

MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Auswirkung einer oralen Einnahme von Xanthohumol auf die LPS-induzierte Immunantwort in Monozyten von normalgewichtigen und übergewichtigen Personen

verfasst von | submitted by

Nadine Spreitzhofer BSc

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of

Master of Science (MSc)

Wien | Vienna, 2025

Studienkennzahl lt. Studienblatt |
Degree programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student
record sheet:

Masterstudium Ernährungswissenschaften

Betreut von | Supervisor:

Univ.-Prof. Dipl. oec. troph. Dr. Ina Bergheim
Privatdoz.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die mich während der Erstellung dieser Masterarbeit auf vielfältige Weise unterstützt und begleitet haben.

Mein besonderer Dank gilt meiner Betreuerin, Frau Prof. Bergheim für ihre wertvolle Unterstützung, ihre fachliche Expertise und die stets konstruktiven Rückmeldungen.

Ebenso danke ich meiner Co-Betreuerin, Anja Baumann, für ihre hilfreichen Anmerkungen und ihre Unterstützung bei der Gestaltung meiner Forschungsfragen sowie der Datenauswertung.

Ein herzliches Danke geht auch an Katja Csarmann, mit der ich eng im Labor zusammenarbeiten durfte.

Von ganzem Herzen möchte ich meinen Eltern, Großeltern und meiner Schwester danken. Ihr stetiger Rückhalt, ihre Geduld und ihr Glaube an mich haben mir geholfen, auch in schwierigen Momenten weiterzumachen. Ohne ihre Liebe und Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Auch meiner Mama, meinem Cousin David und Ulrike danke ich besonders dafür, dass sie sich bereit erklärt haben, durch ihre Blutspende direkt zum Gelingen dieser Arbeit beizutragen. Euer Einsatz bedeutet mir sehr viel.

Inhalt

Danksagung.....	II
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	VIII
1. Einleitung.....	1
1.1. Übergewicht: Prävalenz und Folge.....	1
1.1.1. Prävalenz von Übergewicht.....	1
1.1.2. Folgen von Übergewicht: Entzündungsreaktion	2
1.2. Hopfeninhaltsstoffe: Eigenschaften von Xanthohumol und physiologische Wirkung	5
1.2.1. Chemische Struktur und Vorkommen.....	5
1.2.2. Bioverfügbarkeit und Metabolismus	7
1.2.3. Physiologische Wirkungen von Xanthohumol	8
1.3. Übergewicht und Hopfeninhaltsstoffe - Bisherige Erkenntnisse zur immunmodulatorischen Wirkung.....	10
1.4. Hypothese und Fragestellungen.....	11
2. Materialien	12
2.1. Chemikalien	12
2.1.1. Isolation und Stimulationsexperimente von humanen Monozyten	12
2.1.2. Vorbereitung und Durchführung von ELISA	12
2.1.3. Studiengetränk	13
2.2. Geräte und Verbrauchsmaterialien	14
2.2.1. Isolation und Stimulationsexperimente von humanen Monozyten	14
2.2.2. Vorbereitung und Durchführung von ELISA	14
2.2.3. Blutabnahme	15
2.2.4. Allgemeine Geräte & Verbrauchsmaterialien.....	16
2.3. Software	17
3. Methodik	18
3.1. Humanstudien	18
3.1.1. Probandenrekrutierung und Gruppeneinteilung	18
3.1.2. Herstellung des Studiengetränks	19

3.1.3.	Studie 1: Einfluss von Xanthohumol auf das Immunsystem bei übergewichtigen Personen mit beginnender metabolischer Störung.....	19
3.1.4.	Studie 2: Wirkung von Xanthohumol auf das Immunsystem bei normalgewichtigen Personen	20
3.2.	Isolation von humanen Monozyten aus Blutproben	21
3.2.1.	Isolation von Monozyten aus Blutproben	21
3.2.2.	LPS-Stimulation der Monozyten	22
3.3.	Analyse der Immunantwort mittels ELISA	23
3.4.	Statistische Analyse.....	24
4.	Ergebnisse	26
4.1.	Charakterisierung der Probanden	26
	Anthropometrische und metabolische Unterschiede	26
4.2.	Zytokinfreisetzung in LPS-stimulierten Monozyten	28
	Unterschiede zwischen Normal- und Übergewichtigen	28
4.3.	Effekt von Xanthohumol auf die Immunantwort	30
5.	Diskussion.....	34
5.1.	Unterschied in der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen durch LPS-stimulierte Monozyten bei Übergewichtigen vs. Normalgewichtigen.	
	35	
5.2.	Einfluss der Aufnahme einer physiologisch-relevanten Konzentration von Xanthohumol auf die LPS-vermittelte Immunantwort bei Normal- und Übergewichtigen im zeitlichen Verlauf.	37
6.	Schlussfolgerung & Ausblick	40
	Veränderungen in der Immunantwort und potenzielle Rolle von bioaktiven Substanzen wie Xanthohumol.....	40
7.	Zusammenfassung.....	42
	Summary	44
	Literaturverzeichnis	46
	Anhang	55
I.	Herstellung des Studiengetränks	55
II.	Isolation von Monozyten.....	55
	Herstellung des RPMI-1640 Mediums	55
III.	ELISA Reagenzien.....	56
	Herstellung des Phosphate Buffered Saline	56

<i>Herstellung des Reagent Diluent</i>	56
<i>Herstellung des Waschpuffers</i>	57
<i>Verdünnung der Capture und Detection Antikörper</i>	57
<i>Verdünnungen der Standards</i>	58

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Durch Fettleibigkeit verursachte zelluläre Funktionsstörungen fördern die Insulinresistenz.	3
Abbildung 2: Mögliche zelluläre Mechanismen der durch Fettleibigkeit verursachten Insulinresistenz.....	5
Abbildung 3: Thermische Isomerisierungsreaktion von XN zu Isoxanthohumol.	6
Abbildung 4: Darstellung des Studientages.	20
Abbildung 5: Darstellung des Studientages.	21
Abbildung 6: Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen ex vivo mit in LPS stimulierten Monozyten übergewichtiger und normalgewichtiger Frauen.	28
Abbildung 7: Einfluss der oralen Aufnahme des xanthohumolhaltigen Extraktes (0,75mg Xanthohumol) im Zeitverlauf auf die Proteinkonzentration von proinflammatorischen Zytokinen im Zellüberstand humaner Monozyten nach 6h Stimulation mit LPS in Abhängigkeit von Körpergewicht.....	31

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Proben Verdünnungen.....	24
Tabelle 2: ELISA Durchführung.....	24
Tabelle 3: Basischarakteristika der Probandinnen	26
Tabelle 4: Zusammensetzung Studiengetränk und Placebo.....	55
Tabelle 5: Zusammensetzung RPMI-1640-Medium	56
Tabelle 6: Zusammensetzung PBS	56
Tabelle 7: Zusammensetzung RD	57
Tabelle 8: Zusammensetzung Waschpuffer	57
Tabelle 9: Verdünnung Capture Antikörper.....	58
Tabelle 10: Verdünnung Detection Antikörper	58
Tabelle 11: Verdünnungen und Konzentrationen der Standards	59

Abkürzungsverzeichnis

BMI	Body Mass Index
BSA	Bovine Serum Albumin
CD14	Cluster of Differentiation 14
COA	Certificate of Analysis
CRP	C-reaktives Protein
DBPS	Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline
ddH ₂ O	zweifach-destilliertes Wasser
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Eppi	Eppendorf-Reaktionsgefäße
FBS	Fetal Bovine Serum
HCl	Salzsäure
HDL	High-density lipoprotein
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
IFN-γ	Interferon-gamma
IKK	IκB-Kinase-Komplex
IL-1β/IL-6	Interleukin-1-beta/Interleukin-sechs
iNOS/Nos2	induzierbare Stickstoffmonoxid (NO)-Synthase
IRF-1	Interferon-Regulatorfaktor 1
IX	Isoxanthohumol
JNK	C-Jun-N-terminale Kinase
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
konz.	Konzentriert
LPS	Lipopolysaccharide
LTA	Lipoteichonsäure
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1

MD2	myeloid differentiation protein 2
MyD88	Myeloid differentiation primary response gene 88
NaCl	Natriumchlorid
Na ₂ HPO ₄	di-Natriumhydrogenphosphat
NaOH	Natronlauge
NF-κB	Nuclear Factor Kappa B
NG	Normalgewicht
NO	Stickstoffmonoxid
PBMCs	Periphere mononukleäre Blutzellen
PBS	Phosphate Buffered Saline
PL	Placebo
P/S	Penicillin Streptomycin Solution
RD	Reagent Diluent
RT	Raumtemperatur
SGOT	Serum-Glutamat-Oxalessigsäure-Transaminase
SGPT	Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase
STAT-1α	Signal Transducer and Activator of Transcription 1α
TLR	Toll-like-Rezeptor
TNF-α	Tumor Nekrose faktor – alpha
us	Unstimuliert
ÜG	Übergewicht
XN	Xanthohumol

1. Einleitung

1.1. Übergewicht: Prävalenz und Folge

1.1.1. *Prävalenz von Übergewicht*

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert Übergewicht und Adipositas als eine übermäßige oder abnorme Ansammlung von Körperfett, die mit einem erhöhten Risiko für gesundheitliche Komplikationen verbunden ist. Dabei wird ein Body-Mass-Index (BMI) über 25 kg/m^2 als Übergewicht und ein BMI über 30 kg/m^2 als Adipositas klassifiziert. 2019 wurden weltweit schätzungsweise fünf Millionen Todesfälle infolge nichtübertragbarer Erkrankungen (Non-Communicable Diseases, NCDs) auf einen erhöhten BMI zurückgeführt. (World Health Organisation, 2025)

Die Prävalenz von Übergewicht und Adipositas stellt weltweit eine der größten gesundheitlichen Herausforderungen dar und nimmt sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern stetig zu. Weltweit stieg der Anteil adipöser Kinder und Jugendlicher im Alter von 5 bis 19 Jahren zwischen 1990 und 2022 von 2 % auf 8 %. Bei Erwachsenen ab 18 Jahren hat sich die Prävalenz im gleichen Zeitraum von 7 % auf 16 % verdoppelt. (World Health Organisation, 2025)

2022 waren weltweit etwa 2,5 Milliarden Erwachsene ab 18 Jahren übergewichtig, wovon etwa 890 Millionen mit Adipositas lebten – entsprechend einer globalen Prävalenz von 43 % für Übergewicht und 16 % für Adipositas in der erwachsenen Bevölkerung. 2024 waren bei Kindern unter fünf Jahren etwa 35 Millionen von Übergewicht betroffen. Darüber hinaus waren im Jahr 2022 mehr als 390 Millionen Kinder und Jugendliche im Alter von 5 bis 19 Jahren übergewichtig, davon 160 Millionen mit Adipositas. (World Health Organisation, 2025)

In Österreich sind circa 35 % der über 15-Jährigen übergewichtig und etwa 17 % adipös. (Statistik Austria, 2019) Adipositas verursacht über 8 % aller Todesfälle unter 85 Jahren und knapp 5 % der Gesundheitsausgaben in Österreich. (Institut für höhere Studien, 2024) Dabei ist der Anteil an Übergewichtigen bei Kindern und Jugendlichen besonders besorgniserregend, da bereits jeder dritte Junge und jedes vierte Mädchen im Alter von acht Jahren einen BMI im Bereich von Übergewicht oder Adipositas aufweist. (Medizinische Universität Wien, 2022)

Einen signifikanten Anstieg von Übergewicht und Adipositas, besonders bei jungen Erwachsenen, zeigt eine Langzeitstudie der MedUni Wien, wobei sich bei Männern im Alter von 18 bis 19 Jahren der durchschnittliche BMI in den letzten 15 Jahren deutlich erhöht hat. (Medizinische Universität Wien, 2022)

Unter der Annahme, dass sich die historischen Trends fortsetzen, wird prognostiziert, dass die Gesamtzahl der Erwachsenen mit Übergewicht und Adipositas bis 2050 auf 3,80 Milliarden (95 % UI 3,39–4,04) ansteigen wird – das entspricht mehr als der Hälfte der dann erwarteten weltweiten erwachsenen Bevölkerung. (GBD 2021 Adult BMI Collaborators, 2025)

Die Ursachen für die Zunahme von Übergewicht sind multifaktoriell und umfassen umweltbedingte Einflüsse, genetische Prädispositionen, sowie individuelle Verhaltensweisen, vor allem Ernährung und körperliche Aktivität, tragen wesentlich zur Entstehung und Aufrechterhaltung bei. (Cox et al., 2015; World Health Organisation, 2025) Dabei unterstreicht die aktuelle Datenlage die Dringlichkeit für präventive Maßnahmen auf Bevölkerungsebene, um die Ausbreitung von Übergewicht und damit verbundenen Folgeerkrankungen zu stoppen.

1.1.2. Folgen von Übergewicht: Entzündungsreaktion

Übergewicht und Adipositas stellen bedeutende Risikofaktoren für zahlreiche chronische Erkrankungen dar. Dazu zählen besonders Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2, chronische Nierenerkrankungen, Atemwegserkrankungen sowie verschiedene Krebserkrankungen. (Cox et al., 2015; Williams et al., 2015) Dabei erhöht bereits leichtes Übergewicht das Risiko für diese nichtübertragbaren Erkrankungen, wobei das Risiko mit zunehmendem BMI weiter ansteigt. Schon Adipositas im Kindes- und Jugendalter ist mit einer Reihe gesundheitlicher Komplikationen verbunden und geht mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für ein dauerhaftes Übergewicht bis ins Erwachsenenalter einher. (Llewellyn et al., 2016; World Health Organisation, 2025)

Viele Ursachen von Übergewicht und Adipositas sind vermeidbar und potenziell reversibel. Obwohl weitere Faktoren ebenfalls eine Rolle spielen können, liegt der primäre Auslöser in einem Ungleichgewicht zwischen der Energieaufnahme und dem Energieverbrauch. (Apovian, 2016; Williams et al., 2015; World Health Organisation, 2025) Dabei stieg in den letzten Jahrzehnten weltweit der Konsum hochkalorischer

Lebensmittel, welche hohe Mengen an freien Zuckern und gesättigten Fetten enthalten, an, während die körperliche Aktivität in der Bevölkerung abnahm. Das wurde durch den Wandel in Lebens- und Arbeitsgewohnheiten, die zunehmende motorisierte Mobilität sowie die fortschreitende Urbanisierung bedingt. (Ahmed et al., 2021; World Health Organisation, 2025)

Neben der Reduktion der Energieaufnahme sollte auch die Ernährungsweise geändert werden. Außerdem ist regelmäßige körperliche Aktivität essenziell. Studien belegen, dass durch ausschließliches Stillen in den ersten sechs Lebensmonaten das Risiko für Übergewicht und Adipositas bereits im Säuglingsalter gesenkt werden kann. (World Health Organisation, 2025)

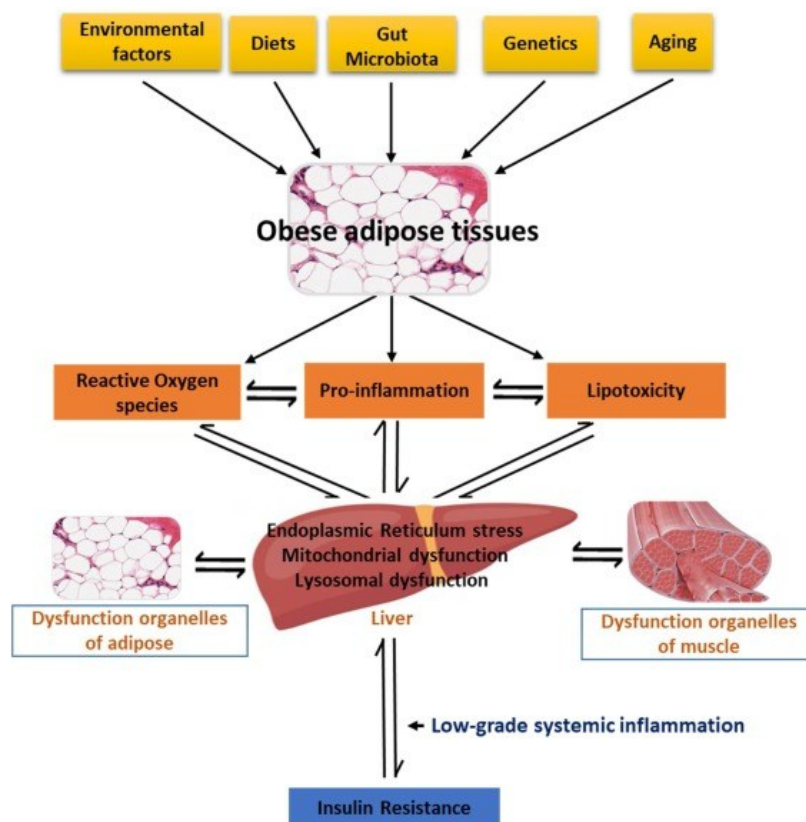


Abbildung 1: Durch Fettleibigkeit verursachte zelluläre Funktionsstörungen fördern die Insulinresistenz. Abbildung aus: Ahmed et al., 2021.

