

RENATA SZYMAŃSKA, BEATRYCZE NOWICKA, JERZY KRUK

*Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków
E-mail: jkruk@mol.uj.edu.pl
r.szymanska@uj.edu.pl
rayell@o2.pl*

WITAMINA E – METABOLIZM I FUNKCJE

WPROWADZENIE

Witamina E, niezbędny składnik pożywienia ssaków, to grupa związków należących do tokochromanoli. Pierwsze doniesienia na temat tej witaminy pojawiły się w latach 20. ubiegłego wieku, gdy wykazano jej niezbędność w procesie rozmnażania u szczurów (EVANS i BISHOP 1922). Tokochromanole są syntetyzowane wyłącznie przez rośliny i niektóre sinice (MUNNE-BOSCH 2005), jednakże występują także u zwierząt jako substancje pochodzące z pokarmów, dla których są niezbędnym składnikiem. Większość ich funkcji fizjologicznych zarówno u roślin, jak i u zwierząt wiąże się z ich właściwościami antyutleniającymi; wiadomo jednak, że odgrywają one również rolę w regulacji płynności błon, uczestniczą w przekazywaniu sygnałów oraz regulacji ekspresji genów, a u ssaków pełnią funkcję immunomodulacyjną i neuroprotekcijną (BEHARKA i współaut. 1997, ZINGG i AZZI 2004).

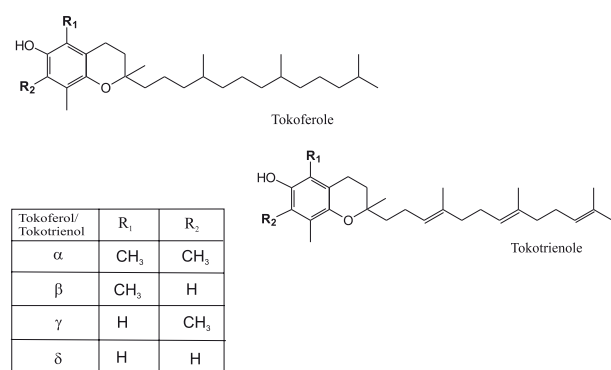
Wszystkie tokochromanole zbudowane są z pierścieniowego układu chromanolowego, tzw. „głowy”, do którego dołączony jest izoprenoidowy łańcuch boczny – „ogon” (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). W skład chro-

manolu wchodzi 2 pierścienie, aromatyczny oraz heterocykliczny, zawierający atom tlenu. Grupa hydroksylowa znajdująca się w pozycji 4 pierścienia aromatycznego nadaje układowi chromanolowemu charakter polarny, podczas gdy węglowodorowy łańcuch jest hydrofobowy (Ryc. 1). Dzięki takiej budowie cząsteczki, tokochromanole wykazują charakter amfifilowy, a ponadto obecność długiego łańcucha izoprenoidowego zapewnia im dobrą rozpuszczalność w tłuszczach. Amfifilowa budowa ułatwia tokochromanolom lokalizację w błonach, gdzie mogą oddziaływać z występującymi tam lipidami (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). Cząsteczki tokochromanoli umiejscawiają się w dwuwarstwach lipidowych w ten sposób, że ich hydrofobowy „ogon” wchodzi pomiędzy łańcuchy węglowodorowe lipidów, natomiast polarna „głowa” jest eksponowana do środowiska wodnego (DELLAPENNA 2005a).

Klasyfikacja tokochromanoli uwzględnia stopień nasycenia łańcucha bocznego oraz ilość i pozycję grup metylowych w pierścieniu aromatycznym chromanolu. Ze względu na stopień nasycenia łańcucha tokochroma-

Praca została sfinansowana ze środków grantu badawczego MNiSW Nr N302 049 32.

Skróty: $^1\text{O}_2$ — tlen singletowy; $\text{OH}^\cdot$ — rodnik hydroksylowy; $\text{O}_2^{\cdot-}$ — anionorodnik ponadtlenkowy; JA — kwas jasmonowy, LPL — lipaza lipoproteinowa; ROS — reaktywne formy tlenu; PKC — kinaza białkowa C; Toc — tokoferol, tokoferole; T_3 — tokotrienol, tokotrienole; α -TTP — białko transportujące α -tokoferol, PQ — plastochinon, RT — równoważnik tokoferolu; wit. E — witamina E.



Ryc. 1. Struktura chemiczna tokochromanoli.

nole podzielono na dwie grupy: tokoferole (Toc), u których występuje całkowicie nasycony 16-węglowy łańcuch izoprenoidowy

oraz tokotrienole (T₃) posiadające w 16-węglowym łańcuchu bocznym trzy wiązania podwójne, w pozycjach 3', 7' i 11' (Rys. 1). Ze względu na pozycję i liczbę grup metylowych przyłączonych do pierścienia aromatycznego wyróżniono cztery, naturalnie występujące formy tokochromanoli: α, β, γ i δ (Ryc. 1).

Pomimo tego, że Toc i T₃ posiadają podobne właściwości chemiczne, ich aktywność biologiczna w organizmach ssaków znacząco się różni (DELLAPENNA 2005a). Najbardziej aktywną formą jest α-Toc, gdyż to głównie on jest zatrzymywany w organizmie dzięki obecności wiążącego go preferencyjnie białka α-TTP (ang. α-Tocopherol Transfer Protein) (HOSOMI i współaut. 1997). Pozostałe homologu Toc i T₃ posiadają od kilku (δ-Toc, β-T₃) do 50% (β-Toc) „aktywności wit. E” (patrz dalej) (DELLAPENNA 2005a).

BIOSYNTeza TOKOCHROMANOLI

Zdolność biosyntezy tokochromanoli posiadają wszystkie rośliny wyższe oraz niektóre sinice (MUNNE-BOSCH 2005) skąd można wnioskować, iż pojawiła się ona na pewnym etapie ewolucji organizmów przeprowadzających fotosyntezę tlenową, a następnie została zachowana w wyniku endosymbiozy sinic z eukariotycznym „praprzodkiem”, której efektem było powstanie chloroplastów. Dzięki doświadczeniom z zastosowaniem izotopów radioaktywnych przebieg szlaku został poznany już na przełomie lat 70. i 80. ubiegłego wieku, jednak dopiero w ostatniej dekadzie udało się zidentyfikować geny odpowiedzialne za biosyntezę tokochromanoli oraz oczyścić i scharakteryzować część kodowanych przez nie enzymów (LI i współaut. 2008). Było to możliwe także dzięki zastosowaniu bioinformatyki (analiza sekwencji, poszukiwanie homologów), genetyki (badania na mutantach i organizmach transgenicznych) oraz najnowszych technik biologii molekularnej (DELLAPENNA 2005a). Organizmami modelowymi wykorzystywanymi do tych badań były głównie: sinica *Synechocystis* PCC6803 oraz *Arabidopsis thaliana* – jako przedstawiciel roślin wyższych (DELLAPENNA 2005b).

