

Seung-Taek Ji
Dr. sc. hum.

Untersuchungen zur Klärung der Mechanismen bei antigenotoxischen und antikanzerogenen Wirkungen durch Milchsäurebakterien : Charakterisierung von bakteriellen Zellfraktionen für die Entgiftung von lebensmittelrelevanten Kanzerogenen

Geboren am 02. 04. 1964 in Seoul (Korea)

Reifeprüfung am 1983 in Seoul

Studiengang der Fachrichtung "Animal Products Science" von 1983 bis 1992

Vordiplom am an der Universität Kon-Kuk

Diplom am 1992 an der Universität Kon-Kuk

Promotionsfach : Physiologie

Doktomutter : Frau Prof. Dr. rer. nat. habil. Beatrice L. Pool-Zobel

Während des letzten Jahrzehnts sind zahlreiche Übersichten publiziert worden, die zeigen, daß bestimmte Milchsäurebakterien eine signifikante Rolle bei der Hemmung der experimentellen Kanzerogenese spielen können. Die spezifischen Mechanismen dieser Wirkungen sind weitgehend unbekannt. Diskutierte und z. T. untersuchte Mechanismen sind, daß die Bakterien oder ihre Metabolite zu einem direkten Abfangen der aktiven Kanzerogene führen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, potentielle antigenotoxische / antikanzerogene Wirkungen von Milchsäurebakterien und Mechanismen protektiver Wirkungen durch Milchsäurebakterien in den Kolonzellen der Ratte *in vitro* nachzuweisen. Um dieses Ziel zu erreichen, wurde für die Bestimmung der antigenotoxischen Wirkungen von Milchsäurebakterien eine neue *in vitro* Einzelzell-Mikrogelelektrophorese (MGE, "Comet"-Assay) mit 1 stündiger Vorinkubation von Milchsäurebakterien entwickelt. Im Comet-Assay wurde der Einfluß von Milchsäurebakterien auf die genotoxische Wirkung von N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG), Quecksilberchlorid (HgCl_2) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) untersucht. Aus der vorliegenden Arbeit wurden die folgenden Ergebnisse zusammengefaßt :

- 1) Nur beim in frischem MRS-Medium resuspendierten Pellet von *L. acidophilus* wurde eine signifikante inaktivierende Wirkung gegenüber MNNG ermittelt, jedoch nicht gegenüber HgCl_2
- 2) Beim protektiven Effekt von *L. acidophilus* gegenüber MNNG ergab sich eine deutliche dosisabhängige Wirkung der eingesetzten Pellet-Menge sowie eine auffällige Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur, der Inkubationszeit und dem Inkubations-pH-Wert.

3) Das *L. acidophilus*-Pellet, das bei 100°C für 20 Min. erhitzt oder für 10 Min. mit einer Ultraschallsonde behandelt wurde, hatte keinen antigenotoxischen Effekt gegenüber MNNG.

4) In der vorliegenden Studie wurden 14 Milchsäurebakterienstämme inklusive *P. denitrificans* (DSM 65) als Negativkontrolle *in vitro* auf ihre antigenotoxische Wirkung gegenüber MNNG untersucht. Während bei *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* 191R und *St. thermophilus* CH3 ein protektiver Effekt beobachtet wurde, konnte bei *L. confusus* (DSM 20196), *St. thermophilus* (NCIMB 50083), *L. bulgaricus* A, B, C, *St. thermophilus* A, B, C, *B. breve*, *B. longum* und der Negativkontrolle *P. denitrificans* (DSM 65) keine hemmende Wirkung von DNA-Schäden auf die Kolonzellen der Ratte nachgewiesen werden.

5) Die aus der Zellwand von *L. acidophilus* isolierten Peptidoglycane konnten die genotoxische Wirkung von MNNG nicht inaktivieren.

6) Bei einem Abbauprodukt von Proteinen, dem Cystein wurde eine signifikante inaktivierende Wirkung gegenüber MNNG festgestellt, hingegen zeigte das Bakteriocin Nisin als Metabolit von *Lactococcus lactis* sowie Laktat (L), ein Metabolit von *L. acidophilus* keinen Effekt.

7) Die mit DMSO oder mit Methanol gelösten Acetonextrakte aus einer *L. acidophilus*-Kultur zeigten keine protektive Wirkung gegenüber MNNG induzierten DNA-Schäden.

8) Der *L. acidophilus* Metabolit Laktat (L), die in fermentierten Milchprodukten vorkommenden Substanzen konjugierte Linolsäure und Palmitinsäure sowie die mit DMSO gelösten Acetonextrakte aus der Kultur von *L. acidophilus* hatten keinen reduzierenden Effekt auf H₂O₂ induzierte DNA-Schäden.

Die vorliegenden Ergebnisse weisen darauf hin, daß mögliche Mechanismen der protektiven Wirkungen von Milchsäurebakterien im Darm auf die Produktion und Sezernierung von Metaboliten von *L. acidophilus* wie Cystein und kurzlebigen Metaboliten zurückgeführt werden könnten. Diese können wahrscheinlich Karzinogene im Darmlumen inaktivieren, bevor diese Kolonzellen schädigen können.

Die neu entwickelte Technik der MGE ist schnell, ökonomisch und ermöglicht Untersuchungen an primären Zellen des Tumorzielorgans durchzuführen. Zusammenfassend zeigen diese Arbeiten, daß die MGE neben den Untersuchungen zur Risikobewertung von

toxischen Lebensmittelinhaltsstoffen auch für Studien zum antigenotoxischen Potential von Lebensmittelinhaltsstoffen eingesetzt werden kann.