Übergewicht und Adipositas stehen in Zusammenhang mit einer chronisch-niedriggradigen, systemischen Entzündungsreaktion, welche als „Low-Grade-Inflammation“ bezeichnet wird. (Gregor & Hotamisligil, 2011) Dabei fungiert das viszerale Fettgewebe als aktives endokrines Organ, welches eine Vielzahl an proinflammatorischen Zytokinen darunter Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α),

Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-1 β (IL-1 β) und Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) produziert und freisetzt. (Ahmed et al., 2021)

Es wird davon ausgegangen, dass die Hauptursache für die Entwicklung dieser niedriggradigen Entzündung bei Insulinresistenz und Adipositas durch die Abnahme der Aktivität des Insulin-Signalwegs passiert. Durch die durch Adipositas induzierte Entzündung kommt es zum Eindringen von Immunzellen wie M1-Makrophagen, Interleukine und T-Zellen u.a. in Fettgewebe und Leber. Mehrere Signalwege darunter Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) und C-Jun-N-terminale Kinase (JNK) wirken als Mediatoren bei der Entstehung von Entzündungen und Insulinresistenz bei Adipositas. (Garg et al., 2023) Sogenannte M1- Makrophagen werden durch proinflammatorische Mediatoren beispielsweise Lipopolysaccharid (LPS) und Interferon- γ (IFN- γ) induziert. Diese produzieren verstärkt proinflammatorische Zytokine wie Tumornekrosefaktor - α (TNF- α), Interleukin- 6 (IL-6), Interleukin-12 (IL-12), Interleukin-1 β (IL-1 β) und erzeugen reaktive Sauerstoffspezies wie Stickstoffmonoxid (NO) durch Aktivierung der induzierbaren NO-Synthase (iNOS bzw. Nos2). (Coats et al., 2017; Schleh et al., 2023) Für die Immunzell-Aktivierung stellen Zytokine bzw. Chemokine wichtige Mediatoren dar. Bei Adipositas sind im Fettgewebe eine Vielzahl an Typ-1-Zytokinen, darunter TNF- α , erhöht und an der Aktivierung an Immunzellen im Fettgewebe beteiligt. TNF- α stellt dabei ein wichtiges Zytokin aus der Gruppe der M1-Makrophagen dar und ist gemeinsam mit den nachgeschalteten intrazellulären IKK (Inhibitor der Nuclearfaktor- κ B-Kinase)/NF- κ B- und JNK-Signalwegen entscheidend für induzierte M1-ähnliche Polarisation von Makrophagen des Fettgewebes und Entzündung. (Wu & Ballantyne, 2020)

Hält jedoch der Entzündungszustand an, werden proinflammatorische Zytokine von Immunzellen und Adipozyten in den Blutkreislauf freigesetzt, beispielsweise TNF- α , IL-6 und C-reaktives Protein (CRP). (Gonzalo-Encabo et al., 2021) Schreitet die Adipositas fort, kommt es in den hypertrophierten Adipozyten zu Fibrose, Zellnekrose und Apoptose, sowie einer Induktion dieses niedriggradigen, systemischen, proinflammatorischen Zustandes sowie einer Dysfunktion des Fettgewebes. Nach Einleitung der Entzündungsreaktion, kommt es zur Verstärkung durch die Rekrutierung von Makrophagen zu Fettgewebe, woraufhin es zur Insulinresistenz kommt. Proinflammatorische Zytokine, reaktive Sauerstoffspezies, induzierbare

Stickstoffmonoxid-Synthase sowie Stickstoffzwischenprodukte werden von diesen Makrophagen produziert und fördern diese Insulinresistenz, welche in weiterer Folge zu Diabetes mellitus (DM) und Metabolischem Syndrom (MetS) führt. (Parto & Lavie, 2017)

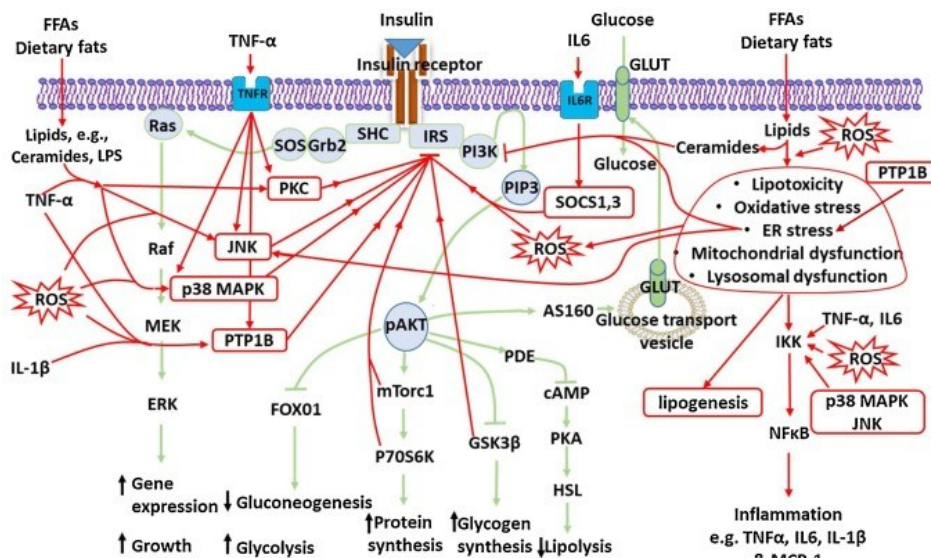


Abbildung 2: Mögliche zelluläre Mechanismen der durch Fettleibigkeit verursachten Insulinresistenz. Abbildung aus: Ahmed et al., 2021.

Das Verständnis dieser komplexen Mechanismen ist essenziell für die Entwicklung gezielter therapeutischer Strategien. (Suren Garg et al., 2023)

1.2. Hopfeninhaltsstoffe: Eigenschaften von Xanthohumol und physiologische Wirkung

1.2.1. Chemische Struktur und Vorkommen

Xanthohumol (XN) ist ein strukturell einfach aufgebautes, prenyliertes Chalcon, welches ausschließlich in der Hopfenpflanze *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae) vorkommt. Es ist das bedeutendste Prenylflavonoid in den weiblichen Blütenständen, die als „Hopfen“ bezeichnet werden, und macht je nach Hopfensorte etwa 0,1 bis 1% der Trockenmasse aus. (Stevens & Page, 2004)

Im Hopfenharz kommt XN mit mindestens 13 verwandten Chalconen vor, deren Konzentrationen allerdings 10- bis 100-mal niedriger sind als jene von Xanthohumol. Die meisten dieser Chalcone besitzen eine freie 2'-Hydroxygruppe, wodurch sie sich zu den entsprechenden Flavanonen isomerisieren können. Isoxanthohumol, 6-

Prenylnaringenin und 8-Prenylnaringenin gehören zu den häufigsten prenylierten Hopfen-Flavanonen. (Stevens & Page, 2004)

1913 isolierten Power et al. aus Hopfen eine neue phenolische Verbindung, die sie „Humolol“ nannten. Bei der Hydrolyse von Humolol mit Kaliumhydroxid entstand eine weitere unbekannte Verbindung, die als geschmacklose, phenolische Substanz mit orange-gelber Farbe beschrieben wurde. Die Verbindung erhielt den Namen „Xanthohumol“ und wurde mit der Summenformel $C_{13}H_{14}O_3$ angegeben. Circa 45 Jahre später beschrieben Verzele et al. Xanthohumol als gelbes Blattpigment aus der Gruppe der Chalcone, welches in allen Hopfensorten vorkommt. Die ursprünglich als „Humolol“ bezeichnete Verbindung wurde später als Isomerisierungsprodukt von XN erkannt, welches bei alkalischer Behandlung entsteht, und bekam den Namen „Isoxanthohumol“ (IX), wie in Abbildung 3 dargestellt. Beide Isomere bekamen die chemische Formel $C_{21}H_{22}O_5$. Durch weitere Untersuchungen der Summenformel von Xanthohumol entdeckten Verzele et al. zahlreiche Derivate, darunter Dihydro- und Tetrahydroxanthohumol. (Neumann et al., 2022)

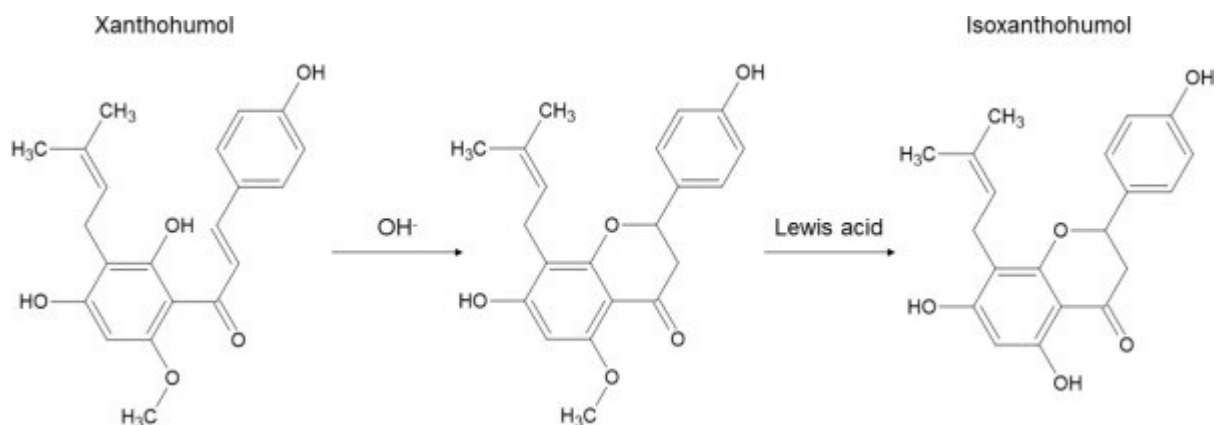


Abbildung 3: Thermische Isomerisierungsreaktion von XN zu Isoxanthohumol.

Abbildung aus: Vicente de Andrade Silva et al., 2023.

Bier stellt die wichtigste ernährungsbedingte Quelle für Xanthohumol und verwandte Prenylflavonoide dar, da Hopfen eingesetzt wird, um Bier Aroma und Bitterkeit zu verleihen. Obwohl Xanthohumol das Haupt-Prenylflavonoid im Hopfen ist, liegt sein Gehalt im Bier meist nur in geringen Mengen vor, da Xanthohumol während des Brauprozesses durch thermische Isomerisierung von Chalconen in Flavanone u.a. Isoxanthohumol umgewandelt wird. (Almaguer et al., 2014; Stevens & Page, 2004)

Durch Fermentation und Filtration kommt es zu einer weiteren Abnahme des Xanthohumolgehalts. Daher liegt der Xanthohumolgehalt im Bier nur zwischen 0,002 und 0,690 mg/L, während IX in Konzentrationen von 0,040 bis 0,716 mg/L vorkommt und in Einzelfällen sogar bis zu 3,44 mg/L erreichen kann. (Neumann et al., 2022) Durch Entwicklung weiterer Technologien im Bierbrauprozess können deutlich höhere Konzentrationen erreicht werden. (Vicente de Andrade Silva et al., 2023)

1.2.2. Bioverfügbarkeit und Metabolismus

Ergebnisse aus der Humanstudie von Legette et al. deuten auf eine auffallende Übereinstimmung der pharmakokinetischen Eigenschaften von XN zwischen Menschen und Nagetieren hin. (Legette et al., 2014) Allerdings ist die Datenlage zur Bioverfügbarkeit von Xanthohumol beim Menschen ebenso begrenzt wie bei tierexperimentellen Untersuchungen. (Legette et al., 2014)

Studien zeigten, dass XN bei Menschen eine schlechtere Absorption hat und die Konzentrationen nach oraler Einnahme rasch wieder abfallen. (L. Legette et al., 2014) Nach einer einmaligen oralen Aufnahme von 20, 60 oder 180 mg Xanthohumol zeigten gesunde Erwachsene die höchsten Konzentrationen im Blut nach etwa einer sowie vier bis fünf Stunden. Die zirkulierenden Metabolite lagen dabei hauptsächlich in Form von XN- und IX-Derivaten vor. (Legette et al., 2014)

In den Humanstudien von Jung et al. wurden bei gesunden Personen die höchsten XN-Konzentrationen etwa eine Stunde nach oraler Aufnahme festgestellt, während nach vier Stunden kein XN mehr nachgewiesen werden konnte. (Jung et al., 2022; Jung et al., 2022) Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass XN schnell in den Blutkreislauf aufgenommen wird, teilweise an Monozyten bindet und die Enterozyten rasch passiert, während es in B- und T-Zellen nicht nachgewiesen werden kann. Außerdem zeigte sich, dass die Einnahme niedriger Dosen von XN die LTA-abhängige Aktivierung peripherer mononukleärer Blutzellen (PBMCs) abschwächen kann, auch wenn aufgrund der Variabilität zwischen den Probanden keine signifikanten Unterschiede der Zytokinspiegeln zwischen der PL- und XN-Gruppe beobachtet werden konnten. (Jung et al., 2022; Jung et al., 2022)

Tierexperimentelle Untersuchungen zeigen eine geschätzte Bioverfügbarkeit von 33,1 % bei einer niedrigen Dosis von 1,86 mg/kg Körpergewicht und 10,8 % bei einer

höheren Dosis von 16,9 mg/kg Körpergewicht, welche jeweils oral verabreicht wurden. (L. Legette et al., 2012) Weitere Studien wiesen darauf hin, dass Mäuse, welche eine hohe Dosis von 1000 mg/kg KG XN verabreicht bekommen hatten, den Großteil der Substanz innerhalb von 48 Stunden über Urin und Fäzes ausgeschieden hatten. Unveränderte Xanthohumol-Moleküle machten etwa 89 % der ausgeschiedenen Menge aus. (Nookandeh et al., 2004)

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die geringe Bioverfügbarkeit bei Menschen und Tieren auf eine eingeschränkte Resorption im Dünndarm, eine schnelle mikrobielle Umwandlung im Dickdarm sowie eine rasche und nahezu vollständige Biotransformation in Dünndarm und Leber zurückzuführen sein könnte. (Stevens & Page, 2004) Allerdings sind weitere Studien nötig, damit die genauen Mechanismen, sowie Dosis- und Zeitwirkungen, welche den hemmenden Effekten von XN zugrunde liegen, untersucht werden können. (Jung et al., 2022)

