

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Morbus Crohn, Colitis ulcerosa

Morbus Crohn (MC) und Colitis ulcerosa (CU) sind die wichtigsten chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) [164]. Der Anteil der MC-Patienten liegt in Deutschland mit 5.2 pro 100.000 im europäischen Durchschnitt mit einer jährlichen Inzidenz von 5.6 pro 100.000 [173]. Der Beginn der Erkrankungssymptome liegt in der Gruppe der 20-30-Jährigen [173]. Die CU zeigt eine Inzidenz von 5-25 pro 100.000 Einwohner, in Deutschland sind es nach aktuellen Erkenntnissen 6 pro 100.000 [173]. Die höchste altersspezifische Inzidenz liegt in Europa bei den 20- bis 34-Jährigen [156].

LOKALISATION Für den MC ist eine diskontinuierlich ausgedehnte chronisch-ulzeröse Entzündung entlang der Darmoberfläche charakteristisch. Jeder Teil des Gastrointestinaltraktes kann entzündlich verändert sein, vom Mund bis zum Anus. Bei Diagnosestellung ist in ca. 25% der Fälle das terminale Ileum befallen, in 25% nur das Colon und in 50% Colon und Ileum. Der obere Gastrointestinaltrakt ist lediglich mit einem geringen Prozentsatz beteiligt. Die CU ist fast ausschließlich auf den Befall des Colons beschränkt. Bei ca. 23% der Patienten ist das Rektum höchstens bis zum Sigmoid hin befallen, 43% haben eine Linksseitencolitis bis zum distalen Colon transversum und bei 34% der Erkrankten ist das gesamte Colon befallen.

ERKRANKUNGSSTADIEN *Morbus Crohn Akuter Schub* Definiert wird der akute Schub in Verbindung mit Laborwerten (CRP, Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozyten) sowie einem CDAI von 150-219 für leicht aktive Erkrankung, 220-450 Punkte für mäßig aktive Erkrankung und ≥ 451 Punkten für schwere Erkrankung [150]. Kennzeichen eines akuten Schubes sind u.a. Bauchschmerzen, Diarrhoe, Fistelsekretion, andere intestinale und extraintestinale Symptome.

Morbus Crohn Remission Sobald Symptome und Kennzeichen einer aktiven Erkrankung verschwunden sind, ist der Zustand der Remission eingetreten. Dieser kann mit Hilfe des Crohn's Disease Activity Index (CDAI), der Goldstandard zur Bestimmung der Erkrankungsaktivität, bestimmt werden. Eine Punktezahl < 150 charakterisiert den Remissionsstatus [16, 17, 150]. Treten wieder klinische Zeichen und Symptome auf, liegt ein Rezidiv vor [54].

Morbus Crohn Chronische Aktivität Bisher existiert keine einheitliche, international verbindliche Definition des chronisch aktiven Verlaufs [43, 49]. Dieser wird primär durch die persistierende oder rezidivierende Symptomatik über sechs Monate definiert. Voraussetzung hierbei ist eine adäquate vorhergehende Therapie, die eine Besserung, aber keine vollständige und dauerhafte (<2 Rezidive pro Jahr) Remission bewirkt hat [43, 79].

Colitis ulcerosa Akuter Schub Charakteristisch für einen akuten Schub sind die typischen klinischen Beschwerden, d. h. blutige Diarrhoe und ggf. Tenesmen [80]. Der Schub definiert sich nach Zeitdauer und Intensität der Beschwerden. Ein CAI von >5 deutet auf einen Schub hin [114].

Colitis ulcerosa Remission Die Remission der Colitis ulcerosa wird anhand klinischer Parameter und Verschwinden der initialen Krankheitssymptome definiert [49]. Laborwerte, wie Hämoglobin, Leukozyten oder CRP liefern Hinweise zur Remissionsbeurteilung. Des Weiteren wird der Remissionsstatus mittels Colitis ulcerosa Activity Index (CAI) bestimmt: eine Punktezahl ≤ 5 charakterisiert die Remission [114].

1.2 Der Ernährungsstatus bei CED

Was ist der Ernährungsstatus? Jeejeebhoy et al. beschrieben diesen als ‘an equilibrium of the intake of a diet sufficient to meet or exceed the needs of the individual, which will keep the composition and function of the otherwise healthy individuals within the normal range’ [88]. Dieses Gleichgewicht kann durch erhöhten Bedarf oder verminderte Nahrungszufuhr gestört sein.

Bereits 1932 beschrieben Crohn et al. Muskelschwund und Gewichtsverlust als klinische Zeichen der regionalen Enteritis [37]. Seit dieser Zeit wurde häufig von Mangelernährung bei CED, besonders bei MC-Patienten, berichtet. Die Ursache wurde meist auf verschiedene Faktoren zurückgeführt.

MANGELERNÄHRUNG In zahlreichen Studien wurden verschiedene Kriterien und Definitionen zur Diagnostik einer Mangelernährung verwendet, die zu ungleich hohen Prävalenzdaten führten. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) determiniert die Mangelernährung (malnutrition, undernutrition) als ein signifikantes Untergewicht, für Erwachsene messbar an einem BMI ($<18.5 \text{ kg/m}^2$) oder als Unterschreitung anderer anthropometrischer Grenzwerte (Hautfaltendicke) [49]. Des Weiteren unterscheidet die WHO bei der Mangelernährung zwei Ursachen: 1. Mangelernährung bedingt durch insuffiziente Nahrungszufuhr und 2. verursacht durch eine Krankheit. Die Mehrzahl der Experten geht von einer komplexen Vorstellung von Mangelernährung aus, für die es bislang keinen universellen Parameter oder Grenzwert gibt. Der Begriff Mangelernährung sollte als Oberbegriff gesehen werden, den es in Subkategorien einzuteilen gilt. Die DGEM (Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin) klassifiziert den Oberbegriff Fehlernährung beispielsweise in Unterernährung (anhaltend niedrige Energiezufuhr und niedriger, aber weitgehend stabiler BMI ($<18.5 \text{ kg/m}^2$)) und Mangelernährung (krankheitsassoziiertes Gewichtsverlust, Eiweißmangel, spezifischer Nährstoffmangel) [141]. Die aktuellen Leitlinien der „European Society of Clinical Nutrition and Metabolism“ (ESPEN) definieren Mangelernährung (malnutrition) als

Status der Ernährung, bei dem ein Mangel an Energie, Proteinen oder anderen Nährstoffen vorliegt, der sich im Gewebe, in der Körperzusammensetzung, Funktion und klinischem Outcome messen lässt [116]. Der Begriff Unterernährung (undernutrition) wird häufig im Zusammenhang mit einer defizitären Aufnahme von Energie und Proteinen oder beeinträchtigten Absorption, begleitet von Mineral- und Mikronährstoffdefiziten, gebraucht [116]. Ein schweres Ernährungsrisiko wird anhand der folgenden Parameter definiert: Gewichtsverlust >10-15% innerhalb der letzten 6 Monate oder BMI <18.5 kg/m² oder Subjective Global Assessment Grad C bzw. Nutritional Risk Screening ≥3 oder Serum-Albumin <30 g/l [116].

