

V12 Neuartige Taurinverbindungen für die klinische Ernährung. In vitro Studien an Gewebemogenaten der Ratte

Dipl.EW Karin Pogan (✉), P. Stehle¹, P. Fürst
Universität Hohenheim, Institut für Biol. Chemie und Ernährungswissenschaft, Garbenstraße 30, 70593 Stuttgart, ¹Bonn

Das Amin Taurin ist ein wichtiger intrazellulärer Bestandteil mit verschiedensten biologischen Funktionen (Bildung von Gallensäuren, Membranstabilisierung, antioxidative Kapazität etc.). Aufgrund verminderter endogener Synthese wird Taurin bei intravenöser Nahrungszufuhr als unentbehrlicher Nährstoff angesehen. Die Supplementierung mit freiem Taurin korrigiert zwar Plasma-Taurinspiegel; aufgrund des sehr hohen ic/ec-Gradienten (>200) ist eine Aufnahme in die Zellen jedoch fraglich. Die Bindung von Taurin an einen „Carrier“ (z.B. Aminosäuren) könnte die Transportrate günstig beeinflussen. Voraussetzung für die Verwendung derartiger Taurinverbindungen in der Ernährungstherapie ist eine effiziente Freisetzung von Taurin in den Organen.

Ziel: Bestimmung der *in vitro* Hydrolaseaktivität von Gewebemogenaten der Ratte gegenüber L-Alanyltaurin (Ala-Tau), L-Phenylalanyltaurin (Phe-Tau) und L-Tyrosyltaurin (Tyr-Tau).

Methode: 4 nüchternen SD-Ratten wurden der Dünndarm (Mukosa), beide Nieren und die Leber entnommen. Die Gewebe wurden in Phosphatpuffer (pH 7.4) innerhalb 1 min homogenisiert. Anschließend wurden die Gewebemogenate (2 mg Protein/ml) in Phosphatpuffer (pH 7.4) bei 37 °C mit 2 mM Ala-Tau, Phe-Tau und Tyr-Tau für 10–60 min inkubiert. Aliquote des Inkubationsmediums wurden mittels RP-HPLC analysiert. Die Hydrolaseaktivität wurde als Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion (v_0 ; nmol/mg Protein/min) angegeben und mittels linearer Regression berechnet.

Ergebnis: Alle Gewebemogenate wiesen meßbare Hydrolaseaktivität gegenüber den Taurinverbindungen auf (Tabelle, MW \pm SD, n = 4). In allen Fällen wurde ein prompter und äquimolarer Anstieg von freiem Taurin sowie der korrespondierenden AS beobachtet.

	Anfangsgeschwindigkeit v_0		
	Mukosa	Niere	Leber
Ala-Tau	48,2 \pm 16,3	64,8 \pm 11,4	3,8/8,2
Phe-Tau	62,3 \pm 30,3	92,5 \pm 21,8	3,3/14,7
Tyr-Tau	56,4 \pm 19,2	75,3 \pm 3,8	n.b./11,7

Schlußfolgerung: Die vorliegenden *in vitro* Studien belegen erstmals das Vorhandensein von Hydrolaseaktivität gegenüber den 3 dipeptidähnlichen Taurinverbindungen in Säugetiergeweben. Somit ist eine wichtige biochemische Voraussetzung für deren effektive Verwertung in möglichen Zielorganen nach parenteraler Gabe erfüllt.

V13 Beurteilung der Absorbierbarkeit in vivo und der Fermentierbarkeit in vitro von Weizenprodukten mit unterschiedlicher Hitzebehandlung

Dipl.oec.troph. Francisca Jörger (✉), V. Lebet, E. Arrigoni, R. Amadó, C. Wenk
ETH Zürich, Universitätsstr. 2, CH-8092 Zürich

Problemstellung: Die Bestimmung des Wasserstoffs (H_2) in der Atemluft ermöglicht semiquantitative Aussagen über die Fermentation von Kohlenhydraten im Verdauungssystem des Menschen.