U roślin wyższych biosynteza tokochromanoli zachodzi w plastydach (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). Wykorzystywane są do niej prekursorzy pochodzące z cytozolowego szlaku kwasu szikimowego oraz z plastydowego szlaku biosyntezy poliizoprenoidów. Szlak

kwasu szikimowego dostarcza tyrozyny, która zostaje przekształcona w *p*-hydroksyfenylopirogrońian (HPP) przez aminotransferazę tyrozynową. HPP jest następnie substratem dla dioksygenazy *p*-hydroksyfenylopirogrońianu (HPPD). Przeprowadzana przez ten enzym nieodwracalna reakcja jest uważana za pierwszy krok biosyntezy tokochromanoli (DELLAPENNA 2005a) i prowadzi do powstania kwasu homogentyzynowego (HGA) – bezpośredniego prekursora polarnej głowy tokochromanoli (Ryc. 2). HGA jest także prekursorem w biosyntezie plastochinonu (PQ) (DAHNHARDT i współaut. 2002). Mutanty *A. thaliana* z nieaktywną HPPD są niezdolne do syntezy zarówno Toc, jak i PQ (nie posiadają także karotenoidów, gdyż PQ jest niezbędnym kofaktorem enzymu uczestniczącego w biosyntezie tej grupy barwników) (DAHNHARDT i współaut. 2002). Zaskakujące jest, że mutant *Synechocystis* PCC 6803 pozbawiony HPPD nie posiadał wprawdzie Toc, ale poziom PQ był u niego nie zmieniony, co sugeruje występowanie u sinic alternatywnego szlaku biosyntezy PQ niezależnego od HGA (DAHNHARDT i współaut. 2002). Prekursor izoprenyloвого „ogona” – pirofosforan izopentenylu jest produktem plastydowego szlaku 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanowego (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). W wyniku kolejnych kondensacji powstaje z niego pirofosforan geranylogeranylu (GGPP), który może ulegać redukcji do pirofosforanu fitylu (PPP). Zarówno



Użyte skróty: DMGGBQ – 2,3-dimetylo-6-geranylogeranylo-1,4-benzochinol; DMPBQ – 2,3 dimetylo-6-fitylo-1,4-benzochinol; GGPP – pirofosforan geranylogeranylu; CT – cyklaza tokoferolowa, γ -TMT – metylotransferaza γ -tokoferolu; HGA – kwas homogentyzynowy, HGGT – geranylogeranylotransferaza homogentyzynianowa; HPP – *p*-hydroksyfenylopirogrońian; HPPD – dioksygenaza *p*-hydroksyfenylopirogrońianu; HPT – fitylotransferaza homogentyzynianowa; MGGBQ – 2-metylo-6-geranylogeranylo-1,4-benzochinol; MPBQ – 2-metylo-6-fitylo-1,4-benzochinol; MPBQ MT – metylotransferaza 2-metylo-6-fitylo-1,4-benzochinolu; PPP – pirofosforan fitylu; TAT – aminotransferaza tyrozynowa; Tyr – tyrozyna.

GGPP, jak i PPP mogą ulegać kondensacji z HGA. Reakcja ta jest przeprowadzana przez prenylotransferazy homogentyzynianowe prowadzi do powstania 2-metylo-6-fitylo-1,4-benzochinolu (MPBQ) (jeśli substratem był PPP), będącego bezpośrednim prekursorem Toc, lub 2-metylo-6-geranylogeranylo-1,4-benzochinolu (MGGBQ) (jeśli użyty został PPGG), będącego bezpośrednim prekursorem T₃ (DELLAPENNA 2005a). Specyficzność substratowa danej prenylotransferazy homogentyzynianu względem łańcucha izoprenyloвого jest ważnym czynnikiem determinującym skład tokochromanoli w komórce (DELLAPENNA 2005a).

MPBQ oraz MGGBQ mogą następnie ulegać reakcji metylacji przeprowadzanej przez metylotransferazę 2-metylo-6-fitylo-1,4-benzochinolu (MT MPBQ) lub cyklizacji przeprowadzanej przez cyklazę Toc. Metylacja prowadzi do 2,3-dimetylo-6-fitylo-1,4-benzochinolu (DMPBQ) i 2,3-dimetylo-6-geranylogeranylo-1,4-benzochinolu (DMGGBQ) natomiast w wyniku cyklizacji powstaje odpowiednio δ -Toc lub δ -T₃ (Ryc. 2). DMPBQ i DMGGBQ są substratami dla cyklazy Toc – w wyniku cyklizacji powstają odpowiednio γ -Toc i γ -T₃. Formy δ - i γ - mogą być następnie metylowane przez metylotransferazę γ -Toc (γ -TMT) w pozycji 5 pierścienia aromatycznego, co

proceedzi do powstania odpowiednio form β - i α -Toc (Ryc. 2.) (DELLAPENNA 2005a). Doświadczenia na oczyszczonej rekombinantowej metylotransferazie γ -Toc z *A. thaliana* oraz oczyszczonym preparacie tego enzymu z *Capsicum annuum* potwierdziły jej zdolność konwersji γ - i δ -Toc odpowiednio do α - i β -Toc, podczas gdy β -Toc nie był metylowany (KOCH i współaut. 2003). Wykazano ponadto, że podawanie egzogenego γ -Toc do preparatów chromoplastów z *C. annuum* powodowało zwiększenie biosyntezy α -Toc (ARANGO i HEISE 1998). Sinicowa MT MPBQ przeprowadza także ostatnią reakcję na szlaku biosyntezy PQ (SHINTANI i współaut. 2002). Co ciekawe, enzym ten jest jedynym enzymem szlaku biosyntezy tokochromanoli, który nie

wyazuje homologii z enzymem roślin wyższych (LI i współaut. 2008). W przypadku pozostałych enzymów sekwencje aminokwasowe odpowiadających sobie homologów roślinnych i sinicowych są bardzo podobne. Przypuszcza się, że MT MPBQ stanowią przykład ewolucji konwergentnej (LI i współaut. 2008).

Większość enzymów uczestniczących w biosyntezie tokochromanoli począwszy od etapu kondensacji występuje w wewnętrznej osłonce plastydu, jedynie cyklaza Toc znajduje się w plastoglobulach, natomiast lokalizacja γ -TMT pozostaje nieznana (SZYMAŃSKA i KRUK 2007). U sinic geny szlaku biosyntezy tokochromanoli są zorganizowane w operony (DELLAPENNA 2005a).

WYSTĘPOWANIE I FUNKCJE TOKOFEROLI U ROŚLIN

Wysoka zawartość tokoferoli w nasionach jest jednym z mechanizmów chroniących kwasy tłuszczowe lipidów w nich zawartych przed utlenieniem. Dane literaturowe mówiące o zawartości i składzie Toc, dotyczą w głównej mierze nasion i olejów tłoczonych z nasion, ze względu na żywieniowe znaczenie witaminy E. Jej zawartość w olejach roślinnych dochodzi do 2 mg/g oleju (DELLAPENNA 2005a), podczas gdy w liściach roślin wyższych ok. 10–50 μ g/g świeżej masy (SZYMAŃSKA i KRUK 2008). Dominującym homologiem Toc w olejach roślinnych jest zwykle forma γ (Tabela 1), w przeciwieństwie do liści, gdzie przeważa α -Toc (>90%) (SZYMAŃSKA i KRUK 2008). Pomimo tego, że γ -Toc jest znacznie mniej aktywny biologicznie od formy α , niemniej jednak zawartość Toc w olejach jest wielokrotnie wyższa niż w liściach i nawet oleje o mniejszej zawartości α -Toc są jego wystarczającym źródłem w pożywieniu. Ponadto podejmuje się próby uzyskiwania roślin transgeniczných o zwiększonej zawartości α -Toc w nasionach (patrz dalej).