1.2.3. *Physiologische Wirkungen von Xanthohumol*

XN wurde trotz seiner geringen Bioverfügbarkeit in den letzten Jahren mit zahlreichen potenziell gesundheitsfördernden Wirkungen in Verbindung gebracht. (Dostálek et al., 2017; Liu et al., 2015) Zunehmende Untersuchungen an Tiermodellen wiesen darauf hin, dass XN eine Wirkung auf Parameter des metabolischen Syndroms, beispielsweise Übergewicht bzw. Adipositas sowie Störungen im Lipid- und Glukosestoffwechsel hat. (Costa et al., 2017; L. L. Legette et al., 2013; Mahli et al., 2019; Miranda et al., 2016) Außerdem könnte XN möglicherweise gegen das metabolische Syndrom und damit einhergehende Risikofaktoren wie Hyperglykämie, Fettleibigkeit, Bluthochdruck, hohe Triglycerid- sowie niedrige HDL-Werte, eingesetzt werden. (Iniguez & Zhu, 2021)

Die orale Aufnahme von 0,125 mg XN durch einen Hopfenextrakt mit 75% XN führte in humanen peripheren mononukleären Blutzellen (PBMCs) zu einer niedrigeren Freisetzung proinflammatorischer Zytokine, darunter IL-1 β und IL-6. (Jung et al., 2022) Weitere Untersuchungen zur entzündungshemmenden Wirkung von XN zeigen, dass in Makrophagen verschiedene intrazelluläre Signalwege an den beobachteten Effekten beteiligt sind. Cho et al. untersuchte in dieser Studie den zugrunde liegenden Mechanismus, über welchen XN die Produktion inflammatorischer Mediatoren über

verschiedene Signalwege reduziert. XN verringerte in LPS-aktivierten murinen RAW264.7-Zellen die Expression von Komponenten des LPS-Rezeptorkomplexes, insbesondere Toll-like-Rezeptor 4 (TLR4) und myeloid differentiation protein 2 (MD2), dies führte zu einer Hemmung der NF- κ B-Aktivierung. (Cho et al., 2008)

Außerdem hemmt XN in RAW264.7-Makrophagen, welche mit Interferon- γ (IFN- γ) stimuliert wurden, die DNA-Bindungsaktivität von Interferon-Regulatorfaktor 1 (IRF-1) und Signal Transducer and Activator of Transcription 1 α (STAT-1 α) – das führte ebenfalls zur Unterdrückung proinflammatorischer Signalwege. Auf mRNA-Ebene wurde durch Gabe von XN, die durch LPS induzierte Expression der proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-1 β , dosisabhängig signifikant reduziert. Mittels ELISA konnte auf Proteinebene ebenfalls ein hemmender Effekt beobachtet werden. (Cho et al., 2008)

Diese Ergebnisse deuteten auf eine bis dahin wenig beschriebene immunmodulatorische Wirkung von XN hin. Aufgrund der wichtigen Rolle von Makrophagen in der Pathogenese einer Vielzahl entzündlicher Erkrankungen zeigen die identifizierten Wirkmechanismen, dass XN ein vielversprechendes therapeutisches Potenzial bei entzündlichen und/oder autoimmunen Erkrankungen besitzen könnte. (Cho et al., 2008)

In in-vitro-Untersuchungen zeigt es antikanzerogene Eigenschaften, durch Hemmung der Aktivierung von Prokarzinogenen sowie Zellwachstum und Angiogenese, während es gleichzeitig die Apoptose in verschiedenen Tumorzelllinien fördert. (Stevens & Page, 2004; Venturelli et al., 2016) Tierexperimentelle Studien weisen auf anti-atherosklerotische (Hirata et al., 2017) und neuroprotektive Effekte hin. (Rancán et al., 2017)

Somit rückt Xanthohumol zunehmend in den Fokus der Forschung als möglicher Wirkstoff für präventive und therapeutische Anwendungen.

1.3. Übergewicht und Hopfeninhaltsstoffe - Bisherige Erkenntnisse zur immunmodulatorischen Wirkung

Übergewicht und Adipositas stehen im Zusammenhang mit einer chronisch-niedriggradigen Entzündung, welche sich durch erhöhte Spiegel von TNF- α , IL-6 und MCP-1 zeigt. (Ahmed et al., 2021; Gregor & Hotamisligil, 2011; Wu & Ballantyne, 2020)

In einer randomisierten, placebokontrollierten Studie von Morimoto-Kobayashi et al. nahmen 200 übergewichtige ProbandInnen über einen Zeitraum von 12 Wochen täglich 350 ml eines Testgetränks – entweder ein aktives Getränk mit MHE (gereifter Hopfenextrakt) (entsprechend 35 mg MHBA (gereifte Hopfenbittersäuren)) oder ein Placebo-Getränk ohne MHE ein. Verglichen mit der Placebo-Gruppe zeigte die MHE-Gruppe nach 8 und 12 Wochen eine signifikante Reduktion der viszeralen Fettmasse und nach 12 Wochen eine Verringerung der Gesamtfettmasse. Außerdem konnte ein Rückgang des Körperfettanteils beobachtet werden. In Zusammenhang mit dem Testgetränk traten keine unerwünschten Ereignisse auf; es konnten ebenso keine klinisch relevanten Veränderungen in Kreislauf-, Blut- oder Urin-Parametern in beiden Gruppen festgestellt werden. (Morimoto-Kobayashi et al., 2016)

Eine frühere Studie zeigte, dass die Verabreichung von XN in einer Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht pro Tag über einen Zeitraum von 13 Wochen in C57BL/6J Mäusen, gefüttert mit einer High-Fat-Diät, zu einer Reduktion der Gewichtszunahme und zur Verbesserung von sowohl der Glukose- als auch der Lipidhomöostase in einem präklinischen Mausmodell für metabolisches Syndrom (MetS) und diätinduzierte Adipositas (DIO) führte. (Miranda et al., 2018)

Ob und wie XN auch bei Menschen bei vorliegendem Übergewicht die Immunantwort beeinflusst, ist bisher nicht geklärt.

1.4. Hypothese und Fragestellungen

Übergewicht und in weiterer Folge Adipositas sind Erkrankungen, die mit einer Entzündungsreaktion in Zusammenhang stehen und das Risiko für eine Vielzahl von chronischen Erkrankungen erhöhen. (World Health Organisation, 2025)

Xanthohumol könnte durch die Hemmung der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine zu einer Minderung von Entzündungsprozessen beitragen. Diese antiinflammatorische Wirkung konnte bereits in mehreren tierexperimentellen und humanen Untersuchungen hauptsächlich in pharmakologischen Dosen nachgewiesen werden. (Cho et al., 2008; Jung et al., 2022; Jung, et al., 2022) Welche immunmodulatorische Effekte die Aufnahme von Xanthohumol in ernährungsphysiologisch relevanten Mengen besonders in Zusammenhang mit Übergewicht hat, ist bisher noch nicht ausreichend untersucht worden.

In dieser Arbeit wurde im Rahmen einer Humanstudie untersucht, wie sich die orale Aufnahme einer ernährungsphysiologisch-relevanten Konzentration von XN sowohl bei Normalgewichtigen als auch bei übergewichtigen Probanden mit und ohne metabolische Auffälligkeiten auf die Immunantwort von Monozyten auswirkt.

Dazu wurden folgende Fragestellungen aufgestellt:

1. Unterscheidet sich die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen durch LPS-stimulierte Monozyten bei Übergewichtigen vs. Normalgewichtigen?
2. Beeinflusst die Aufnahme einer physiologisch-relevanten Konzentration von Xanthohumol die LPS-vermittelte Immunantwort bei Normal- und Übergewichtigen im zeitlichen Verlauf unterschiedlich?

2. Materialien

2.1. Chemikalien

2.1.1. Isolation und Stimulationsexperimente von humanen Monozyten

Bezeichnung	Herkunft
DBPS	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Monozyten Spinmedium	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Penicillin-Streptomycin (P/S)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
RPMI 1640 Medium	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
FBS	PAN-Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland
LPS	von <i>Escherichia coli</i> , Cost B+U

2.1.2. Vorbereitung und Durchführung von ELISA

Bezeichnung	Herkunft
Bovines Serumalbumin (BSA)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
di-Natriumhydrogenphosphat (Na ₂ HPO ₄)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Human - TNF- α DuoSet ELISA	R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA
Human - IL-1 β DuoSet ELISA	R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA
Human - IL-6 DuoSet ELISA	R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA
Natriumchlorid (NaCl)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Natronlauge (2N NaOH)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland

Kaliumchlorid (KCl)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Salzsäure (2N HCl)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Stabilisiertes Wasserstoffperoxid (H ₂ O ₂) (Colour Reagent A)	R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA
Stabilisiertes Tetramethylbenzidin (Colour Reagent B)	R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA
2N H ₂ SO ₄	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Tween®20	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Waschpuffer	PBS in Tween®20

2.1.3. Studiengetränk

Bezeichnung

Bindemittel

Stilles Mineralwasser

Staubzucker

Xanthohumol-Extrakt

Zitronensäure

Zitrone ohne Zucker Sirup

Herkunft

Gewürzmühle Brecht GmbH, Eggenstein,
Deutschland

Römerquelle GmbH, Edelstal, Österreich

AGRANA Sales & Marketing GmbH, Wien,
Österreich

Xantho-Flav®, Simon H. Steiner, Hopfen,
GmbH, Mainburg, Germany

Dr. Oetker GmbH, Villach, Österreich

SodaStream Österreich GmbH,
Leopoldsdorf, Österreich

2.2. Geräte und Verbrauchsmaterialien

2.2.1. Isolation und Stimulationsexperimente von humanen Monozyten

Bezeichnung	Herkunft
24-well-Platten mit Deckel	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
96-well-Platten mit Deckel	BRANDplates, BRAND GmbH + Co.KG, Wertheim, Deutschland
CO2-Inkubator	PHC Holdings Corporation, Tokyo, Japan
Deckglas	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
EDTA-Röhrchen	SARSTEDT AG&Co.KG, Nümbrecht, Deutschland
Endotoxinfreie Spitzen	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Laminar-Flow-Werkbank	Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Deutschland
Mikroskop	Carl Zeiss Microscopy Deutschland GmbH
Neubauerzählkammer	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Pluri Select Falcon	pluriMate II – pluriselect life sciences
Serumröhrchen	SARSTEDT AG&Co.KG, Nümbrecht, Deutschland
Zählgerät	Laborbestand

2.2.2. Vorbereitung und Durchführung von ELISA

Bezeichnung	Herkunft
Abdeckfolie SealPlate® 100-SEAL-PLT	Excel Scientific Inc., Victorville, USA
Becherglas 1000 ml	Laborbestand
Clear Strip-well Microplate	R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA
Glasgefäße 1000 ml mit Verschluss	Laborbestand
Heratherm™ Incubator	Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, USA

Magnetrührer	PCE Deutschland GmbH, Meschede, Deutschland
Magnetrührstäbchen	Laborbestand
Magnetrührstab	Laborbestand
Messzylinder 1000 ml	Laborbestand
Omnifix Luer Lock Solo	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Orion pH-Meter	Orion Research, Inc., Jacksonville, USA
Photometer	BMG Labtech – CLARIOstar plus, Ortenberg, Deutschland
Plastikschälchen zum Einwiegen	Laborbestand
Plastikwanne	Laborbestand
Plattenversiegler	R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA
Spatel zum Einwiegen	Laborbestand
Sterile Syringe Filter (0,22 µm)	Starlab GmbH, Hamburg, Deutschland

2.2.3. Blutabnahme

Bezeichnung

Herkunft

BD Vacutainer® (K3E 7,2 mg) Blutentnahmeröhrchen	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
BD Vacutainer® Einmalhalter	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
BD Vacutainer® SST™ II Advance Serum-Trennröhrchen	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
BD Venflon™ Pro Safety Sicherheits- -venenverweilkatheter	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
BD Posiflush™ SP Injektionsspritze	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
Fixierverband für i. v. Kanülen, Cosmopor® I.V.	Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
kodan® Tinktur forte farblos	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland

Luer Lock Kappe

Becton Dickinson GmbH, Heidelberg,
Deutschland

2.2.4. Allgemeine Geräte & Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung

Herkunft

Einkanalpipette

Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

Eppendorf-Reaktionsgefäße
(0,5 ml 1,5 ml, 2 ml)

SARSTEDT AG&Co.KG, Nümbrecht,
Deutschland

Eppiständer

Laborbestand

Falcon Tubes (Schraubverschluss)
(15 ml, 50 ml)

SARSTEDT AG&Co.KG, Nümbrecht,
Deutschland

Handschuhe

StarGuard (+Sensitive), STARLAB
International GmbH, Hamburg,
Deutschland

Kühlschrank Liebherr ProfiLine

Liebherr-International Deutschland GmbH,
Biberach an der Riß, Deutschland

Labormarker

Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht,
Deutschland

Laminar-Flow-Werkbank

Heraeus Instruments GmbH, Hanau,
Deutschland

Mehrkanalpipette

Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

Pipetten (2,5 µl to 1000 µl)
und sterile Spitzen

Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht,
Deutschland

Präzisionswaage

VWR International GmbH, Darmstadt,
Deutschland

Röhrchengestell

Laborbestand

Serologische Pipette
(5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml)

SARSTEDT AG&Co.KG, Nümbrecht,
Deutschland

Tiefkühler Liebherr ProfiLine

Liebherr-International Deutschland GmbH,
Biberach an der Riß, Deutschland

Ultratiefkühlgerät CryoCube F570h

Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland

Vortex Laborschüttler

Phoenix Instrument GmbH, Garbsen,
Deutschland

Zentrifuge

Hermle Labortechnik, Wehingen,
Deutschland

2.3. Software

Programm

GraphPad Prism 10.0

Microsoft 365

Firma

GraphPad Software Inc., La Jolla, USA

Microsoft Corporation, Redmond, USA

3. Methodik

3.1. Humanstudien

3.1.1. Probandenrekrutierung und Gruppeneinteilung

Um potenzielle Unterschiede zwischen normal- und übergewichtigen Teilnehmerinnen untersuchen zu können, wurde die Gruppeneinteilung anhand des Body-Mass-Index (BMI) durchgeführt. Die Klassifikation erfolgte gemäß der WHO-Kriterien, wobei Personen mit einem BMI zwischen 18,5 und 24,9 kg/m² als normalgewichtig und Personen mit einem BMI zwischen 25,0 und 29,9 kg/m² als übergewichtig eingestuft wurden. In die Untersuchung wurden Personen im Alter von 18 bis 75 Jahren eingeschlossen. Zu Untersuchungsbeginn wurden anthropometrische Daten erhoben, welche der Zuordnung in die jeweiligen Vergleichsgruppen dienten. Die Rekrutierung erfolgte über verschiedene Gruppenchats, soziale Medien sowie durch persönliche Kontakte (Familie und Freunde). Zu den Einschlusskriterien für die Übergewichtsgruppe zählen eine oder mehrere metabolische Auffälligkeiten wie Prädiabetes (Nüchternblutzucker 100–125 mg/dl), nicht-alkoholische Fettleber (Grad 1–3), hochnormaler Blutdruck bis milde Hypertonie (Grad 1; systolisch 140–159 mmHg, diastolisch 90–99 mmHg) sowie moderate Hypertriglyzeridämie (Triglyzeridwerte > 150 mg/dl). Ausschlusskriterien für alle Gruppen waren das Vorliegen von Erkrankungen, die medikamentöse Behandlung erfordern oder das Studienergebnis beeinflussen könnten, z. B. entzündliche Darmerkrankungen, maligne Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts, Nahrungsmittelallergien, Malabsorptionssyndrome, Nieren- oder Lebererkrankungen (ausgenommen einfache Fettleber) sowie symptomatische Herzinsuffizienz. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Teilnehmende mit medikamentöser Behandlung dieser Erkrankungen, mit speziellen Diäten (z. B. vegan oder glutenfrei) sowie Schwangere. Die Einteilung der Probandinnen erfolgte basierend auf dem Körpergewicht in die Kategorien Normalgewicht und Übergewicht. Um eine Vergleichbarkeit zwischen Normal- und Übergewichtigen zu ermöglichen, wurde im Rahmen dieser Arbeit ausschließlich die höchste verabreichte Dosis des XN-haltigen Getränks berücksichtigt.