Tabelle 1.1: Ursachen und Konsequenzen der Mangelernährung

Ursachen	Konsequenzen
Anorexie, Angst vor Essen aufgrund abdomineller Schmerzen	Inadäquate Nahrungsaufnahme
Reduzierte Resorptionsfläche aufgrund extensiver Erkrankung oder Resektion, Bakterielle Überwucherung, Medikamente (Corticosteroide, Sulphasalazine, Cholestyramin)	Malabsorption, Maldigestion
Erhöhter intestinaler Verlust	Blutverlust, Proteinverlust, Gallensäureverlust, Elektrolyte, Mineralien, Spurenelemente
Entzündung, Fisteln, Erhöhter intestinaler Zell-Turnover	Erhöhter Bedarf
Erkrankungsaktivität	Eliminierung der Antioxidanzien aufgrund oxidativen Stress

Ursachen für die Mangelernährung (Tabelle 1.1) bei CED sind u.a. beeinträchtigte Nährstoffaufnahme in der Akutphase, Durchfall, Erbrechen, Malabsorption, Medikament-Nährstoff-Interaktion [65], bakterielle Überwucherung, Gallensalzverlust, Darmresektion sowie der erhöhte Nährstoffverlust durch den entzündeten und ulzerierten Darm [57]. Das Vorhandensein von Fisteln und/oder Stenosen fördert den bakteriellen Überwuchs im Dünndarm. Dies führt zum Produktionsanstieg bakterieller Nährstoffmetabolite durch Fermentations- und Hydroxylierungsprozesse. Des Weiteren fördern Medikamente (Steroide, Cholestyramin) und selbst erzwungene Diäten die Entwicklung von Nährstoffdefiziten bei CED [57].

Die Studienergebnisse hinsichtlich Energieumsatz bei CED sind kontrovers, ausgehend von erhöhtem Energiebedarf [98, 107] über normalem [166] bis hin zum reduzierten Energiebedarf [30] im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Die divergierenden Resultate basieren möglicherweise darauf, dass Patienten mit unterschiedlicher Erkrankungsschwere, Entzündungsaktivität und Ernährungsstatus als eine Population betrachtet wurden [25]. Al-Jaouni et al. berichteten über einen er-

höhten Energiebedarf, gesteigerte Lipidperoxidation sowie verminderte Nahrungs-induzierte Thermogenese bei MC-Patienten im akuten Schub verglichen mit Kontrollen [6]. Gewichtsverlust, verursacht durch insuffiziente Nahrungsaufnahme, erhöhten Energiebedarf, akute Verschlechterung des Erkrankungsverlaufes, ist eine der klinischen Manifestationen bei Aufnahme der Patienten in das Krankenhaus [62]. Art und Schweregrad der Mangelernährung sind abhängig von der Dauer, Aktivität und Ausmaß der Erkrankung [65].

MC-Patienten entwickeln über die lange Erkrankungsphase generell eine Mangelernährung, während CU-Patienten in Remission gut ernährt sind [65]. Die Inzidenz der Protein-Energie-Malnutrition (PEM, 20-85%) [25] und der Mangelernährung spezifischer Nährstoffe war bei Dünndarmbefall höher als bei reinem Dickdarmbefall [65]. PEM und Mikronährstoffdefizite sind gleichermaßen prevalent bei CED wie auch Wachstumsbeeinträchtigungen bei Kindern sowie eine verminderte Knochenmineraldichte [56]. Alle genannten Parameter können sich negativ auf den Erkrankungsverlauf auswirken [25]. Zu berücksichtigen ist, dass die Erkrankungsursache weitgehend unbekannt ist und bisherige sowie aktuelle pathogenetische Hypothesen Nährstoffe als mutmaßlich auslösende Agenzien postulieren [25]. Eine Hypalbuminämie tritt sehr häufig bei CED-Patienten auf, die aus dem intestinalen Proteinverlust, der Entzündungsreaktion sowie dem erhöhten Katabolismus resultiert [25].

KÖRPERZUSAMMENSETZUNG Die meisten Studien zur Bestimmung der Körperzusammensetzung wurden bei CED-Patienten mit hoher Erkrankungsaktivität durchgeführt. Die Patienten kennzeichnen sich durch signifikanten Verlust von Fett, Protein und Wasser [33, 149]. Durch ausgewogene Ernährung bzw. Erreichen der Remission verbesserte sich der Ernährungsstatus [33, 149]. Geerling et al. untersuchten Männer mit lang andauerndem MC in Remission: Körpergewicht, Körperfett sowie Magermasse waren im Vergleich zu „gematchten“ gesunden Kontrollen signifikant vermindert [61]. MC-Patienten mit langer Erkrankung zeigten eine erhöhte Ratio von extrazellulärem zu intrazellulärem Wasser im Vergleich zu Gesunden [34]. Klinische und experimentelle Untersuchungen bewiesen, dass eine chronische Entzündung zu einem Anstieg von extrazellulärem Wasser führen kann [34].

1.3 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress entsteht durch die Imbalance von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und einem inadäquaten antioxidativen Abwehrsystem [73, 160]. Direkte oder veränderte Signalwege durch oxidativen Stress führen zur Zellschädigung, ein Mechanismus, der in zahlreichen Krankheitsprozessen, einschließlich gastrointestinalen Erkrankungen vorkommt.

