

2 Zielstellung

Den Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit bildet die Charakterisierung von Veränderungen in der Expression von Enzymen, die sowohl in der Pathophysiologie kolorektaler Karzinome als auch von CED eine wichtige Rolle spielen. Nachfolgend sollen relevante Tiermodelle hinsichtlich ihrer Vergleichbarkeit mit den humanen Krankheitsbildern evaluiert und die präventive und therapeutische Beeinflussbarkeit der Erkrankungen durch RS III in diesen Modellen überprüft werden.

Ziel des ersten Teils dieser Arbeit ist es, anhand von Operations- und Biopsiematerial von Patienten mit sporadischen und hereditären (FAP) kolorektalen Tumoren sowie CED das Expressionsmuster tumor- und entzündungsassoziierter, prooxidativ und antioxidativ wirksamer, z. T. therapierelevanter Enzyme in histomorphologisch intakter und in Abhängigkeit vom Differenzierungs- bzw. Entzündungsgrad in erkrankter Dickdarmschleimhaut immunhistochemisch zu charakterisieren.

Um auf eine Vielzahl von Parametern zurückgreifen zu können, wurde diese Arbeit im Rahmen einer komplexen Studie angelegt. Ein Teil der Parameter wird von M. Marinović in ihrer Promotionsarbeit analysiert.

Die Grundlage der Untersuchungen bildet die histomorphologische Charakterisierung der Gewebeproben zur Festlegung ihres Differenzierungs- bzw. Entzündungsgrades. Zur Einschätzung des Entzündungsgrades von Dickdarmproben von CED-Patienten soll ein Score entwickelt und eingesetzt werden, der sich ausschließlich auf histomorphologische Parameter stützt.

Im folgenden sollen immunhistochemische Methoden zum Nachweis von Veränderungen im Verteilungsmuster von Enzymen und Proteinen, die aus veränderten Redox-Bedingungen bei der kolorektalen Karzinogenese und CED resultieren, etabliert werden. Dies umfasst den Nachweis der COX-, NOS-, 15-LOX-Isoenzyme, der GI-GPx und des Hitzeschockproteins 25 (HSP25). Parallel zu dieser Arbeit wird M. Marinović in analoger Weise die PKC-Isoenzyme, das NF- κ B-System und β -Catenin analysieren. Diese Methode wurde gewählt, um die Enzymlokalisierung in den einzelnen Darmschichten auf zellulärer und subzellulärer Ebene zu differenzieren. Außerdem finden Veränderungen in der Gewebezusammensetzung bei pathologischen Prozessen Berücksichtigung.

Die immunhistochemische Analyse der Parameter soll sowohl deskriptiv als auch semiquantitativ vorgenommen werden. Zur semiquantitativen Bewertung ist ein Score zu entwickeln, in dem der komplexe Aufbau der Darmwand - insbesondere funktionelle Zusammenhänge im Achsen-Funktions-Verlauf der Dickdarmkrypte - und die zelluläre Lokalisation und intrazelluläre Verteilung der Immunreaktivität erfasst werden.

Die Ergebnisse sollen Anhaltspunkte für die Bedeutung der untersuchten Parameter in den verschiedenen pathologischen Stadien geben. Es soll überprüft werden, ob definierte Unterschiede oder auch Gemeinsamkeiten in der Enzymexpression zwischen intaktem, neoplastischem und entzündetem Dickdarmgewebe existieren. Durch die simultane Darstellung der Parameter an seriellen Schnitten werden Hinweise für eine spezifische Funktion dieser Enzyme *in situ* erwartet.

Im zweiten Teil der Arbeit soll anhand von tierexperimentellen Studien am 1,2-DMH-induzierten kolorektalen Tumormodell und am TNBS-induzierten Kolutismodell der Ratte geprüft werden, in wieweit sich an ihnen Charakteristika morphologisch intakten Darmgewebes und die prinzipiellen pathologischen Veränderungen, die sich aus den Untersuchungen an den humanen Proben ableiten, verifizieren lassen und ob die Modelle zur Einschätzung von Ernährungs- und Therapiestrategien geeignet sind.

Unter diesem Aspekt sollen im DMH-Modell Prozesse der Entdifferenzierung und im TNBS-Modell unterschiedliche Stadien der Entzündung und Regeneration histologisch und immunhistochemisch analysiert werden. Für die Auswertung des TNBS-Modells ist ein entsprechender Score zur Erfassung der Schwere der Entzündung zu entwickeln.

Obwohl positive Butyrat-Effekte an Zellkulturen verschiedener Tumorzelllinien und *in vitro* an Biopsieproben nachgewiesen wurden, ist es notwendig, vor der Empfehlung des Einsatzes von RS III-Präparaten für Risikopersonen im Bereich der Humanmedizin, die Effekte durch experimentelle *in vivo* Studien zu belegen.

Anhand der Tiermodelle soll überprüft werden, in wieweit mit einem gut fermentierbaren butyrogenen RS III-Produkt ein präventiver Effekt bei der kolorektalen Tumorgenese und ein protektiver bei der Kolutis *in vivo* zu erreichen ist. Die Effekte sind an Hand klinischer Daten, makroskopischer, histologischer und immunhistochemischer Parameter zu erfassen.

Lässt sich ein protektiver Effekt für RS III im TNBS-Modell belegen, sollen erste orientierende Untersuchungen an Patienten mit CU vorgenommen werden. Diesen Arbeiten liegt die Zielstellung zu Grunde, durch eine kontinuierliche RS III-Zufuhr die Remissionszeiten bei CU-Patienten zu verlängern, die Resorptionsrate für Butyrat im Dickdarm zu erhöhen, ein schnelleres Abklingen von entzündlichen Reaktionen zu erreichen und das kolorektale Krebsrisiko zu verringern.