

Gisela Jacobasch

Antiinflammatorische und antikanzerogene Wirkungen von resistenten Stärken und Flavonoiden

Liebe Inge, lieber Mitja, sehr geehrter Präsident, verehrte Gäste, liebe Kollegen und Freunde,

dass wir in diesem Kreis zu einer großen Geburtstagsrunde für Dich, lieber Mitja, zusammen sind, ist eine große Freude. Die Resonanz, die unsere Einladung gefunden hat, zeigt, wie tief verbunden sich viele Menschen mit Dir fühlen. Viele von uns erinnern sich gerne an die Zeit, in der sie mit Dir gearbeitet und gewirkt haben. Bei Dir lernen zu können, war ein großes, unvergessliches Erlebnis. Im Zusammenhang mit meinem Vortrag, der zugleich meinen Dank und meine Verehrung ausdrücken soll, möchte ich an eine Initiative von Dir, die Biologieprognose erinnern, die Du mit einem enormen Einsatz anpacktest. Die Zielsetzung dazu war, eine höhere Effektivität auf dem Gebiet der Biowissenschaften durch eine engere Verzahnung der einzelnen Disziplinen einschließlich der Medizin und Ernährung zu erreichen. Wie vielschichtig und wichtig dieses Vorhaben war und ist, möchte ich versuchen, anhand einiger Ergebnisse aus meiner Arbeit in den letzten Jahren am Deutschen Institut für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke verständlich zu machen.

Wir hatten uns u.a. die Aufgabe gestellt, neue Strategien zur Prophylaxe von Darmerkrankungen auszuarbeiten und zu erproben. Im Mittelpunkt standen dabei zwei Erkrankungen, die Colitis Ulcerosa und das kolorektale Karzinom. 3 Gründe waren dafür bestimmend: 1. die hohe Inzidenz und Prävalenz der Erkrankung, sowie die hohe Mortalitätsrate bei Patienten mit Dickdarmmalignomen; 2. die vielen offenen wissenschaftlichen Fragen in den Wechselwirkungen zwischen intestinaler Mikroflora und Gesamtorganismus und 3. die Frage, in wie weit diese Wechselwirkungen gezielt durch die Ernährung zu beeinflussen sind. Die Aufgabenstellung berührte zugleich auch die Problematik nach der gesundheitsfördernden Wirkung von Obst und Gemüse.

Diese Nahrungsmittel sind u.a. reich an Flavonoiden und Ballaststoffen, die gemeinsam in einem Gerüst unterhalb der Zellmembran angeordnet sind. Aus der Vielfalt der Verbindungen wählten wir zwei aus, die wir für die Lösung unserer Aufgabenstellung für wichtig und für methodisch lösbar hielten. Von den Ballaststoffen war es die resistente Stärke und von den Flavonoiden das am häufigsten vorkommende Aglykon Quercetin (Abb. 1). Quercetin ist eine Polyphenolverbindung, die in natürlichen Quellen immer verestert vorliegt. Häufig ist Quercetin an der OH-Gruppe des C-Ringes mit Rutinose zu Rutin verestert.

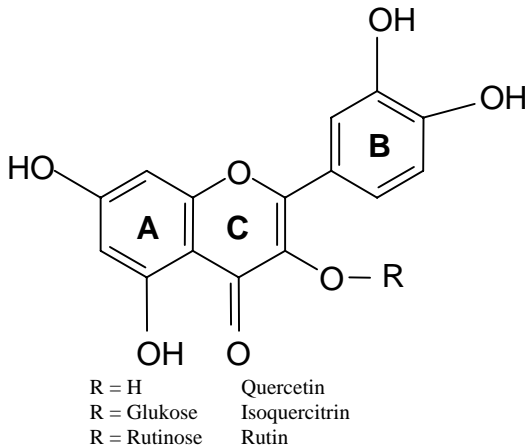


Abb. 1:
Strukturformel von Quercetin, Isoquercitrin und Rutin

Resistente Stärken

Was sind resistente Stärken, wie kann man sie gewinnen und für die aufgezeigte Zielstellung optimieren? Die Bezeichnung leitet sich daraus ab, dass diese Stärken im Dünndarm nicht enzymatisch hydrolysiert werden und deshalb auch keine Glukose resorbiert wird. Nach ihrer strukturellen Anordnung und Angreifbarkeit durch die intestinale Mikroflora unterscheidet man mehrere Typen (1). Uns interessierte ein RS-Typ, der sehr gut fermentiert wird und hohe Butyratausbeuten liefert. Butyrat ist eine kurzkettige Fettsäure, die eine große physiologische Relevanz hat. Aus lebensmitteltechnologischer Sicht sollten die resistenten Strukturen außerdem thermostabil sein. Ein RS-Typ3, der zu 50% eine B-kristalline Form aufweist, erfüllt diese Anforderung

