminderte Resorption der angebotenen Nährstoffe bewirkt und dass diese Einschränkung auch das EGCG aus dem grünen Tee betrifft. Es erscheint daher wünschenswert herauszufinden, wie bei geringer Belastung auch bei den genannten Patienten ein möglichst hoher Blutspiegel des EGCG erreicht werden kann.

Hier bieten sich im Handel frei verfügbare verkapselte Grünteeextrakte (GTE) an. Lee et al. (2002) fanden nach Gabe von 70 mg EGCG als GTE einen maximalen EGCG-Plasmaspiegel von 0,05 µmol/L. Henning et al. (2004) fanden nach Gabe von 190 mg oder 0,4 mmol EGCG aus GTE einen maximalen EGCG-Plasmaspiegel von 0,15 µmol/L. Ullmann et al. (2003) fanden etwa 1,5 Stunden nach Nüchtereinnahme von 50 bis 1600 mg (0,1 bis 3,5 mmol) reinem EGCG bei jeweils 8 gesunden Versuchspersonen durchschnittliche EGCG-Plasmaspiegel von 0,3 bis 7,4 µmol/L. Chow et al. (2005) fanden nach Gabe von 400, 800 und 1200 mg (0,9, 1,7 und 2,8 mmol) EGCG als GTE maximale EGCG-Plasmaspiegel von 0,3, 0,6 und 2 µmol/L, wenn der GTE mit einer Mahlzeit eingenommen wurde. Wenn die GTE-Einnahme nüchtern erfolgte, ergaben sich deutlich höhere EGCG-Plasmaspiegel von 1,7, 3,3 und 7,4 µmol/L. Soweit angegeben wurden die maximalen EGCG-Plasmaspiegel bei den hier angeführten Untersuchungen nach 1,3 bis 4 Stunden erreicht. Danach sanken die Plasmaspiegel innerhalb von 2 bis 5 Stunden auf die Hälfte des Maximalwerts.

Eine Phase I Langzeitstudie über 6 Monate bei Patienten mit Tumoren (Pisters et al. 2001) hat gezeigt, dass eine Dosis von 3-mal täglich 1 g GTE/m² (mit 132 mg EGCG und 68 mg Koffein, Tagesdosis: 630 – 880 mg EGCG, 330 – 460 mg Koffein) gut vertragen wird. Bei höheren Dosen wurden Nebenwirkungen beobachtet, die dem im verwendeten GTE enthaltenen Koffein zugeschrieben wurden. In einer Phase I Studie bei Patienten mit Chronisch Lymphozytärer Leukämie (CLL) (Shanafeldt et al. 2009) wurden über einen Zeitraum von mindestens 6 Monaten zweimal täglich 400 bis 2000 mg EGCG als koffeinfreier GTE eingenommen. Die Studie kommt zu dem Schluss, dass die verwendeten EGCG-Dosen in der Regel gut vertragen werden. In beiden Studien wurde jede Einzeldosis mit einer Mahlzeit aufgenommen, weil Bedenken gegen eine Nüchtereinnahme von Seiten der Zulassungskommissionen vorgetragen wurden.

Die oben genannten Studien zur Bioverfügbarkeit von EGCG im Blutplasma haben gezeigt, dass von der jeweils eingenommenen EGCG-Dosis nur wenig im Blutplasma ankommt. Wenn gegen die Nüchtereinnahme hoher EGCG-Dosen Bedenken bestehen, stellt sich die Frage, ob nicht alternative Wege gefunden werden können, die Bioverfügbarkeit des EGCG mit kleineren Dosen zu steigern. Einen solchen Weg möchten wir hier aufzeigen.

