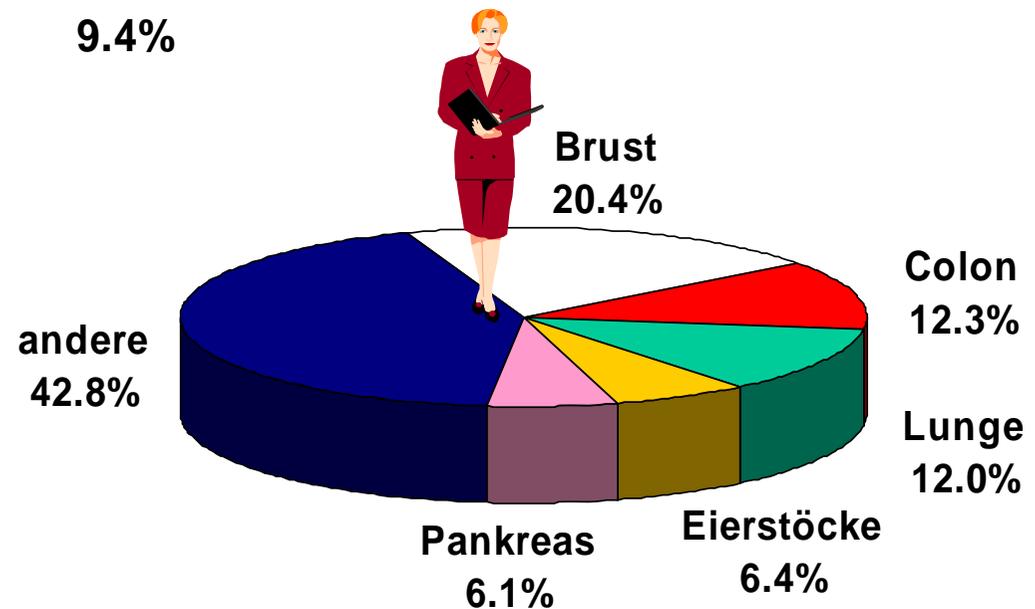
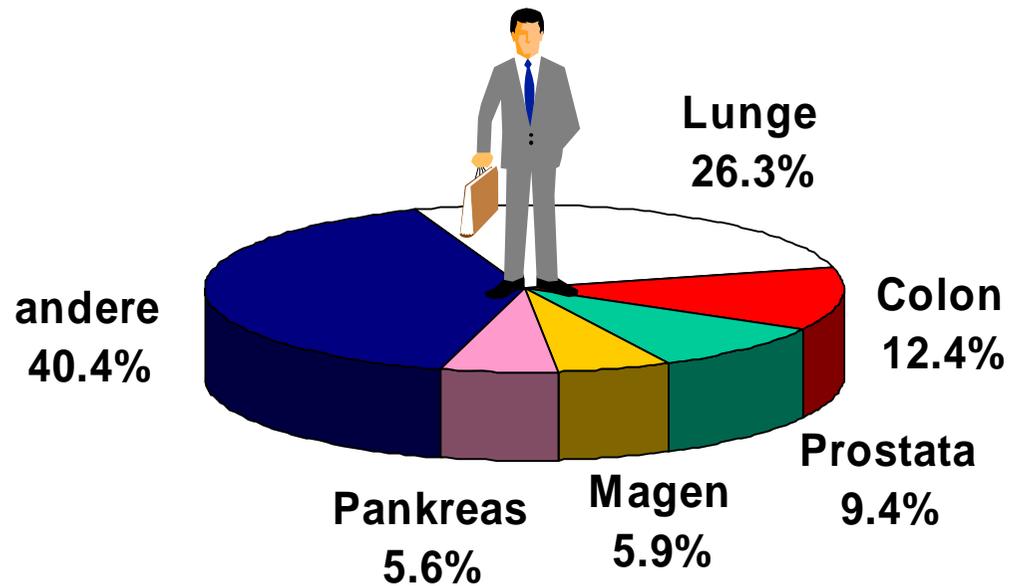