Całkowita zawartość Toc ulega podwyższeniu w czasie dojrzewania owoców. W tym czasie zawartość α - i β -Toc znacznie wzrasta, natomiast γ -Toc rośnie na początku, by spaść w końcowych stadiach dojrzewania (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). Wysokie natężenie światła jest jednym z czynników modyfikujących w największym stopniu zawartość Toc w liściach różnych gatunków. Wykazano na przykład, że zawartość α -Toc w liściach buka i dębu wyeksponowanych na silne światło jest kilkukrotnie większa niż w liściach zacie-

nionych (SZYMAŃSKA i KRUK 2007). Świadczy to o działaniu fotoprotekcyjnym Toc. Taki wniosek potwierdza także wysokie stężenie α -Toc u roślin wysokogórskich, które są często narażone na działanie silnego światła oraz niskiej temperatury (STREB i współaut. 1998). Stwierdzono także wahania α -Toc uwarunkowane rytmem dobowym roślin. U alpejskich gatunków maksymalna koncentracja α -Toc występuje w południe, a najniższa jest w okresie nocnym (WILDI i LEUTZ 1996). Wykazano ponadto, że u glonu *Chlamydomonas reinhardtii* poddanemu stresowi świetlnemu następuje stosunkowo szybki (godziny) obrót (ang. turnover) α -Toc (KRUK i współaut. 2005). Zostaje on nieodwracalnie utleniony tlenem singletowym generowanym w czasie stresu świetlnego, a na jego miejsce jest syntezowany nowy α -Toc. Wzrost zawartości α -Toc u roślin jest powodowany także: niedoborem wody, promieniowaniem UV-B oraz niską temperaturą (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002, SZYMAŃSKA i KRUK 2008).

Poznanie genów kodujących enzymy odpowiedzialne za biosyntezę tokochromanoli umożliwiło podjęcie prób otrzymania organizmów transgeniczných zawierających zwiększoną zawartość tokochromanoli lub zmieniony udział poszczególnych form. I tak np. nadekspresja genu kodującego HPPD w *A. thaliana* doprowadziła do wzrostu zawartości Toc w liściach o 30%, a w nasionach o 15% (DELLAPENNA 2005b). Nadekspresja genu kodującego HPT okazała się wydajniejszym rozwiązaniem: zawartość Toc w liściach *A. thaliana* wzrosła 5 razy, zaś w nasionach

2 razy (DELLAPENNA 2005b). Nadekspresja cykazy Toc w liściach rzodkiewnika doprowadziła do siedmiokrotnego wzrostu zawartości Toc (przyrost dotyczył głównie γ -Toc) (DELLAPENNA 2005b). Wprowadzenie do rzodkiewnika genów *HGGT* z roślin jednoliściennych (pszenicy, jęczmienia, ryżu) doprowadziło do 10–15-krotnego wzrostu zawartości tokochochromanoli, jednakże dominującą formą były T_3 o niskiej aktywności biologicznej witaminy E (CAHOON i współaut. 2003). Przykładem manipulacji jakościowej była z kolei nadekspresja genu kodującego γ -TMT w nasionach *A. thaliana*, co doprowadziło do przekształcenia praktycznie całego γ -Toc w α -Toc, w wyniku czego zawartość α -Toc w nasionach wzrosła 80 razy (DELLAPENNA 2005b). Równoczesna nadekspresja *HPT* i γ -TMT w *A. thaliana* doprowadziła do znacznego wzrostu zawartości homologów bardziej aktywnych biologicznie (DELLAPENNA 2005b). Podobnie nadekspresja genów kodujących MPBQ MT i γ -TMT z *A. thaliana* w soi doprowadziła do wzrostu zawartości α -Toc w oleju sojowym (DELLAPENNA 2005b).

Tokochochromanole są uważane przede wszystkim za antyutleniacze i pod tym względem ich działanie zostało dosyć dobrze poznane. W komórkach roślin reaktywne formy

tlenu (ROS) powstają nieustannie, zarówno jako produkty uboczne fotosyntezy i oddychania komórkowego, jak również w wyniku narażenia roślin na stres (MAEDA i DELLAPENNA 2007). Efektywne mechanizmy dezaktywacji ROS są niezbędne dla ich prawidłowego funkcjonowania. W toku ewolucji powstało tych mechanizmów wiele – zarówno enzymatycznych, jak i nieenzymatycznych, które efektywnie współdziałają ze sobą (LI i współaut. 2008). Rozpuszczalne w tłuszczach tokochochromanole chronią przed utlenianiem lipidy błonowe oraz zapasowe (występujące np. w oleosomach nasion) (DORMANN 2007, MAEDA i DELLAPENNA 2007). Przede wszystkim mogą one ograniczać ich peroksydację (LI i współaut. 2008). Peroksydacja lipidów jest reakcją łańcuchową. Jej faza inicjacji polega na utlenieniu cząsteczki wielonienasyconego kwasu tłuszczowego (ang. poly-unsaturated fatty acid, PUFA) przez rodnik hydroksylowy $OH^\bullet$ lub anionorodnik ponadtlenkowy $O_2^{\bullet-}$, w wyniku czego powstaje lipidowy rodnik peroksydowy. Rodnik ten może reagować z kolejnymi cząsteczkami lipidów, przeprowadzając je w następne rodniki peroksydowe (faza propagacji). Tokochochromanole mogą zatrzymać propagację, poprzez dezaktywację rodnika lipidowego (MUNNE-BOSCH i ALEGRE

Tabela 1. Zawartości tokochochromanoli w wybranych organach roślinnych oraz olejach pochodzenia roślinnego (HERTING i DRURY 1963, PACKER i FUCHS 1992, GOFFMANN i MOLLERS 2000, GOFFMANN i GALETTI 2001, DELLAPENNA 2005a).

Organ lub olej	Całkowita zawartość tokochochromanoli ($\mu\text{g/g}$ s. m. lub g oleju)	Główna forma witaminy E oraz jej zawartość procentowa w całkowitej puli
Bulwy ziemniaka	0,7	90% α -Toc
Liście sałaty	7	55% α -Toc
Liście szpinaku	30	63% α -Toc
Liście rzodkiewnika	10–20	90% α -Toc
Nasiona rzodkiewnika	200–300	95% γ -Toc
Nasiona pszenicy	50	56% β - T_3
Olej z kielków pszenicy	2700	47% α -Toc
Łuskane ziarna ryżu	17	30% α - T_3
Nasiona kukurydzy	60	75% γ -Toc
Olej z nasion kukurydzy	1000	70% γ -Toc
Olej sojowy	1200	70% γ -Toc
Olej słonecznikowy	700	96% α -Toc
Olej rzepakowy	680	60% γ -Toc
Olej z nasion porzeczki czarnej	1716	60% γ -Toc
Olej z nasion winorośli	174	77% α -Toc
Olej kokosowy	12	60% δ -Toc
Oliwa z oliwek	126	94% α -Toc
Olej z orzechów włoskich	1608	37% γ -Toc

2002). W wyniku reakcji rodnika peroksylogowego z tokochromanolem, polegającej na przekazaniu atomu wodoru z grupy -OH w pierścieniu chromanolowym na grupę -OO• rodnika lipidowego, powstaje lipidowy hydroksynadtlenek oraz rodnik tokoferoksylogowy, który może być recykliczowany do tokochromanolu przez askorbinian (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). Tokochromanole mogą także chronić przed utlenieniem grupy tiolowe białek (LI i współaut. 2008). Są one także zdolne do wygaszania tlenu singletowego ($^1\text{O}_2$) lub zmiatania go na drodze chemicznej (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). Reakcja z $^1\text{O}_2$ prowadzi do powstawania związków chinonowych (w przypadku α -Toc jest to α -tokoferyllochinon) i ich epoksydów (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). Uważa się, iż tokochromanole mogą także zmiatać inne ROS (jak $\text{O}_2^{\cdot-}$ czy $\text{OH}^{\cdot}$) oraz reaktywne formy azotu (HOGG i współaut. 1996). Pomimo tak szerokiego wachlarza bioaktywności, eksperymenty na mutantach niezdolnych do syntezy Toc wykazały, iż większość z nich przejawia jedynie bardzo niewielkie różnice fenotypowe (względem typu dzikiego) zarówno w warunkach normalnych, jak też w większości warunków stresowych. Jest to tłumaczone zdolnością kompensacji pomiędzy różnymi mechanizmami (LI i współaut. 2008). Obserwowana często odwrotna korelacja pomiędzy zawartością Toc a ilością askorbinianu i glutationu przemawia na korzyść tej hipotezy (LI i współaut. 2008). Antyutleniające działanie tokochromanoli zdają się potwierdzać obserwacje, że obecność Toc w nasionach zwiększa ich długowieczność, a także że w warunkach stresu i starzenia się, zawartość Toc częstokroć wzrasta (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002).