Aufgrund der individuellen Variation in der H_2 -Bildung und -Ausscheidung wird üblicherweise ein nichtabsorbierbares Kohlenhydrat (Lactulose) als Standard verwendet. Demgegenüber bieten *in vitro*-Methoden den Vorteil einer besseren Standardisierung sowie der Aufbereitung größerer Probenzahlen. Inwieweit die Ergebnisse der *in vitro*-Messungen zum Verständnis der Vorgänge beim Menschen beitragen, ist noch abzuklären. Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkung der Hitzebehandlung anhand der *in vivo*- und *in vitro*-Meßgrößen zu erkennen.

Material und Methoden: Bei den untersuchten Produkten handelte es sich um Weizenflocken und Weizenextrudat aus Vollkorn sowie Lactulose als Standard. Für die *in vitro*-Fermentation wurden die Substrate mit menschlichem Stuhl als Bakterienquelle inkubiert und nach 0, 2, 4, 6, 8 und 24 h die Menge an Gesamtgas, Wasserstoff und kurzkettigen Fettsäuren gemessen. Zur Beurteilung der nichtfermentierten Kohlenhydrate wurden die Neutralzucker in den Fermentationsrückständen bestimmt. Für den *in vivo*-Versuch wurde eine bestimmte Menge Getreide (80 g Trockensubstanz) bzw. 10 g Lactulose mit Joghurt und Wasser als Testmahlzeit gereicht. Davor und danach erfolgten in stündlichen Abständen mit einem kontinuierlichen Meßverfahren insgesamt neun H_2 -Bestimmungen in der Atemluft. Die postprandialen Glucose- und Insulinwerte wurden aus dem venösen Blut ermittelt.

Ergebnisse: Sowohl die *in vivo*- als auch die *in vitro*-Ergebnisse zeigen, daß die Verdaulichkeit der Getreideprodukte von der gewählten Hitzebehandlung beeinflusst wird. Der Verlauf der Gesamtgas- und H_2 -Bildung während der *in vitro*-Fermentation legt dar, daß unter den gewählten Extrusionsbedingungen eine Kohlenhydratfraktion entsteht, die bereits innerhalb der ersten 2 h einem sehr intensiven Abbau unterliegt. Die Neutralzuckerprofile der Fermentationsrückstände lassen annehmen, daß bei beiden Produkten primär Stärke abgebaut wird. Das Vorliegen einer leicht abbaubaren Kohlenhydratfraktion im Extrudat wird auch *in vivo* nach dessen Verzehr durch den höheren Verlauf des postprandialen Glucose- und Insulinspiegels bestätigt. Die H_2 -Ausscheidung mit der Atemluft zeigt, daß das Extrusionsverfahren zudem Veränderungen bewirkt, die zu einer früh einsetzenden und starken Fermentation im Dickdarm führen. Aufgrund der gesamten H_2 -Ausscheidung in der Atemluft (Fläche unter der Kurve) läßt sich mit Lactulose als Vergleichssubstanz berechnen, daß 4.3 % und 6.2 % bezogen auf die Trockensubstanz der Flocken- bzw. Extrudatmahlzeit fermentiert wurden.

Schlußfolgerung: Die intensive *in vitro*-Fermentation der Stärke überdeckt die Abbauvorgänge der nichtabsorbierbaren Getreidekomponenten. Die Abtrennung dieser verdaulichen Komponenten unter physiologischen Bedingungen ließe eine genauere Betrachtung der tatsächlich im Dickdarm entstehenden Produkte zu. Hierzu sind weitere Untersuchungen im Gange. Die *in vitro*-Methode ermöglicht eine differenzierte Aussage über den qualitativen Ablauf der Fermentation und bietet eine wertvolle Ergänzung zu den *in vivo*-Messungen.