Krebs-Chemoprävention durch Naturstoffe



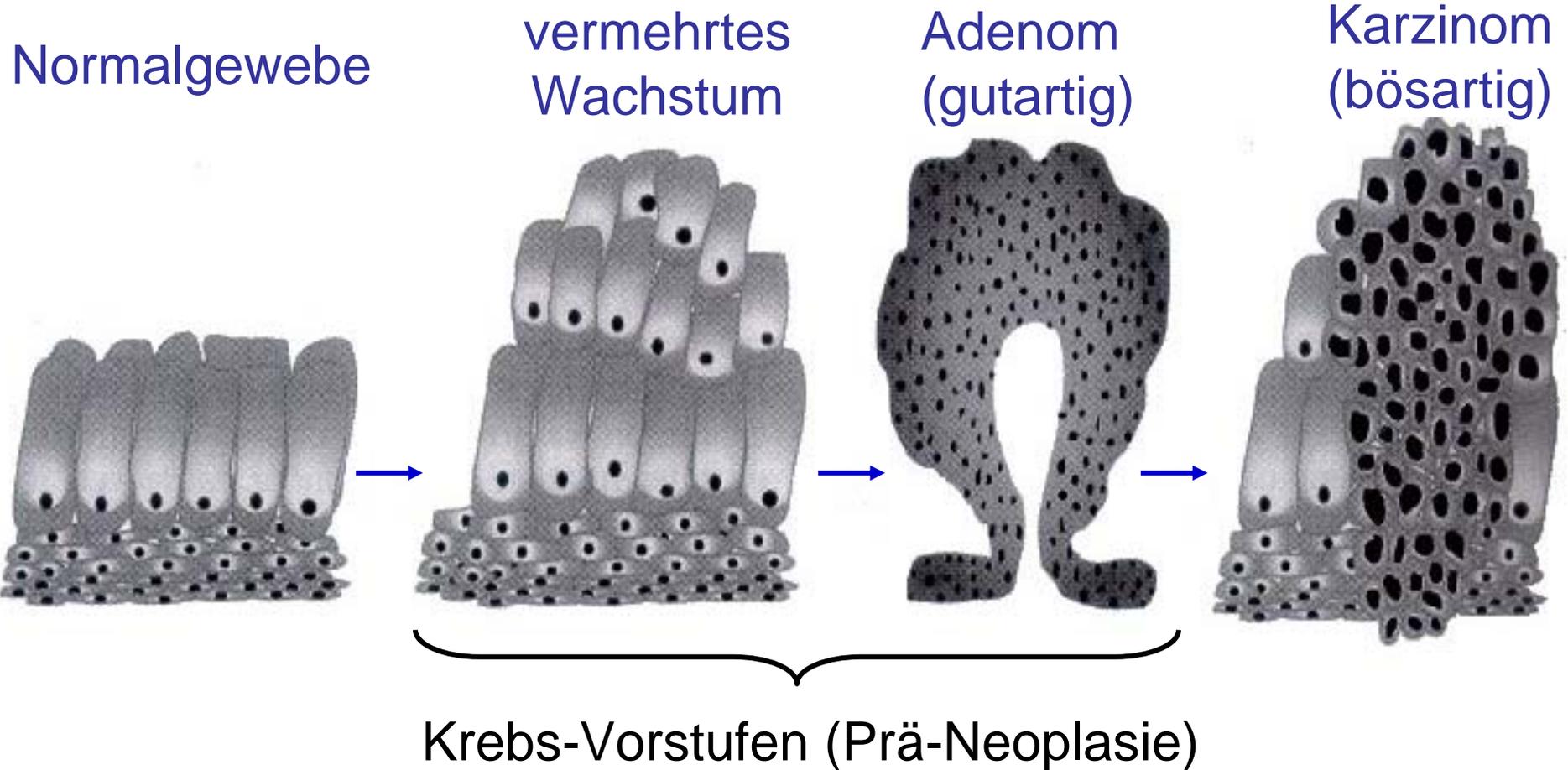
Clarissa Gerhäuser
Toxikologie und Krebsrisikofaktoren (C010)