Postulowany jest również udział tokochromanoli w przekazywaniu sygnałów komórkowych, choć te zjawiska zostały poznane jedynie w niewielkim stopniu (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). Przypuszcza się, że część z nich jest ściśle powiązana z antyutleniającymi zdolnościami tokochromanoli (LI i współaut. 2008). W komórkach roślinnych równowaga pomiędzy ROS a antyutleniaczami pełni kluczową rolę dla regulacji fizjologii. Zaburzenie tej równowagi świadczy o nieprawidłowym stanie komórki i w przypadku znacznej przewagi ROS może doprowadzić nawet do uruchomienia szlaku programowanej śmierci komórki (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002). Ponadto wiadomo, że u roślin ROS działają także jako cząsteczki sygnałowe – mogą regulować np. ruchy aparatów szparkowych, czy

indukować ekspresję genów (LI i współaut. 2008). Wzmoczona produkcja ROS występuje także w odpowiedzi na infekcję patogenem (LI i współaut. 2008). Tokochromanole wpływając na ilość ROS, wpływają także na procesy, w których ROS pełnią funkcję regulacyjną (LI i współaut. 2008). Również ich zdolność inaktywacji rodników sulfhydrylowych może mieć znaczenie, gdyż wiele ważnych białek związanych z transdukcją sygnału posiada grupy tiolowe (LI i współaut. 2008). Wykryta korelacja pomiędzy ilością kwasu jasmonowego (JA) a zawartością α -Toc w stanie suszy przypuszczalnie jest również związana z antyutleniającymi zdolnościami α -Toc (MUNNE-BOSCH i FALK 2004). Jednym z intermediatów biosyntezy JA jest hydroksynadtlenek kwasu linolenowego. Ograniczanie powstawania hydroksynadtlenków kwasów tłuszczowych poprzez hamowanie peroksydacji lipidów przez α -Toc prowadzi do zmniejszonej podaży substratu do produkcji JA, a tym samym ogranicza jego syntezę (MUNNE-BOSCH i FALK 2004). Z drugiej strony przypuszcza się, że JA może wpływać na biosyntezę Toc poprzez regulację ekspresji genów enzymów w niej uczestniczących oraz przez uruchamianie procesów prowadzących do degradacji chlorofilu (uważa się, iż fitol uwalniany podczas degradacji chlorofilu może być wykorzystywany do biosyntezy Toc) (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002).

Bardzo słabo wyjaśnionym zjawiskiem jest udział Toc w regulacji transportu cukrów (MAEDA i DELLAPENNA 2007). Zjawisko to zostało odkryte przez przypadek, po zidentyfikowaniu genu kodującego cyklazę Toc u *A. thaliana*. Okazało się, że homologiczny gen opisano już u kukurydzy, na podstawie badań nad mutantem nazwanym SXD1 (ang. sucrose export defective) (LI i współaut. 2008). Mutant ten przejawiał zaburzenia translokacji węglowodanów w kiełkujących siewkach i spowolniony wzrost (MUNNE-BOSCH 2005). Obserwowano u niego gromadzenie się dużych ilości rozpuszczalnych cukrów i antocyjanów w liściach, odkładanie kalozy w liściach oraz obumieranie miękiszu w wiązkach przewodzących (DORMANN 2007, MAEDA i DELLAPENNA 2007). Anomalie te wynikały z nieprawidłowo wykształconych plazmodesm pomiędzy komórkami miękiszu łyka a komórkami pochwy okołowiązkowej w liściach, co znacząco utrudniało transport pomiędzy nimi. Wykazano, iż mutant ten istotnie nie zawierał Toc (LI i współaut. 2008). U mutantów *A. thaliana* nie obserwowano tego efektu

w normalnych warunkach wzrostowych, jednakże zaburzenia eksportu cukrów z tkanek asymilujących wystąpiły u roślin hodowanych w niskiej temperaturze (MAEDA i DELLAPENNA 2007). Wyciszenie genu cykazy Toc w ziemniaku z wykorzystaniem interferencji RNA także wywołuje upośledzenie transportu węglowodanów (MAEDA i DELLAPENNA 2007). Postuluje się, że α -Toc może działać jako cząsteczka sygnałowa uczestnicząca w szlakach przekazywania sygnałów z chloroplastów do jądra, związanych z metabolizmem węglowodanów (LI i współaut. 2008).

Inne sugerowane funkcje tokochromanolu to: utrzymywanie stabilności błon (Toc zwiększa sztywność błon) (MUNNE-BOSCH i ALEGRE 2002), ochrona fotosystemu II (PSII) przed degradacją (DORMANN 2007), regulacja cyklicznego transportu elektronów wokół PSII (SZYMANSKA i KRUK 2007). Uważa się także, iż α -tokoferyllochinon (α -TQ) powstający w wyniku nieodwracalnego utlenienia α -Toc może pełnić funkcje regulacyjne w fotosyntetycznym łańcuchu transportu elektronów, a jego zredukowana forma (α -TQH₂) również przejawia własności antyutleniające (SZYMANSKA i KRUK 2007).

WYSTĘPOWANIE I FUNKCJA WITAMINY E U CZŁOWIEKA

ABSORPCJA, TRANSPORT I DYSTRYBUCJA WITAMINY E

Zgodnie z definicją, witaminy to związki, które są niezbędne do życia człowieka i muszą być dostarczane z zewnątrz. Dotyczy to także witaminy E. Choć wraz z pożywieniem dostarczamy wszystkie jej homologi (Toc i T₃), to największe znaczenie dla ludzkiego organizmu ma α -Toc. Powodem tego jest obecność w wątrobie wyspecjalizowanego białka wiążącego i transportującego α -Toc: α -TTP (SATO i współaut. 1993), które specyficznie wiąże i dostarcza do miejsc działania właśnie tę formę. Pozostałe naturalnie występujące formy witaminy E (β -, γ -, δ -Toc oraz analogiczne T₃) także są pobierane, ale po dotarciu do wątroby są metabolizowane i wydalane (WU i CROFT 2007).