Einfluß der Glukankettenlänge auf die RS 3 - Bildung

Ø DP	10% Gel	30% Gel
	% RS 3 - Ausbeute	
16	63	67
22	87	93
44	66	72
51	49	53

Abb. 2:
 Saccharose + Glukose $\xrightarrow{\text{Amylosucrase}}$ (Glukose) $_n$ + nFruktose
In vitro Synthese von α -1,4-D-Glukanen

am besten. Um das herauszufinden, haben wir Glukanketten mit definierter Länge synthetisiert (Abb. 2). Die Synthese erfolgte aus Saccharose, die mit Hilfe einer Amylosucrase gespalten wurde. Die freigesetzte Glukose wurde α -1,4-glykosydisch an ein Startermolekül gebunden. Dadurch wurde eine Kettenverlängerung erreicht. Die freiwerdende Fruktose verschob zugleich das Gleichgewicht der Reaktion nach rechts. Diese Biotransformation wurde nach Optimierung zur Herstellung von Glukanen mit Kettenlängen von 16 bis 100 Glukoseeinheiten eingesetzt. Suspensionen aus diesen Glukanen wurden bei verschiedenen Gelkonzentrationen verkleistert und zur Ausbildung der Kristallstruktur retrogradiert. Aus den in der Abb. 2 ausgewiesenen Ergebnissen ist ersichtlich, dass RS-Ausbeuten von etwa 90% nur bei einer optimalen Kettenlänge, die bei 22 Glukoseeinheiten liegt, erreichbar sind. Darüber und darunter fallen die RS-Ausbeuten ab (2). Röntgenkristallographische Untersuchungen von Prof. Damaschun belegten, dass dieses Präparat ein ideales RS Typ3 Produkt ist. Es weist mit 50% einen maximalen kristallinen Anteil auf, der ausschließlich B-kristallin ist. Das RS-Produkt ist außerdem bis 145°C thermostabil und kann somit Back- und Kochprozessen unterworfen werden. Außerdem ist es ein ausgezeichnetes Präbiotikum. Diese RS3 wird durch die intestinale Mikroflora sehr gut zu kurzkettigen Fettsäuren mit Butyratausbeuten bis zu 60% fermentiert (Abb. 3). Mit diesem RS3-Präparat ha-

ben wir eine Reihe von tierexperimentellen Arbeiten durchgeführt, deren Ergebnisse die hohe Qualität dieser RS bestätigten. Leider konnte es bisher nicht im Humanbereich eingesetzt werden, da die Gesetzeslage auf dem Gebiet der Ernährung in Deutschland die Verwendung eines biotechnologisch gewonnenen Enzyms in der Produktion nicht zulässt.

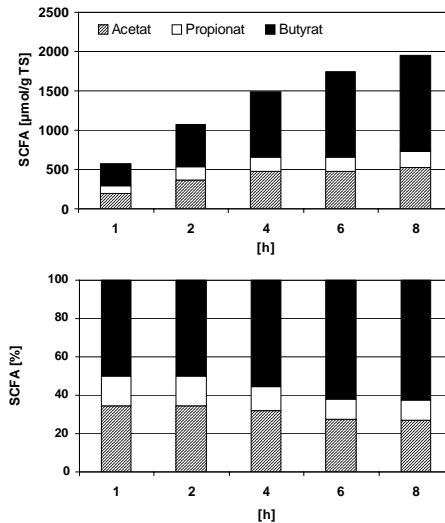


Abb. 3:
In-vitro-Fermentation von RS 3 (Poly-1,4- α -D-Glukanprodukt) mit hoher Butyratausbeute, katalysiert durch die Mikroflora frisch entnommener humaner Faeces (FSCFA = kurzkettige Fettsäuren)

Der erreichte Erkenntnisstand konnte jedoch bei der Auswahl von Stärken zur RS-Herstellung aus natürlichen Quellen genutzt werden. Amylosen zu Glukanen mit 20 Glukoseeinheiten zu spalten, gelang nicht befriedigend. Darum konzentrierten wir uns auf sogenannte Waxystärken, d.h. amylopektinreiche Stärken. Der Erfolg dieses Vorgehens hing davon ab, Amylopektinseitenketten von optimaler Länge zu finden. Das war nur selten der Fall. In Zusammenarbeit mit dem MP Institut für Pflanzengenetik in Golm, wurden deshalb die Seitenketten des Amylopektins mit gentechnischen Methoden verlängert. Aus der so gewonnenen Stärke der Kartoffelsorte Desiree ließen sich nach enzymatischer Entzweigung ebenso hochwertige RS3-Produkte herstellen wie aus den in vitro synthetisierten α -1,4-Glukanen (Abb. 4). Diese Kartoffel

wurde von unserem Geldgeber Agrewo im Ausland angebaut und die daraus isolierten Stärken bestätigten, dass die verlängerten Seitenketten im Amylopektin in den nachfolgenden Generationen stabil blieben. Aber den Einsatz von RS-Produkten im Humanbereich, hergestellt aus dieser Stärke, stoppte zunächst das Gentechnikgesetz. Inzwischen ist jedoch die Desiree mit klassischen Methoden nachgezüchtet worden und damit diese Hürde beseitigt.