ROS sind instabile Spezies mit einem oder mehreren ungepaarten Elektronen, die auf verschiedenen Ebenen gebildet werden können:

- * Produktion von ROS in Leukozyten und in der mitochondrialen Atmungskette,
- * Bildung von ROS im Stickstoff-Monoxid-Stoffwechsel,

- * Nebenprodukte des endothelialen Stoffwechsels,
- * Massive Produktion von ROS durch Zellen, die durch NADPH-Oxygenase von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen produziert werden,
- * Erhöhung des oxidativen Stress durch beim Zelltod abgegebene Metallionen (Eisen, Kupfer) [15].

Zu den ROS zählen Superoxide ($O_2^- \bullet$), Hydroxy-Radikale ($OH \bullet$), Hypochlorsäure ($HOCl \bullet$) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2), die vor allem im Überschuss von aktivierten neutrophilen Granulozyten und Monozyten in der Zirkulation sowie in der entzündeten Mukosa produziert werden [60, 68, 161]. Sie sind essenziell für die Zellsignalisierung sowie für die bakterielle Abwehr [15], können aber ebenso Zellen und deren Komponenten angreifen.

MECHANISMUS Sauerstoff und seine reaktionsfähigen Radikale können nahezu alle in lebenden Strukturen vorkommende Verbindungen oxidativ verändern und damit funktionell beeinträchtigen. Durch Reduktion von Sauerstoff, in Nebenreaktionen von Oxydasen (beim Abbau von Purinen), bei der Elektronenübertragung in der Atmungskette auf Ubichinon oder durch Elektronentransfer von Semichinonzwischenstufen entsteht das $O_2^- \bullet$, welches ein ungepaartes Elektronenpaar besitzt. Ein $O_2^- \bullet$ kann auch durch Autooxidation von Flavinen, Hämoglobin und Glutathion sowie durch physikalische Einwirkung von UV-Licht, Ultraschall, Röntgenstrahlen oder Zigarettenrauch entstehen [103]. Die Toxizität des Radikals beruht auf den Reaktionen mit ungesättigten Phospholipiden der Membranen. Die Folge ist die Lipidperoxidation. Mit Hilfe der NADPH-Oxidase erzeugen aktivierte Makrophagen bei Entzündungsreaktionen ebenfalls Superoxid-Radikale, die zur Abwehr von Bakterien dienen [70].

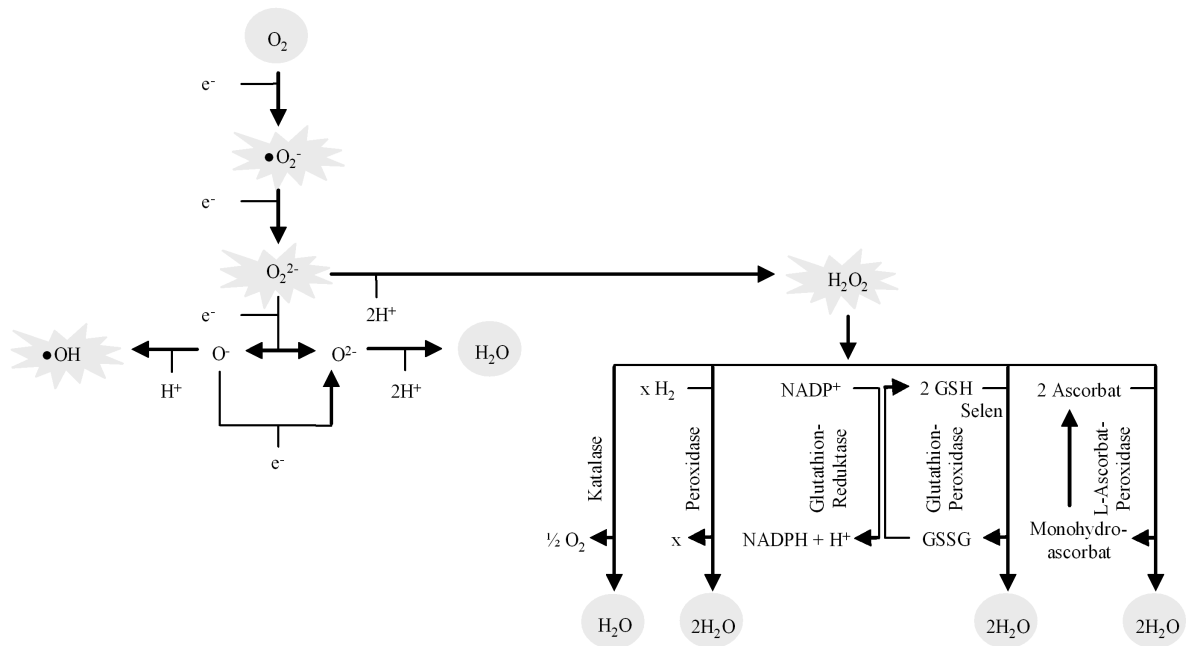
Unter der katalytischen Wirkung von Superoxid-Dismutase oder durch Spontanreaktion kann das $O_2^- \bullet$ in Wasserstoffperoxid (H_2O_2) übergehen [102]. Granulozyten benutzen einen für den Organismus positiven Mechanismus: sie erzeugen im sog. „respiratory burst“ $O_2^- \bullet$, das bakterizid wirkt.

Im Rahmen einer Entzündung entstehen durch Phagozyten erhebliche Mengen an H_2O_2 , die nicht-spezifische irreversible Schäden an epithelialen Zellen verursachen können [180]. Die weitere schädigende Wirkung beruht auf der Inaktivierung von Enzymen. Das relativ schwache H_2O_2 kann mit reduzierten Metallionen (Fe^{2+} , Cu^{2+}) in der Fenton-Reaktion oder mit Semichinon zum Hydroxyl-Radikal ($OH \bullet$) reagieren.

$OH \bullet$ ist das aggressivste, reaktionsfreudigste und kurzlebigste ROS. Es inaktiviert das Zentralenzym der Mitochondrien - Pyruvat-Dehydrogenase -, depolymerisiert gastrointestinales Mucin und verursacht direkt DNA-Schäden. Weiterhin ist es an der Inaktivierung von Zink/Kupfer-abhängiger Superoxid-Dismutase, an der Interaktion von $HOCl \bullet$ mit reduzierten Eisenionen und Stickstoffmonoxid beteiligt. Das Hydroxyl-Radikal startet Radikalketten-Reaktionen, wie die Lipidperoxidation.