V14 in vitro und in vivo Studien zur Verhinderung früher Ereignisse der Kolonkarzinogenese der Ratte durch Milchsäurebakterien

Dipl.oec.troph. Ingrid Domizlaff¹, Ch. Neudecker¹, S. Ji¹, I. Rowland², U. Schillinger¹, W.H. Holzappel¹, B.L. Pool-Zobel¹

¹Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe ²BIBRA, Carshalton, United Kingdom

Problemstellung: Die mögliche potentielle antikanzerogene Wirkung von Milchsäurebakterien (MSB) kann zum einen darauf beruhen, daß sie eine günstige Darmflora erzeugen, zum anderen könnten Komponenten der MSB oder Metabolite für antigenotoxische und antiproliferative Effekte verantwortlich sein. In diesem Zusammenhang wurden in Kolonzenellen der Ratte einige MSB-Stämme (*L. gasseri* P79, *L. acidophilus*, *L. confusus* DSM20196, *Bifidobacterium breve* und *B. longum*) daraufhin untersucht, ob sie die durch N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) induzierte Genotoxizität vermindern können. Ferner wurden die Metabolite L(+) und D(-) Lactat, das Bakteriocin Nisin und die Fraktionen, Pellets und Überstände der MSB daraufhin geprüft, ob sie *in vitro* an Kolonzenellen der Ratte antigenotoxisch wirken können und ob die Metabolite eine Wirkung auf die Proliferation von CHO-Zellen zeigen.

Methoden: Für die *in vivo* Studien wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten 8 Stunden nach MSB-Gabe mit MNNG (7,5 mg/kg KG) zur Induktion von DNA-Schäden behandelt. 16 h nach dieser Behandlung wurden die Dickdarmzellen durch Proteaseverdauung gewonnen und die Messung der Antigenotoxizität mit Hilfe des Comet-Assay durchgeführt. Hierzu wurden die Zellen in Agarose gebettet, die Zellkerne durch eine einstündige Lyse freigelegt und einer Elektrophorese unterworfen. Die DNA wurde mit Ethidiumbromid angefärbt und am Fluoreszenzmikroskop nach Grad der Schädigung ausgewertet. Bei den *in vitro* Untersuchungen wurden die aus unbehandelten Tieren gewonnenen Kolonzenellen mit den entsprechenden Testsubstanzen 30 Minuten bei 37 °C inkubiert und danach der Comet-Assay durchgeführt. Desweiteren wurden MSB-Kulturen in Fraktionen (Pellet und Überstand) getrennt und einzeln mit MNNG 60 Min. vorinkubiert, bevor ein „MNNG-Aliquot“ zu den Kolonzenellen gegeben wurde. Alle weiteren Schritte erfolgten gemäß der *in vitro* Untersuchungen. Die Proliferationsmessung wurde über viertägige Messung des Wachstumsverlaufs an CHO-Zellen mit einem Coulter Counter vorgenommen, wobei Kontrollen und behandelte Zellen verglichen wurden.

Ergebnis: Alle untersuchten MSB-Stämme verminderten die durch MNNG induzierten DNA-Schäden in Dickdarmzellen der Ratte *in vivo*. Dosis-Wirkungsuntersuchungen an *L. acidophilus* zeigten bei Halbierung der Dosis zwar noch eine antigenotoxische Wirkung, die aber bei 1/10 der Dosis nicht mehr auftrat. Im Gegensatz hierzu wiesen selbst hohe Dosen an MSB nach Hitzebehandlung keine protektive Wirkung auf. In den *in vitro* Studien verminderten L(+) Lactat und D(-) Lactat die durch MNNG induzierten DNA-Schäden in Dickdarmzellen der Ratte. Nisin als repräsentatives Bakteriocin zeigte keine Wirkung. Die Auftrennung von *L. acidophilus* ergab, daß nur das Pellet, nicht jedoch der Überstand MNNG-induzierte Schäden effektiv inhibieren konnte. Beide Lactatisomere beeinflussten nicht die Proliferation von CHO-Zellen *in vitro* im Gegensatz zu der Positivkontrolle Propionat.

Schlußfolgerung: MSB zeigen gegenüber MNNG *in vivo* und *in vitro* antigenotoxische Wirkung an Dickdarmzellen der Ratte. Diese protektive Wirkung kann durch Metabolite wie Lactat oder aber möglicherweise durch weitere, bisher nicht identifizierte kurzlebige Metabolite mitbedingt werden, da diese DNA-Schäden verhüten können.