3.1.2. Herstellung des Studiengetränks

In der vorliegenden Studie wird Xanthohumol in Form eines Extrakts verabreicht, dessen Konzentration einem moderatem Bierkonsum (circa 50–1500 ml Bier) entspricht. (Stevens & Page, 2004) Der XN-haltige Extrakt wird von der Firma Simon H. Steiner, Hopfen GmbH bezogen und ist kommerziell unter dem Namen Xantho-Flav erhältlich. Das Produkt besteht zu 75 % aus XN sowie strukturell verwandten Verbindungen, wobei andere Hopfeninhaltsstoffe weitgehend entfernt wurden.

Damit zwischen den Getränken ein gleichmäßiger Geschmack erreicht werden kann, wird XN mit Puderzucker, Zitronensäure sowie einem Bindemittel versetzt und mit Wasser gemischt. Das Placebogetränk enthält kein XN. Eine detaillierte Beschreibung zur Herstellung des Studiengetränks findet sich im Anhang I.

3.1.3. Studie 1: Einfluss von Xanthohumol auf das Immunsystem bei übergewichtigen Personen mit beginnender metabolischer Störung

Die Studie wurde von der Ethikkommission Wien unter der Nummer 01066 genehmigt und unter der Registrierung NCT06745102 bei ClinicalTrials.gov registriert. Alle Teilnehmenden gaben vor Studienbeginn ihr schriftliches Einverständnis.

Das vom Studienteam entwickelte und verabreichte Studiengetränk enthielt definierte Mengen XN, das über einen XN-reichen Hopfenextrakt dem Getränk zugesetzt wurde und wurde an den jeweiligen zwei Studientagen eingenommen. Alle Teilnehmerinnen wurden gebeten, eine Woche vor Beginn sowie während der gesamten Studiendauer auf hopfenhaltige Produkte wie Bier und bestimmte Limonaden und Tees zu verzichten.

Zu Beginn der Untersuchung wurden anthropometrische Daten, darunter Körpergröße, Körpergewicht und Blutdruck erfasst. Das Studiengetränk wurde innerhalb von 15 Minuten zusammen mit einem standardisierten Frühstück verzehrt, das aus zwei mittelgroßen Brezeln und 30 g Butter bestand. Vorher, im nüchternen Zustand, sowie 60 Minuten nach der Einnahme des Studiengetränks wurde Blut entnommen und Monozyten wurden wie unten beschrieben isoliert. Im Anschluss wurden weitere Blutproben nach zwei, drei, vier und sechs Stunden entnommen (jeweils ca. 15 ml). Ein standardisiertes Mittagessen, bestehend aus einer Pizza, wurde zwischen den Blutabnahmen nach 4 und 6h eingenommen.

Die Einnahme der unterschiedlichen XN-Dosierungen erfolgte jeweils mit einer einwöchigen Auswaschphase zwischen den Interventionszeiträumen, in der die Studienteilnehmerinnen gebeten wurden, weiterhin auf hopfenhaltige Lebensmittel und Getränke zu verzichten. Zusätzlich zu den Immunzellen wurden bei der Nüchternblutabnahme auch Serum- und Plasmaproben abgenommen, damit laborchemische Parameter des Glukose- und Fettstoffwechsels (z. B. Glukose, Cholesterin, Triglyzeride) sowie leberspezifische Enzyme (z. B. Transaminasen, alkalische Phosphatase) bestimmt werden konnten.

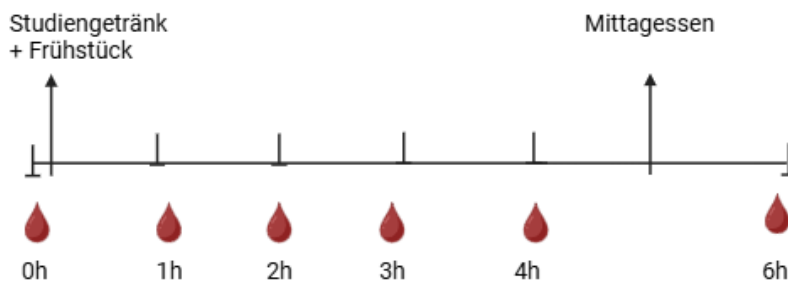


Abbildung 4: Darstellung des Studientages. An dem Studientag wurde ein Studiengetränk mit 0.0mg (Placebo) oder 0,75mg XN, das den Getränken über einen XN-reichen Hopfenextrakt zugesetzt wurde, aufgenommen. Die 1. Blutabnahme erfolgte vor Aufnahme. Anschließend verzehrten die Studienteilnehmer das Getränk zusammen mit einem standardisierten Frühstück. Nach 1, 2, 3, 4 und 6h nach Aufnahme des Getränks folgten weitere Blutabnahmen. Zwischen den Blutabnahmen 4 und 6 wurde ein standardisiertes Mittagessen eingenommen. Created with BioRender.com.

3.1.4. Studie 2: Wirkung von Xanthohumol auf das Immunsystem bei normalgewichtigen Personen

Die Studie wurde von der Ethikkommission Wien unter der Nummer 00848 genehmigt und unter der Registrierung NCT06286644 bei ClinicalTrials.gov registriert. Vor Beginn der Studie gaben alle Teilnehmer ihr schriftliches Einverständnis.

Das vom Studienteam entwickelte und verabreichte Studiengetränk enthielt definierte Mengen XN, das über einen XN-reichen Hopfenextrakt dem Getränk zugesetzt wurde und wurde an den jeweiligen vier Studientagen eingenommen. Eine Woche vor Beginn sowie während des gesamten Studienzeitraums wurden die Teilnehmerinnen gebeten, auf hopfenhaltige Lebensmittel und Getränke, darunter Bier, bestimmte Tees oder Limonaden zu verzichten.

Am ersten Studientag wurden anthropometrische Daten wie Blutdruck, Körpergröße und -gewicht erfasst. Anschließend erhielten die Probandinnen in randomisierter und verblindeter Reihenfolge ein Getränk mit 0,00 mg (Placebo), 0,125 mg, 0,375 mg oder

0,75 mg XN. Das Studiengetränk wurde innerhalb von 15 Minuten zusammen mit einem standardisierten Frühstück verzehrt, das aus zwei mittelgroßen Brezeln und 30 g Butter bestand. Vorher, im nüchternen Zustand, sowie 60 Minuten nach der Einnahme des Studiengetränks wurde Blut entnommen und Monozyten wurden wie unten beschrieben isoliert. Weitere Blutproben wurden jeweils zwei, drei, vier sowie sechs Stunden nach Einnahme des Getränks abgenommen (jeweils ca. 15 ml). Zwischen der Blutabnahme nach 4 und 6h erhielten die Teilnehmenden zusätzlich ein standardisiertes Mittagessen, bestehend aus einer Pizza.

Zwischen den Einnahmen der unterschiedlichen XN-Dosen lag jeweils eine nüchterne einwöchige Auswaschphase, in der die Teilnehmerinnen gebeten wurden, weiterhin auf hopfenhaltige Lebensmittel zu verzichten. Neben Immunzellen wurden im Rahmen der Nüchternblutabnahme auch Serum- und Plasmaproben abgenommen, zur Bestimmung von Parametern des Glukose- und Lipidstoffwechsels (z. B. Glukose, Cholesterin, Triglyzeride) sowie leberspezifischer Enzyme (Alkalische Phosphatase, Transaminasen).

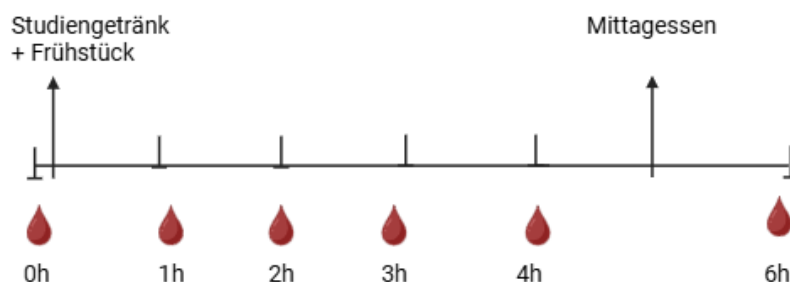


Abbildung 5: Darstellung des Studientages. An dem Studientag wurde ein Studiengetränk mit 0.0mg (Placebo), 0,125mg, 0,375mg oder 0,75mg XN, das den Getränken über einen XN-reichen Hopfenextrakt zugesetzt wurde, aufgenommen. Die 1. Blutabnahme erfolgte vor Aufnahme. Anschließend verzehrten die Studienteilnehmer das Getränk zusammen mit einem standardisierten Frühstück. Nach 1, 2, 3, 4 und 6h nach Aufnahme des Getränks folgten weitere Blutabnahmen. Zwischen den Blutabnahmen 4 und 6 wurde ein standardisiertes Mittagessen eingenommen. Created with BioRender.com.

3.2. Isolation von humanen Monozyten aus Blutproben

3.2.1. Isolation von Monozyten aus Blutproben

Aus dem gewonnenen Blut wurden Monozyten mittels Dichtegradientenzentrifugation isoliert, um zu untersuchen, ob der Verzehr eines XN-haltigen Getränks einen Effekt auf die Immunantwort und Stimulierbarkeit von Immunzellen des Blutes hat. Dafür werden die isolierten Monozyten nach der Isolation mit bakteriellen Toxinen (LPS) stimuliert.

Im Zellüberstand und in Zelllysaten wird die Proteinkonzentration von proinflammatorischen Zytokinen (TNF- α , IL-1 β und IL-6) untersucht. (Hege et al., 2018; Menck et al., 2014)

Für die Zellisolation wurde zunächst ein PluriSelect-Falcon mit 4,5 ml des Monozyten Spin Mediums befüllt und bei RT, 1000 rcf, accel 9, decel 9 für 10 sec zentrifugiert. Dieser Schritt dient dazu, das Medium unter den im Röhrchen integrierten Kunststoffring zu bewegen. Danach werden etwa 5 ml Vollblut vorsichtig auf das vorgelegte Spin Medium aufgeschichtet. Anschließend wurde die Probe bei RT, 800 rcf, accel 9, decel 9 für 15 min zentrifugiert.

Nach der Zentrifugation haben sich verschiedene Zellfraktionen entsprechend ihrer Dichte gebildet. Die Monozyten befanden sich als hellere Zellschicht zwischen Plasma und Kunststoffring und wurden vorsichtig mithilfe einer sterilen Pipette abgenommen und in ein neues 15 ml Falcon überführt. Die gewonnene Zellfraktion wurde anschließend zwei Mal mit DPBS auf ca. 10 ml aufgefüllt und bei RT, 300 rcf, accel 9, decel 9 für 10 min zentrifugiert und der Überstand dabei jedes Mal verworfen.

Zur Bestimmung der Zellanzahl wurde das Zellpellet im Anschluss mit 2 ml DPBS resuspendiert. Die Zellzählung erfolgte manuell mittels Neubauer-Zählkammer. Dazu wurde die Zellsuspension im Verhältnis 1:1 mit Trypanblau gemischt und 10 μ l davon auf die Neubauer-Zählkammer aufgetragen und diese unter ein Lichtmikroskop gelegt. Anhand der gezählten Felder wurde die Zellanzahl pro Milliliter berechnet. Dazu wurden die Zellen in allen vier Quadranten gezählt und aus diesen der Mittelwert berechnet. Die Gesamtzellzahl wurde wie folgt berechnet: Gesamtzellzahl = Mittelwert x Kammerfaktor x Verdünnungsfaktor x Volumen der Zellsuspension.

3.2.2. LPS-Stimulation der Monozyten

Im Anschluss wurden die Zellen nochmals bei RT, 300 rcf, accel 9, decel 9 für 10 min zentrifugiert und der Überstand abgenommen. Mit RPMI-1640 Medium, welches mit 10 % FBS und 1 % Penicillin/Streptomycin ergänzt wurde, wurden die Zellen resuspendiert und auf eine Zielzellzahl von 120 000 Zellen in 50 ml pro Well eingestellt. Die Zellen, die unstimuliert bleiben sollen, wurden danach nur mit frischem RPMI-1640 Medium bedeckt und diejenigen für die Stimulation mit LPS wurden mit 100 ng/ml LPS versetzt. Die Stimulation erfolgte über 6 Stunden unter Standardinkubationsbedingungen (37 °C, 5 % CO₂). Nach Ablauf der Inkubationszeit

wurden die Zellen und Überstände abgenommen und bei RT für 10 min bei 300 rcf, accel 9, decel 9, zentrifugiert. Danach wurden die Überstände abgenommen, in Eppis aliquotiert und bis zur weiteren Analyse mittels ELISA bei – 80 ° gelagert.

3.3. Analyse der Immunantwort mittels ELISA

Der Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) ist ein häufig genutztes Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis spezifischer Antikörper oder Antigene in einer Probe. (Gan & Patel, 2013) Er basiert auf der spezifischen Bindung zwischen Antigen und Antikörper sowie einer enzymatischen Farbreaktion. Die Methode findet breite Anwendung in Forschung, Diagnostik und klinischen Studien und wird in vier Haupttypen unterteilt: direkter, indirekter, Sandwich- und kompetitiver ELISA. (Hayrapetyan et al., 2023)

In dieser Arbeit wurden die Zytokinkonzentrationen von TNF- α , IL-1 β und IL-6 in den Überständen humaner Monozyten mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) bestimmt. Die Durchführung erfolgte nach den Angaben des Herstellers. Die dafür benötigten Lösungen, darunter Phosphate Buffered Saline (PBS), Reagent Diluent (RD) und Waschpuffer, wurden im Vorfeld entsprechend den Angaben in Anhang III hergestellt.

Die Verdünnungen für Capture- und Detection-Antikörper, Streptavidin-HRP sowie der Standards erfolgten nach Anleitung der im Certificate of Analysis (COA) angegebenen Arbeitskonzentrationen (siehe Anhang III). Die Proben wurden mit RD verdünnt (siehe Tabelle 1).

Alle Inkubations- und Waschschrte wurden, wie in Tabelle 2 dargestellt, durchgeführt. Die Platte wurde im Dunklen bei 25 °C inkubiert. Zwischen den einzelnen Schritten wurden die Wells jeweils drei Mal mit 300 μ l Waschpuffer gewaschen. Das Streptavidin-HRP wurde mit Reagent Diluent im Verhältnis 1:40 verdünnt. Die Herstellung der Substratlösung erfolgte kurz vor Verwendung als 1:1 Mischung aus Colour Reagent A und B. Die Absorptionsmessung erfolgte direkt nach Zugabe der Stopplösung (2N H₂SO₄) bei einer Wellenlänge von 450 nm im Photometer.