Mit Hilfe verschiedener Enzyme können H_2O_2 bzw. $OH \bullet$ zu Wasser reduziert werden. Dazu zählen: Katalase, Peroxidase, Glutathion-Peroxidase und L-Ascorbat-Peroxidase (Abbildung 1.1)

Abbildung 1.1: Oxidativer Stress



Erklärung Durch Aufnahme eines zusätzlichen Elektrons (e^-) entsteht aus Sauerstoff (O_2) Superoxid ($O_2^- \bullet$). Durch weitere Reduktion bildet sich das Peroxid-Anion ($O_2^{2-\bullet}$), welches durch Einbau eines weiteren Elektrons in O^{2-} und O^- aufgespalten wird. Aus O^- bildet sich unter Aufnahme eines Protons das Hydroxy-Radikal ($OH \bullet$), aus O^- und Protonen entsteht Wasser. Das Peroxid-Anion kann leicht Protonen binden und in Wasserstoffperoxid (H_2O_2) übergehen. Das entstandene H_2O_2 kann durch endogene (Katalase, Peroxidase) sowie durch exogene Antioxidanzien (Vitamin C) regeneriert werden.

[103]. Die Selen-abhängige Glutathionperoxidase (GSHPx) initiiert den Antioxidanzienprozess durch Transformation des $O_2^- \bullet$ in H_2O_2 . Diese werden durch Katalase metabolisiert. Die verschiedenen Formen der GSHPx neutralisieren die diversen Peroxide im intra- und extrazellulären Bereich [15].

Die endogene Abwehr durch Antioxidanzien steht im Gleichgewicht zur ROS-Produktion bei gesunden Individuen. Jedoch können ca. 1% der ROS nicht durch endogene Antioxidanzien abgewehrt werden. Dies führt zu peroxidativen Schäden des Umgebungsgewebes (Proteine, Lipide, DNA) und damit zur Alterung der Zellen und Gewebe [15].

LIPIDPEROXIDATION Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (MUFS), die in der Lipiddoppelschicht der Zellmembran verankert sind, sind die Hauptziele der ROS. Eine massive ROS-Produktion (vor allem $OH \bullet$) oder eine erschöpfte antioxidative Abwehr führen zur Initiierung der Lipidperoxidation [61]. Von der zwischen Doppelbindungen gelegenden CH_2 -Gruppe kann leicht ein Wasserstoff-Atom abstrahiert werden, so dass ein Radikal entsteht. In der sich anschließenden Sauerstoff-abhängigen Reaktion entsteht das Alkyldioxy-Radikal, welches zur Abstraktion des

H-Atoms einer weiteren Fettsäure führt. Ist diese erst aktiviert, schließt sich eine Kettenreaktion aus Bildung von Aldehyden, Ketonen sowie weiteren Umlagerungs- und Folgeprodukten an. Die dabei entstandenen Hydroperoxide wirken direkt toxisch auf Zellen und Organellen, besitzen neutrophile chemotaktische Eigenschaften, können die Cytokinproduktion regulieren und Fettmoleküle beeinträchtigen [103]. Die Akkumulation von Hydroperoxiden in der Zellmembran senkt die Fluidität und damit die Aktivität von Transmembranenzymen, Transportermolekülen, Rezeptoren und anderen Membranproteinen [90].

Die Lipidperoxidation wird beschleunigt, wenn die zellulären Detoxifikationssysteme zur Umwandlung der Vorstufen von $OH\bullet$ ausgefallen sind [9]. Folgen der Lipidperoxidation sind Veränderungen der Membranpermeabilität und -selektivität. Dies führt zu Beeinträchtigungen in der Homöostase des Zellvolumens und des Zellstoffwechsels [31]. Durch fettlösliche Antioxidanzien kann eine initiierte Lipidperoxidation erfolgreich unterbrochen werden. Auch Stickstoffmonoxid kann als kettenbrechendes Antioxidanz fungieren [81].

1.3.1 Oxidativer Stress bei CED

Oxidativer Stress ist ein Schlüsselement in der Pathogenese bei CED [68]. Postuliert wird, dass oxidativer Stress eine Rolle bei der Initiierung und Progression der Erkrankung spielt und in der Therapie mit Antioxidanzien berücksichtigt werden muss [35, 60]. Hypothesiert wird weiterhin, dass der intestinale Schaden bei CED assoziiert ist mit einer erhöhten Radikalproduktion und/oder einer Infiltrierung von phagozytischen Zellen. Die Downregulation spezifischer Detoxifikationsgene nimmt ebenso eine wichtige Position in der Pathogenese der CED ein, besonders bei der CU [44].

Oxidativer Stress bei CED resultiert aus der überschüssigen Aktivierung der Radikal-produzierenden Systeme, aus dem prooxidativen Effekt des Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)- α , produziert von aktivierten Makrophagen [70] oder aus einer beeinträchtigten endogenen Antioxidanzienabwehr [60, 103]. Die permanente Anwesenheit zahlreicher aktivierter, Myeloperoxidase-haltiger Phagozyten bei CED-Patienten schließt eine starke und lang andauernde mukosale Belastung mit toxischen und schädigenden Agenzien, wie ROS, ein [103]. Die Phagozyten werden durch proinflammatorische Mediatoren, wie Prostaglandin E_2 oder Leucotrien E_2 aktiviert, wodurch große Mengen an ROS gebildet werden können [135]. Wahrscheinlich ist die exzessive ROS-Produktion im Darm für die erhöhte Elektrolyt- und Wassersekretion bei CED verantwortlich.

Mukosale Läsionen bei CED resultieren aus einer dichten Infiltration von Entzündungszellen, einschließlich neutrophilen Granulozyten, Macrophagen und Lymphozyten [125]. Diese Zellen produzieren verschiedene Entzündungsmediatoren, wie Cytokine, ROS, Nitrogen-Metabolite, cytotoxische Proteine oder lytische Enzyme [2, 53, 68, 125]. Weitere mögliche ROS-Quellen in der entzündeten Mukosa sind mitochondriale und mikrosomale Elektronentransportketten sowie Reaktionen, die durch Cyclooxygenase oder Lipoxygenase katalysiert werden [2, 125]. In kolorektalen Biopsien von CU-Patienten wurde eine erhöhte Produktion von ROS bei stimulierten Entzündungs-

zellen sowie Nebenprodukte der Lipidperoxidation gefunden [38, 125]. McKenzie et al. zeigten, dass der Verlust der Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität durch die entzündeten Läsionen bei CED ein Ergebnis der Oxidation von $HOCL\bullet$ ist [125].

