

V25 Quantifizierung von Glutathion S-Transferase Isoenzymen in Ratten Colonzellen durch HPLC und Vergleich mit entsprechenden Daten von Leberzellen

Lebensmittelchemikerin Sylvia Treptow-van Lishaut (✉),
G. Rechkemmer, B.-L. Pool-Zobel
Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Institut für Ernährungs-
physiologie
Engesserstr. 20, 76131 Karlsruhe

Problemstellung: Glutathion S-Transferase Isoenzyme (GST) können vor toxischen und kanzerogenen Substanzen schützen, indem sie reaktive Zwischenstufen inaktivieren. Ziel der Arbeiten war die Bestimmung von GST aus Colon- (Zielzellen für ernährungsbedingte Tumoren) und Leberzellen (Synthese- und Detoxifikationsorgan) von Ratten (Sprague-Dawley) durch HPLC.

Methoden: Die GST werden aus dem Cytosol durch Affinitätschromatographie an S-Hexylglutathion Sepharose 6B isoliert und die Untereinheiten mittels HPLC analysiert. Zum quantitativen Vergleich der Untereinheiten in den beiden Geweben der Ratte wurden die Daten auf Proteingehalt bzw. Zellzahl bezogen.

Ergebnisse: Mit dieser Methode konnte gezeigt werden, daß die Colonzellen der untersuchten Ratten vorwiegend die Klassen π (7) und in geringeren Anteilen μ (3, 4) sowie α (1, 2) enthielten. Der Gesamtgehalt der GST in der Leber ist etwa zehnfach höher als im Colon. Darüber hinaus existieren unterschiedliche Muster der aus Leberzellen (Untereinheiten 1, 2, 3, 4) und der aus Colonzellen (7, 4, 3, 2) gewonnenen GST. Wird der Gehalt an GST-Untereinheiten auf die Zellzahl bezogen, ergeben sich größere interindividuelle Unterschiede als bei Verwendung des Zellproteingehaltes als Basis.

Schlußfolgerungen: Die HPLC-Methode bietet die Möglichkeit einer vergleichenden Analyse der verschiedenen Untereinheiten in Colon- und Leberzellen eines Versuchstieres. Die Bezugnahme des Gehaltes an GST-Untereinheiten auf die Zellzahl wird – im Vergleich zum Zellproteingehalt als Basis – als geeigneteres Mittel angesehen, Einflüsse (von z.B. Lebensmittelinhaltsstoffen) auf den GST-Status sensitiv zu bestimmen.

Literatur

- [1] Nijhoff, W.A., et al. Int J of Onc Vol. 3, pp. 1131-1139, 1993.
[2] Bogaards, J.J.P., et al. Fd Chem Toxic Vol. 28, No. 2, pp. 81-88, 1990.

Wir bedanken uns bei J.J.P. Bogaards, TNO-Institut, Zeist, Niederlande, für GST-Standards. Der Eden-Stiftung, Bad Soden/Taunus, der Dr. Rainer Wild-Stiftung, Heidelberg, und der Europäischen Gemeinschaft (EC – AIR 2 – CT 92 – 0933) danken wir für die finanzielle Unterstützung.

V26 Humane Caco-2 Zellen als Modell zur Untersuchung von Adhärenz und Cytokin-Sekretion durch Bakterien fermentierter Lebensmittel

Dirk Haller (✉), P. Scherenbacher, W.P. Hammes,
Ch. Bode
Universität Hohenheim, Institut für Ernährungsphysiologie und
Institut für Lebensmitteltechnologie- und mikrobiologie
Grabenstraße 28, 70599 Stuttgart

Problemstellung: Der Konsum probiotischer Mikroorganismen führt zu einer Stimulierung des unspezifischen Immunsystems. In dieser Arbeit wurde die Wechselwirkung von Bakterien fermentierter Lebensmittel mit der humanen Caco-2 Zelllinie untersucht. Die Adhärenz dieser Mikroorganismen an Caco-2 Zellen und der Einfluß auf die Sekretion immunmodulierender Mediatoren von Caco-2 Zellen wurden gemessen.

Material und Methoden: Die adenokarzinom Zelllinie Caco-2 wurde 20 Tage in 6-well Zellkulturplatten kultiviert. Die Bakterien wurden mit [³H]-Adenin metabolisch markiert und die Adhärenz der Bakterien an Caco-2 Zellen über die Messung der Radioaktivität bestimmt. Die Bedingungen auf die Adhärenz der Bakterien an ausdifferenzierte Caco-2 Zellen wurde durch die Kombination von homologem und heterologem Kulturüberstand untersucht. Die Expression (mRNA) und Sekretion von Cytokinen (IL-8, MCP-1, TNF- α , IL-6) nach Stimulation der Caco-2 Zellen mit Bakterien wurde durch die Reverse Transkription und PCR (RT-PCR)-Methode sowie Enzyme-Linked Immunosorbent-Assay gemessen.

Ergebnisse: Die Adhärenz von Stämmen von *L. sake*, *L. curvatus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. plantarum* und *S. carnosus* an Caco-2 Zellen variierten von kleiner 2 % bis 16 %. Es konnte gezeigt werden, daß die Adhärenz von Laktobazillen abhängig sind von Adhärenzfaktoren (AMF) im Kulturüberstand. Die Adhärenz von *S. carnosus* und *E. coli* zeigte keine Abhängigkeit vom Kulturüberstand. In bezug auf Notwendigkeit der AMF wurden unterschiedliche Bedingungen der Adhärenz durch Kombination der Bakterienzellen mit homologem und heterologem Kulturüberstand nachgewiesen. Durch die Stimulation der Caco-2 Zellen mit Bakterien kam es zur Induktion der mRNA von IL-8 und MCP-1 und Sekretion von IL-8.

Schlußfolgerungen: Bakterien fermentierter Lebensmittel zeigten Adhärenz an die Darmepithelzelllinien Caco-2. Für die Adhärenz der Laktobazillen wurde die Notwendigkeit von AMF im Kulturüberstand der Bakterien gezeigt. Für nicht-adhärenz Bakterien von *L. sake* konnte durch Kombination mit Kulturüberstand von *L. johnsonii* LA1 Adhärenz an Caco-2 Zellen induziert werden. Außerdem wurde gezeigt, daß der Kulturüberstand der nicht-adhärenz Bakterien von *L. curvatus* Adhärenzfaktoren beinhalten. Die Fähigkeit zur Adhärenz an Darmepithelzellen und die Stimulation einer Cytokinsekretion sind Voraussetzungen für potentiell probiotische Eigenschaften von Bakterien fermentierter Lebensmittel.