V15 Stoffwechselweg des Pektins – Untersuchungen an keimfreien und konventionellen Ratten

Dr. Host Anger (✉), G. Dongowski
Deutsches Institut für Ernährungsforschung,
Arthur-Scheunert-Allee 114-116, 14558 Bergholz-Rehbrücke

Problemstellung: Die physiologische Bedeutung des Pektins ist mit dessen polymeren Eigenschaften eng verbunden. Pektin in der Diät bewirkt eine erhöhte renale Schwermetallausscheidung. Da Pektin als Polysaccharid nicht resorbiert werden kann, stellt sich die Frage nach dem Stoffwechselweg des Pektins.

Methode: Pektine unterschiedlichen Veresterungsgrades wurden über 21 Tage an keimfreie und konventionelle Ratten verfüttert. In den Faeces der Versuchstiere wurden die Wiederfindung, der Veresterungsgrad und die Molekulargewichtsverteilung (Viskositätsdetektion) der pektin- und uronsäurehaltigen Materialien untersucht. *In-vitro*-Fermentationen von Pektin wurden mit Faecesflora von Ratten als Inoculum durchgeführt.

Ergebnisse: Im oberen Gastrointestinaltrakt wird der Veresterungsgrad nicht beeinflusst. Der in der Literatur beschriebene Abbau des Pektins konnte anhand von Viskositätsuntersuchungen an Pektinen, die aus den Faeces der keimfreien Tiere isoliert wurden, nicht bestätigt werden. Die Molekulargewichtsverteilung bleibt unverändert. In den Faeces der konventionellen Tiere wird praktisch kein Pektin (weniger als 1 %) mehr gefunden. Oligogalakturonsäuren, die als Transportvehikel für Schwermetalle diskutiert wurden, sind in den Faeces ebenso nicht nachweisbar. Diese oligomeren Uronide wurden bei *in-vitro*-Fermentationsversuchen als Zwischenprodukte des Pektinabbaus nachgewiesen und erst nach einer lag-Phase von einigen Stunden in kurzkettige Carbonsäuren umgewandelt. Deren Gehalt erhöht sich mit der Fermentationszeit.

Schlußfolgerungen: Pektin wird durch die Bedingungen im oberen Gastrointestinaltrakt nicht wesentlich verändert. Es steht für Wechselwirkungen mit Schwermetallen, Gallensäuren zur Verfügung. Die Fermentation des Pektins erfolgt *in vivo* vollständig. *In vitro* entstehen Oligogalakturonsäuren als Zwischenprodukt, die im Tierversuch bisher nicht nachgewiesen wurden.

V16 Enzyersatztherapie bei Laktoseintoleranz

Dipl.oec.troph. Susanne Bosch (✉), S. Kalde, H. Lübke
Abt. f. Gastroenterologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf,
Moorenstr. 5, 40001 Düsseldorf

Fragestellung: Laktoseintoleranz wird üblicherweise mit einer laktosefreien Diät therapiert. Exogene Laktasen aus Hefen oder Pilzen sollen im Sinne einer Enzyersatztherapie Laktose spalten und so bei laktoseintoleranten Personen Symptome vermeiden. Ihr Einsatz erscheint insbesondere beim Außer-Haus-Verzehr sinnvoll für den Laktoseintoleranten. Ziel dieser Arbeit war es, Wirkung und Dosisabhängigkeit eines solchen Laktasepräparates aus *Aspergillus Oryzae* (*Kerutabs der Firma ArtuBiologicals, Holland*) zu untersuchen.

Methodik: Hierzu wurde an 15 Probanden mit nachgewiesener Laktoseintoleranz (H₂-Atemtest mit 50 g Laktose, Anstieg >100 ppm über den Nüchternwert) der H₂-Atemtest durchgeführt. Die Testmahlzeit bestand in allen 3 Untersuchungen aus 25 g Laktose,