Bisher fehlen adäquate Techniken mit hoher Sensitivität und Spezifität, um die ROS-Spiegel in der intestinalen Mukosa bei CED zu bestimmen [103]. Dennoch haben wenige Arbeitsgruppen die ROS-Konzentrationen von CED-Patienten direkt messen können: anhand von Chemiluminiszenzen an Biopsien von MC- und CU-Patienten [92, 154, 160]. Verglichen mit gesunder Kontrollmukosa waren die ROS-Konzentrationen von CED erhöht, die positiv mit der Erkrankungsaktivität korrelierten [103].

1.4 Antioxidanzien

Antioxidanzien sind Substanzen, die in niedrigen Konzentrationen die Oxidation eines Substrats verzögern oder hemmen können [15]. Die zugrunde liegenden Mechanismen können nichtenzymatisch oder enzymatisch sein [15, 132]. Beispiele für antioxidative Abwehrmechanismen sind in Tabelle 1.2 aufgeführt. Die Aktivität der antioxidativen Enzyme wird bestimmt von der Verfügbarkeit der Co-Faktoren [62]. Die Abwehr durch Antioxidanzien erfolgt auf drei Ebenen:

- * Verhinderung der ROS-Bildung zur Prävention
- * Verhinderung der ROS-Wirkung
- * Beseitigung und Reparatur der Schäden.

MECHANISMUS Die Lipidperoxidationskette kann z.B. durch β -Carotin, Vitamin C und α -Tocopherol nicht-enzymatisch unterbrochen werden. Beta-Carotin kann z.B. Singulett-Sauerstoff physikalisch abfangen („quenchen“) und die dabei entstehende Energie in Form von Wärme abgeben. Des Weiteren kann β -Carotin die Reaktionen freier Radikale in sauerstoffarmer Umgebung hemmen. Dabei übernimmt und stabilisiert β -Carotin ein ungepaartes Elektron.

Tocopherole nehmen eine wichtige Funktion im Schutz der Membranlipide vor Peroxidation ein. Peroxyl-Radikale der Fettsäuren reagieren mit α -Tocopherol, welches in den Tocoperoxy-Zustand übergeht. Das Tocoperoxy-Radikal ist wenig reaktiv mit geringer Halbwertszeit, so dass Kettenreaktionen unterbrochen werden. Mit Hilfe von Vitamin C wird das Tocoperoxy-Radikal reduziert. Das entstandene Ascorbat-Radikal dismutiert in Ascorbat und Dehydroascorbat. Oxydiertes Vitamin C sowie α -Tocopherol kann mittels Glutathion in den für den Organismus verwertbaren Zustand zurück geführt werden.

Tabelle 1.2: Antioxidative Abwehrmechanismen

System	Verbindung	Bemerkung
Nicht-enzymatisch	α -Tocopherol	unterbricht Radikalketten
	β -Carotin	reagiert mit reaktivem O_2 , unterbricht Radikalketten
	Ascorbat	verschiedene antioxidative Funktionen
	Glutathion	verschiedene antioxidative Funktionen
Enzymatisch	Harnsäure	Radikalfänger
	Superoxid-Dismutasen	Bildung von H_2O_2
	Glutathionperoxidase	Abbau von Peroxiden
	Katalase	Abbau von H_2O_2
Enzymatische Hilfsmechanismen	Konjugationsenzyme	Glutathion-S-Transferase
	Glutathionregenerierung	Glutathionreduktase

Die wichtigsten Quellen für Antioxidanzienlieferanten sind Nahrungsmittel, vor allem die zur Phenolfamilie gehörenden [15]. Nahrungsantioxidanzien wirken in unterschiedlichen Mechanismen und verschiedenen Kompartimenten als freie Radikalfänger:

- * Direkte Neutralisierung freier Radikale
- * Reduktion von Peroxidkonzentrationen
- * Reparatur oxidierter Membranen
- * Abfangen von Eisen zur verminderter ROS-Produktion
- * Neutralisation von ROS durch freie kurzkettige Fettsäuren und Cholesterolester [15].

Da die Balance zwischen oxidierender und reduzierender Kraft sehr fein ist [1], können Kupfer und Selen in vivo und in vitro schnell die Funktion von Prooxidanzien einnehmen [169]. Ähnliches gilt unter bestimmten Bedingungen für Vitamin A, C und E [134]. Freies Eisen wirkt fast ausschließlich als Prooxidanz [15].

1.4.1 Bisherige Studien zum Antioxidanzienstatus bei CED

Ein Mangel an antioxidativ wirksamen Spurenelementen und Vitaminen gefährdet die Abwehr von oxidativem Stress [168]. Verschiedene Studien berichteten über einen verminderten Antioxidanzienstatus hinsichtlich exogener Antioxidanzien bei inaktivem [26, 78] und aktivem MC [50, 51, 105] verglichen mit Kontrollen. Zusätzlich wurden erhöhte Konzentrationen freier Radikale durch neutrophile Granulozyten und Monozyten beobachtet [96]. Geerling et al. beschrieben einen reduzierten Antioxidanzienstatus von aktiven MC-Patienten in Relation zu Patienten in Remission und Gesunden [60]. Lih-Brody et al. berichteten von erhöhtem oxidativen Stress und

verminderter Abwehr durch Antioxidanzien bei CED [115]. Durak et al. suggerierten, dass das mukosale Gewebe bei CU nicht unter oxidativem Stress steht und die mukosale antioxidative Abwehr nicht beeinträchtigt ist [45]. Bhaskar et al. bestätigten diese Ergebnisse nicht [18].

VITAMINE Unter dem Begriff *Vitamin C* werden die L-[+]-Ascorbinsäure und deren Derivate zusammengefasst. Ascorbinsäure wirkt als klassisches, wasserlösliches Antioxidanz. Besondere Bedeutung hat die Ascorbinsäure bei der Eliminierung von Lipidperoxid-Radikalen in Kombination mit Vitamin E. Die Redoxintegrität der Zellen wird durch Vitamin C bestärkt und schützt vor ROS während einer Entzündung [184]. Vitamin C-Konzentrationen im Plasma sinken sehr schnell in Folge einer Infektion oder Stress [184].