Krebsbedingte Todesursachen in Deutschland 2002



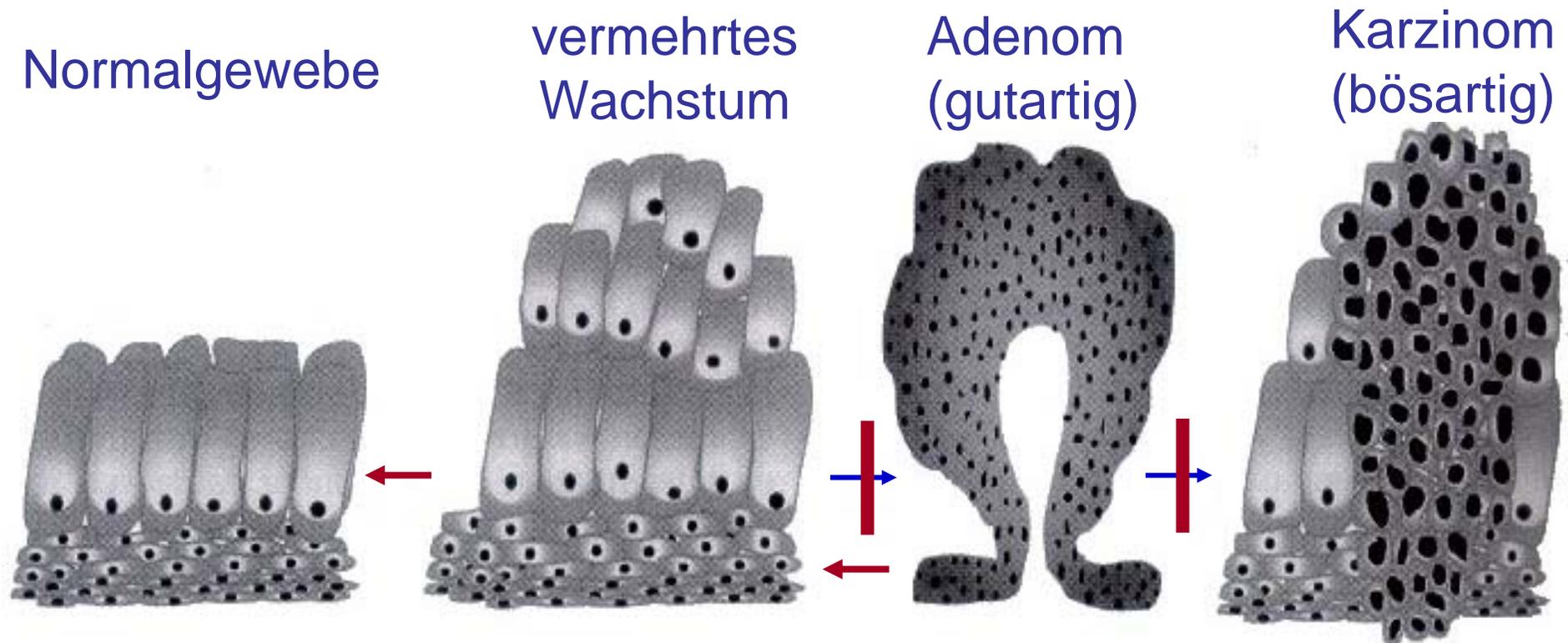
Becker, Wahrendorf, Krebsatlas

Krebsentstehung (Karzinogenese)



10 – 20 Jahre

Chemoprävention (≠ Chemotherapie)



Anwendung von **Arzneimitteln**, **Ernährungsfaktoren** oder **Naturstoffen** (z.B. aus Heilpflanzen), um die Krebsentstehung in normalem Gewebe oder in Krebsvorstufen zu **verlangsamen**, zu **hemmen** oder **rückgängig** zu machen.



5 am Tag

AG Chemoprävention: Ziele

- **Identifizierung** neuer effektiver Krebs-chemopräventiver Verbindungen
- Aufklärung molekularer **Wirkmechanismen**
- Nachweis präventiver **Wirksamkeit** im Tiermodell
- Modulation of **Biomarkern** in humanen Interventionsstudien

Laufende Projekte

- ➔ **BMBF Nutrition Net (2002 – 2009):**
Untersuchung zum **Darmkrebs**-präventiven Potential von **Apfelsaft**



- ➔ **BMBF BroCan (2006 - 2009):** Selen- und Selen-angereicherter **Brokkoli** als funktionelles Lebensmittel für die **Prostatakrebs**-Prävention



- ➔ **Dt. Brauerbund (1999 – 2009):** Prävention von **hormon-abhängigen Krebsarten** durch **Hopfen- und Bier-Inhaltsstoffe**



An apple a day keeps the doctor away?

