

Benfotiamine exhibits direct antioxidative capacity and prevents induction of DNA damage in vitro

Schmid U, Stopper H, Heidland A, Schupp N

Diabetes Metab Res Rev 2008; 24: 371-337

Zusammenfassung / Fazit

In in-vitro-Zellversuchen an Nierenzelllinien wurden die antioxidativen und DNA-protektiven Eigenschaften von Benfotiamin geprüft. Oxidativer Stress in den Zellen, ausgelöst durch verschiedene Substanzen, wird durch gleichzeitigen Zusatz von Benfotiamin verringert oder ganz verhindert. Von Angiotensin II verursachte DNA-Schädigungen werden von Benfotiamin komplett verhindert, während Thiamin keine Wirkung zeigt. Der Zusatz von Benfotiamin bewirkt in den Zellen die verstärkte Expression von Transketolase und die Erhöhung der Transketolase-Aktivität. Außerdem zeigt Benfotiamin eine direkte antioxidative Wirkung. Diese könnte bei der Verbesserung von diabetischen Spätschäden, einschließlich der peripheren Neuropathie, von Bedeutung sein.

Einleitung / Problemstellung

Diabetische Patienten sind erhöhtem oxidativen Stress ausgesetzt. Dieser spielt in der Pathogenese mikro- und makrovaskulärer Erkrankungen eine Schlüsselrolle.

Gegenstand / Ziel der Arbeit

Nachweis der antioxidativen und DNA-protektiven Eigenschaften von Benfotiamin im Zellversuch

Studiendesign / Methodik

- ◆ Studiendesign:
In vitro-Zellversuche an drei verschiedenen Nierenzelllinien. In den Zellen wird oxidativer Stress ausgelöst. Jeder Versuch wird mindestens drei Mal durchgeführt.
- ◆ Nierenzelllinien:
 - HEK:
Humane embryonale Nierenzelllinie in Glucoselösung (4.5 g/l)
 - REK:
Epitheliale Ratten-Nierenzelllinie in Glucoselösung (4.5 g/l)
 - LLC:
Epitheliale Schweine-Nierenzelllinie in Glucoselösung (1.0 g/l)
- ◆ Oxidativer Stress wird ausgelöst durch Zusatz von:
 - NQO (4-Nitroquinoline-1-oxid), 10.4 µM
 - IS (Indoxylsulfat), 250-1000 µM
 - Angiotensin II (200 nM)
- ◆ Prüfsubstanz:
Benfotiamin (300 µM)
Thiamin (300 µM) in Angiotensin II-Versuchen
- ◆ Prüfparameter:
 - Oxidativer Stress: Flusszytometrie

- DNA-Schädigung: Comet assay und Micronucleus-Test
- Transketolase Expression: semiquantitative RT-PCR (Reverse Transkriptase-Polymerkettenreaktion)
- Transketolaseaktivität: NADH-Oxidation
- Antioxidative Kapazität: FRAP-Test (Eisenreduzierende Fähigkeit)

Studienergebnisse

- ◆ Oxidativer Stress:
NQO, IS und Angiotensin II lösen in allen Versuchen oxidativen Stress aus. Dieser wird durch Benfotiamin reduziert (NQO, IS) oder komplett verhindert (Angiotensin II). Thiamin zeigt keine Wirkung auf oxidativen Stress ausgelöst durch Angiotensin II (NQO und IS nicht untersucht).
- ◆ Antioxidative Kapazität:
Im zellfreien FRAP-Test wird Eisen von Benfotiamin reduziert, jedoch nicht von Thiamin.
- ◆ DNA-Schädigung:
DNA-Schädigung, verursacht von Angiotensin II, wird von Benfotiamin ganz verhindert. Thiamin zeigt keine Wirkung.
Die in HEK-Zellen durch Angiotensin II gesteigerte Apoptose wird durch Benfotiamin reduziert.
- ◆ Transketolase Expression:
Unter Zusatz von Benfotiamin oder unter Zusatz von Benfotiamin plus Angiotensin II zeigen die Zellen eine vermehrte Gen-Expression von Transketolase.
- ◆ Transketolase-Aktivität:
Der Zusatz von Benfotiamin führt in allen drei Zelllinien zur Steigerung der Transketolaseaktivität. Thiamin zeigt diese Wirkung bei REK- und LLC-Zellen, nicht bei HEK-Zellen.