Tabelle 1: Proben Verdünnungen

Probe	TNF- α	IL-1 β	IL-6
Unstimuliert (US)	1: 1,25	1: 1,25	1: 1,25
LPS	1: 50	1: 50	1: 50

Tabelle 2: ELISA Durchführung

Substanz	Menge [μ l/Well]	Inkubationszeit
Capture Antibody	100	Über Nacht
Waschpuffer	300	
RD	300	1h
Waschpuffer	300	
Probe	100	2h
Waschpuffer	300	
Detection Antibody	100	2h
Waschpuffer	300	
Streptavidin-HRP	100	20 min
Waschpuffer	300	
Substratlösung	100	20 min
Stopplösung (2N H ₂ SO ₄)	50	

3.4. Statistische Analyse

Zu Beginn wurden die Daten unter Verwendung des Grubb's Test auf Ausreißer untersucht und diese bei Vorhandensein von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Die Normalverteilung wurde mittels Shapiro-Wilk-Tests überprüft. Lag eine Normalverteilung vor, wurde ein gepaarter T-Test durchgeführt, um den Unterschied zwischen den gemessenen Parametern vor und nach der Intervention zu untersuchen. Für nicht normalverteilte Daten wurde der Wilcoxon-Test verwendet. Um den Vergleich zwischen der Übergewichtsgruppe (ÜG) und Normalgewichtsgruppe (NG) zum Zeitpunkt T0 durchzuführen, wurde ein unpaired t-Test (one-tailed) verwendet. Alle statistischen Berechnungen wurden mit Microsoft Excel und

Graphpad Prism durchgeführt, und ein p-Wert von $<0,05$ wurde als signifikant betrachtet. Die Werte wurden in den Abbildungen als Mittelwert $\pm$ SEM (Standardfehler) dargestellt.

4. Ergebnisse

4.1. Charakterisierung der Probanden

Anthropometrische und metabolische Unterschiede

Die Gesamtstichprobe umfasste 10 weibliche Teilnehmer im Alter von 21 bis 49 Jahren. Diese wurden in zwei Gruppen eingeteilt: Normalgewicht (NG, n = 4) und Übergewicht (ÜG, n = 6).

Tabelle 3: Basischarakteristika der Probandinnen

Parameter Baseline	Normalgewicht	Übergewicht
Geschlecht (m/w)	0/4	0/6
Alter (Jahre)	25,0 ± 1,2	33,2 ± 5,0
Körpergewicht (kg)	62,5 ± 3,4	77,2 ± 2,7 *
Körpergröße (m)	1,6 ± 0,03	1,7 ± 0,02
BMI (kg/m²)	23,1 ± 0,8	27,4 ± 0,7 *
Nüchternblutzucker (mg/dl)	83,3 ± 6,3	84,7 ± 5,5
SGOT (U/L)	17,0 ± 2,7	21,2 ± 1,2
SGPT (U/L)	19,5 ± 2,9	22,3 ± 2,1
Cholesterin (mg/dl)	161,3 ± 13,7	208,5 ± 25,3
Triglyzeride (mg/dl)	66,8 ± 4,1	92,3 ± 15,7

Werte dargestellt als MW ± SEM. * p < 0,05.

In Tabelle 3 sind die anthropometrischen und metabolischen Merkmale der zwei Gruppen dargestellt. Wie zu erwarten war der BMI in der ÜG-Gruppe signifikant höher im Vergleich zur NG-Gruppe. Auch das Körpergewicht war in der ÜG-Gruppe signifikant höher als in der NG-Gruppe. Das Alter sowie die Körpergröße unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Sowohl die durchschnittlichen Triglyzerid- ($p=0,2352$) als auch die Cholesterinwerte ($p=0,1957$) und der Nüchternblutzucker lagen bei übergewichtigen Probandinnen über denen der NG-Gruppe, allerdings waren diese nicht signifikant. Bezüglich der metabolischen Parameter wiesen in der ÜG-Gruppe drei von sechs Personen eine metabolische Auffälligkeit auf, darunter hatten zwei Probandinnen eine Hypertriglyzeridämie (Triglyzeride > 150 mg/dl). Weiterhin hatten zwei Übergewichtige zusätzlich einen hochnormalen Blutdruck (systolisch zwischen 140-159 mmHg und diastolisch zwischen 90 und 99 mmHg). Eine weitere Probandin erfüllte die Kriterien für Prädiabetes (Nüchternblutzucker 100–125 mg/dl), und eine weitere ebenfalls für hochnormalen Blutdruck. Kein Unterschied findet sich für SGPT ($p=0,4389$) und SGOT ($p=0,1464$).

4.2. Zytokinfreisetzung in LPS-stimulierten Monozyten

Unterschiede zwischen Normal- und Übergewichtigen

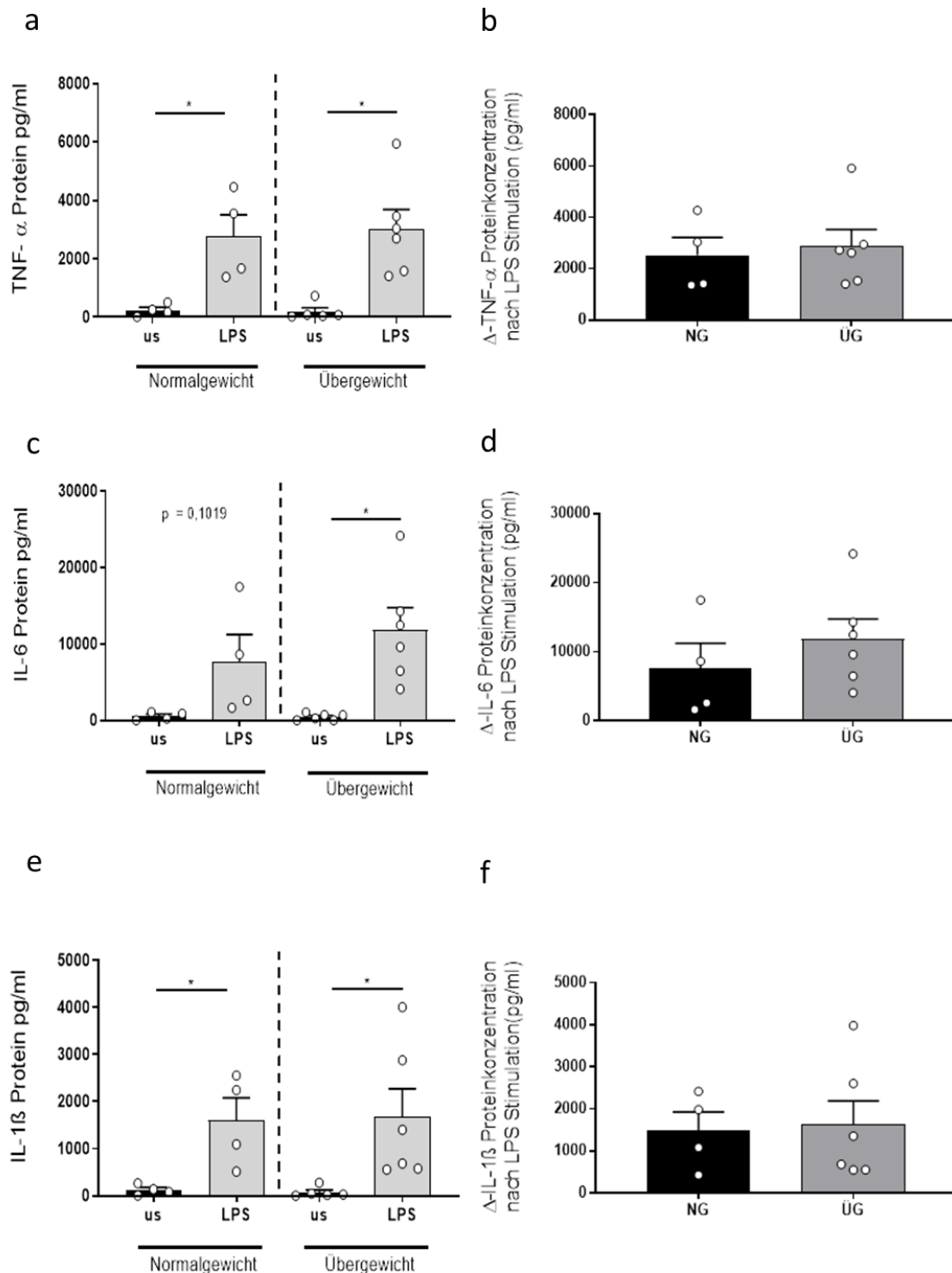


Abbildung 6: Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen ex vivo mit in LPS stimulierten Monozyten übergewichtiger und normalgewichtiger Frauen. Absolute Freisetzung und relative Stimulierbarkeit von (a,b) TNF- α , (c,d) IL-6, (e,f) IL-1 β . Monozyten von Probanden mit Normalgewicht und Übergewicht wurden entweder unstimuliert (us) oder 6h mit 100 ng/ml LPS behandelt. Die Proteinkonzentration wurde in pg/ml bestimmt, um die Stimulierbarkeit relativ zu T0 zu vergleichen. Δ

stellt die prozentuale Veränderung der Zytokin-Konzentration dar und wurde berechnet, indem der Wert nach LPS-Stimulation (bezogen auf Placebo) durch den entsprechenden T0-Wert dividiert und mit 100 multipliziert wurde. LPS, Lipopolysaccharide; IL, Interleukin; TNF- α , Tumornekrosefaktor-alpha, NG, Normalgewicht; ÜG, Übergewicht; Werte dargestellt als Mittelwert $\pm$ SEM. (a-f) n=4-6. * p < 0,05.

Zwischen den Gruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine TNF- α , IL-6 und IL-1 β unter unstimulierten Bedingungen (p > 0,05). Nach der 6h Stimulation der isolierten Monozyten mit LPS waren die Konzentrationen in den ÜG-Gruppen von TNF- α um das 16-fache, bei IL-6 um das 26-fache und bei IL-1 β um das 23-fache höher als in den unstimulierten Zellen (TNF- α : p < 0,05; IL-6: p < 0,05; IL-1 β : p < 0,05).

In den aus den Normalgewichtigen isolierten Zellen war die Freisetzung von TNF- α um das 12-fache, von IL-6 um das 14-fache und von IL-1 β um das 13-fache erhöht (TNF- α : p < 0,05; IL-6: p = 0,1019; IL-1 β : p < 0,05). Obwohl bei Normalgewichtigen der Anstieg der IL-6-Konzentration nach LPS-Stimulation statistisch nicht signifikant war (p = 0.1019), zeigte sich bei Übergewichtigen eine signifikante Zunahme (p < 0.05).

Darüber hinaus war der relative Anstieg der Zytokinfreisetzung zwischen den Gruppen nicht unterschiedlich.

4.3. Effekt von Xanthohumol auf die Immunantwort

Zur Untersuchung des Effekts von Xanthohumol auf die Immunantwort bei Normalgewichtigen oder Übergewichtigen wurden Probandinnen sowohl nüchtern als auch nach t_1 (1 h), t_2 (2 h), t_3 (3 h), t_4 (4 h) und t_6 (6 h) nach der Aufnahme eines Studiengetränks mit 0,75 mg XN, in Form eines XN-haltigen Hopfenextrakts, oder eines Placebos (PL), Blutproben entnommen. Die isolierten Zellen wurden anschließend für 6h mit LPS stimuliert.

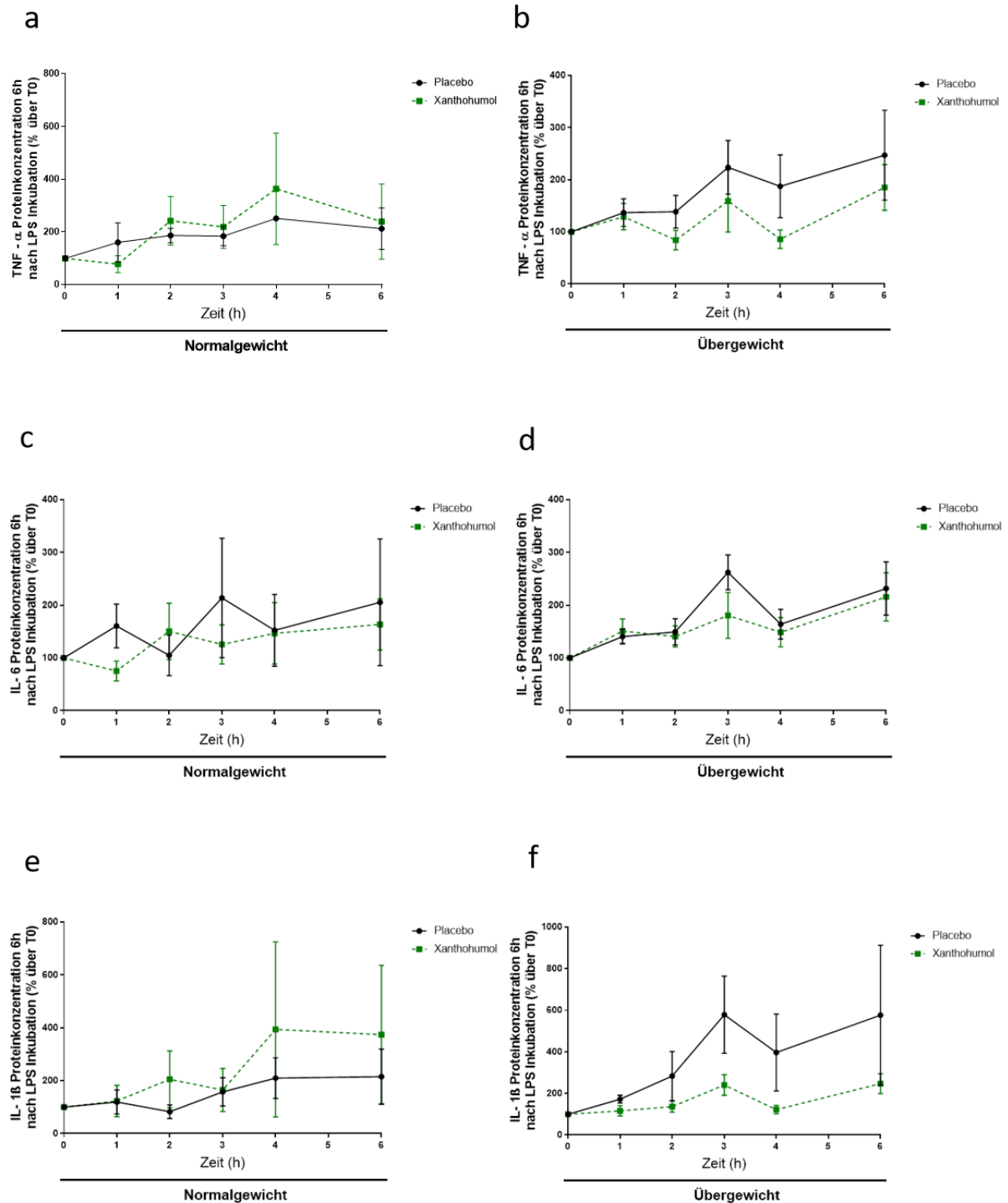


Abbildung 7: Einfluss der oralen Aufnahme des xanthohumolhaltigen Extraktes (0,75mg Xanthohumol) im Zeitverlauf auf die Proteinkonzentration von proinflammatorischen Zytokinen im Zellüberstand humaner Monozyten nach 6h Stimulation mit LPS in Abhängigkeit von Körpergewicht. Proteinkonzentrationen von (a,b) TNF-α, (c,d) IL-6, (e,f) IL-1β bei Stimulation mit 100ng/ml LPS in Monozyten von Probanden mit Normalgewicht und Übergewicht, jeweils nach Einnahme eines Placebogetränks (PL, schwarze Linien) oder eines xanthohumolhaltigen Getränks (0,75 mg XN, grüne Linien). LPS, Lipopolysaccharide; IL, Interleukin; TNF-α, Tumornekrosefaktor-alpha. Werte dargestellt als Mittelwert ± SEM in % über T0. (a,b) n=3-6, (c,d) n=3-6, (e,f) n=3-6.

Aufgrund der geringen Probenzahl und der starken Streuung der Daten konnte keine statistische Auswertung vorgenommen werden. Die Proteinkonzentrationen der drei Zytokine im Zellkulturüberstand nach 6-stündiger Stimulation der Zellen mit LPS zeigten im Zeitverlauf unterschiedliche Ergebnisse, wie in Abbildung 7 dargestellt.