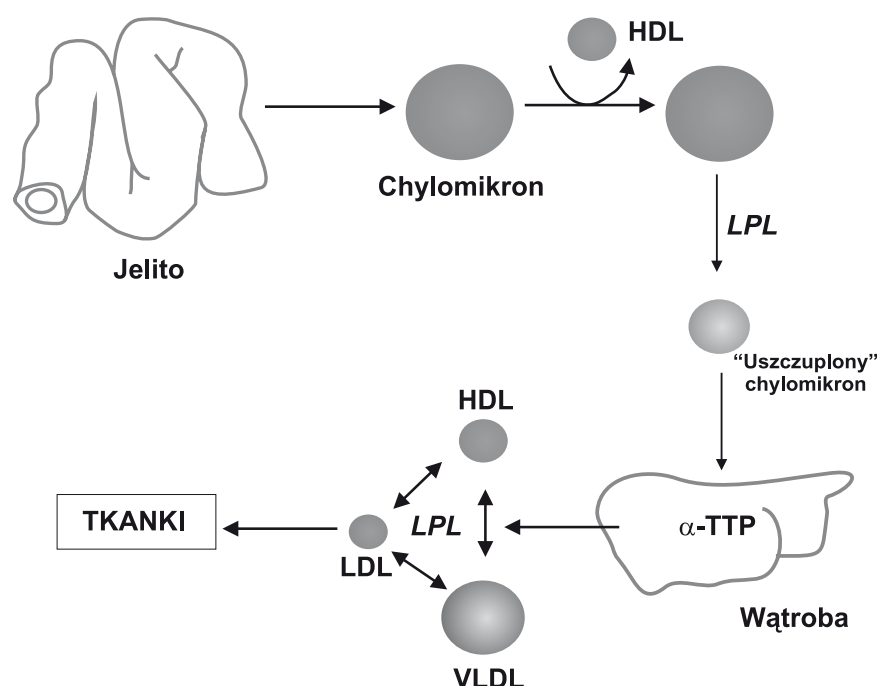
Zalecane dzienne spożycie (RDA) witaminy E wynosi od 6 do 20 mg (wg Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine). Normy dietetyczne są zróżnicowane w zależności od grupy wiekowej oraz aktualnego stanu zdrowotnego. Przykładowe zalecane normy tej witaminy dla różnych grup ludności przedstawia Tabela 2.

Często dawkę witaminy E (np. w tabelach żywieniowych) wyraża się jako tzw. równoważnik α -Toc (RT) w miligramach, w którym przyjmuje się, że α -Toc wykazuje 100% aktywności biologicznej. Według tej zasady: 1 mg RT = 1 mg czystego α -Toc; = 2 mg β -Toc; = 4 mg γ -Toc; = 5 mg α -T₃. Ponadto stosuje się także oznaczanie dawki wit. E w jednostkach międzynarodowych (ang. international unit, IU), gdzie przyjmuje się zależność: 1 mg równoważnika α -Toc = 1.5 IU.

Państwowa Inspekcja Sanitarna MSWiA w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z 19 grudnia 2002 r. w sprawie suplementów diety (Dz.U.2003.27.236), wskazuje następujące formy chemiczne witaminy E, które mogą być stosowane w produkcji suplementów diety: D- α -Toc, DL- α -Toc, octan D- α -Toc, octan DL- α -Toc, bursztynian D- α -Toc (<http://pis.mswia.gov.pl>). Przy tej okazji należy zaznaczyć, że syntetyczny α -Toc występuje w ośmiu formach stereoizomerycznych (RRR, RRS, RSS, SSS, RSR, SRS, SRR, SSR). Liczne badania pozwoliły ustalić, że organizm zwierzęcy (w tym człowiek) preferencyjnie przyswaja jedną z nich – naturalny stereoizomer RRR- α -Toc (AZZI i STOCKER 2000). Dyskryminacja pozostałych stereoizomerów pokazuje, że na biologiczne właściwości witaminy E ma wpływ struktura chemiczna tych związków (obecność lub brak grup metylowych w pierścieniu), stereochemia chiralnych cen-

Tabela 2. Dienne zalecane spożycie witaminy E (RDA) dla różnych grup ludności.

Grupa ludności	Zalecane dzienne spożycie (RDA) witaminy E (mg/dzień)
Dzieci 1–3 lat	6
Dzieci 4–8	7
Dzieci 9–13 lat	11
Mężczyźni 19–70 lat	15
Młodzież żeńska 14–18 lat	15
Kobiety 19–70	15
Kobiety ciężarne	17
Kobiety karmiące	19



Ryc. 3. Transport witaminy E w organizmie człowieka.

trów węglowych, a także stopień nasycenia łańcucha bocznego (AZZI i STOCKER 2000).

Człowiek pobiera witaminę E jako kompozycję jej homologów wraz z pożywieniem. Ze względu na dużą jej hydrofobowość organizm wykształcił specjalny mechanizm dystrybucji (Ryc. 3). Jest ona wchłaniana przez proksymalną część jelita cienkiego (AZZI i STOCKER 2000). Aparaty Golgiego komórek błony śluzowej jelita doprowadzają do upakowania Toc w chylomikronach (AZZI i STOCKER 2000), które następnie są wydzielane do krwi na zasadzie egzocytozy. We krwi chylomikrony, zostają pozbawione części triglicerydów w wyniku działania lipazy lipoproteinowej (LPL) i w „uszczuplonej” postaci docierają do wątroby. Dzięki obecności w wątrobie białka α -TTP, tylko α -Toc jest dalej transportowany, natomiast pozostałe tokochromanole są metabolizowane i wydalone wraz z żółcią (SCHNAIDER 2005). α -TTP pośredniczy we włączaniu α -Toc do lipoprotein o bardzo małej gęstości (VLDL) i wydzielaniu ich do krwi w postaci tych kompleksów (Ryc. 3) (KAYDEN i TRABER 1993). We krwi VLDL są katabolizowane przez lipazę lipoproteinową (LPL) do lipoprotein o małej (LDL) oraz o dużej gęstości (HDL) (Ryc. 3). Katabolizm VLDL powoduje, że α -Toc występuje równocześnie we wszystkich wyżej wymienionych typach lipoprotein, co zwiększa za-

się i miejsce jego występowania (KAYDEN i TRABER 1993). α -Toc transportowany wraz z lipoproteinami LDL jest przekazywany do tkanek, gdzie wypełnia swoje funkcje (AZZI i STOCKER 2000).

Nadmiar α -Toc, pozostałe homologu Toc oraz T_3 są w organizmie człowieka metabolizowane i wydalone, co świadczy o dążeniu organizmu o utrzymania odpowiedniego, adekwatnego do aktualnych wymagań, poziomu wit. E (ZINGG 2007a). Jak dotąd opisano kilka produktów metabolizmu wit. E. Jako pierwsze odkryto, już w latach 50., dwa metabolity α -Toc: kwas tokoferoniowy oraz lakton tokoferonowy, znane też pod nazwą metabolitów Simon’a (ZINGG 2007a). Głębsza analiza pozwoliła na odkrycie osobnego szlaku metabolicznego Toc, w którym końcowym produktem jest karboksyetyl hydrochromanu (CEHC), z krótszym łańcuchem bocznym, ale z nienaruszoną strukturą chromanu (WU i CROFT 2007). Interesujące jest, że niektóre z produktów metabolicznych Toc mogą pełnić rolę antyutleniaczy i modulatorów aktywności enzymów oraz czynników transkrypcyjnych (WU i CROFT 2007).

