

6 Zusammenfassung

Zielstellung der vorliegenden Arbeit war die vergleichende Charakterisierung von pathophysiologisch bedeutsamen Veränderungen bei der kolorektalen Karzinogenese und bei CED sowie die Verifizierung dieser Befunde in entsprechenden Tiermodellen. Die Ergebnisse zur präventiven und therapeutischen Beeinflussbarkeit dieser Erkrankungen durch RS III in den relevanten Modellen sollten der Vorbereitung einer klinischen Anwendung von RS III dienen.

Im ersten Teil der Arbeit wurde das Verhalten ausgewählter, sowohl mit der kolorektalen Karzinogenese als auch mit CED assoziierter, prooxidativ und antioxidativ wirkender Enzyme in morphologisch intaktem und in pathologisch verändertem Dickdarmgewebe des Menschen stadienabhängig charakterisiert. Gewebeproben von Patienten mit sporadischen kolorektalen Tumoren und FAP wurden anhand histomorphologischer Parameter ihrem Differenzierungs- bzw. die Proben von Patienten mit CED ihrem Entzündungsgrad zugeordnet. Zur Einteilung der CED-Proben wurde ein Kolitis-Score entwickelt. Die Enzymverteilung und deren Veränderung wurden mittels Immunhistochemie erfasst, da diese Methode den komplexen Aufbau der Darmwand berücksichtigt und es ermöglicht, Veränderungen auf zellulärer und subzellulärer Ebene – besonders im Achsen-Funktions-Verlauf der Dickdarmkrypte – zu verfolgen.

Es konnte nachgewiesen werden, dass im Epithel von morphologisch intakter Dickdarmmukosa COX-1, COX-2, iNOS und 15-LOX-2, nicht jedoch 15-LOX-1 exprimiert werden. COX-2 und iNOS befinden sich im luminalen Saume epithel in ähnlicher zellulärer und subzellulärer Lokalisation. Die gleiche Anordnung zeigt auch die strukturgebundene zytoplasmatische Fraktion der GI-GPx. Am Kryptengrund wird die GI-GPx dagegen in einer kernständigen Lokalisation exprimiert. Die Hochregulation von COX-2, iNOS und GI-GPx in der strukturgebundenen Lokalisation über die gesamte Kryptenachse ist ein sehr frühes Ereignis im Prozess der Entdifferenzierung. In Doppelmarkierungsexperimenten konnte gezeigt werden, dass die GI-GPx in der membrangebundenen Fraktion apikal vom Zellkern im endoplasmatischen Retikulum lokalisiert ist. Im Epithel stark entdifferenzierter Tumorareale sind die Spiegel dieser drei Enzyme wieder vermindert. Die COX-1- und 15-LOX-2-Spiegel verändern sich im Epithel im Verlauf der Entdifferenzierung nur geringfügig. Die 15-LOX-1 ist auch im Epithel neoplastischer Gewebe nicht detektierbar.

In den Zellen der Lamina propria von morphologisch intaktem Gewebe werden die COX-1, COX-2, iNOS, 15-LOX-1 und 15-LOX-2 exprimiert. 15-LOX-1 ist fast ausschließlich in Eosinophilen nachweisbar. Alle fünf Enzyme werden im Verlauf der Entdifferenzierung stark

hochreguliert. Auch die GI-GPx ist in neoplastischem Gewebe vereinzelt in Stromazellen detektierbar.

Die Expressionsmuster einiger Enzyme unterscheiden sich in Abhängigkeit der primären Ursache der Tumorentwicklung signifikant. FAP-Patienten weisen bereits in histologisch intakter Mukosa erhöhte COX-2-, iNOS- und GI-GPx-Spiegel im Saumepithel auf. Dieser Effekt verstärkt sich in Hyperplasien und Dysplasien der Schleimhaut. Zusätzlich tritt bei FAP in frühen Entdifferenzierungsstadien eine starke Expression der 15-LOX-2 im Epithel auf. Im weiteren Verlauf der Tumorentwicklung sind die Veränderungen in den Enzymmustern im Epithel und auch in den Zellen der Lamina propria weniger stark ausgeprägt als bei sporadischen Tumoren. Aus diesen Befunden leitet sich die Schlussfolgerung ab, dass die Tumorpromotion bei *apc*-Gendefekt-Trägern nicht erst mit der Entwicklung aberranter Krypten, sondern wesentlich früher einsetzt. Präventionsmaßnahmen sind daher so frühzeitig wie möglich vorzunehmen.

Bei der CU weisen bis auf die iNOS alle untersuchten Enzyme beim niedrigsten Entzündungsgrad im Epithel geringere Spiegel auf als im morphologisch intakten Vergleichsgewebe. Demgegenüber sind in den Zellen der Lamina propria zu diesem Zeitpunkt die Enzym Spiegel – mit Ausnahme von COX-2 pc und GI-GPx - bereits deutlich erhöht.

Chronische oxidative Schädigungen initiieren onkogene Potentiale. Tatsächlich haben die Enzymmuster der stark entzündeten Mukosa bei CU große Ähnlichkeiten mit denen bei Entdifferenzierungsprozessen. Fast alle Enzyme zeigen im Epithel im Entzündungsgrad 3 ein ähnliches Verteilungsmuster wie in frühen Entdifferenzierungsstadien sporadischer und hereditärer Tumore. Die Muster in den Stromazellen weisen im Entzündungsgrad 3 große Übereinstimmung mit stärker entdifferenzierten Tumorarealen sporadischer Tumore auf. Die Befunde bei MC-Patienten stimmen weitgehend mit denen von CU-Patienten überein.

Die Ergebnisse von Untersuchungen mit verschiedenen Isoform-spezifischen COX-Antikörpern deuten auf die Existenz weiterer COX-Isoenzyme im Dickdarm hin.

Die Tatsache, dass sich die auffälligsten Veränderungen sowohl bei der Tumorentwicklung als auch bei der CU im luminalen Bereich der Krypte vollziehen, unterstreicht die Arbeitshypothese, dass die intestinale Mikroflora die Integrität und Funktion der intestinalen Schleimhaut maßgeblich beeinflusst.

Am DMH-Tumormodell und TNBS-Kolitismodell der Ratte wurde experimentell überprüft, ob die Zufuhr von RS III – über eine erhöhte Butyratausbeute - einen präventiven bzw.

therapeutischen Effekt auf die kolorektale Karzinogenese bzw. auf entzündliche Darmerkrankungen ausübt.

Es konnte gezeigt werden, dass der distale Dickdarm der Ratte sowohl histologisch als auch immunhistochemisch mit dem humanen Dickdarm vergleichbar ist. Prinzipiell treten in den Modellen ähnliche Veränderungen wie bei der kolorektalen Karzinogenese und bei CED des Menschen auf. Es bestehen zum Teil Spezies-spezifische Besonderheiten bezüglich der Höhe der Spiegel und der subzellulären Lokalisation der analysierten Enzyme.

Die Gabe von RS III resultierte in einer vollständigen Hemmung der Tumorentwicklung im DMH-Modell sowie einer abgeschwächten Entzündungsreaktion und verbesserten Regeneration des Gewebes im TNBS-Modell. Dies ging mit Veränderungen im Verteilungsmuster einzelner Enzyme und Proteine einher.

Auf Grund des nachgewiesenen protektiven Effektes von RS III, sowohl auf die Tumorentwicklung als auch auf die Entzündung im Dickdarm, ist dieser spezifische Ballaststoff als eine präventiv-therapeutische Option für betreffende Risikogruppen zu empfehlen.