Das Polyphenol EGCG ist ein starkes Antioxidanz, das schon im Magendarmtrakt durch Reaktion mit Inhaltsstoffen des Darms in beträchtlichem Ausmaß vor der Passage durch die Darmwand verbraucht werden kann und möglicherweise hierdurch eine wesentliche vor Krankheit schützende Wirkung entfaltet (siehe Halliwell et al. 2005). Green et al. (2007) haben durch *in vitro* Simulationsexperimente gezeigt, dass ein hoher Anteil des EGCG in den Säften des Magens und oberen Darmtrakts durch Oxidation verloren geht und dass man diesen Verlust durch Vitamin C weitgehend

verhindern kann. Shoba et al. (1998) zeigten, dass der Plasmaspiegel von Curcumin beim Menschen um den Faktor 20 durch die gleichzeitige Aufnahme von 20 mg Piperin, dem Wirkstoff des schwarzen Pfeffers, gesteigert werden kann. Im Tierversuch zeigten Lambert et al. (2004), dass auch für EGCG eine Steigerung der Bioverfügbarkeit durch Piperin nachweisbar ist. Was lag näher, als diese Versuche durch ein *in vivo* Experiment beim Menschen unter Verwendung von EGCG, Vit. C und Piperin zu überprüfen?

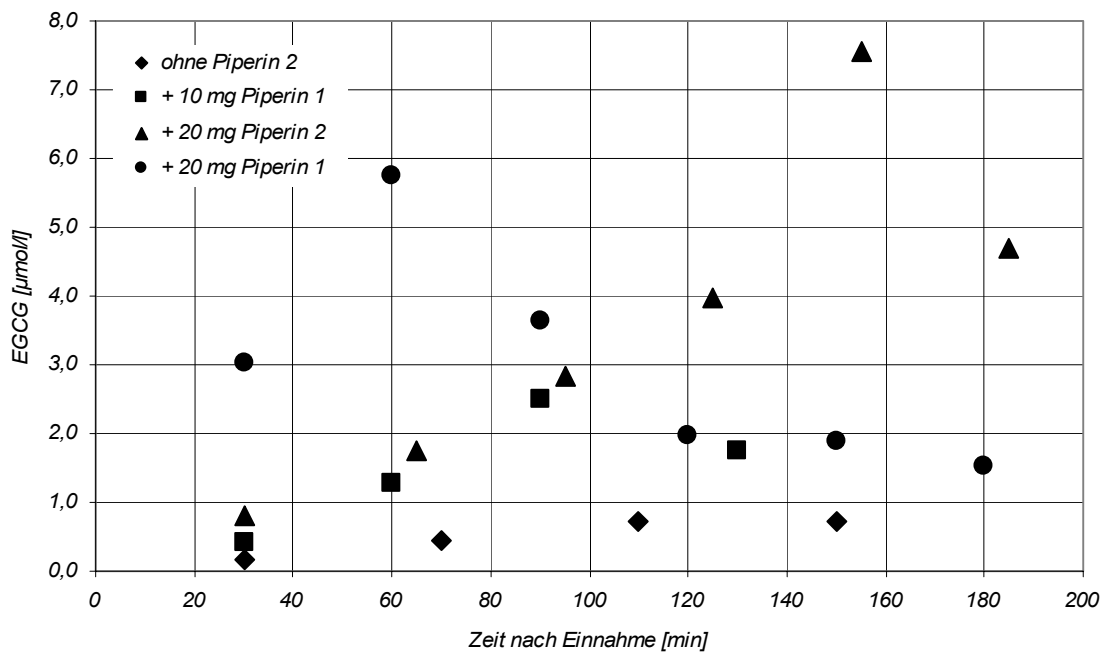
Zunächst hat Rupert Schreiner (RS) auf Anregung von WH einen Test zur Messung des EGCG-Spiegels im menschlichen Blutplasma aufgebaut. Dieser Test erfasst ausschließlich das im Plasma unveränderte und freie (nicht an Eiweiß gebundene) EGCG. Da EGCG bei einem pH-Wert > 7 schnell seine ursprüngliche Struktur verliert, sich leicht an Eiweiß bindet und leicht oxidiert, wird die entnommene Blutprobe sofort auf Eis gekühlt, das Plasma oder Serum in der Kühlzentrifuge von der Zellfraktion getrennt und in kleinen Fraktionen (1 ml) in Röhrchen abgefüllt, die Vit. C und einen sauren Phosphatpuffer enthalten. Diese von RS präparierten Röhrchen werden dann sofort in der Tiefkühltruhe eingefroren und bei nächster Gelegenheit auf Trockeneis an das Labor von RS zur Analyse geschickt.