In einigen Studien wurden geringe Serumkonzentrationen von Vitamin C bei CED im Vergleich zu Kontrollen dokumentiert [50, 60, 61, 105, 178, 181]. Buffinton und Doe hypothesierten, dass der geringe Anteil von reduziertem und Gesamtascorbat in nicht-entzündlichen mukosalen Biopsien von CED-Patienten ein Parameter in der Pathogenese der Fisteltransformation sein könnte [22]. In Anwesenheit von Eisen kann Vitamin C auch als Prooxidanz wirken. Während einer aktiven Erkrankung stieg der Anteil an freiem Eisen, so dass eine verminderte Vitamin C-Konzentration die Antwort auf eine erhöhte Krankheitsaktivität war [79]. Die Erkrankungsaktivität hat daher einen erheblichen Einfluss auf Vitamin C im Plasma bzw. Serum.

Der bekannteste Vertreter der Carotinoide ist das β -Carotin. Neben der Bedeutung als Pro-Vitamin A ist β -Carotin als Antioxidanz wirksam: β -Carotin kann den in der Haut durch UV-Licht entstandenen aktiven Singulett-Sauerstoff in seinen Grundzustand zurückkehren lassen. Das entstandene β -Carotin-Radikal wird durch Energieabgabe in Form von Wärme regeneriert.

Verminderte Serumkonzentrationen von β -Carotin [50] und α -Carotin [178] sowohl im inaktiven [61] als auch im aktiven Erkrankungsstadium [82] wurden bei MC beschrieben. Die niedrigsten β -Carotin-Spiegel wurden bei MC-Patienten im akuten Schub beobachtet [50, 61, 82]. Steatorrhoe als Ergebnis der Malabsorption von fettlöslichen Vitaminen kann zu einem suboptimalen β -Carotin-Status führen.

In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass die *Vitamin A*-Spiegel im Serum bei inaktivem und aktivem MC signifikant vermindert waren, verglichen mit gesunden Kontrollen [60, 79, 82, 105]. Der Zusammenhang zwischen Vitamin A im Plasma und der Erkrankungsaktivität bestätigte sich bei Patienten in Remission nicht [61, 82]. Die niedrigen Plasma-Konzentrationen des fettlöslichen Vitamins korrelierten aber mit der Erkrankungsaktivität bei CED in der Akutphase [50, 105]. Neben beeinträchtigten Vitamin A-Spiegeln war auch das Retinol-Bindungsprotein im akuten Schub vermindert, möglicherweise durch einen erhöhten Proteinkatabolismus [87]. Die Interpretation des Vitamin A-Mangels bleibt bei aktiver Erkrankung schwierig.

Alpha-Tocopherol ist als bedeutendste Verbindung mit Vitamin E-Aktivität ein wichtiger Biomarker für oxidativen Stress und Inflammation. Es repräsentiert das effektivste kettenbrechende fettlösliche Antioxidanz in der Zellmembran [2] mit der Funktion zum Schutz der Membranlipide, Lipoproteine und Depotfette vor dem Abbau durch Lipidperoxidation. *Gamma-Tocopherol* hat eine geringere antioxidative Kapazität als α -Tocopherol. Verminderte Vitamin E-Konzentrationen

wurden bei inaktiven [62] und aktiven [50, 60] MC-Patienten beschrieben.

SPURENELEMENTE *Selen* ist essenziell für die effiziente und effektive Funktion des Immunsystems [8]. Durch Selendefizite verlieren Lymphozyten die Eigenschaft zur Proliferation und die Leucotrien B_4 -Synthese, essenziell für die Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten, ist beeinträchtigt [8]. Selendefizite können zur verminderten Expression von Selenoproteinen, die für die mRNA-Stabilität und Proteintranslation verantwortlich sind, führen [35]. Die Bedeutung des Selen entsteht durch spezielle Selen-haltige Proteine bzw. Proteinuntereinheiten. Selen ist essenzieller Cofaktor der Glutathion-Peroxidase (GSHPx), die Peroxide und Lipidperoxide reduziert [137] und als Marker für Selenmangel fungiert [61]. Verminderte Selenspiegel können zur erhöhten Produktion von Peroxiden und Lipidperoxiden führen [137, 145].

Eine frühere Studie berichtete von unveränderten Selenkonzentrationen im Plasma bei MC-Patienten im Remissionsstadium sowie von verminderten Plasmaspiegeln im akuten Schub [168]. Ringstad et al. [148] und Geerling et al. [61] wiesen auf verminderte Selenkonzentrationen bei MC hin, die mit der Erkrankungsaktivität variierten. Drei Arbeitsgruppen konnten dies nicht bestätigen [51, 78, 171], wobei zwei der Studien bei Kindern mit CED durchgeführt wurden [78, 171]. Fernandez-Banares et al. berichteten von einer großen Streuung der Selenwerte [51] im Vergleich zu Kontrollen. Serfass und Ganther demonstrierten, dass Selendefizite die mikrobizide Aktivität der neutrophilen Granulozyten hemmen und gleichzeitig die GSHPx-Aktivität beeinträchtigen können [155]. Die Mangelernährung [61, 143] sowie die Einnahme von Corticosteroiden [78] können den Selenstatus und die Länge des funktionsfähigen Darmes [143] beeinträchtigen.

Beim Menschen sind mittlerweile mehr als 50 *Zink*-abhängige enzymatische Reaktionen bekannt. Zink wird auch als ‚site-specific-Antioxidans‘ bezeichnet, da es sich an spezifische Stellen eines Moleküls binden kann und dieses vor der Oxidation schützt.

Bei MC wurde häufig ein Zinkmangel im Plasma berichtet [14, 20, 61, 91, 131, 188]. Die Supplementation von 200 mg Zinksulfat pro Tag über sechs Wochen bzw. drei Monate beeinflusste die verminderten Zinkkonzentrationen bei MC positiv [20, 131]. Sturniolo et al. beobachteten keine Veränderungen der Zinkspiegel im Plasma unabhängig von der Erkrankungsaktivität [168]. Mukosale Zink-Konzentrationen von aktiven CU-Patienten waren signifikant vermindert verglichen mit Patienten in Remission und Kontrollen [168].