Insgesamt konnte nach der Aufnahme des XN-haltigen Getränks bei allen drei Zytokinen eine verminderte Freisetzung verglichen mit Placebo beobachtet werden. Dabei fällt diese Abnahme bei den Übergewichtigen deutlicher aus als bei den Normalgewichtigen.

Die TNF- α - Freisetzung war bei Normalgewichtigen 1h nach Aufnahme des XN-haltigen Getränks um 51% geringer als nach Aufnahme des Placebos. Anschließend stieg die Konzentration wieder an und erreichte nach 4h den höchsten Wert, wobei die Werte unter XN, mit Ausnahme von t_1 , etwas höher verglichen zur Placebogruppe lagen. Bei Übergewichtigen zeigte sich nach 1h kaum ein Unterschied zwischen den Interventionen, allerdings war nach 2 Stunden unter Xanthohumol ein stärkerer Rückgang der TNF- α -Konzentration im Vergleich zur Placebogruppe zu sehen. Mit Ausnahme von t_1 war die Zytokin-Konzentration unter XN immer unterhalb der Placebointervention.

Bei IL-6 konnte bei den normalgewichtigen Probandinnen nach 1h ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei der XN-Gruppe fiel die Zytokinfreisetzung zunächst ab, bevor sie wieder anstieg und sich bei t_4 vergleichbare Konzentrationen mit der Zytokinfreisetzung von Placebo zeigten. Hingegen waren bei den Übergewichtigen die Konzentrationen bis 2h ähnlich in beiden Gruppen, während ein deutlicher Unterschied erst nach 3h beobachtet werden konnte. Die Zytokinfreisetzung der XN-Intervention war dabei mit Ausnahme von t_1 niedriger als bei PL.

Für IL-1 β zeigten sich bei normalgewichtigen Frauen zum Zeitpunkt 1h und 3h vergleichbare Konzentrationen zwischen den beiden Interventionen, wobei es nach 1h zu einem Anstieg der Ausschüttung unter XN mit den höchsten Werten zum Zeitpunkt t_4 und t_6 kam. Mit Ausnahme von t_1 und t_3 blieben die XN-Zytokin-Konzentrationen immer oberhalb der Placebointervention. Deutliche Unterschiede konnten in der Übergewichtsgruppe zwischen 1h und 3h zwischen der Placebo- und XN-Gruppe

gemessen werden. Die IL-1 β -Konzentration unter XN blieb bis etwa 2h konstant und stieg danach leicht an, wobei die höchsten Werte bei 3h und 6h erreicht wurden. Dabei war die Zytokinfreisetzung bei der Placebointervention im gesamten Zeitverlauf höher.

5. Diskussion

Übergewicht hängt mit einer chronisch-niedriggradigen, systemischen Entzündungsreaktion (Gregor & Hotamisligil, 2011) und in weiterer Folge mit einer verstärkten Immunreaktion zusammen. Hält der Entzündungszustand an, werden proinflammatorische Zytokine von Immunzellen und Adipozyten in den Blutkreislauf freigesetzt. (Gonzalo-Encabo et al., 2021)

XN, eine bioaktive Substanz, die in der Hopfenpflanze vorkommt, hat in mehreren Studien entzündungshemmende Effekte gezeigt (Cho et al., 2008; Jung et al., 2022; Jung et al., 2022). Frühere Ergebnisse zur Wirkung von XN auf die Immunantwort wiesen hemmende Effekte auf die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine auf Komponenten des LPS-Rezeptorkomplexes TLR4 und MD2, sowie durch Inhibierung der Aktivierung des Transkriptionsfaktors Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) in RAW 264.7-Makrophagen nach. (Cho et al., 2008; Jung et al., 2022)

Bisher gibt es keine Untersuchungen, inwieweit XN die LPS-vermittelte Zytokinausschüttung bei Über- und Normalgewichtigen beeinflusst und ob die Aufnahme von XN in ernährungsphysiologisch relevanten Mengen Effekte auf die Immunantwort hat. Aus diesem Grund sollte im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden, ob die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen in humanen Monozyten nach Stimulation mit LPS durch die Aufnahme ernährungsrelevanter Mengen von XN, wie sie in 0,25 – 1L alkoholfreiem Bier vorkommen, gehemmt werden kann.

5.1. Unterschied in der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen durch LPS-stimulierte Monozyten bei Übergewichtigen vs. Normalgewichtigen.

Wie erwartet und auch schon von anderen nachgewiesen, resultiert die Stimulation, der aus dem Blut von normal- und übergewichtigen Personen isolierten Monozyten mit LPS in einer signifikant höheren Zytokinfreisetzung verglichen mit den unstimulierten Zellen. Dabei waren die durchschnittlichen Konzentrationen der proinflammatorischen Zytokine in der ÜG-Gruppe höher als in der NG-Gruppe und zum Zeitpunkt T0 konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Normalgewichtigen und Übergewichtigen beim relativen Anstieg der Zytokinfreisetzung gemessen werden, mit Ausnahme von IL-6. Die kleine Fallzahl pro Gruppe könnte die Aussagekraft dieser Ergebnisse einschränken.

Bei leichtem Übergewicht und nur wenigen metabolischen Auffälligkeiten konnte kein Unterschied in der mit LPS provozierten Immunantwort beobachtet werden, was möglicherweise auf eine abgeschwächte Zytokin-Antwort auf LPS in dieser Gruppe hindeuten könnte. Das könnte damit begründet werden, dass bei leichtem Übergewicht die inflammatorische Antwort geringer ist als bei stärkerem Übergewicht bzw. Adipositas und dass die Immunzellen noch nicht vollständig in einen proinflammatorischen Zustand übergegangen sind (M1-Polarisation). (Coats et al., 2017; Schleh et al., 2023; Wu & Ballantyne, 2020)

Nach aktuellem Kenntnisstand gibt es bisher kaum Untersuchungen auf die LPS-vermittelte Zytokinausschüttung bei Übergewichtigen. Aus diesem Grund sollten in Zukunft weitere Untersuchungen in dieser Richtung durchgeführt werden.

In der Studie von Lasselin et al. wurden adipösen und normalgewichtigen ProbandInnen in einem Cross-over-Design intravenös LPS sowie Placebo verabreicht und die Verhaltensreaktionen der Teilnehmer darauf untersucht. Dabei führte die Verabreichung von LPS in beiden Gruppen zu einem akuten Anstieg der Zytokine IL-6, TNF- α und IL-10 im Blut. Darüber hinaus wiesen die adipösen Probanden höhere Ausgangskonzentrationen von IL-6 auf. Obwohl der Anstieg über die Zeit in der PL-Gruppe in beiden Gruppen ähnlich war, waren die IL-6-Konzentrationen nach 3 und 4h

nach LPS-Gabe bei Adipösen verglichen mit den Normalgewichtigen leicht reduziert, ebenso bei TNF- α nach 3h. (Lasselin et al., 2020)

Kosovski et al. untersuchten gesunde Erwachsene mit Normal-, Übergewicht oder Adipositas, um die Phänotypen peripherer Blutlymphozyten mit der Körperzusammensetzung zu korrelieren. Dabei zeigten die Ergebnisse, dass Serumkonzentrationen von TNF- α in der ÜG-Gruppe signifikant höher als in der NG- oder Adipositas-Gruppe waren. (Kosovski et al., 2024)

Han et al verglichen die Immun- und Entzündungsreaktion von normalgewichtigen und adipösen jungen Erwachsenen, um herauszufinden, ob Adipositas mit einer beeinträchtigten Immunfunktion und dysregulierten Entzündungsreaktion assoziiert ist. Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Produktion der entzündlichen Zytokine die TNF- α , IL-6 und IL-1 β nach Stimulation von PBMCs mit LPS. Zwar waren die durchschnittlichen IL-1 β und TNF- α Werte von unstimulierten PBMCs bei adipösen ProbandInnen höher, allerdings waren diese nicht statistisch signifikant und überwiegend auf hohe Werte bei einigen wenigen Probanden zurückzuführen. (Han et al., 2011)

Monserrat-Mesquida et al. untersuchten den oxidativen Stress in PBMCs und entzündliche Biomarker im Plasma von Erwachsenen mit Normal-, Übergewicht und Adipositas. Dabei zeigten sich signifikant höhere TNF- α -Konzentrationen in der adipösen Gruppe sowie signifikant erhöhte IL-6-Werte sowohl bei Übergewichtigen als auch Adipösen verglichen mit den Normalgewichtigen. (Monserrat-Mesquida et al., 2021)

Obwohl sich die Untersuchung in der vorliegenden Arbeit auf den Vergleich von Normal- und Übergewichtigen konzentriert hat, liegt der Fokus der meisten Studien auf dem Vergleich von Normalgewichtigen und Adipösen. Diese Bedingungen entsprechen nicht exakt der hier untersuchten Population, trotzdem können diese Untersuchungen als Vergleich herangezogen werden, aufgrund der ähnlichen pathophysiologischen Mechanismen. Allerdings ist die Übertragbarkeit mit Vorsicht zu sehen und schränkt die Aussagekraft ein.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen keine eindeutige zytokinspezifische Antwort auf die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine nach LPS-Stimulation in Abhängigkeit vom Körpergewicht und verglichen mit unstimulierten Zellen, weshalb weitere

Untersuchungen mit einem größeren Studienkollektiv notwendig sind. Zusätzlich sollte die Auswirkung von LPS auf Patientinnen mit Übergewicht mit und ohne metabolische Auffälligkeiten weiter erforscht werden.

5.2. Einfluss der Aufnahme einer physiologisch-relevanten Konzentration von Xanthohumol auf die LPS-vermittelte Immunantwort bei Normal- und Übergewichtigen im zeitlichen Verlauf.

Vergleichbar mit vorangegangenen Studien von Jung et al. konnte in dieser Arbeit eine ähnliche immunsuppressive Wirkung nach XN-Aufnahme festgestellt werden. (Jung et al., 2022; Jung et al., 2022) Jung et al. zeigten, dass bereits Dosen von 0,125 mg XN aus einem XN-reichen Extrakt mit 75% XN, die durch LPS- bzw. LTA- induzierte Immunantwort in PBMCs gesunder Normalgewichtiger reduzierte. (Jung et al., 2022; Jung et al., 2022)

Nach aktuellem Kenntnisstand gibt es bisher kaum Untersuchungen, die die Wirkung von XN bei Übergewichtigen im zeitlichen Verlauf, sowie direkte Vergleiche der Wirkung von XN zwischen Normal- und Übergewichtigen untersucht haben.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine höhere Dosis von 0,75 mg XN in Form eines XN-haltigen Extrakts verwendet, um zu untersuchen, wie sich die Zytokinfreisetzung bei Normal- und Übergewichtigen im Zeitverlauf und Anwesenheit von XN verhält. Aufgrund der geringen Probenzahl und der hohen Streuung der Daten konnte keine statistische Auswertung durchgeführt werden.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine durch XN sowohl bei Normal- als auch bei Übergewichtigen moduliert werden kann, allerdings zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Bei Normalgewichtigen traten die hemmenden Effekte früh auf: Diese frühen Effekte stimmen mit bisherigen Untersuchungen überein. (Jung et al., 2022; Jung et al., 2022) Während TNF- α und IL-6 bereits nach 1h durch XN reduziert waren, scheint die Wirkung bei IL-1 β weniger ausgeprägt zu sein, was auf unterschiedliche Regulationsmechanismen der jeweiligen

Zytokine hinweisen könnte. Außerdem konnte kein einheitlich hemmender Effekt von XN beobachtet werden, da die Werte nach XN-Aufnahme teilweise erhöht waren. Darüber hinaus weisen Normalgewichtige normalerweise ein niedrigeres Entzündungsniveau auf, das könnte erklären, warum der hemmende Effekt von XN weniger stark ausfällt.

Bei Übergewichtigen war die Wirkung zeitlich verzögert: TNF- α und IL-6 unterschieden sich in den ersten 1-2h kaum von PL, während ab 2-3h deutliche Unterschiede beobachtet wurden. XN führte bei IL-1 β zu durchgehend niedrigeren Werten verglichen mit PL, sodass die hemmenden Effekte bei diesem Zytokin besonders ausgeprägt waren. Diese Unterschiede könnten auf eine verzögerte XN-Aufnahme, individuelle metabolische Unterschiede oder eine durch Übergewicht veränderte Immunantwort zurückzuführen sein. Da Übergewicht und Adipositas mit einer erhöhten Entzündungsaktivität und einer veränderten Immunzellfunktion verbunden sind, könnte das möglicherweise die zeitlich verzögerte und stärkere Wirkung von XN auf die Zytokinfreisetzung erklären. (Ellulu et al., 2017; Gregor & Hotamisligil, 2011)

Des Weiteren deuten die beobachteten unterschiedlichen Effekte in Bezug auf die XN-Aufnahme und Zytokinantwort darauf hin, dass weitere zelluläre Mechanismen einen Einfluss haben könnten. Toll-like-Rezeptoren und Cluster of Differentiation (CD14) könnten aufgrund ihrer Funktion in der Immunantwort auf proinflammatorische Reize wie LPS mit der unterschiedlichen Reaktion in Verbindung stehen und diese beeinflussen. (Zanoni & Granucci, 2013) Ergebnisse mehrerer Studien zeigten, dass LPS an CD14 gebunden wird und dann an TLR4/MD-2 übertragen wird. Diese bilden zusammen den Multi-Rezeptor-Komplex, welcher LPS auf der Zellmembran erkennt. (Ciesielska et al., 2020; Zanoni & Granucci, 2013) Frühere Untersuchungen zur Auswirkung von XN auf die Immunantwort unterstützen diese Ergebnisse, da XN hemmende Effekte auf die Aktivierung von TLR4 und MD2 und somit in weiterer Folge auf die NF- κ B-Signalkaskade gezeigt hat. (Cho et al., 2008) In der Studie von Jung et al. konnte beobachtet werden, dass XN dosisabhängig die Bindung von LPS an CD14 hemmt und dadurch die Freisetzung von sCD14 aus LPS- und LTA-stimulierten PBMCs verringert. Dabei hatte XN keinen Einfluss sowohl auf die TLR4-Expression als auch die LPS-Bindung an diesen Rezeptor. (Jung et al., 2022)

Ebenso könnten Unterschiede in der Expression von CD14 und TLR4 zwischen Normal- und Übergewichtigen einen Einfluss auf die beobachteten Effekte haben. Ergebnisse der Studie von De Loera-Rodriguez mit Adipösen und Normalgewichtigen, welche die TLR4- und CD14-Expression in Monozyten des peripheren Blutes untersucht haben, zeigten dass adipöse Probanden eine signifikant höhere TLR4- und CD14-Expression sowie erhöhte TNF- α - und IL-6-Spiegel im Serum aufwiesen. (De Loera-Rodriguez et al., 2014) Diese Unterschiede könnten die stärkere Wirkung bei übergewichtigen Probandinnen erklären.

Da diese Parameter in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht wurden, bleibt unklar, inwieweit sie zu den beobachteten Ergebnissen beigetragen haben. Um die Wirkung von XN besser zu verstehen, wäre es für zukünftige Studien sinnvoll, sowohl CD14-Spiegel als auch die TLR-Expression zu untersuchen.