Dann hat sich Klaus Altland (KA) verkapseltes EGCG in koffeinfreiem GTE und verkapseltes Piperin beschafft. Zusammenfassungen über Piperin findet man u. a. bei Skrinivasan (2007) und in einer ausführlichen Informationsbroschüre von Sabinsa, dem Hersteller eines Extraktes von Piperin aus schwarzem Pfeffer (siehe Mejeed et al. 1999). Danach liegt der tägliche Durchschnittsverbrauch eines amerikanischen Bürgers bei etwa 360 mg Pfeffer oder 18 - 32 mg Piperin. Die Wirkdosis zur Steigerung der Bioverfügbarkeit von Nährstoffen wird für eine 70 kg schwere Person mit 28 - 56 mg angegeben. Hieraus wurde die Zusammensetzung der Testdosis für den Selbstversuch abgeleitet: 450 mg EGCG plus 20 mg Piperin plus 200 mg Vitamin C. Diese Testdosis setzt sich zusammen aus dem Inhalt von etwa 1,5 Litern Grüntee, 4 Pfefferkörnern und weniger als der Hälfte der Menge an Vitamin C (450 mg), die unsere Steinzeitvorfahren täglich in ihrem Speiseplan vorfanden.

Die folgende Abbildung zeigt die ersten Ergebnisse (November 2008) über den Verlauf der EGCG-Plasmaspiegel nach Einnahme der Testdosis mit und ohne Piperin. Die Einnahme erfolgte nüchtern oder 2,5 Stunden nach dem Frühstück. Wie man sieht, wurden ohne Piperin maximale Plasmaspiegel von bis zu 0,7 µmol/L erreicht. Zusammen mit 20 mg Piperin allerdings ergab sich ein maximaler Plasmaspiegel von 5,8 bis 7,6 µmol/L also die 8 bis 10-fache Plasmakonzentration an EGCG oder etwa der Spiegel, der in den Versuchen von Ullmann et al. (2003) mit der Nüchtereinnahme von 1600 mg EGCG erzielt wurde. Auffällig ist auch, dass der maximale EGCG-Plasmaspiegel im selben Individuum zu unterschiedlichen Zeiten nach der Doseinnahme erreicht werden kann. Möglicherweise spielt hier der zeitliche Abstand zur letzten Mahlzeit eine wichtige Rolle.

Die Ergebnisse eines Tests auf intraindividuelle Reproduzierbarkeit der Wirkung von Piperin auf den EGCG-Plasmaspiegel sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben. Auffällig sind die recht hohe Konstanz der erzielten EGCG-Plasmaspiegel an verschiedenen Testtagen und die große Abhängigkeit der EGCG-Plasmaspiegel vom zeitlichen Abstand zwischen Dosis- und Nahrungsaufnahme (siehe Hervorhebung).

EGCG Plasmaspiegel nach Einnahme von 450 mg EGCG + 200 mg Vit. C +/- Piperin nüchtern(1) oder 2,5 h nach Mahlzeit (2)



Bioverfügbarkeit von EGCG nach wiederholter Einnahme von EGCG aus Grünteeextrakt, Vit. C und Piperin

Datum	Uhrzeit			Testdosis			EGCG Plasmaspiegel	
	Frühstück	Einnahme Dosis	Blutentnahme	mg EGCG	mg Vit. C	mg Piperin	µg/l	µmol/l
05.02.2009	7:00	9:53	12:27	450	200	20	1014	2,2
09.02.2009	7:00	9:30	12:00	450	200	20	895	2,0
11.02.2009	7:00	10:30	13:00	450	200	20	978	2,1
13.02.2009	7:00	9:35	12:00	450	200	20	815	1,8
16.02.2009	7:00	9:30	12:00	450	200	10	922	2,0
20.02.2009	7:00	9:30	12:00	450	200	10	777	1,7
18.02.2009	7:00	9:30	12:00	450	200	10	831	1,8
23.02.2009	7:00	9:30	12:00	450	200	10	739	1,6
23.02.2009	7:00	9:30	12:00	450	200	10	825	1,8
12.03.2009	10:00	7:00	9:30	450	200	20	2180	4,8
13.03.2009	7:00	7:00	9:30	450	200	20	392	0,9