Hinweise aus epidemiologischen Studien

Regelmäßiger Apfelkonsum verringert das **Lungenkrebsrisiko:**

- USA: Nurses Health Study (77.000 women) (Feskanich *et al.*, 2000)
- Finnish study (10.000 men) (Knekt *et al.*, 2002)
- Dutch: Zutphen Elderly Study (728 men) (Arts *et al.*, 2001)
- Hawaii: Case-control study (528 cases, 528 controls) (Le Marchand *et al.*, 2000)

Verringertes Risikos für **kolorektale Adenome:**

- 20% Reduktion in der Nurses Health Study (34.500 women) (Michels *et al.*, 2006)

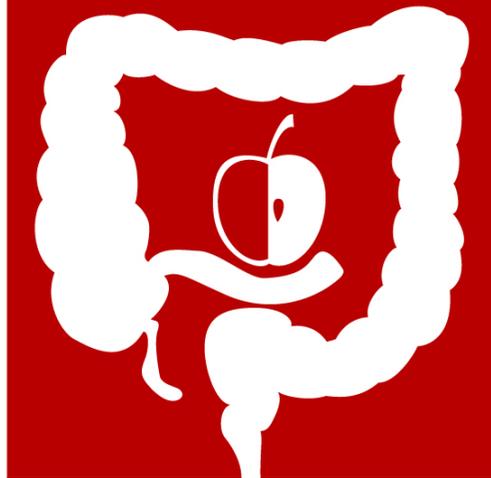
Fall-Kontroll Studien:

- Konsistente **inverse Assoziation** zwischen der Aufnahme von **einem oder mehr Äpfeln/Tag** und dem Risiko für **Kolorektalkrebs**
 - Uruguay (Deneo-Pellegrini *et al.*, 1996)
 - Italy (Gallus *et al.*, 2005)

Nutrition Net (BMBF Netzwerkprojekt)

NUTRITION NET

**ERNÄHRUNG UND
DARMGESUNDHEIT**



seit 2002

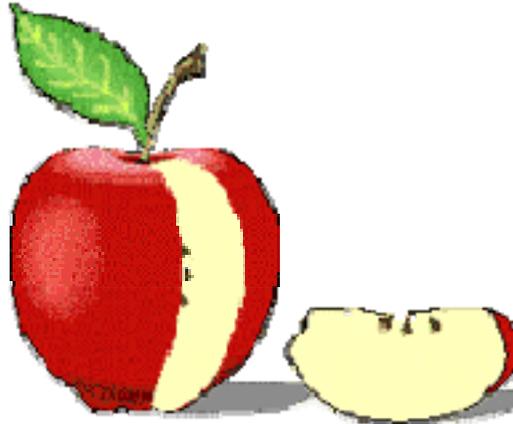


Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Rolle von Nahrungsbestandteilen
in der Genese von Darmerkrankungen
und Möglichkeiten der Prävention
durch die Ernährung