BIAŁKO TRANSPORTUJĄCE α -TOKOFEROL (α -TTP)

Jak wspomniano wcześniej biologiczne znaczenie i bioaktywność α -Toc wynika z faktu istnienia wątrobowego białka specyficznie

rozpoznającego i wiążącego właśnie tę formę (ZINGG 2007a). α -TTP zostało po raz pierwszy zidentyfikowane w wątrobie szczura i niedługo potem z niej wyizolowane (YOSHIDA i współaut. 1992). Jest to białko cytozolowe, o masie cząsteczkowej 31 kDa, które składa się z 278 reszt aminokwasowych (SCHNEIDER 2005). Gen α -TTP zlokalizowany jest na dłuższym ramieniu chromosomu 8 (HENTATI i współaut. 1996). Analiza α -TTP metodą Northern i Western Blotting u szczura, wykazała jego ekspresję nie tylko w wątrobie (choć tam jest ona najsilniejsza), ale także w mózgu, śledzionie, płucach oraz nerkach (SCHNEIDER 2005). Przyjmując powinowactwo α -TTP do α -Toc za 100% ustalono, że pozostałe formy wit. E są wiązane przez to białko z następującą wydajnością: β -Toc – 38%, α -T₃ – 12%, γ -Toc – 9%, δ -Toc – 2%, octan α -Toc – 2% (HOSOMI i współaut. 1997). Poznanie struktury krystalograficznej ludzkiego α -TTP ujawniło, że jest to globularne białko z trójhelikalnym zwojem na N-końcu oraz z domeną wiążącą lipidy CRALTRIO na C-końcu (MEIER i współaut. 2003). Co ciekawe, α -TTP występuje w dwóch konformacjach: otwartej (związanej z błoną) oraz zamkniętej (transportującej α -Toc) (MEIER i współaut. 2003).

Oprócz α -TTP zostało scharakteryzowanych kilka innych białek mających zdolność wiązania α -Toc. Jedno z nich to białko o masie 15 kDa, którego postulowaną funkcją jest udział w międzykomórkowym transporcie α -Toc (SCHNEIDER 2005). Zdolność wiązania i transportowania α -Toc ma także receptor-zmiatacz (ang. scavenger receptor) klasy B typu 1, afamina – białko z rodziny albumin, występujące w ludzkim osoczu (SCHNEIDER 2005), a także trzy białka związane z Toc (ang. tocopherol associated protein, TAP) (ZINGG 2007a).

NIEDOBÓR WITAMINY E

We krwi człowieka stężenie α -Toc wynosi ok. 20 μ M, γ -Toc ok. 2,5 μ M, δ -Toc – ok. 0,3 μ M, natomiast stężenie T₃ jest zwykle poniżej 1 μ M (ZINGG 2007a). Stężenie α -Toc poniżej 11,6 μ M we krwi człowieka jest uznawane za objaw niedoboru witaminy E (ZINGG 2007a). Wśród tkanek, najwyższą zawartością α -Toc cechuje się tkanka tłuszczowa (150 μ g/g tkanki) oraz nadnercze (132 μ g/g tkanki). W innych organach takich jak: nerki, serce czy wątroba, zawartość α -Toc waha się pomiędzy 7 a 40 μ g/g tkanki, natomiast bardzo niski poziom (ok. 2 μ g/g tkanki) występuje w erytrocytach (RIGOTTI 2007).

Żywieniowy niedobór witaminy E prawie nigdy nie występuje u ludzi. Taka sytuacja może wystąpić tylko w przypadku niektórych chorób związanych z nieprawidłowym wchłanianiem tłuszczów (SCHNEIDER 2005). Chorobą, która jest bezpośrednio związana z jej niedoborem jest bardzo rzadka neurodegeneracyjna choroba zwana ataksją z niedoborem witaminy E (ang. ataxia with vitamin E deficiency, AVED). U osób z tą chorobą osłabione jest włączanie α -Toc do lipoprotein VLDL w wątrobie (Ryc. 3) (SCHNEIDER 2005). AVED objawia się zaburzeniami rdzeniowo-mózdkowymi jeszcze przed osiągnięciem okresu dorosłości. W latach 90. wykazano, że przyczyną AVED jest mutacja w genie kodującym α -TTP (GOTODA i współaut. 1995).

NADMIAR WITAMINY E

Przeważająca ilość danych literaturowych wskazuje, że witamina E przyjmowana w nadmiarze, w przeciwieństwie do innych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, nie akumuluje się w organizmie do poziomu, który mógłby być dla niego toksyczny (LEONARD i współaut. 2005). Wiele danych doświadczalnych dowodzi, że jej nadmiar jest metabolizowany i wydalany wraz z moczem w postaci pochodnej chromanolowej – CEHC (LEONARD i współaut. 2005). Postulowane są trzy mechanizmy zapobiegające akumulacji witaminy E w tkankach: 1) redukcja jej absorpcji, 2) wzrost szybkości jej metabolizmu, 3) zwiększone wydalanie (LEONARD i współaut. 2005). Ponadto kilkakrotnie wykazano, że przyjmowanie zwiększonych dawek witaminy E zapobiega rozwojowi wielu chorób (patrz dalej). Tylko nieliczne analizy statystyczne wskazują na szkodliwość przyjmowania wysokich jej dawek (powyżej 400 IU/dzień) (MILLER i współaut. 2005).

FUNKCJE WITAMINY E U CZŁOWIEKA

EVANS i BISHOP już na początku XX w. wskazali witaminę E jako główny czynnik warunkujący prawidłowe rozmnażanie u szczurów (EVANS i BISHOP 1922). Dziś wiadomo, że podstawową funkcją witaminy E jest zapobieganie utlenianiu lipidów błon komórkowych, przerywanie postępującej już reakcji peroksydacji oraz zmiatanie ROS oraz wolnych rodników (ZINGG 2007a).

W ostatnich latach uwaga naukowców zwrócona jest w dużej mierze na inne niż antyutleniające właściwości witaminy E (AZZI 2000). Choć nie ma jeszcze bezpośredniego, eksperymentalnego dowodu, postuluje się

że, podobnie jak inne witaminy, może ona pełnić rolę kofaktora enzymatycznego (AZZI 2007). Wykazano, że pośredniczy w przekazywaniu sygnałów w komórce, a także reguluje ekspresję genów (AZZI 2007, SCHNEIDER 2005, GOHIL i współaut. 2007). Witamina E moduluje także aktywność enzymów, które są zaangażowane w szlaki przekazywania sygnałów (ZINGG 2007b). Jednym z takich enzymów jest kinaza białkowa C (PKC). Mechanizm tego zjawiska jest dość dobrze udokumentowany zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* (AZZI i STOCKER 2000, AZZI 2007). Proces ten jest obserwowany w wielu typach komórek, m.in. monocytach, makrofagach, neutrofilach oraz fibroblastach (AZZI i STOCKER 2000). Hamujące działanie α -Toc na PKC w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych polega na stymulującym działaniu na fosfatazę 2A, która z kolei powoduje wzmożoną defosforylację PKC i przez to jej inaktywację (SCHNEIDER 2005). Inny mechanizm inhibicji PKC występuje w monocytach. W ich przypadku obecność α -Toc prowadzi do zablokowania przemieszczania się cytozolowego czynnika $p47^{phox}$ (AZZI 2000). Uniemożliwia to właściwe tworzenie się kompleksu enzymatycznego oksydazy-NADPH w błonie, co z kolei wpływa na zmniejszenie o ok. 40% ilości wytwarzanego $O_2^{\cdot-}$, który jak wiadomo odgrywa główną rolę w mechanizmie zabijania patogenów – tzw. „wybuchu tlenowym” (SCHNEIDER 2005). Oprócz PKC, do grupy enzymów, których aktywność jest hamowana przez witaminę E należy m. in: kinaza białkowa B, fosfolipaza A2 czy cyklo-oksigenaza-2. Natomiast enzymami, których aktywność jest stymulowana są: alfa-kinaza diacyloglicerolu oraz fosfolipaza białkowa 2A (ZINGG 2007b).

Początek XXI w. przyniósł odkrycie m.in. w tkance tłuszczowej, wątrobie oraz wielu produktach spożywczych naturalnie występującej pochodnej α -Toc – fosforanu α -Toc (GIANELLO i współaut. 2005), który posiada zestryfikowaną grupę -OH w pierścieniu chromanolowym. Zaskakujące jest, że ta pochodna rozpuszcza się w wodzie oraz jest odporna na hydrolizę kwasowo-zasadową. Obecność grupy fosforanowej w pochodnej α -Toc pozwala uważać, że może ona brać udział w międzykomórkowym transporcie, regulacji enzymatycznej oraz w wewnątrzkomórkowych szlakach przekazywania sygnałów (GIANELLO 2005).