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Epidemiologische Untersuchungen zeigen, dass eine Beziehung zwischen Grüntee-konsum und dem Risiko für Krebs- und Herz-Kreislauf-erkrankungen besteht. Labor- versuche zeigen, dass EGCG die Entstehung von Amyloid verschiedener

Zusammensetzung verhindern und bestehendes Amyloid abbauen kann. In beiden Fällen besteht eine positive Korrelation zwischen EGCG-Dosis und erwünschter Wirkung. Der oben beschriebene Selbstversuch von WH zeigt, dass mit der in 2 Litern Grüntee enthaltenen EGCG-Dosis ein Abbau von Amyloid erzielt werden kann. Die hier dargestellten Selbstversuche von KA zeigen, dass hohe EGCG-Plasmaspiegel erzielt werden können, wenn die Dosisaufnahme nüchtern und zusammen mit Vit. C und Piperin erfolgt. Die Wirkung von Piperin geht verloren, wenn die EGCG-Einnahme zusammen mit einer Mahlzeit erfolgt. Da eine erhöhte Bioverfügbarkeit durch Piperin für verschiedene Medikamente ebenfalls nur nach Nüchtereinnahme beobachtet wurde, sollten keine Probleme entstehen, wenn die Einnahme von EGCG mit Piperin nüchtern und die Einnahme von Medikamenten zusammen mit einer Mahlzeit erfolgen. Durch täglich mehrmalige Einnahme der hier verwendeten Testdosis könnte wahrscheinlich ohne Nebenwirkungen ein deutlich höherer Dauerspiegel an EGCG als allein durch Teetrinken möglich erzielt werden. In diesem Zusammenhang möchten wir auf eine mehrfach beobachtete hepatotoxische Wirkung nach langfristiger Einnahme von Grünteeextrakten hinweisen (EFSA 2009)). Die hier beschriebenen Selbstversuche sollten durch Studien an größeren Kollektiven überprüft werden. Solange Ergebnisse solcher Studien nicht vorliegen, sollten Versuche, unsere Ergebnisse zu reproduzieren, nur unter ärztlicher Kontrolle unter besonderer Berücksichtigung hepatotoxischer Effekte stattfinden.

Im Dezember 2008 hat WH von Grüntee auf 2-mal täglich 450 mg EGCG, 20 mg Piperin und 200 mg Vit. C umgestellt. Wegen wohl krankheitsbedingt zu niedrig ausfallender EGCG-Plasmaspiegel ($< 0,1 \mu\text{mol/L}$) einhergehend mit Wiederanschwellen der Zunge und Zunahme der Herzwanddicke hat er seit Juli 2009 die Dosis auf 3-mal täglich 900 mg EGCG, 20 mg Piperin und 200 mg Vit. C erhöht. Nebenwirkungen sind nicht aufgefallen, Herzwand und Zunge haben sich normalisiert (siehe: <http://www.hunstein-egcg.de>). Sein EGCG-Plasmaspiegel liegt jetzt zwischen 0,4 und 1,3 $\mu\text{mol/Liter}$. Die offensichtlich sehr unterschiedlich ausfallenden individuellen EGCG-Plasmaspiegel geben Anlass zu der Empfehlung, die Einnahme von Grünteeextrakten mit einer wiederholten Kontrolle der Plasmaspiegel zu verbinden und die Dosierung an den erzielten Plasmaspiegeln auszurichten. Unter Berücksichtigung der Erfahrung aus dem Selbstversuch von WH erscheinen Plasmaspiegel von 0,4 bis 1,3 $\mu\text{mol/L}$ EGCG (gemessen 2 Stunden nach Einnahme des Grünteeextrakts) notwendig und hinreichend, um die erwünschte Wirkung zu erzielen. Die hier beschriebenen Versuche zeigen, wie diese Plasmaspiegel erreicht werden können.