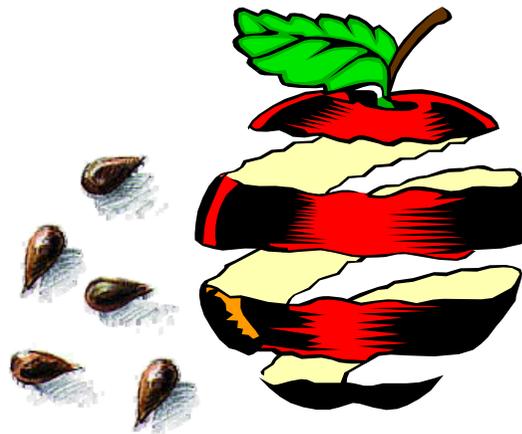
Ausgangsmaterial: Apfelsaft-Extrakte

AS02



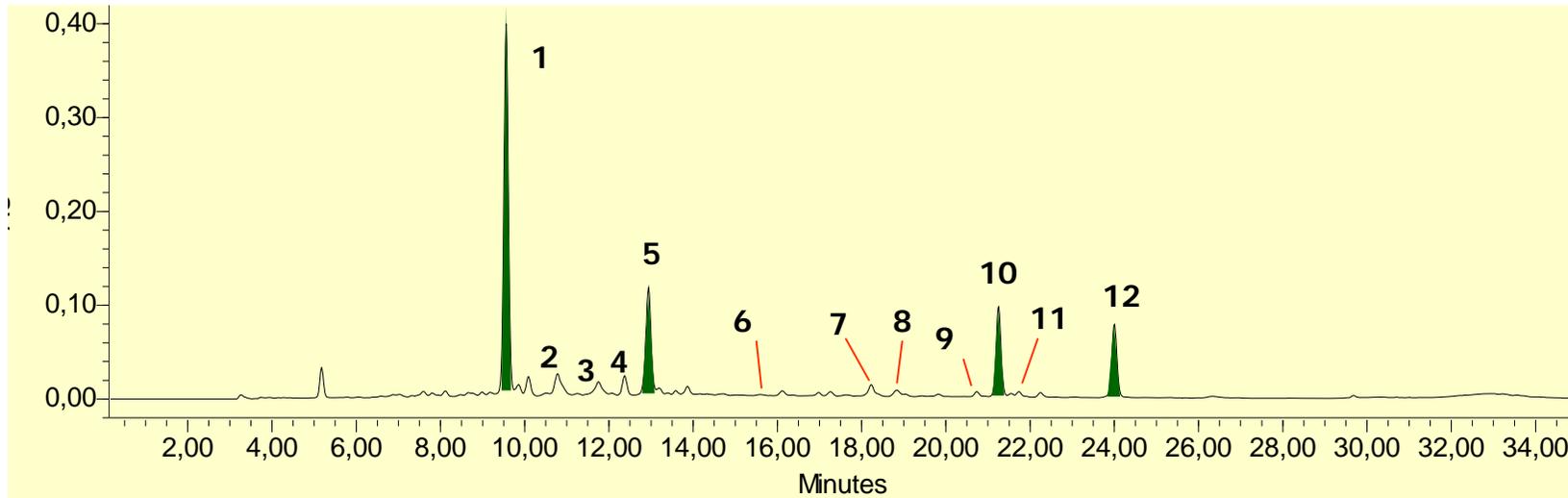
aus Apfelsaft

AS03B



**aus Trester-
Extraktionssaft**
Enzymbehandlung
setzt gebundene
Bestandteile frei

HPLC Analytik des AS02 Extraktes



Phenolsäuren

1: Chlorogensäure

3: Kaffeesäure

5: *p*-Cumaroylchinasäure

6: *p*-Cumarsäure

Catechine und Procyanidine

2: Procyanidin B2

4: Epicatechin

Dihydrochalkone

10: Phloretin-2'-xyloglukosid

12: Phloridzin

Flavonoide (Quercetin-Glykoside)