Stärke-Quelle	Gel-Konz. %	Retrogradation % RS 3 - Ausbeute	Tempern
Gerste	10	31	-
Weizen	30	40	-
Roggen	40	43	77
Erbse	20	42	74
Banane	20	50	84
Kartoffel	10	89	-

Abb. 4:

RS 3 - Ausbeuten aus entzweigten Stärken wachsender Varietäten

Der kurz skizzierte experimentale Erfolg motivierte uns zum Screenen natürlicher Stärken aus Waxy-Varietäten von Getreidesorten, Erbsen und Bananen. Einige davon erwiesen sich für die RS-Herstellung als geeignet. Aus den in Abb. 4 aufgeführten Ergebnissen ist ersichtlich, dass RS3-Ausbeuten aus diesen Stärkequellen mit den bisherigen Verfahren nur bis zu maximal 50% möglich sind (3). Deshalb erprobten wir erstmals hydrothermische Verfahren statt an roher Stärke an RS3-Produkten. Durch eine Art von Temperung gelang es, RS-Ausbeuten bis zu über 80% zu erreichen (4,5). Die so gewonnenen Präparate entsprachen zwar in Bezug auf ihre Struktur nicht ganz unseren Idealvorstellungen, lieferten auch etwas weniger Butyrat bei der Fermentation, hatten aber den Vorteil, dass keine gesetzliche Hand Einwände gegen den Einsatz dieser RS-Produkte als eine Art funktionelles Nahrungsmittel erhob.

Stoffwechseleffekte resistenter Stärken

An gesunden Freiwilligen ermittelten wir, dass 15g RS3 pro Tag genügen, um die Mikroflora des Dickdarmes ausreichend mit Substrat zu versorgen. Durch die orale RS-Zufuhr ließ sich auch bei gesunden Personen der luminale Butyrat Spiegel erhöhen, ebenso die Anzahl von Mikroorganismen, die zu den Butyratbildnern zählen (Abb. 5). Dazu gehören vor allem Spezies der reichlich vorkommenden Eubakterien (6). Um fast eine Größenordnung nahmen die Spezies *E. hadrum* und *E. ramulus* zu. Warum ist die Butyratausbeute aus RS für uns ein wichtiger Parameter? Butyrat ist ein Mittler in den Wechselwirkungen zwischen intestinaler Mikroflora und Dickdarmschleimhaut (Abb. 6). Butyrat wird für eine Vielzahl von Stoffwechselprozessen benötigt (1). Dieser Metabolit ist das wichtigste Substrat für die aerobe ATP-Gewinnung der Epithelzellen des Dickdarmes und bestimmt dadurch deren gesamten Energiestoffwechsel.

Fettsäure	0. Tag	14. Tag	Organismen	0. Tag	14. Tag
	µmol / g TM			log 10 / g TM	
Acetat	253,0	264,5	<i>E. rectale cluster</i>	10,6	10,7
Propionat	89,8	101,6	<i>E. biforme</i>	9,3	9,6
<u>Butyrat</u>	<u>52,2</u>	<u>70,0</u>	<u><i>E. hadrum</i></u>	<u>8,5</u>	<u>9,1</u>
Σ SCFA	393,0	436,1	<u><i>E. ramulus</i></u>	<u>8,3</u>	<u>9,1</u>
			Σ Mikroflora	11,7	11,6

Abb. 5: Einfluss einer 14-tägigen oralen Zufuhr von 15 g Erbsenstärke RS 3 auf die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren und die Anzahl butyratbildender Eubakterien in Faecesproben gesunder Probanden (n= 5)

Butyrat übt außerdem Effekte auf die Signaltransduktion aus: es aktiviert im gesunden Epithel die Proliferation durch Stimulierung der Zellteilung im unteren und Unterdrückung im oberen Kryptenbereich. Antiinflammatorische Effekte bewirkt Butyrat durch Hemmung des NF-κB-Systems und damit der Synthese proinflammatorischer Mediatoren. Es trägt außerdem zur Entgiftung mutagener Metabolite bei durch Induktion der Glutathion-S- Transferase, Hemmung der Ornithindecaboxylase und Exprimierung des Histokompatibilitätskomplexes 1. Darüber hinaus wird die Bildung der sekundären Gallensäuren Desoxycholsäure und Lithocholsäure durch Hemmung der bakteri-

ellen 7- α -Dehydroxylase verringert. Butyrat unterdrückt auch die onkogene Wirkung dieser Gallensäuren auf die DNA.

1. Gesundes Kolonepithel:

- **Substrat der aeroben ATP – Bildung**
- **Aktivierung der Proliferation durch:**
Stimulierung der Zellteilung im unteren und Unterdrückung im oberen Kryptenbereich
- **Antiinflammatorische Wirkung durch:**
Hemmung des NF- κ B-Systems und der Synthese proinflammatorischer Mediatoren
- **Entgiftung potentiell mutagener Metaboliten durch:**
Induktion der Glutathion-S-Transferase (pi)
Hemmung der Ornithindecaboxylase
Exprimierung des Histokompatibilitätskomplexes I
- **Hemmung der bakteriellen 7- α -Dehydroxylase → verminderte Bildung der sek. Gallensäuren Desoxychol- und Litocholsäure und ihrer Tumorpromotoreffekte**
- **Hemmung der onkogenen Wirkung von Desoxycholsäure**

Abb. 6:

Gesundheitsfördernde Effekte von Butyrat auf die Dickdarmschleimhaut

2. Neoplastisch verändertes Kolonepithel

- **Aktivierung der Apoptose**
- **Hemmung der protoonkogenen Wirkung von c-myc, c-ras und c-src, Aktivierung von c-fos und c-jun**
- **Positiver Effekt auf DNA-Methylierung und Histonazetylierung im Zellkern**
- **Induktion von p21 → Arrest der Tumorzellen in der G1 Phase des Zellzyklus**
- **Durch p21 Bindung an PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) → Hemmung der DNA-Replikation und Wachstumsstopp**

Abb. 7:

Gesundheitsfördernde Effekte von Butyrat auf die Dickdarmschleimhaut

Die Effekte dieser kurzkettigen Fettsäure auf die Signaltransduktion in Tumorzellen unterscheiden sich von denen auf das gesunde Epithel (Abb. 7). In Tumorzellen aktiviert Butyrat die Apoptose, d.h. den Zelltod. Durch Induktion von p21 kommt es zu einem Arrest der Tumorzellen in der G1-Phase und durch Bindung von p21 an PCNA zur Hemmung der DNA-Replikation und zum Wachstumsstopp. Diese Vorgänge gehen mit Veränderungen in der DNA-Methylierung und Histonacetylierung einher, wodurch letztlich die protoonkogene Wirkung von Genen unterdrückt und Tumorsuppressorgene aktiviert werden.

Antikancerogene Wirkungen von RS3 und Flavonoiden

Lassen sich antitumorale Wirkungen auch durch die orale Gabe von RS3 *in vivo* erreichen? Um diese Frage zu beantworten, nutzten wir das bei Ratten durch Dimethylhydrazin induzierbare Tumormodell. Die Auswertung der Versuche ergab, dass tatsächlich die Entwicklung kolorektaler Tumore durch RS-Gabe vollständig unterdrückt werden kann. Während Tiere, die eine semisynthetische Standarddiät erhielten, durchschnittlich 1 bis 2 Tumore im Dickdarm bildeten, trat bei den Tieren, die zusätzlich RS3 aufnahmen, kein Tumor auf.

Ausgehend von der Arbeitshypothese, dass chronische oxidative Einflüsse Entdifferenzierungsvorgänge im Dickdarm initiieren und der Glutathionspiegel in diesem Gewebe gering ist, kommt Enzymsystemen, die oxidativen Schäden vorbeugen, eine besondere Bedeutung zu. Immunhistochemisch wurde das Verhalten von Enzymen, die oxidativen Belastungen entgegenwirken, verfolgt (7). Zu ihnen zählen die spezifische gastrointestinale Glutathionperoxidase, die Isoenzyme der Cyclooxygenasen, die induzierbaren Stickoxidsynthasen und die Glutathion-S-Transferasen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen belegten, dass diese Enzymsysteme besonders stark in den Epithelzellen an der luminalen Oberfläche des Dickdarmes exprimiert werden. Sie bilden eine Art Barriere gegenüber oxidativen Einflüssen, die in Form von Radikalen und Hydro- und Lipidperoxiden aus dem Darmlumen auf die Schleimhaut einwirken.

Wenn oxidative Schäden in der Ätiogenese von kolorektalen Karzinomen von entscheidender Bedeutung sind, müssten auch entsprechende Schutzmechanismen am Kryptengrund existieren, da dort die omnipotenten Epithelzellen lokalisiert sind, in denen die Regulation der Proliferation und Differenzierung eingeleitet wird. Tatsächlich findet man die gastrointestinale GPX am Kryptengrund in noch höherer Konzentration als an der luminalen Schleimhautoberfläche. Im frühen Stadium der Tumorbildung nimmt die Expression dieses Enzyms sogar noch am endoplasmatischen Retikulum am Kryptengrund zu, ehe mit fortschreitender maligner Transformation eine strukturelle Desintegration und diffuse Verteilung des Enzyms zu beobachten ist.

Auch Einflüsse von RS3 bzw. Butyrat auf die Signalübertragung lassen sich immunhistochemisch verfolgen. Ein Beispiel dafür ist das Proteinkinase-C-Isoenzym- δ . Es gehört zu den Enzymen der Signalübertragung und kann vom Cytosol in den Kern translozieren. Dieses PK-C-Isoenzym weist die höchste Konzentration in den Epithelzellen an der luminalen Oberfläche auf. Seine Expression nimmt unter RS-Gabe *in vivo* und unter Butyrat *in vitro* stark zu.

Aus der Überlegung heraus, dass der Schutz der Epithelzellen am Kryptengrund für eine Tumorphrevention besonders wichtig ist, überprüften wir an einem anderen Tumormodell, der *apc*-gendifekten Maus, den antikanzerogenen Effekt von Flavonoiden durch orale Gabe von geringen Mengen an Quercetin und Rutin (8). Dieses Modell wurde ausgewählt, da Mutationen im *apc*-Gen bei der Maus nicht wie beim Menschen die Entwicklung einer Polyposis im Dickdarm sondern im Dünndarm initiieren. Dieses Tiermodell zeigte deshalb kaum einen präventiven RS3-Einfluss, erlaubte aber bei Flavonoideffekten zwischen denen, die bakteriell vermittelt werden und solchen, die nach der Resorption von Quercetin systemisch zustande kommen, zu differenzieren.