Insgesamt weisen die Ergebnisse dieser Arbeit darauf hin, dass XN bei übergewichtigen Frauen die Freisetzung von TNF- α , IL-6 und IL-1 β zwei bis sechs Stunden nach der Aufnahme reduzieren könnte, was auf eine mögliche antiinflammatorische Wirkung von XN hinweisen könnte. Dieser Effekt scheint bei Normalgewichtigen weniger ausgeprägt und vor allem kleiner zu sein. Die stärkere Wirkung bei Übergewichtigen könnte auf eine erhöhte inflammatorische Grundaktivität zurückzuführen sein. Diese Beobachtungen konnten jedoch nicht statistisch nachgewiesen werden, aus diesem Grund lässt sich daraus kein eindeutiger Nachweis für eine unterschiedliche Wirkung von Xanthohumol auf die LPS-vermittelte Immunantwort zwischen Normal- und Übergewichtigen ableiten. Außerdem könnte die kleine Fallzahl pro Gruppe die Aussagekraft einschränken, weshalb in Zukunft weitere Untersuchungen mit größerem Studienkollektiv und geringerer Variabilität notwendig wären. Darüber hinaus sollten die Effekte einer langfristigen regelmäßigen Einnahme von XN und die Auswirkungen von XN auf übergewichtige Patientinnen mit oder ohne metabolische Auffälligkeiten weiter untersucht werden.

6. Schlussfolgerung & Ausblick

Veränderungen in der Immunantwort und potenzielle Rolle von bioaktiven Substanzen wie Xanthohumol

Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten darauf hin, dass Übergewicht eine verstärkte Immunantwort hervorrufen kann. Ähnlich den Ergebnissen von Jung et al. weisen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit darauf hin, dass XN schon bei der Aufnahme geringer Mengen, wie sie durch den Konsum von 0,25 – 1L alkoholfreiem Bier vorkommen, eine mögliche Immunantwort auslösen kann, allerdings ohne signifikant verstärkte Reaktion bei Übergewichtigen. Ebenso konnte sowohl in vorherigen Untersuchungen, in denen geringere Konzentrationen verabreicht wurden, als auch in den Ergebnissen dieser Arbeit gezeigt werden, dass XN möglicherweise positive Effekte auf inflammatorische Prozesse durch eine Hemmung der Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine, darunter TNF- α , IL-1 β und IL-6, hat. Verglichen mit Placebo führte die Einnahme des XN-haltigen Extrakts zu einer geringeren Freisetzung proinflammatorischer Zytokine nach Stimulation der Zellen mit LPS, was möglicherweise auf einen entzündungshemmenden Effekt hinweisen könnte.

Aufgrund der hohen Streuung der Daten und der geringen Probenzahl konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gemessen bzw. keine statistisch signifikanten Effekte nachgewiesen werden, was die Aussagekraft limitiert und weswegen die Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert werden müssen. Trotzdem zeigen diese beobachteten Effekte die Relevanz bioaktiver Substanzen wie XN im Zusammenhang mit Stoffwechselerkrankungen und Entzündungen und legen nahe, dass XN bereits in geringen Mengen potenziell wirksam sein könnte, dies macht die Anwendung vor allem im präventiven Zusammenhang interessant. Allerdings sind weitere Untersuchungen notwendig, welche jedoch nicht nur niedrige Dosierungen verwenden, sondern auch verschiedene Konzentrationen und Anwendungsgebiete in Betracht ziehen, um die zugrunde liegenden molekularen Wirkmechanismen sowie mögliche dosisabhängige Effekte besser zu verstehen und die klinische Relevanz einordnen zu können. Aus diesem Grund sind zukünftige Studien mit größerem Studienkollektiv notwendig, um die beobachteten Ergebnisse bestätigen zu können.

und die Mechanismen der Immunantwort bei Übergewicht besser zu verstehen. Des Weiteren könnte der Vergleich normalgewichtiger Personen mit Personen mit moderatem bis starkem Übergewicht weitere Erkenntnisse liefern, da in der vorliegenden Arbeit nur Frauen mit leichtem Übergewicht ausgewertet wurden. Außerdem wäre es interessant, den Einfluss von Xanthohumol auch im Krankheitsverlauf metabolischer Erkrankungen zu untersuchen. Somit könnten die beobachteten Effekte besser eingeschätzt und die potenzielle Rolle von Xanthohumol sowohl in Prävention und Therapie weiter erforscht werden.

Zudem sind Studien, die die Wirkung von XN auf die Immunantwort zu verschiedenen Zeitpunkten als auch die Langzeiteffekte untersuchen, noch rar. Darauf könnte in der zukünftigen Forschung ebenfalls mehr Fokus daraufgelegt werden. Weitere mögliche Untersuchungen könnten den Fokus einerseits auf Probandinnen mit Adipositas legen, andererseits wäre es auch interessant wie sich die Wirkung von XN bei Männern verglichen mit Frauen auswirkt und ob es da geschlechtsspezifische Unterschiede gäbe.

7. Zusammenfassung

Übergewicht und Adipositas werden laut der Weltgesundheitsorganisation als eine übermäßige oder abnorme Ansammlung von Körperfett definiert, die mit einem erhöhten Risiko für gesundheitliche Komplikationen verbunden ist. Dabei nimmt die Prävalenz von Übergewicht und Adipositas, sowohl bei Erwachsenen und Kindern kontinuierlich zu und stellt weltweit eine der größten gesundheitlichen Herausforderungen sowie bedeutende Risikofaktoren für zahlreiche chronische Erkrankungen dar. Die Ursachen für die Zunahme von Übergewicht sind multifaktoriell, aber teilweise vermeidbar und überwiegend reversibel.

Ergebnisse früherer Studien zeigten, dass Xanthohumol (XN), welches natürlicherweise in Hopfen vorkommt, eine entzündungshemmende Wirkung hat. Die immunmodulatorischen Effekte von XN in ernährungsphysiologisch relevanten Mengen, wie sie durch den Konsum von 0,25-1L alkoholfreiem Bier erreicht werden können, und seine Rolle bei Übergewicht wurden bisher kaum untersucht. Darüber hinaus ist über die molekularen Wirkmechanismen noch größtenteils wenig bekannt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Pilotstudie mit normal- ($n = 4$) und übergewichtigen Frauen ($n = 6$) mit und ohne metabolische Auffälligkeit zur weiteren Untersuchung der Wirkung von Xanthohumol auf den menschlichen Organismus durchgeführt. Die Probandinnen nahmen ein Studiengetränk, das 0,75 mg XN in Form eines XN-haltigen Hopfenextrakts mit 75% XN enthielt und ein Placebo zu sich. Danach folgte die Isolation von Monozyten aus dem Vollblut, welche für sechs Stunden mit 100 ng/ml Lipopolysaccharid (LPS) stimuliert wurden. Der Zellüberstand wurde nach der LPS-Stimulation abgenommen und die Konzentrationen von Tumornekrosefaktor α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β) und Interleukin-6 (IL-6) mittels ELISA bestimmt. Aufgrund der kleinen Stichprobe wurde auf eine statistische Auswertung der Daten verzichtet.

Zum Zeitpunkt T0 war der relative Anstieg der Zytokinfreisetzung zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Nach 6h Stimulation mit LPS konnte in den isolierten Monozyten eine signifikant erhöhte Freisetzung von TNF- α , IL-1 β und IL-6, unabhängig vom Körpergewicht, beobachtet werden. Verglichen mit Placebo, zeigte sich nach der Aufnahme von 0,75 mg XN über einen XN-haltigen Extrakt für alle drei

Zytokine (TNF- α , IL-1 β , IL-6) eine verminderte Freisetzung, wobei dieser Anstieg bei den Übergewichtigen geringer ausfiel als bei den Normalgewichtigen.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Aufnahme von ernährungsphysiologisch relevanten Mengen von XN, wie sie durch den Konsum von 50-1500 ml alkoholfreien Bier erreicht werden können, die durch LPS-induzierte Freisetzung von pro-entzündlichen Botenstoffen reduzieren könnte, wobei der Effekt zwischen normal- und übergewichtigen Personen ähnlich zu sein scheint. Um die Effekte auf die Immunantwort und die molekularen Mechanismen von XN bei übergewichtigen Probandinnen mit und ohne metabolische Auffälligkeit genauer zu untersuchen, sollten zukünftige Studien mit größeren Stichproben und längeren Untersuchungszeiträumen durchgeführt werden.

Summary

According to the World Health Organization, overweight and obesity are defined as excessive or abnormal accumulation of body fat associated with an increased risk of health complications. The prevalence of overweight and obesity is continuously increasing in both adults and children, representing one of the greatest health challenges worldwide and a significant risk factor for numerous chronic diseases. The causes of the increase in overweight are multifactorial, but partly preventable and largely reversible.

Results from previous studies have shown that the prenylated chalcone xanthohumol (XN), which occurs naturally in hops, has an anti-inflammatory effect. The immunomodulatory effects of XN in nutritionally relevant amounts, such as those that can be achieved by consuming 0.25-1L of non-alcoholic beer, and its role in obesity have hardly been studied to date. In addition, little is known about the molecular mechanisms of action.

As part of this study, a pilot study was conducted with normal-weight ($n = 4$) and overweight women ($n = 6$) with and without metabolic abnormalities to further investigate the effect of xanthohumol on the human organism. The subjects consumed a study drink containing 0.75 mg XN in the form of an XN-containing hop extract (75% XN) and a placebo. Monocytes were then isolated from whole blood and stimulated with 100 ng/ml lipopolysaccharide (LPS) for six hours. The cell supernatant was collected six hours after the addition of LPS and the concentrations of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) were determined using ELISA. Due to the small sample size, no statistical analysis of the data was performed. At time point T0, the relative increase in cytokine release was not significantly different between the groups. After 6 hours of stimulation with LPS, a significantly increased release of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 was observed in the isolated monocytes, regardless of body weight. Compared to placebo, the intake of 0.75 mg XN via an XN-containing extract resulted in a reduced release of all three cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6), with this increase being lower in overweight individuals than in those of normal weight.

These results indicate that the intake of nutritionally relevant amounts of XN, as can be achieved by consuming 50-1500 ml of non-alcoholic beer, could reduce the LPS-induced release of pro-inflammatory mediators, with the effect appearing to be similar

between normal-weight and overweight individuals. To investigate the immunomodulatory effects and molecular mechanisms of XN in overweight subjects with and without metabolic abnormalities in more detail, future studies with larger samples and longer study periods should be conducted.

Literaturverzeichnis

Ahmed, B., Sultana, R., & Greene, M. W. (2021). Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 111315.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111315>

Almaguer, C., Schönberger, C., Gastl, M., Arendt, E., & Becker, T. (2014, September 26). *Humulus lupulus – a story that begs to be told. A review—Almaguer—2014—Journal of the Institute of Brewing—Wiley Online Library*. Wiley Online Library.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jib.160?msocid=32e5e80f2ca56a492d0cfd492daf6b48>

Apovian, C. M. (2016). Obesity: Definition, comorbidities, causes, and burden. *The American Journal of Managed Care*, 22(7 Suppl), s176-185.

Cho, Y.-C., Kim, H. J., Kim, Y.-J., Lee, K. Y., Choi, H. J., Lee, I.-S., & Kang, B. Y. (2008). Differential anti-inflammatory pathway by xanthohumol in IFN-gamma and LPS-activated macrophages. *International Immunopharmacology*, 8(4), 567–573. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.12.017>

Coats, B. R., Schoenfelt, K. Q., Barbosa-Lorenzi, V. C., Peris, E., Cui, C., Hoffman, A., Zhou, G., Fernandez, S., Zhai, L., Hall, B. A., Haka, A. S., Shah, A. M., Reardon, C. A., Brady, M. J., Rhodes, C., Maxfield, F. R., & Becker, L. (2017). Metabolically activated adipose tissue macrophages perform detrimental and beneficial functions during diet-induced obesity. *Cell reports*, 20(13), 3149–3161. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.096>

- Costa, R., Rodrigues, I., Guardão, L., Rocha-Rodrigues, S., Silva, C., Magalhães, J., Ferreira-de-Almeida, M., Negrão, R., & Soares, R. (2017). Xanthohumol and 8-prenylnaringenin ameliorate diabetic-related metabolic dysfunctions in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 45, 39–47.
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.03.006>
- Cox, A. J., West, N. P., & Cripps, A. W. (2015). Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 3(3), 207–215.
[https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(14\)70134-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(14)70134-2)
- De Loera-Rodriguez, C. O., Delgado-Rizo, V., Alvarado-Navarro, A., Agraz-Cibrian, J. M., Segura-Ortega, J. E., & Fafutis-Morris, M. (2014). Over-expression of TLR4-CD14, pro-inflammatory cytokines, metabolic markers and NEFAs in obese non-diabetic Mexicans. *Journal of Inflammation (London, England)*, 11, 39.
<https://doi.org/10.1186/s12950-014-0039-y>
- Dostálek, P., Karabín, M., & Jelínek, L. (2017). Hop Phytochemicals and Their Potential Role in Metabolic Syndrome Prevention and Therapy. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(10), 1761. <https://doi.org/10.3390/molecules22101761>
- Ellulu, M. S., Patimah, I., Khaza'ai, H., Rahmat, A., & Abed, Y. (2017). Obesity and inflammation: The linking mechanism and the complications. *Archives of Medical Science : AMS*, 13(4), 851–863.
<https://doi.org/10.5114/aoms.2016.58928>
- Gan, S. D., & Patel, K. R. (2013). Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. *The Journal of Investigative Dermatology*, 133(9), e12.
<https://doi.org/10.1038/jid.2013.287>

- Garg, S. S., Kushwaha, K., Dubey, R., & Gupta, J. (2023). Association between obesity, inflammation and insulin resistance: Insights into signaling pathways and therapeutic interventions. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 200. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2023.110691>
- GBD 2021 Adult BMI Collaborators. (2025). Global, regional, and national prevalence of adult overweight and obesity, 1990-2021, with forecasts to 2050: A forecasting study for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet (London, England)*, 405(10481), 813–838. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(25\)00355-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(25)00355-1)
- Gonzalo-Encabo, P., Maldonado, G., Valadés, D., Ferragut, C., & Pérez-López, A. (2021). The Role of Exercise Training on Low-Grade Systemic Inflammation in Adults with Overweight and Obesity: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(24), 13258. <https://doi.org/10.3390/ijerph182413258>
- Gregor, M. F., & Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual Review of Immunology*, 29, 415–445. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322>
- Han, S. N., Jeon, K. J., Kim, M. S., Kim, H.-K., & Lee, A. J. (2011). Obesity with a body mass index under 30 does not significantly impair the immune response in young adults. *Nutrition Research*, 31(5), 362–369. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2011.04.002>
- Hayrapetyan, H., Tran, T., Tellez-Corrales, E., & Madiraju, C. (2023). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2612, 1–17. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2903-1_1

- Hege, M., Jung, F., Sellmann, C., Jin, C., Ziegenhardt, D., Hellerbrand, C., & Bergheim, I. (2018). An iso- α -acid-rich extract from hops (*Humulus lupulus*) attenuates acute alcohol-induced liver steatosis in mice. *Nutrition*, 45, 68–75.
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.07.010>
- Hirata, H., Uto-Kondo, H., Ogura, M., Ayaori, M., Shiotani, K., Ota, A., Tsuchiya, Y., & Ikewaki, K. (2017). Xanthohumol, a hop-derived prenylated flavonoid, promotes macrophage reverse cholesterol transport. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 47, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.04.011>
- Iniguez, A. B., & Zhu, M.-J. (2021). Hop bioactive compounds in prevention of nutrition-related noncommunicable diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(11), 1900–1913.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1767537>
- Institut für höhere Studien. (2024, Oktober 9). *Adipositas wird zunehmendes Problem*. Institut für höhere Studien - Institute for Advanced Studies (IHS).
<https://www.ihs.ac.at/current/media/press-releases/adipositas-verursacht-bereits-8-aller-todesfaelle-in-oesterreich-tendenz-steigend/>
- Jung, F., Staltner, R., Baumann, A., Burger, K., Halilbasic, E., Hellerbrand, C., & Bergheim, I. (2022). A Xanthohumol-Rich Hop Extract Diminishes Endotoxin-Induced Activation of TLR4 Signaling in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: A Study in Healthy Women. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12702. <https://doi.org/10.3390/ijms232012702>
- Jung, F., Staltner, R., Tahir, A., Baumann, A., Burger, K., Halilbasic, E., Hellerbrand, C., & Bergheim, I. (2022). Oral intake of xanthohumol attenuates lipoteichoic acid-