Wiele danych literaturowych wskazuje na prozdrowotne i terapeutyczne właści-

wości witaminy E (AZZI 2004). Dowiedziano, że zwiększenie dziennej dawki znosi neurologiczne objawy jej niedoboru (ZINGG 2007a), a także chroni przed chorobami naczyniowo-sercowymi (GEY i współaut. 1991). Oprócz tego wykazano korzystny wpływ podawania witaminy E w przypadku takich chorób jak: miażdżyca (MUNTEANU i ZINGG 2007), choroby układu krążenia (AZZI 2000), różne typy nowotworów (NEUZIL 2003, ZINGG 2007a), choroby zwłóknieniowe tkanek (ZINGG 2007a), stwardnienie zanikowe boczne (BUTTERFIELD i współaut. 2002), wiele chorób neurodegeneracyjnych, takich jak: choroba Parkinsona (FARISS i Zhang 2003), choroba Alzheimerera (BERMAN i BRODATY 2004) oraz w przypadku AVED (MARIOTTI i współaut. 2004). Witamina E jest także szeroko stosowana w preparatach kosmetycznych i w produktach do pielęgnacji skóry. Jej działanie antynowotworowe, fotoprotekcyjne i uszczelniające skórę znalazło potwierdzenie w wielu badaniach klinicznych (THIELE i EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE 2007). Warto także wspomnieć o badaniach prowadzonych nad analogami α -Toc, takimi jak: bursztynian α -Toc (α -TOS) czy α -tokoferolowa pochodna kwasu oksy-octowego (α -TEA), które stymulują apoptozę oraz hamują wzrost komórek rakowych w różnych typach nowotworów, np. nowotworach prostaty, piersi, nerwiakach czy miedzybłoniakach (ZINGG 2007a).

Pomimo że wiele danych wskazuje na prozdrowotne i pozytywne efekty α -Toc w leczeniu oraz zapobieganiu wielu chorobom, wyniki niektórych badań klinicznych zdają się negować jego dobroczynne działanie (TRABER 2006). Jeden z takich projektów przeprowadzony pod kryptonimem ATBC („zapobieganie rakowi przez α -Toc i β -karoten”) na grupie 29 000 palących fińskich mężczyzn, polegał na podawaniu części z uczestników α -Toc (50 mg/dzień), części β -karotenu (20 mg/dzień), a części placebo (ALBANES i współaut. 1995). Okazało się, że u osób przyjmujących α -Toc nastąpiło zmniejszenie zachorowalności na raka prostaty, jelita grubego i odbyticy, natomiast zwiększenie zachorowalności na raka żołądka (ALBANES 1995). Mając na uwadze także inne badania kliniczne (CHAOS, GISSI, HOPE, HPS, AREDS, PPP) (SCHNEIDER 2005, TRABER 2006) można powiedzieć, że podawanie α -Toc w zwiększonych dawkach nie obniża znacząco umieralności oraz ryzyka zachorowalności w przypadku chorób ser-

cowo-naczyniowych oraz naczyniowo-mózgowych (SCHNEIDER 2005).

Podsumowując rozważania dotyczące witaminy E można stwierdzić, że pełni ona bardzo ważne antyutleniające funkcje zarówno u roślin, jak i u człowieka, które pozwalają utrzymać integralność komórek a przez to całych tkanek i organów, prowadzi także

do zahamowania szkodliwego działania ROS oraz wolnych rodników. Ponadto, poznane w ostatnich latach jej działania inne niż antyutleniające pozwalają wysnuć wniosek, że jest ona zaangażowana w szereg ważnych procesów biologicznych, które ułatwiają osiągnąć organizmowi biologiczną równowagę – homeostazę.

VITAMIN E – METABOLISM AND FUNCTIONS

Summary

Vitamin E belongs to the group of chemical compounds called tocopherols. It is synthesized exclusively by plants but fulfills also numerous important functions in humans. In the present article the occurrence and biosynthesis of vitamin E in plants

have been described, as well as its diverse functions in plants including antioxidant action. Moreover, the metabolism of vitamin E and physiological significance in humans have been presented.

LITERATURA

- ALBANES D., HEINONEN O. PL., HUTTUNEN J. K., TAYLOR P. R., VIRTAMO J. i współaut., 1995. *Effects of α -tocopherol and β -carotene supplements on cancer incidence in the Alpha-Tocopherol Beta-Carotene Cancer Prevention Study*. Am. J. Clin. Nutr. 62, 1427–1430.
- ARANGO Y., HEISE K.-P. 1998. *Tocopherol synthesis from homogentisate in Capsicum annuum L. (yellow pepper) chromoplast membranes: evidence for tocopherol cyclase*. Biochem. J. 336, 531–533.
- AZZI A., 2004. *The role of α -tokoferol in preventing disease*. Eur. J. Nutr. 43, 18–25.
- AZZI A., 2007. *Molecular mechanism of α -tocopherol action*. Free Rad. Biol. Med. 43, 16–21.
- AZZI A., STOCKER A., 2000. *Vitamin E: non-antioxidant roles*. Progr. Lipid. Res. 39, 231–255.
- BEHARKA A., REDICAN S., LEKA L., MEYDANI S. N., 1997. *Vitamin E status and immune function*. Methods Enzymol. 282, 247–263.
- BERMAN K., BRODATY H., 2004. *Tocopherol (vitamin E) in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders*. CNS drugs 18, 807–825.
- BUTTERFIELD D. A., CASTEGNA A., DRAKE J., SCAPAGNINI G., CALABRESE V., 2002. *Vitamin E and neurodegenerative disorders associated with oxidative stress*. Nutr. Neurosci. 5, 229–239.
- CAHOON E. B., HALL S. E., RIPP K. G., GANZKE T. S., HITZ W. D., COUGHLAN S. J., 2003. *Metabolic redesign of vitamin E biosynthesis in plants for tocotrienol production and increased antioxidant content*. Nature Biotech. 21, 1082–1087.
- DAHNHARDT D., FALK J., APPEL J., VAN DER KOOIJ T. A.W., SCHULZ-FRIEDRICH R., KRUPINSKA K., 2002. *The hydroxyphenylpyruvate dioxygenase from Synechocystis sp. PCC 6803 is not required for plastoquinone biosynthesis*. FEBS Lett. 523, 177–181.
- DELLAPENNA D., 2005a. *A decade of progress in understanding vitamin E synthesis in plants*. J. Plant Physiol. 162, 729–737.
- DELLAPENNA D., 2005b. *Progress in the dissection and manipulation of vitamin E synthesis*. Trends Plant Sci. 10, 574–579.
- DORMANN P., 2007. *Functional diversity of tocopherols in plants*. Planta 225, 269–276.
- EVANS H., BISHOP K.S., 1922. *Fetal resorption*. Science 55, 650.
- FARRIS M. W., ZHANG J. G., 2003. *Vitamin E therapy in Parkinson's disease*. Toxicology 189, 129–146.
- GEY K. F., PUSKA P., JORDAN P., MOSER U. K., 1991. *Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology*. Am. J. Clin. Nutr. 53, 326–334.
- GIANELLO R., LIBINAKI R., AZZI A., GAVIN P. D., NEGIS Y., ZINGG J. -M., HOLT P. I współaut., 2005. *α -Tocopherol phosphate: A novel, natural form of vitamin E*. Free Rad. Biol. Med. 39, 970–976.
- GOFFMAN F. D., MOLLERS C., 2000. *Changes in tocopherol and plastochromanol-8 contents in seeds and oil of oilseed rape (Brassica napus L.) during storage as influenced by temperature and air oxygen*. Agric. Food Chem. 48, 1605–1609.
- GOFFMAN F. D., GALETTI S., 2001. *Gamma-linolenic acid and tocopherol contents in the seed oil of 47 accessions from several ribes species*. Agric. Food Chem. 49, 349–354.
- GOHIL K., OOMMEN S., VASU V. T., AUNG H. H., CROSS C. E., 2007. *Tocopherol transfer protein deficiency modifies nuclear receptor transcriptional networks in lungs: modulation by cigarette smoke in vivo*. Mol. Aspects Med. 28, 435–480.
- GOTODA T., ARITA M., ARAI H., INOUE K., 1995. *Adult-onset spinocerebellar dysfunction caused by a mutation in the gene for the α -tocopherol transfer protein*. N. Engl. J. Med. 333, 1313–1318.
- HENTATI A., DENG H. X., HUNG W. Y., NAYER M., AHMED M. S., HE X., 1996. *Human α -tocopherol transfer protein: gene structure and mutations in familial vitamin E deficiency*. Ann. Neurol. 39, 295–300.
- HERTING D. C., DRURY A.-J. E., 1963. *Vitamin E content of vegetable oils and fats*. J. Nutr. 81, 335–342.
- HOGG N., SINGH R. J., GOSS S. P. A., KALYANARAMAN B., 1996. *The reaction between nitric oxide and α -tocopherol: a reappraisal*. Biochem. Biophys. Res. Com. 224, 696–702.
- HOSOMI A., ARITA M., SATO Y., KIOSE C., 1997. *Affinity for α -tocopherol transfer protein as a deter-*