Eine anaerobe Spaltung des Ringsystems von Quercetin katalysieren erst Bakterien im Dickdarm, die Quercetinresorption dagegen erfolgt überwiegend im Magen und Dünndarm (9). Dabei wird Quercetin in der Darmschleimhaut zu 5 verschiedenen Verbindungen glukuronidiert, ehe es in die Blutbahn abgegeben wird. Ist das Angebot von Quercetin aus dem Gastrointestinaltrakt relativ hoch, wird ein Teil davon zu dem nicht mehr antioxidativ wirksamen Isorhamnetin methyliert. Dieser Effekt entfällt, wenn statt Quercetin Rutin oral aufgenommen wird, denn die Deglykosylierung von Rutin erfolgt in der Schleimhaut langsam, wodurch ein wesentlich größerer Anteil an Quercetin insgesamt glukuronodiert werden kann. Daraus resultiert, dass der Blutspiegel an Quercetin sich wesentlich leichter über eine Rutin- als über eine Quercetinzufuhr einstellen lässt. Verfüttert man Quercetin oder Rutin in gut resorbierbarer Form in einer Konzentration von 14 mg/g Futter an *apc*-gendifekte Mäuse, ist ein deutlicher antikanzerogener Effekt nachzuweisen (Abb. 8). Die Tumorbildung wird bis zu 90% unterdrückt. Diese antikanzerogene Wirkung erfolgt ausschließlich systemisch.

Gruppe	I	II	III	IV
Semisynth. Diät	-	Quercetin 14 µg/g Futter	Rutin	RS 10 mg/g Futter
Polypen	72 ± 40,3	8 ± 4,2	8 ± 5,1	58 ± 29,3

RS: resistente Stärke
 Fütterungsperiode: 60 Tage
 Alter der Tiere: ca. 90 - 110 Tage

Abb. 8:
 Antikanzerogene Wirkung von Quercetin bei *apc*-gendifekten *Min* +/- Mäusen in Abhängigkeit von der Resorptionsfähigkeit des Flavonoids

Aus den Ergebnissen unserer experimentellen Arbeiten lässt sich schlussfolgern, dass sowohl RS3 als auch Quercetin antikanzerogen wirken und deshalb präventiv insbesondere für die Ernährung von Risikopersonen zu empfehlen sind.

Einsatz von RS und Flavonoiden in der Prävention und Therapie bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Eine relativ große Risikogruppe für die Entwicklung von kolorektalen Karzinomen stellen Patienten dar, die an einer Colitis Ulcerosa, einer chronischen Dickdarmentzündung leiden. Mit der Dauer der Erkrankung steigt ihr Risiko zur Entwicklung einer kolorektalen Karzinogenese deutlich an (1). Wenn es mit dem Einsatz von RS3 und Rutin gelingt, die Remissionszeiten zu verlängern, ließe sich auch das Krebsrisiko bei diesen Patienten senken. Unsere Arbeitshypothese zum Einsatz von RS3 und Rutin bei Patienten mit Colitis Ulcerosa war folgende: (Abb. 9) Obwohl als Ursache der Erkrankung eine polygenetische Prädisposition zu postulieren ist, die Konsequenzen für das Expressionsmuster von Enzymen des Energiestoffwechsels und für das mukosale Immunsystem hat, ist davon auszugehen, dass für den Ausbruch der Erkrankung Veränderungen in der Zusammensetzung der intestinalen Mikroflora von entscheidender Bedeutung sind. Es siedeln sich verstärkt pathogene Organismen an. Die von ihnen gebildeten und freigesetzten Produkte, zu denen Sauerstoffradikale, Sulfit, Antigene und Zytokine zählen, beeinflussen negativ sowohl den Energiestoffwechsel der Kolonepithelzellen als auch das mukosale Immunsystem. Bereits in den 80er Jahren wies Rödiger nach, dass Kolonozyten bei einer Entzündung weniger Butyrat zu CO_2 und Ketonkörpern umsetzen und dass dieser Abbau durch Sulfit noch weiter gedrosselt wird (10). Eine Folge des gestörten Energiestoffwechsels ist eine verringerte Barrierenfunktion der Dickdarmschleimhaut. Dadurch wird die Auswirkung toxischer Effekte begünstigt. Typisch für entzündete und z.T. ulzerierte Schleimhautabschnitte ist eine Einwanderung von Neutrophilen und T-Lymphozyten.

Der Angriffspunkt unseres RS3- und Flavonoidtherapiekonzeptes ist deshalb die intestinale Mikroflora. Beide Verbindungen, RS3 und Rutin, sind Substrate der Mikroflora insbesondere für die große Gattung der *Eubakterien*, von denen viele Butyratbildner sind (11). Unsere Strategie zielt darauf ab, durch RS3- und Rutinzufuhr mit der Nahrung das Substratangebot für die Mikroflora im Dickdarm zu optimieren und dadurch eine nicht pathogene Mikroflora zu stabilisieren. Daraus resultiert eine Zunahme der Butyratbildner,

und im Ergebnis kann mehr Butyrat nach Aufnahme in die Kolonozyten verstoffwechselt werden.