- induced inflammatory response in human PBMCs. *European Journal of Nutrition*, 61(8), 4155–4166. <https://doi.org/10.1007/s00394-022-02964-2>
- Kosovski, I.-B., Ciurea, C. N., Ghiga, D., Ciurea, N.-A., Huțanu, A., Gliga, F. I., & Bacărea, A. (2024). Characterizing Human Peripheral Blood Lymphocyte Phenotypes and Their Correlations with Body Composition in Normal-Weight, Overweight, and Obese Healthy Young Adults. *Medicina*, 60(9), 1523. <https://doi.org/10.3390/medicina60091523>
- Lasselin, J., Benson, S., Hebebrand, J., Boy, K., Weskamp, V., Handke, A., Hasenberg, T., Remy, M., Föcker, M., Unteroberdörster, M., Brinkhoff, A., Engler, H., & Schedlowski, M. (2020). Immunological and behavioral responses to in vivo lipopolysaccharide administration in young and healthy obese and normal-weight humans. *Brain, Behavior, and Immunity*, 88, 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.05.071>
- Legette, L., Karnpracha, C., Reed, R. L., Choi, J., Bobe, G., Christensen, J. M., Rodriguez-Proteau, R., Purnell, J. Q., & Stevens, J. F. (2014). Human pharmacokinetics of xanthohumol, an antihyperglycemic flavonoid from hops. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(2), 248–255. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300333>
- Legette, L. L., Luna, A. Y. M., Reed, R. L., Miranda, C. L., Bobe, G., Proteau, R. R., & Stevens, J. F. (2013). Xanthohumol lowers body weight and fasting plasma glucose in obese male Zucker fa/fa rats. *Phytochemistry*, 91, 236–241. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.04.018>
- Legette, L., Ma, L., Reed, R. L., Miranda, C. L., Christensen, J. M., Rodriguez-Proteau, R., & Stevens, J. F. (2012). Pharmacokinetics of xanthohumol and metabolites

- in rats after oral and intravenous administration. *Molecular nutrition & food research*, 56(3), 466–474. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100554>
- Liu, M., Hansen, P. E., Wang, G., Qiu, L., Dong, J., Yin, H., Qian, Z., Yang, M., & Miao, J. (2015). Pharmacological profile of xanthohumol, a prenylated flavonoid from hops (*Humulus lupulus*). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 20(1), 754–779. <https://doi.org/10.3390/molecules20010754>
- Llewellyn, A., Simmonds, M., Owen, C. G., & Woolacott, N. (2016). Childhood obesity as a predictor of morbidity in adulthood: A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 17(1), 56–67. <https://doi.org/10.1111/obr.12316>
- Mahli, A., Seitz, T., Freese, K., Frank, J., Weiskirchen, R., Abdel-Tawab, M., Behnam, D., & Hellerbrand, C. (2019). Therapeutic Application of Micellar Solubilized Xanthohumol in a Western-Type Diet-Induced Mouse Model of Obesity, Diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Cells*, 8(4), 359. <https://doi.org/10.3390/cells8040359>
- Medizinische Universität Wien. (2022, Februar 25). *Immer mehr junge Männer in Österreich erkranken an Adipositas | MedUni Wien*. Medizinische Universität Wien. <https://www.meduniwien.ac.at/web/ueber-uns/news/default-0f889c8985/immer-mehr-junge-maenner-in-oesterreich-erkranken-an-adipositas/>
- Menck, K., Behme, D., Pantke, M., Reiling, N., Binder, C., Pukrop, T., & Klemm, F. (2014). Isolation of human monocytes by double gradient centrifugation and their differentiation to macrophages in teflon-coated cell culture bags. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 91, e51554. <https://doi.org/10.3791/51554>

Miranda, C. L., Elias, V. D., Hay, J. J., Choi, J., Reed, R. L., & Stevens, J. F. (2016).

Xanthohumol improves dysfunctional glucose and lipid metabolism in diet-induced obese C57BL/6J mice. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 599, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.03.008>

Miranda, C. L., Johnson, L. A., de Montgolfier, O., Elias, V. D., Ullrich, L. S., Hay, J. J.,

Paraíso, I. L., Choi, J., Reed, R. L., Revel, J. S., Kioussi, C., Bobe, G., Iwaniec, U. T., Turner, R. T., Katzenellenbogen, B. S., Katzenellenbogen, J. A., Blakemore, P. R., Gombart, A. F., Maier, C. S., ... Stevens, J. F. (2018). Non-estrogenic Xanthohumol Derivatives Mitigate Insulin Resistance and Cognitive Impairment in High-Fat Diet-induced Obese Mice. *Scientific Reports*, 8(1), 613. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18992-6>

Montserrat-Mesquida, M., Quetglas-Llabrés, M., Bouzas, C., Capó, X., Mateos, D.,

Ugarriza, L., Tur, J. A., & Sureda, A. (2021). Peripheral Blood Mononuclear Cells Oxidative Stress and Plasma Inflammatory Biomarkers in Adults with Normal Weight, Overweight and Obesity. *Antioxidants*, 10(5), 813. <https://doi.org/10.3390/antiox10050813>

Morimoto-Kobayashi, Y., Ohara, K., Ashigai, H., Kanaya, T., Koizumi, K., Manabe, F.,

Kaneko, Y., Taniguchi, Y., Katayama, M., Kowatari, Y., & Kondo, S. (2016). Matured hop extract reduces body fat in healthy overweight humans: A randomized, double-blind, placebo-controlled parallel group study. *Nutrition Journal*, 15, 25. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0144-2>

Neumann, H. F., Frank, J., Venturelli, S., & Egert, S. (2022). Bioavailability and

Cardiometabolic Effects of Xanthohumol: Evidence from Animal and Human

- Studies. *Molecular Nutrition & Food Research*, 66(6), e2100831.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.202100831>
- Nookandeh, A., Frank, N., Steiner, F., Ellinger, R., Schneider, B., Gerhäuser, C., & Becker, H. (2004). Xanthohumol metabolites in faeces of rats. *Phytochemistry*, 65(5), 561–570. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2003.11.016>
- Parto, P., & Lavie, C. J. (2017). Obesity and Cardiovascular Diseases. *Current Problems in Cardiology*, 42(11), 376–394.
<https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2017.04.004>
- Rancán, L., Paredes, S. D., García, I., Muñoz, P., García, C., López de Hontanar, G., de la Fuente, M., Vara, E., & Tresguerres, J. A. F. (2017). Protective effect of xanthohumol against age-related brain damage. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 49, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.07.011>
- Schleh, M. W., Caslin, H. L., Garcia, J. N., Mashayekhi, M., Srivastava, G., Bradley, A. B., & Hasty, A. H. (2023). Metaflammation in obesity and its therapeutic targeting. *Science Translational Medicine*, 15(723), eadf9382.
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.adf9382>
- Statistik Austria. (2019). *Übergewicht und Adipositas*. STATISTIK AUSTRIA.
<https://www.statistik.at/statistiken/bevoelkerung-und-soziales/gesundheit/gesundheitsverhalten/uebergewicht-und-adipositas>
- Stevens, J. F., & Page, J. E. (2004). Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: To your good health! *Phytochemistry*, 65(10), 1317–1330.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.025>
- Suren Garg, S., Kushwaha, K., Dubey, R., & Gupta, J. (2023). Association between obesity, inflammation and insulin resistance: Insights into signaling pathways

- and therapeutic interventions. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 200, 110691. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2023.110691>
- Venturelli, S., Burkard, M., Biendl, M., Lauer, U. M., Frank, J., & Busch, C. (2016). Prenylated chalcones and flavonoids for the prevention and treatment of cancer. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 32(11–12), 1171–1178. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.03.020>
- Vicente de Andrade Silva, G., Demaman Arend, G., Antonio Ferreira Zielinski, A., Di Luccio, M., & Ambrosi, A. (2023). Xanthohumol properties and strategies for extraction from hops and brewery residues: A review. *Food Chemistry*, 404(Pt B), 134629. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134629>
- Williams, E. P., Mesidor, M., Winters, K., Dubbert, P. M., & Wyatt, S. B. (2015). Overweight and Obesity: Prevalence, Consequences, and Causes of a Growing Public Health Problem. *Current Obesity Reports*, 4(3), 363–370. <https://doi.org/10.1007/s13679-015-0169-4>
- World Health Organisation. (2025). *Obesity*. World Health Organisation. <https://www.who.int/health-topics/obesity>
- Wu, H., & Ballantyne, C. M. (2020). Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. *Circulation research*, 126(11), 1549–1564. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.315896>
- Zanoni, I., & Granucci, F. (2013). Role of CD14 in host protection against infections and in metabolism regulation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3, 32. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00032>

Anhang

I. Herstellung des Studiengetränks

Für die Herstellung des Studiengetränks wurde eine definierte Menge des XN-haltigen Extrakts (Xantho-Flav™ mit einem XN-Gehalt von 75 %) gemäß dem angestrebten Endvolumen, siehe Tabelle 4, in ein 50 ml-Falcon eingewogen. Außerdem wurden Staubzucker, Zitronensäure sowie ein Bindemittel abgewogen und alle Zutaten dem Falcon zugegeben und geschüttelt, damit sich die Substanzen gut vermischen. In drei weitere Falcongefäße wurden je 2,45 g dieser Mischung abgewogen, damit die angestrebte Endkonzentration erreicht werden kann.

Für die finale Zubereitung des Studiengetränks wurden 10 ml Zitronensirup in 500 ml stillem Wasser gelöst. Kurz vor der Einnahme des Getränks wurden 50 ml dieser Siruplösung zur Pulvermischung gegeben und das Falcon nochmals geschüttelt, bis sich eine homogene Mischung gebildet hat.

Das Placebogetränk wurde identisch hergestellt, allerdings ohne Zugabe des XN-haltigen Extrakts.

Tabelle 4: Zusammensetzung Studiengetränk und Placebo

Zutat	Placebo	0,75 mg XN
XN-haltiger Extrakt (75%XN)	-	4 mg
Staubzucker	8 g	8 g
Zitronensäure	0,5 g	0,5 g
Bindemittel	1,3 g	1,3 g

II. Isolation von Monozyten

Herstellung des RPMI-1640 Mediums

Um das RPMI-1640-Zellkulturmediums herzustellen, wurden zunächst 50 ml FBS, das zuvor bei -20 °C gelagert wurde, für die Hitzeinaktivierung für 30 Minuten in ein 60 °C warmes Wasserbad gestellt. Parallel dazu wurde ein 5 ml-Aliquot Penicillin/Streptomycin (P/S), welches bei -20 °C gelagert wurde, aufgetaut. Danach

wurden 55 ml des RPMI-1640-Mediums in ein steriles Röhrchen überführt. Nach dem vollständigen Auftauen wurden FBS und P/S, wie in Tabelle 5 dargestellt, zugesetzt und das Medium durch vorsichtiges Schwenken gemischt.

Tabelle 5: Zusammensetzung RPMI-1640-Medium

Substanz	Menge [ml]	Volumenanteil [%]
RPMI-1640 Medium	445	89%
FBS	50	10%
P/S	5	1%

III. ELISA Reagenzien

Herstellung des Phosphate Buffered Saline

Um 1 Liter PBS herzustellen, wurden die Substanzen mit einer Präzisionswaage abgewogen und in ein Becherglas überführt (siehe Tabelle 6). Im Anschluss wurde mit weiterem destilliertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und die Mischung mit einem Magnetrührer und Magnetrührstäbchen vollständig aufgelöst. Der pH-Wert wurde mithilfe eines pH-Meters auf einen Wert von 7,2-7,4 eingestellt, indem vorsichtig Natriumhydroxid (NaOH) oder Salzsäure (HCl) zugegeben wurde. Anschließend wurde die Lösung durch einen sterilen Filter filtriert und im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt.

Tabelle 6: Zusammensetzung PBS

Substanz	Menge [g]	Konzentration [M]
NaCl (Natriumchlorid)	8,0628	0,137
KCl (Kaliumchlorid)	0,2013	0,0027
Na ₂ HPO ₄ (di-Natriumhydrogenphosphat)	1,49876	0,01056
KH ₂ PO ₄ (Kaliumdihydrogenphosphat)	0,204135	0,00150

Herstellung des Reagent Diluent

Für die Herstellung von 100 ml Reagent Diluent wurde 1% BSA zu 100 ml PBS in eine Glasflasche gegeben (siehe Tabelle 7). Danach wurde die Mischung auf einem

Magnetrührer mithilfe eines Magnetührstäbchen so lange gerührt, bis das BSA vollständig aufgelöst war. Im Anschluss wurde das RD im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt.

Tabelle 7: Zusammensetzung RD

Substanz	Menge
PBS	100ml
BSA	1g

Herstellung des Waschpuffers

Für die Herstellung von 1 Liter Waschpuffer mit 0,05% Tween®20 wurden die folgenden Mengen in eine Glasflasche gegeben und die Lösung durch Schwenken gemischt (siehe Tabelle 8). Die Lagerung erfolgte im Anschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Tabelle 8: Zusammensetzung Waschpuffer

Substanz	Menge
PBS	1L
Tween®20	500 µl

Verdünnung der Capture und Detection Antikörper

Der Capture-Antikörper des entsprechenden ELISA-Kits wurde in 0,5 ml PBS gelöst und in 50 µl-Aliquots aufgeteilt, welche bei –20 °C aufbewahrt wurden. Um den ELISA durchzuführen wurde die Stocklösung nach den Angaben im Certificate of Analysis (COA) auf die entsprechende Arbeitskonzentration verdünnt, wie in Tabelle 9 dargestellt. Der Detection-Antikörper wurde in 1 ml RD gelöst und in 200 µl-Aliquots aufgeteilt, welche auch bei –20 °C aufbewahrt und vor der Verwendung entsprechend den COA-Angaben auf die entsprechende Arbeitskonzentration verdünnt wurden, wie in Tabelle 10 ersichtlich.

Tabelle 9: Verdünnung Capture Antikörper

Zytokin	Arbeitskonzentration [µg/ml]	Verdünnung der Stocklösung
TNF-α	4,00	1:120
IL-1β	2,00	1:120
IL-6	4,00	1:120

Tabelle 10: Verdünnung Detection Antikörper

Zytokin	Arbeitskonzentration [µg/ml]	Verdünnung der Stocklösung
TNF- α	50,0	1:60
IL-1β	75,0	1:60
IL-6	50,0	1:60

Verdünnungen der Standards

Der Standard des entsprechenden ELISA-Kits wurde in 0,5 ml RD bzw. destilliertem Wasser gelöst und in 50 µl-Aliquots aufgeteilt, welche bei –80 °C aufbewahrt wurden. Um den ELISA durchzuführen, wurde 1 ml der Stocklösung für Standard A entsprechend den Angaben im COA auf die Arbeitskonzentration verdünnt. Für die Herstellung der Standards B bis G wurden jeweils 500 µl RD in Eppis pipettiert. Danach erfolgte eine serielle 1:2-Verdünnung ausgehend von Standard A, wodurch die in Tabelle 11 angegebenen Konzentrationen erreicht wurden. Standard H enthielt nur 100 µl RD und entspricht dem Blank.

Tabelle 11: Verdünnungen und Konzentrationen der Standards

Zytokin	Verdünnung der Stocklösung	Konzentrationen der Standards [pg/ml]							
		A	B	C	D	E	F	G	H
TNF- α	1:120	1000	500	250	125	62,5	31,3	15,6	0
IL-1 β	1:360	250	125	62,5	31,3	15,6	7,8	3,9	0
IL-6	1:383	600	300	150	75	37,5	18,8	9,4	0