- minant of the biological activities of vitamin E analogs. FEBS Lett. 409, 105–108.
- KAYDEN H., TRABER M., 1993. *Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans*. J. Lipid Res. 34, 343–358.
- KOCH M., LEMKE R., HEISE K. P., MOCK H. P., 2003. *Characterization of gamma-tocopherol methyltransferases from Capsicum annuum L and Arabidopsis thaliana*. Eur. J. Biochem. 270, 84–92.
- KRUK J., HOLLÄNDER-CZYTKO H., OETTMEIER W., TREBST A., 2005. *Tocopherol as singlet oxygen scavenger in photosystem II*. J. Plant Physiol. 162, 749–757.
- LEONARD S., GUMPRICH E., DEVEREAUX M., SOKOL R., TRABER M., 2005. *Quantitation of rat liver vitamin E metabolites by LC-MS during high-dose vitamin E administration*. J. Lipid Res. 46, 1068–1075.
- LI Y., WANG Z., SUN X., TANG K., 2008. *Current opinions on the functions of tocopherol based on the genetic manipulation of tocopherol biosynthesis in plants*. J. Int. Plant Biol. 50, 1057–1069.
- MAEDA H., DELLAPENNA D., 2007. *Tocopherol functions in photosynthetic organisms*. Curr. Opin. Plant Biol. 10, 260–265.
- MARIOTTI C., GELLERA C., RIMOLDI M., MINERI R., UZIEL G., ZORZI G., 2004. *Ataxia with isolated vitamin E deficiency: neurological phenotype, clinical follow-up nad novel mutations in TTPA gene in Italian families*. Neurol. Sci. 25, 130–137.
- MEIER R., TOMIZAKI T., SCHULZE-BRIESE C., BAUMANN U., STOCKER A., 2003. *The molecular basis of vitamin E retention: structure of human α -tocopherol transfer protein*. J. Mol. Biol. 331, 725–734.
- MILLER E., PASTOR-BARRIUSO R., DALAL D., RIEMERSMA R. A., APPEL L., GUALLAR E., 2005. *Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality*. Ann. Intern. Med. 142, 37–46.
- MUNNE-BOSCH S., 2005. *The role of α -tocopherol in plant stress tolerance*. J. Plant Physiol. 162, 743–748.
- MUNNE-BOSCH S., ALEGRE L., 2002. *The function of tocopherols and tocotrienols in plants*. Crit. Rev. Plant Sci. 21, 31–57.
- MUNNE-BOSCH S., FALK J., 2004. *New insights into the function of tocopherols in plants*. Planta 218, 323–326.
- MUNTEANU A., ZINGG J. M., 2007. *Cellular, molecular and clinical aspects of vitamin E on atherosclerosis prevention*. Mol. Aspects Med. 28, 538–590.
- NEUZIL J., 2003. *Vitamin E succinate and cancer treatment: a vitamin E prototype for selective antitumour activity*. Br. J. Cancer 89, 1822–1866.
- PACKER L. FUCHS J., 1992. *Vitamin E in health and disease*. Biochemistry and Clinical Applications. CRC Press, 10–27.
- RIGOTTI A., 2007. *Absorption, transport and tissue delivery of vitamin E*. Mol. Aspects Med. 28, 423–436.
- SATO Y., ARAI H., MIYATA A., TOKITA S., YAMAMOTO K., TANABE T., 1993. *Primary structure of α -tocopherol transfer protein from rat liver. Homology with cellular retinaldehyde-binding protein*. J. Biol. Chem. 268, 17705–17710.
- SCHNAIDER C., 2005. *Chemistry and biology of vitamin E*. Mol. Nutr. Food Res. 49, 7–30.
- SHINTANI D. K., CHENG Z., DELLAPENNA D., 2002. *The role of 2-methyl-6-phytylbenzoquinone methyltransferase in determining tocopherol composition in Synechocystis sp. PPC6903*. FEBS Lett. 511, 1–5.
- STREB P., SHANG W., FEIERABEND J., BLIGNY R., 1998. *Divergent strategies of photoprotection in high-mountain plants*. Planta 207, 313–324.
- SZYMAŃSKA R., KRUK J., 2007. *Występowanie oraz funkcja tokochochromanoli u roślin, zwierząt i u człowieka*. Post. Biochem. 53, 174–181.
- SZYMAŃSKA R., KRUK J., 2008. *Tocopherol content and isomers' composition in selected plant species*. Plant Physiol. Biochem. 46, 29–33.
- THIELE J. J., EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE S., 2007. *Vitamin E in human skin: organ-specific physiology and considerations for its use in dermatology*. Mol. Aspects Med. 28, 646–667.
- TRABER M. G., 2006. *How much vitamin E? Just enough!* Am. J. Clin. Nutr. 84, 959–960.
- WILDI B., LEUTZ C., 1996. *Antioxidant composition of selected high alpine species from different altitudes*. Plant Cell Environ. 19, 138–146.
- WU J. H., CROFT K. D., 2007. *Vitamin E metabolism*. Mol. Aspects Med. 28, 437–452.
- YOSHIDA H., YUSIN M., REN I., KUHLENKAMP J., 1992. *Identification, purification, and immunochemical characterization of α -tocopherol-binding protein in rat liver cytosol*. J. Lipid Res. 33, 343–350.
- ZINGG J.-M., AZZI A., 2004. *Non-antioxidant activities of vitamin E*. Curr. Med. Chem. 11, 1113–1133.
- ZINGG J.-M., 2007a. *Vitamin E: An overview of major Research directions*. Mol. Aspects Med. 28, 400–422.
- ZINGG J.-M., 2007b. *Modulation of signal transduction by vitamin E*. Mol. Aspects Med. 28, 481–506.