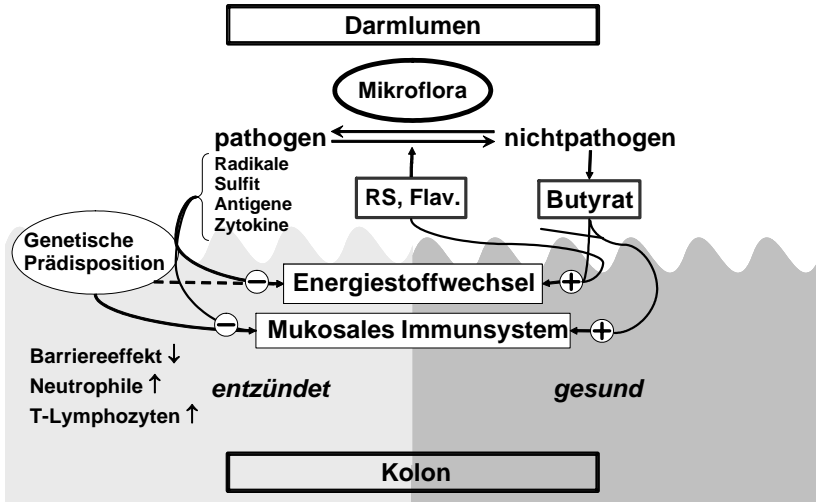


Abb. 9:
Prävention und Therapie der Colitis Ulcerosa durch orale Aufnahme von resistenter Stärke und Rutin

Einen positiven Effekt übt Butyrat auch auf das luminale Immunsystem aus, indem es die Aktivierung und Transduktion von NF- κ B in den Zellkern unterdrückt und dadurch die Induktion von Genen für die Regulation der Immun- und Entzündungsantwort hemmt. Dieser Effekt wird durch die antioxidative, antiinflammatorische und immunprotektive Wirkung von Quercetin noch verstärkt. Zusätzlich erhöht Quercetin die Wasserresorption im Dickdarm, was einer Diarrhoe entgegenwirkt.

Auch diese Arbeitshypothese wurde zunächst im Tiermodell überprüft (3, 12). Die Colitis wurde bei Ratten durch eine rektale Gabe von Trinitrobenzonsulfonsäure induziert. Die Tiere entwickelten eine ulzerierende Entzündung, die nach 14 Tagen in eine Ausheilungsphase überging. Bereits eine Woche vor der Colitisinduktion wurde das entsprechende Futter angeboten, entweder eine semisynthetische Standarddiät ohne Zusätze oder ergänzt durch RS3 bzw. RS3 und Rutin. Abb. 10 zeigt das Verhalten der luminalen Konzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren. Es ist deutlich zu erkennen, dass die RS3-Gruppe am Tag 0 eine erhöhte Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren aufweist. Dieser hohe Spiegel wird über die gesamte Colitiserkran-

kung auf einem annähernd gleichen Niveau gehalten, was dafür spricht, dass auch die Resorptionsrate unverändert blieb. Ein anderes Bild zeigten die Tiere, die Standarddiät erhielten. Bei ihnen stieg nach der Colitisinduktion der Spiegel der kurzkettigen Fettsäuren stark an und fiel erst in der Regenerationsphase langsam wieder ab. Dieser Befund spiegelt eine Hemmung der Resorption kurzkettiger Fettsäuren wider. Abb. 11 veranschaulicht das Ausmaß der Resorptionshemmung. Sie war am stärksten für Acetat ausgeprägt, was wahrscheinlich in einem kausalen Zusammenhang mit der auftretenden Mikrozirkulationsstörung steht. Aber auch die Resorption von Butyrat war deutlich herabgesetzt. Erwartungsgemäß erfolgte auch die Regenerationsphase bei diesen Tieren später als bei denen, die RS3 erhielten. Noch überzeugender waren die Resultate, wenn sowohl RS3 als auch Rutin den Tieren gegeben wurde.

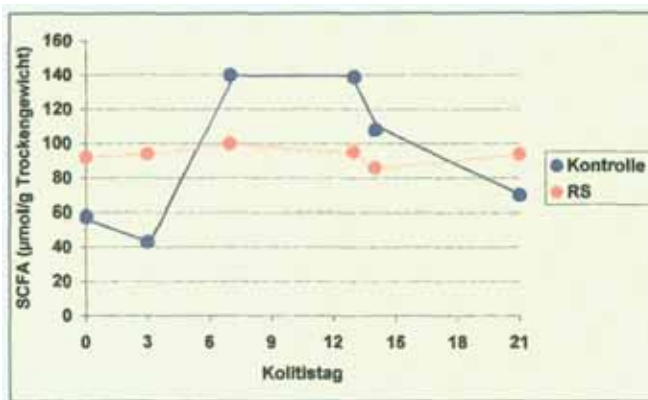


Abb. 10: Konzentration kurzkettiger Fettsäuren (SCFA) im Lumen des Colons von gesunden Ratten (0. Tag) und bei colitis ulcerosa, induziert durch Trinitrobenzensulfonsäure (TNBS). Verlauf bei Fütterung von RS-freier (Kontrolle) und RS-haltiger Diät.