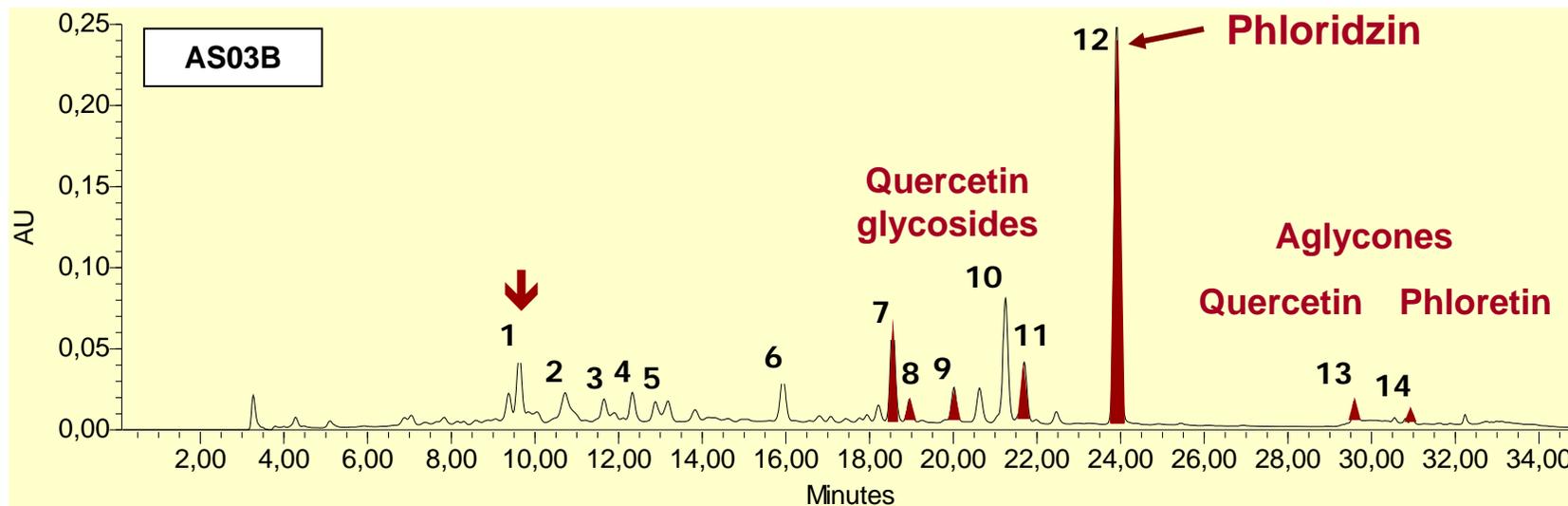
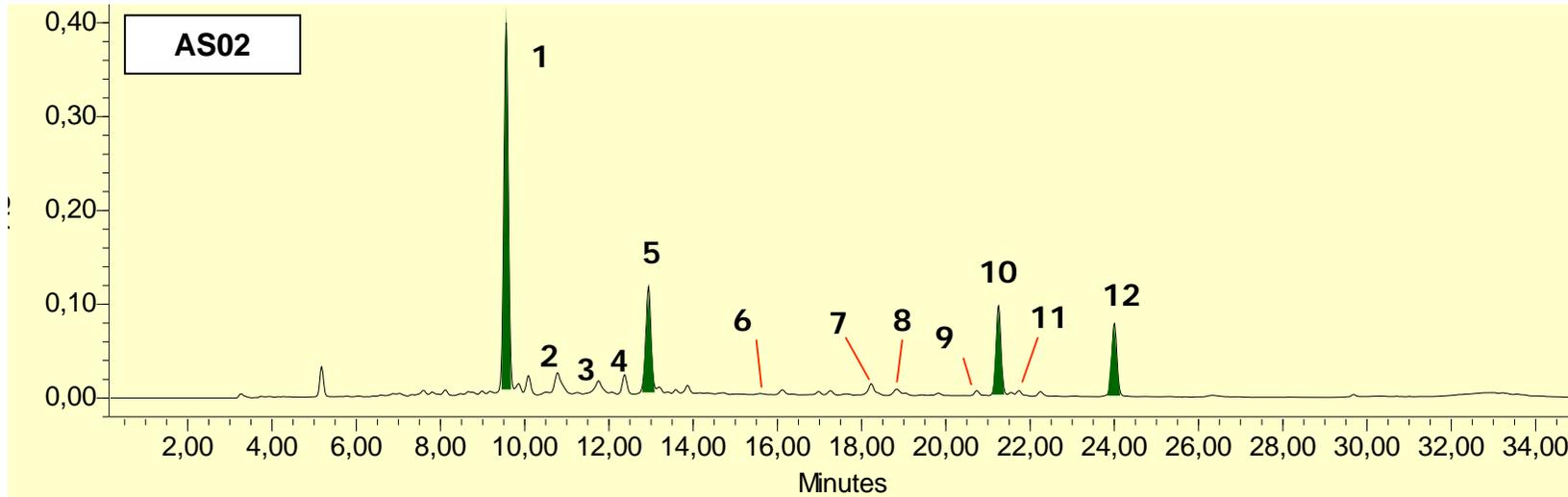
7: Quercetin-3-galaktosid

8: Quercetin-3-glukosid

9: Quercetin-3-xylosid

11: Quercetin-3-rhamnosid

Vergleich AS02 und AS03B



⇒ Welche Inhaltsstoffe wirken krebspräventiv?

„Aktivitäts-geleitete Fraktionierung“

- Aufklärung der Zusammensetzung
- Identifizierung des aktiven Prinzips
- Isolierung von Reinsubstanzen zur Testung
- Möglichkeit zur Standardisierung

⇒ Welche Aktivitäten sind interessant?

Krebsentstehung

Chemoprävention

Initiation

reaktive Moleküle
Sauerstoffradikale



DNA-Schäden, Mutationen

wiederholter Kontakt mit
Tumor-Promotoren

- Entzündungs-
botenstoffe
- Hormone
- Alkohol
- Schadstoffe/
Chemikalien
- ...