Kupfer ist Bestandteil des endogenen antioxidativen Systems. Dazu zählen u.a. Kupfer-Zink-Superoxid-Dismutase und Methallothionein. Eine verminderte Expression der Superoxid-Dismutase aufgrund eines Kupfer- bzw. Zinkdefizits beeinträchtigt die Abwehr der ROS und nimmt eine wichtige Funktion in der Pathogenese und Therapie mit Antioxidanzien ein [101]. Auch ohne direkte Kupferbeteiligung kann der Kupferstatus die Aktivität verschiedener Enzyme (GSHPx, Katalase, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase) beeinflussen. Verminderte Kupferspiegel beeinträchtigen die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität, die für die Regeneration von NADPH im oxidativen Stress nötig ist (Abbildung 1.1).

Die Kupferkonzentration im Plasma von CU-Patienten differierten nicht im Vergleich zu Gesunden [168]. Gut ernährte CU-Patienten wiesen sowohl im inaktiven als auch im aktiven Status

höhere Kupferspiegel auf [39, 168]. Veränderungen, die mit hämatologischen Parametern eines Rezidivs bzw. mit Akut-Phase-Proteinen korrelierten, unterstützten den Zusammenhang mit dem Entzündungsprozess bei CU [39]. MC-Patienten hatten signifikant höhere Serum-Kupfer-Spiegel als Gesunde [148]. Dies wurde auch für die Akutphase des MC beobachtet [62]. Das Ausmaß sowie die Lokalisation der Erkankung beeinflusste die Kupferspiegel nicht [148].

1.5 Malondialdehyd

Malondialdehyd (MDA) ist ein grober Indikator für die Lipidperoxidation. Reimund führte bei MC keine Unterschiede bezüglich zirkulierendem Plasma-MDA im Vergleich zu Kontrollen an [145]. Tüzün et al. beschrieben als Indikator der Lipidperoxidation verminderte MDA-Werte von MC in Remission verglichen mit dem Kontrollkollektiv [176]. Ursachen wurden aufgrund der geringen Fallzahl nicht hypothetisiert [176]. Inaktive CU-Patienten wiesen niedrigere MDA-Spiegel auf, die nicht signifikant waren [176]. Die oxidative Schädigung mit anschließender Lipidperoxidation reichte nicht aus, um die MDA-Spiegel bei aktivem MC im Plasma zu erhöhen [145]. Lediglich eine Arbeitsgruppe gab einen Trend der MDA-Erhöhung bei CU an [18]. Erhöhte MDA-Konzentrationen wurden in Colonbiopsien von CED-Patienten beschrieben [32].

1.6 Fettsäuren

Fettsäuren sind Bestandteile natürlicher Fette, die sich durch die Anzahl der C-Atome in kurzkettige, mittelkettige und langkettige Fettsäuren unterteilen. Die langkettigen Fettsäuren sind die hydrophoben „Schwänze“ der Phospho- und Glykolipide der Membranen. Am häufigsten kommen die Fettsäuren Palmitin- (C16:0), Stearin- (C18:0), Öl- (C18:1n-9), Linol- (linoleic acid, LA, C18:2n-6), α -Linolen- (alpha linolenic acid, ALA, C18:3n-3) und Arachidonsäure (arachidonic acid, AA, C20:4n-6) in den Phospho- und Glycolipiden der Membranen vor. Das Vorhandensein einer oder mehrerer Doppelbindungen führt zur Bezeichnung der einfach oder mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

Neben der Funktion als Membranlipide können ungesättigte Fettsäuren auch das intestinale Immunsystem modulieren. Bei bestehendem Mangel essenzieller Fettsäuren ist die AA in allen Phospholipiden der Membranen reduziert. Die Eicosanoidsynthese wird eingeschränkt und die zelluläre Abwehrfunktion unterdrückt [28]. Möglicherweise kann der verfügbare Anteil mehrfach ungesättigter Fettsäuren (MUFS) als kritischer Parameter der Immunfunktion fungieren, da exzessiv geringe Konzentrationen der Fettsäuren zu einer beeinträchtigten Immunabwehr führen. MUFS haben auch einen direkten Effekt auf immunkompetente Zellen ohne eicosanoide Wirkung [130].

Olivenöl ist reich an Ölsäure [59], die die inflammatorischen Effekte, die mittels Eicosanoide entstehen, unterdrückt [67]. Untersuchungen zeigten, dass hohe Plasmakonzentrationen von n-9- oder n-3-FS die Lymphozytenproliferation und die zellvermittelte Immunität verringern. Des Wei-

teren reduziert Ölsäure die TNF- α -Produktion und die damit verbundene Entzündungsreaktion.

LA sowie ALA sind essenzielle Fettsäuren, die die Ausgangssubstanzen der n-6- sowie n-3-Fettsäurensynthese darstellen. Wird Linolsäure in ausreichender Menge mit der Nahrung zugeführt, kann durch Kettenverlängerung die semi-essenzielle AA synthetisiert werden.

Arachidonsäure ist neben Dihomo- γ -Linolensäure (C20:3n-6) und Eicosapentaensäure (eicosapentaen acid, EPA, C20:5n-3) die Ausgangsverbindung für die Eicosanoidbildung [64]. Die 5-Lipoxygenase katalysiert die Bildung von 5-Hydroperoxyeicosatetraenoat aus AA, welches in Leucotrien A_4 und B_4 übergeht. Aus Leucotrien B_4 kann über mehrere Stufen Leucotrien E_4 gebildet werden. Die physiologische Wirkung der Leucotriene ist weitgehend ungeklärt. Bekannt ist, dass diese maßgeblich an der Entstehung entzündlicher Reaktionen beteiligt sind.

Durch die Wirkung der Cyclooxygenase entsteht aus AA Prostaglandin H_2 , welches Muttersubstanz der Prostaglandine E_2 , F_2 , I_2 und Thromboxan A_2 ist. Prostaglandin E_2 hemmt die zellvermittelte Immunität durch reduzierte Produktion und Abgabe von Cytokinen (Interleukin (IL)-1, IL-2, TNF- α) [130]. Bei erhöhten Konzentrationen der EPA und Docosahexaensäure (docosahexaen acid, DHA) werden diese und weniger die AA zur Bildung der Eicosanoide herangezogen. Diese n-3-Fettsäuren hemmen kompetitiv die Transformierung der Prostaglandine und Leucotriene, die aus AA gebildet werden [62]. An Stelle dieser werden Prostaglandine und Leucotriene mit geringerer entzündlicher Aktivität gebildet. Fischöl, reich an n-3-Fettsäuren, reduziert daher die Produktion des pro-inflammatorischen Leucotrien E_2 und Thromboxan A_2 . Des Weiteren hemmt es die Sekretion von TNF- α und IL-1. Die unterschiedliche Wirkungsweise der Eicosanoide, synthetisiert aus EPA, erklärt die antiinflammatorischen Effekte der n-3-Fettsäuren bei zahlreichen Erkrankungen [64].