Abb. 11: Hemmung der Absorption kurzkettiger Fettsäuren bei RS-freiem Futter im distalen Kolon von PRatten mit TNBS-Colitis. Die Rate der Absorptionshemmung wurde aus der Differenz der Konzentrationen von kurzkettigen Fettsäuren und Butyrat im proximalen Kolon und in den Faeces abgeschätzt

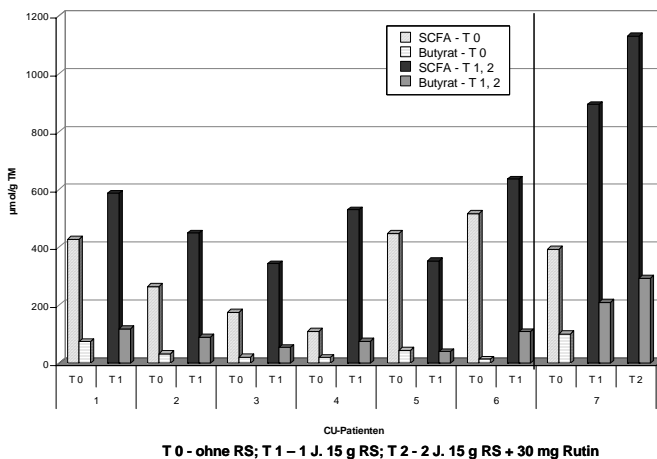


Abb. 12: Einfluss einer einjährigen Gabe von 15 g RS-3 auf die Konzentration kurzkettiger Fettsäure in Faecesproben von Colitis Ulcerosa Patienten

Der positive Colitisbefund bei Ratten ermutigte uns, die Wirkung von RS3 und Rutin auch bei Colitispatienten zu erproben. In Abb. 12 sind die ersten Ergebnisse einer Studie mit Colitispatienten zusammengefasst. Die Patienten wiesen eine unterschiedlich schwere klinische Manifestation der Erkrankung auf. Sie wurden bis dahin mit Mesalazin und immunsuppressiv mit Azathiopurin und Cortikoiden therapiert. Zu Beginn und in halbjährigen Abständen wurde koloskopisch die Schleimhaut beurteilt, wurden Biopsien entnommen und diese histologisch und immunhistochemisch untersucht. Die Befunde bestätigten ein Abheilen der Ulzerationen und ein Abklingen der Entzündung. Die Remissionszeiten verlängerten sich deutlich. In Abb. 12 sind die Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren und des Butyrats in Fäcesproben zu Beginn der Studie und nach einem Jahr für 7 Patienten zusammengestellt. Bis auf Patient 5 reagierten alle Patienten auf die RS3-Gabe mit einem Anstieg des Butyratspiegels. Auch der Anteil der Trockenmasse nahm im Fäces deutlich zu. Für den Patienten 7 ist auch das Verhalten der kurzkettigen Fettsäuren- und Butyratkonzentration über den Verlauf von 2 Jahren ausgewiesen. Im ersten Jahr wurde nur RS3 gegeben, im 2. Jahr RS3 und Rutin. In dieser Zeit trat trotz des Absetzens aller Medikamente kein Colitisschub auf.

Diese Befunde belegen sowohl einen präventiven als auch therapeutischen Effekt von RS3 und Rutin bei Colitispatienten. Die Entzündungssymptomatik, die durch die Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren initiiert wird, schwächt sich ab. Derartige Mediatoren leiten sich von pathogen wirkenden Bakterien der intestinalen Mikroflora ab. Dazu zählen Endotoxine wie das Lipopolysaccharid (LPS) von gramnegativen und Peptidglukan (PgN) und Lipoteichoinsäure von grampositiven Bakterien. Targetzellen für diese bakteriellen Komponenten sind Monozyten, Makrophagen und Endothelzellen. Sie reagieren mit der Ausschüttung von TNF- α und den Interleukinen IL-1 β und IL-6. Die meisten pathogenen Bakterien, die sich bei Colitispatienten im Dickdarm ansiedeln, greifen in die Signalübertragungsvorgänge ein, in denen der Transkriptionsfaktor NF- κ B eine zentrale Rolle spielt (Abb. 13). Dieser Faktor reguliert Gene, die Zytokine, Zytokinrezeptoren und Adhäsionsmoleküle kodieren. Im Cytoplasma gesunder Zellen sind NF- κ B-Komplexe in einer transkriptions-inaktiven Form lokalisiert. Durch bakterielle proinflammatorische Mediatoren wird phosphorylierungsabhängig ein proteolytischer Abbau von NF- κ B-Hemmfaktoren eingeleitet. Dabei wird NF- κ B freigesetzt und in den Zellkern transloziert, wodurch diese spezifischen Gene aktiviert werden, die die Immun- und Entzündungsantwort kontrollieren.

