

## Zellbiologie

### V23 Mechanismen der protektiven Wirkungen durch intestinale Bakterien bei der Kolonkarzinogenese

Dipl.oeco.troph. Ingrid Wollowski<sup>1</sup> (✉), S.T. Ji<sup>1</sup>,  
C. Neudecker<sup>2</sup>, B.L. Pool-Zobel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Ernährungsphysiologie

<sup>2</sup>Institut für Hygiene und Toxikologie Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Engesserstr. 20, 76131 Karlsruhe

**Problemstellung:** Die Aufnahme komplexer Kohlenhydrate mit der Nahrung kann zu einem Anstieg milchsäurebildender Bakterien (MSB) im Darm führen. Diese spielen möglicherweise eine Rolle bei der Prävention von Dickdarmkrebs. Daher haben wir den Einfluß von MSB auf die im Dickdarm induzierte Genotoxizität, einem Risikoparameter der Krebsentstehung, untersucht. Mit der Technik der Einzelzellmikrogelelektrophorese (Comet-Assay) konnten wir zeigen, daß *L. casei*, *L. gasseri*, *L. confusus*, *B. breve*, *B. longum*, *S. thermophilus*, und *L. delbrueckei ssp. bulgaricus* die durch die Kanzerogene N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) und 1,2-Dimethylhydrazin induzierten DNA-Schäden im Dickdarm der Ratte *in vivo* verhindern konnten (1,2). Ob die von MSB gebildeten Metabolite oder deren Zellkomponenten an der antigenotoxischen Wirkung protektiver Bakterien beteiligt sind, wurde *in vitro* an Kolonzellen der Ratte untersucht.

**Methode:** Genotoxizität wurde mit dem Comet-Assay an Kolonzellen der Ratte gemessen. Die Zellen wurden mittels Protease gewonnen, in RPMI-Medium aufgenommen, und nach Zellzahl- und Vitalitätsbestimmung als 1 ml-Aliquote mit  $2 \times 10^6$  Zellen einer *in vitro* Behandlung (30 min., 37 °C) mit den ausgewählten Metaboliten oder Zellkomponenten und dem Kanzerogen MNNG unterzogen. Nach Abzentrifugation wurden  $2 \times 10^5$  Zellen in Agarose gebettet, die Zellkerne durch Lyse freigesetzt und einer Elektrophorese unterworfen. Durch die Anfärbung der DNA mit Ethidiumbromid wurde der Grad der DNA-Schäden am Fluoreszenzmikroskop ausgewertet.

**Ergebnisse:** Überstände der Pellets von *L. acidophilus*-Kulturen, die mit frischem Medium supplementiert und inkubiert wurden, führten zu einer Inaktivierung von MNNG *in vitro*. Ein aus dem Pellet von *L. acidophilus* gewonnener Acetonextrakt zeigte ebenfalls gegenüber MNNG eine eindeutig antigenotoxische Wirkung *in vitro*. Die Metabolite Acetat, Butyrat, Cystein, Glutathion und die Zellwandfraktionen und Peptidoglycane sowie gefriergetrocknete *L. acidophilus* verminderten das Ausmaß der Genotoxizität, das durch MNNG an Rattenkolonzellen induziert wurde.

**Schlußfolgerung:** Ein möglicher Mechanismus der protektiven Wirkung von MSB im Darm könnte auf die Ausscheidung und Produktion von Metaboliten zurückgeführt werden, welche Karzinogene im Darmlumen inaktivieren, bevor diese Kolonzellen schädigen können.

(1) B.L. Pool-Zobel, C. Neudecker, I. Domizlaff, S.T. Ji, U. Schillinger et al. Nutr Canc 26 (1996) 365; (2) B.L. Pool-Zobel, S.L. Abrahamse, G. Rechkemmer; Proceedings of COST 92, Helsinki Finland (1996) *in press*

Mit finanzieller Unterstützung durch ECAIR-1-CT92-0256 und ECAIR-2-CT94-0933

### V24 In vitro Untersuchungen zum Effekt von Natrium-Selenit auf die präneoplastische Epithelproliferation an humanen Kolonbiopsien

Priv.Do. Dr.med. Hans-Peter Bartram (✉), G. Dusel,  
R. Draenert, E. Liebscher, W. Scheppach, H. Kasper  
Medizinische Universitätsklinik Würzburg  
Josef-Schneider-Str. 2, 97080 Würzburg

**Problemstellung:** Ein erhöhter Gehalt an fäkalen sekundären Gallensäuren (Deoxy- und Lithocholsäure) unter fettreicher/balaststoffarmer Ernährung gilt als wesentlicher Risikofaktor bei der Kolonkarzinogenese. *In vitro* führt die Inkubation menschlicher Kolonbiopsien mit Deoxycholsäure (DCA) zu einer Hyperproliferation, welche als Biomarker für ein gesteigertes Karzinomrisiko angesehen wird (Cancer Res 53:3283, 1993). Im Gegensatz zu DCA wurde tierexperimentell für Natrium-Selenit (Se) ein tumorhemmender Effekt beschrieben, höhere Se-Dosen gelten jedoch als toxisch. In der vorliegenden Studie sollte geprüft werden, inwieweit eine Co-Inkubation mit Se die DCA-induzierte Hyperproliferation menschlichen Kolonepithels beeinflusst.

**Methoden:** Von 40 Personen wurden Biopsien aus endoskopisch normaler Kolonmucosa jeweils mit 5 µM DCA, einer Kombination aus 5 µM DCA und Se in Konzentrationen von 5, 10, 20, 50, 80 und 100 µM, sowie mit 5 µM NaCl-Lösung (Kontrolle) inkubiert und die Zellproliferation durch Ermittlung des Labeling Index (LI = Fraktion Bromdesoxyuridin-markierter Zellen) immunhistochemisch bestimmt.

**Ergebnisse:** Während die Inkubation mit 5, 10 und 20 µM Se gegenüber DCA zu einer (annähernd) dosisabhängigen Reduktion des LI führte (Tabelle), zeigten sich in den Inkubationen mit höheren Se-Konzentrationen schwere Zellschädigungen mit z.T. kompletter Zerstörung der Krypten, was eine Berechnung des LI unmöglich machte.

**Tabelle:** LI-Werte in Abhängigkeit der zugesetzten Se-Konzentration:

Se-Konzentration	DCA+Se	DCA	NaCl	p-Wert
5 µM	0,136 ----*----	0,172	0,135	0,008
10 µM	0,118 ----*----	0,157	0,128	0,005
20 µM	0,110 ----*----	0,165		0,003

**Schlußfolgerungen:** Im niedrigen Dosisbereich hemmt Natrium-Selenit die DCA-induzierte Hyperproliferation humanen Kolonepithels und führt zu einer „Normalisierung“ des Zellwachstums, was auf einen möglichen protektiven Effekt von Se bei der Kolonkarzinogenese hinweist. Die toxischen Auswirkungen höherer Selenitkonzentrationen (50-100 µM) verdeutlichen jedoch die Notwendigkeit weiterer Studien, bevor Empfehlungen hinsichtlich einer Se-Supplementierung zur Kolonkarzinomprävention gemacht werden können.