1.6.1 Bisherige Studien zum Fettsäurenstatus bei CED

Verschiedene Studien berichteten von einem veränderten Fettsäurenprofil bei MC [47, 48, 59, 104, 163], z.T. verursacht durch einen gestörten enterohepatischen Kreislauf. Bei MC-Patienten in Remission konnte gezeigt werden, dass das veränderte Fettsäurenmuster eher ein Ergebnis eines veränderten Fettsäurenmetabolismus als eine Malabsorption essenzieller Fettsäuren war [60].

Die Plasma-Fettsäurenspiegel der MC-Patienten in Remission sowie in der Akutphase unterschieden sich signifikant von gesunden Kontrollen [60]. Patienten in Remission wiesen eine signifikant verminderte Gesamtsumme der Fettsäuren auf. AA- und ALA-Konzentrationen waren bei diesen Patienten [60] sowie bei Kindern im Alter 5.5-18 Jahren [163] signifikant vermindert, der Index Summe gesättigter Fettsäuren/Summe ungesättigter Fettsäuren war signifikant erhöht [60]. Geerling et al. beobachteten im Vergleich zu Kontrollen signifikant erhöhte Docosapentaensäurespiegel (docosapentaen acid, DPA) und verminderte DHA-Spiegel bei MC [59]. Der Fettsäurenstatus bei aktiven Patienten, die die Remission erreicht hatten, war mit dem Fettsäurenstatus inaktiver MC-Patienten vergleichbar. Unterschiede zur gesunden Kontrollgruppe waren dennoch präsent [60].

Die Summe der gesättigten Fettsäuren (GFS) war bei aktivem MC signifikant erhöht [60]. LA und die Summe der MUFS waren bei aktiven MC-Patienten signifikant vermindert im Vergleich zum Remissionstadium und zur Kontrollgruppe [60]. Esteve-Comas et al. beobachteten bei MC-Patienten im akuten Schub verminderte Konzentrationen für C20:3n-6 im Vergleich zu Kontrollen [48].

Vitamin E und β -Carotin korrelierten stark mit der Summe der MUFS. Ein inverser Zusammenhang wurde zwischen β -Carotin, Vitamin E und der Summe einfach ungesättigter Fettsäuren (EUFS) beobachtet. Es besteht die Hypothese, dass CED-Patienten ein Defizit an essenziellen Fettsäuren mit einer erhöhten Produktion an EUFS kompensieren [61]. D.h., dass essenzielle Fettsäuren durch EUFS getauscht werden, um die Membranfluidität zu erhalten. Weitere inverse Zusammenhänge existierten zwischen Alter, C-reaktivem Protein (CRP) und der Summe an MUFS und GFS. Diese Daten zeigen, dass die verminderten Konzentrationen von endogenen Antioxidanzien den oxidativen Schaden erhöhen und möglicherweise die Entzündung begünstigen [60].

Der erste Beweis für die Notwendigkeit von n-3-Fettsäuren stammt aus epidemiologischen Studien: Die untersuchten Eskimos wiesen eine sehr geringe Inzidenz für CED auf. Bekannt ist, dass die Art des Fettes sowie dessen Konzentration in der Nahrung die Funktion der Lymphozyten beeinflussen. Auch die Fettsäurezusammensetzung der Lymphozyten und anderen Immunzellen hängt stark von den Nahrungsfettsäuren ab und beeinflusst die Immunregulation. Weiterhin wurde gezeigt, dass aufgrund des erhöhten Bedarfs an essenziellen Fettsäuren der Fettsäurenmetabolismus bei einer akuten Entzündung verändert ist [27].

Bei CED-Patienten wird eine geringe Zufuhr von n-6-Fettsäuren propagiert, da diese die Produktion der pro-inflammatorischen Eicosanoide und Cytokine fördern. Die Aufnahme von n-3-Fettsäuren beeinflusste positiv die Lipidperoxidation, aufgrund der antiinflammatorischen Effekte durch die Wirkung als freie Radikalfänger. Des Weiteren hemmen n-3-Fettsäuren Leucotrien B_4 und wirken immunmodulatorisch [27, 157]. Neben der verminderten Produktion pro-inflammatorisch agierender Cytokine senken n-3-Supplemente die Chemotaxis der Monozyten und neutrophile Granulozyten [27].

Die Supplementation mit n-3-Fettsäuren verbesserte bei MC-Patienten den Antioxidanzienstatus im Serum, reduzierte den Anteil an AA und erhöhte den Anteil an EPA und DHA im Plasma und Fettgewebe. Die Supplementation führte weiterhin zur verminderten Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten sowie Monozyten und schränkte die Produktion von pro-inflammatorischen Cytokinen ein [27]. Trotzdem CED multifaktorielle Erkrankungen sind, zeigten Belluzzi et al. einen anti-inflammatorischen Effekt von hochdosierten n-3-Fettsäuren bei CU [13]. Dennoch existieren zahlreiche Studien mit kontroversen Resultaten bei CED-Patienten im aktiven und inaktiven Erkrankungsstadium mit n-3-Fettsäuren-Supplementen [73, 118, 119, 124]. Hawthorne et al. veröffentlichten die erste Placebo-kontrollierte doppelt-blinde Studie mit 96 CU-Patienten in unterschiedlichen Stadien der Erkrankung. Durch die Gabe von EPA konnte die Corticosteroideinnahme im akuten Schub signifikant vermindert werden. Bei >50% der Patienten sank die Produktion von Leukotrien B_4 der neutrophilen Granulozyten [73]. Durch die Supplementation von Ethylester der n-

3-Fettsäuren bei MC-Patienten nach einem Rezidiv konnte die Dosis von Prednisolon vermindert werden [118].