Autoren:

Prof. Dr. med. K. Altland, klaus.altland@humangenetik.med.uni-giessen.de

Dr. rer. nat. R. Schreiner, rupert.schreiner@labor-limbach.de

Prof. Dr. med. W. Hunstein, werner.hunstein@urz.uni-heidelberg.de

1. Version: November 2009; diese Version: Juli 2010

Quelle: http://www.ukgm.de/ugm_2/deu/ugi_hum/EGCG_Piperin.pdf

Literatur

- Chow CH-H, Cai J, Hakim IA, Crowell JA, Shahi F, Brooks CA, Dorr RT, Hara Y, Alberts DS: Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin gallate and Polyphenon E in healthy individuals. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3312-3319
- EFSA: Advice on the EFSA guidance document for the safety assessment of botanicals and botanical preparations intended for use as food supplements, based on real case studies. *EFSA J* 2009; 7(9):280
- Ehrnhoefer DE, Bieschke J, Boeddrich A, Herbst M, Masino L, Lurz R, Engemann S, Pastore A, Wanker EE: EGCG redirects amyloidogenic polypeptides into unstructured, off-pathway oligomers. *Nature Struct & Molec Biol* 2008; 15: 558-566
- Ferreira N, Cardoso I, Domingues MR, Vitorino R, Bastos M, Bai G, Saraiva MJ, Almeida MR: Binding of epigallocatechin-3-gallate to transthyretin modulates its amyloidogenicity. *FEBS Letters* 2009; 583: 3569-3576
- Green RJ, Murphy AS, Schulz B, Watkins BA, Ferruzzi MG: Common tea formulations modulate in vitro digestive recovery of green tea catechins. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 1152-1162
- Halliwel B, Rafter J, Jenner A: Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr* 2005; 81 (suppl): 268S-276S
- Henning SM, Fajardo-Lira C, Lee HW, Youssefian AA, Go VLW, Heber D: Catechin content of 18 teas and green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. *Nutrition & Cancer* 2003; 45: 226-235
- Henning SM, Niu Y, Lee NH, Thames GD, Minutti RR, Wang H, Go VLW, Heber D: Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1558-1564
- Hauber I, Hohenberg H, Holstermann B, Hunstein W, Hauber J: The main green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate counteracts semen-mediated enhancement of HIV infection. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106: 9033-9038
- Hunstein W: Epigallocatechin-3-gallate in AL amyloidosis: a new therapeutic option? *Blood* 2007; 110: 2216
- Kuriyama S, Shimazu T, Ohmori K, Nakaya N, Nishimo Y, Tsubono Y, Tsuji I: Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan. The Okasaki Study. *JAMA* 2006; 296: 1255-1265
- Lee M-J, Maliakal P, Chen L, Meng X, Bondoc FY, Prabhu S, Lambert G, Mohr S, Yang CS: Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)-epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability. *Cancer Epidemiol, Biomarkers & Prevention* 2002; 11: 1025-1032
- Majeed M, Badmaev V, Prakash L: Bioperine® Nature's own thermotransport® and natural bioavailability enhancer. Nutriscience Publishers, Inc., Piscataway, NJ, USA 1998, ISBN 0-9647856-6-8

- Naganuma T, Kuriyama S, Kakisaki M, Sone T, Nakaya N, Ohmori-Matsuda K, Hozava A, Nishino Y, Tsuji I: Green tea consumption and hematologic malignancies in Japan. The Okasaki Study. *Am J Epidemiol* 2009; 170: 730-738
- Pisters KMW, Newman A, Coldman B, Shin DM, Khuri FR, Hong WK, Glisson BS, Lee JS: Phase I trial of oral green tea extract in adult patients with solid tumors. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1830-1838
- Shanafeldt TD, Call TG, Zent CS, et al.: Phase I trial of daily oral Polyphenon E in Patients with asymptomatic Rai Stage 0 to II Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3808-3814
- Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PSSR: Influence of Piperine on the pharmacokinetics of Curcumin in animals and human volunteers. *Planta Medica* 1998; 64: 353-356
- Srinivasan K: Black pepper and its pungent principle-Piperine: A review of diverse physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007; 47: 735-748
- Sumpio BE, Cordova AC, Berke-Schlessel D, Qin F, Chen QH: Green tea, the "Asian Paradox", and cardiovascular disease. *Am Coll Surg* 2006; 202: 813-825
- Ullmann U, Haller J, Decourt JP, Girault N, Girault J, Richard-Caudron AS, Pineau B, Weber P: A single ascending dose study of epigallocatechin gallate in healthy Volunteers. *J Int Med Res* 2003; 31: 88-101