Promotion

unkontrolliertes
Zellwachstum



Progression

Karzinom

Metastasenbildung



Anregung von Entgiftungsprozessen
Antioxidative Mechanismen
Reparatur

Antioxidative Mechanismen
Entzündungshemmung
Anti-hormonelle Effekte

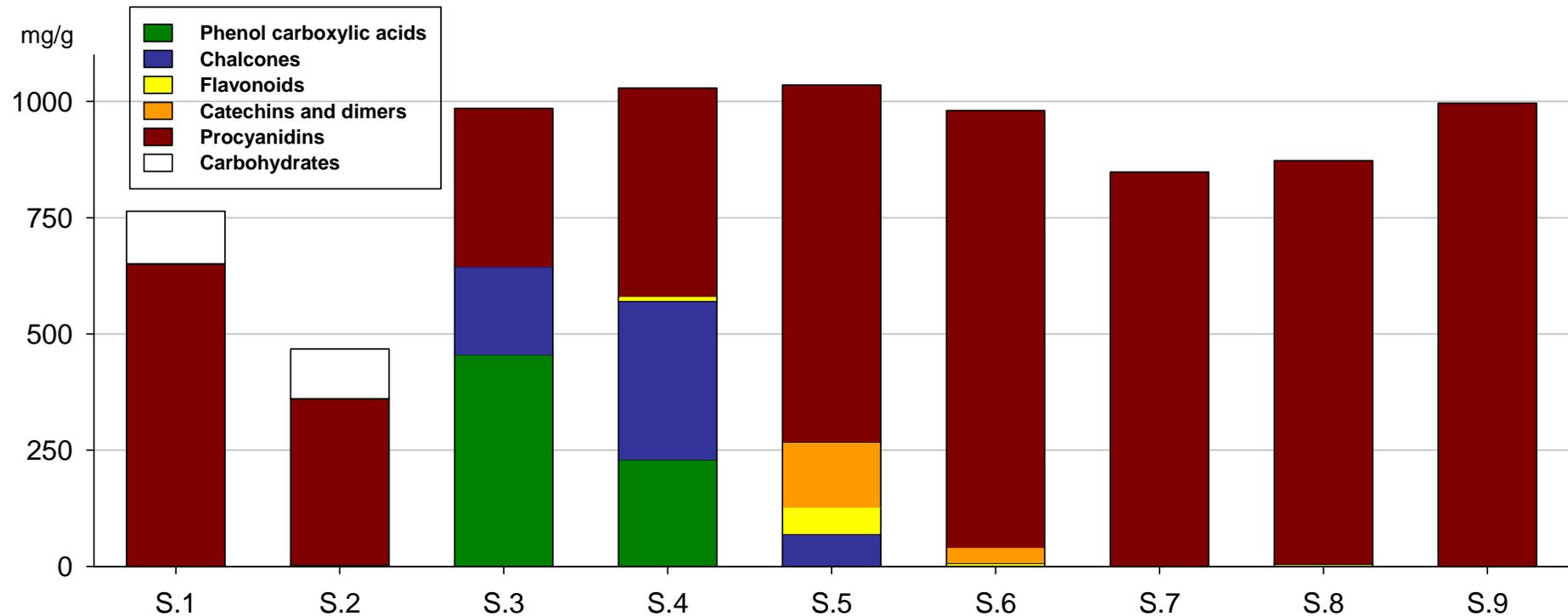
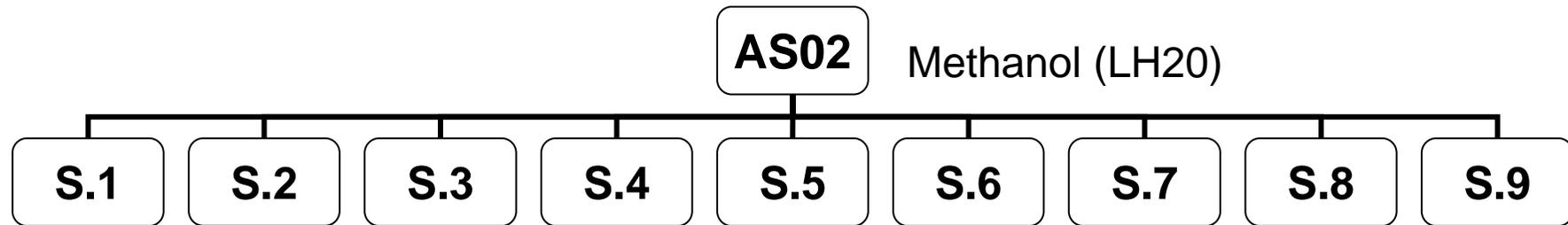
Wachstumshemmung
Zelldifferenzierung
Apoptose (programmierter Zelltod)