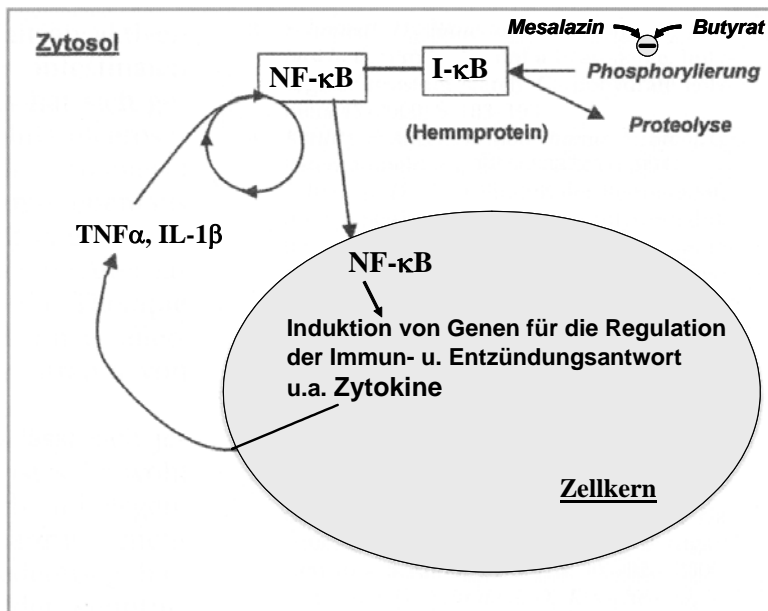


Abb. 13:

Schema der durch NF-κB (induzierbarer Transkriptionsfaktor) vermittelten Autoregulation und der Induktionseffekte bei chronisch entzündlichen Dickdarmerkrankungen

Butyrat verhindert ebenso wie Mesalazin die Translokation von NF-κB in den Zellkern. Deshalb war es gerechtfertigt, Mesalazin, das nicht frei von Nebenwirkungen ist, während der Humanstudie abzusetzen. Der Erfolg dieser ersten klinischen Studie zeigt, dass es sehr gut möglich ist, über die Ernährung eine zielgerichtete Prävention und sogar Therapie der Colitis Ulcerosa vorzunehmen.

Mit einer Euch, lieber Mitja und liebe Inge, gewidmeten Publikation zur Herstellung von RS3 aus Erbsenstärke hoffen wir, Euch eine kleine Geburtstagsfreude bereiten zu können und Euer Interesse an unseren Arbeiten aufrecht zu erhalten.

Literatur:

- (1) Jacobasch, G., Dongowski, G.: Ballaststoffe mit spezifischen Wirkungen. Praxis- handbuch Functional Food (2000), 1-34. Hrsg. H. E. Erbersdobler, A. H. Meyer BEHR s Verlag

- (2) Schmiedl,D., Bäuerlein,M., Bengs,H., Jacobasch,G.: Production of heat-stable, butyrogenic resistant starch. *Carbohydrate Polymers* 43 (2000), 183-193
- (3) Jacobasch,G.: Die Bedeutung resistenter Stärken für eine gesundheitsorientierte Ernährung. *Ernährungsumschau* 49(2002), 4-9
- (4) Lehmann,U., Jacobasch,G. Schmiedl,D.: Characterization of resistant starch type3 from banana (*Musa acuminata*).*J.Agricult. Food Chem.*50 (2002), 5236-5240
- (5) Rössler,C., Jacobasch, G., Schmiedl, D., Gebhard, E: Resistente Stärke Typ 3 aus Roggenstärke, ein funktionelles Lebensmittel. *Ernährung/Nutrition* 26 (2002), 297-305
- (6) Schwiertz,A., Lehmann,U., Jacobasch,G., Blaut,M: Influence of resistant starch on the SCFA production and cell counts of butyrate-producing *Eubacterium* spp. in the human intestine. *J. Appl. Microbiology* 93 (2002), 157-162
- (7) Florian,S., Wingle,K., Schmehl,K., Jacobasch,G., Kreuzer,O.J., Meyerhof,W., Brigelius-Flohe,R.: Cellular and subcellular localisation of gastrointestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue. *Free Radical Res.* 35 (2001), 655-663
- (8) Jacobasch,G., Florian,S., Pforte,H., Hempel,J., Schmehl,K., Schmiedl,D.: Inhibition of hereditary intestinal carcinoma development by flavonoids. *The Royal Soc. Chem.: Dietary Anticarcinogenic and Antimutagens.Chemical and Biological Aspects.* (2000), 320-323
- (9) Pforte, H., Näser T., Jacobasch, G., Buhr, H.J.: Absorption and modification of rutin in human stomach. *COST Action 916, Bioactive plant cell wall components in nutrition and health* . (2001), 151-152
- (10) Roediger,W.E.W., Nance,S.: Selective Reduction of fatty acid oxidation in colonocytes: correlation with ulcerative colitis. *Lipids* 25 (1990), 646-652
- (11) Simmering,R., Pforte,H., Jacobasch,G., Blaut,M.: The growth of the flavonoid-degrading intestinal bacterium *Eubacterium ramulus*, is stimulated by dietary flavonoids in vivo
- (12) Jacobasch,G., Schmiedl,D., Kruschewski,M., Schmehl,K.: Dietary resistant starch and chronic inflammatory bowel diseases. *Int .J. Colorectal Dis.* 14 (1999), 201-211