Therapie

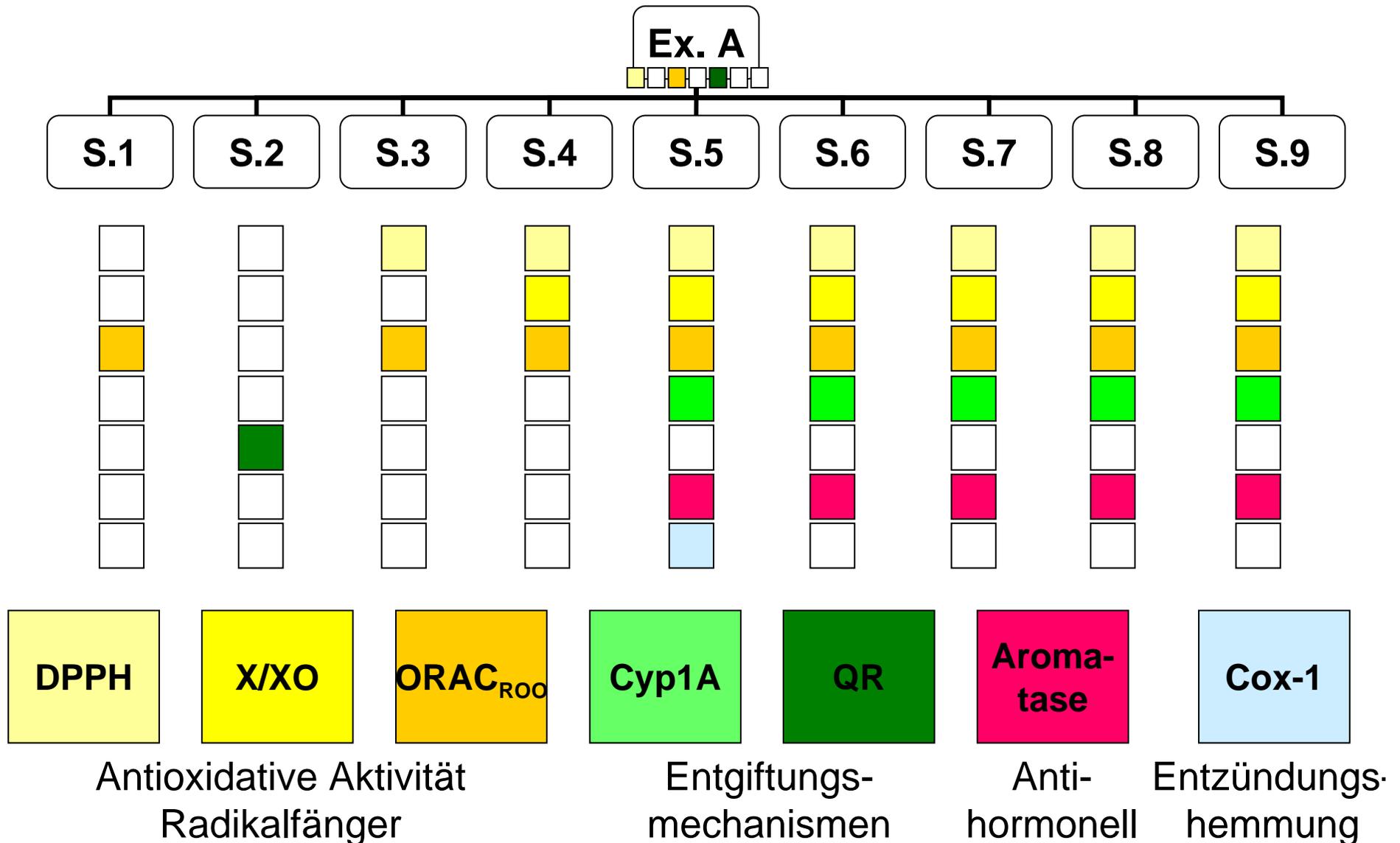
Operative Entfernung
Bestrahlung
Chemotherapie

nach Fearon & Vogelstein, Cell 1990

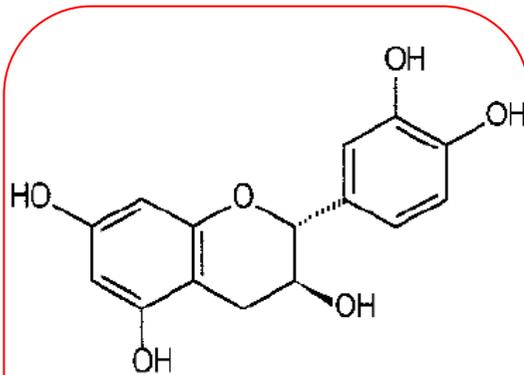
Fraktionierung von AS02



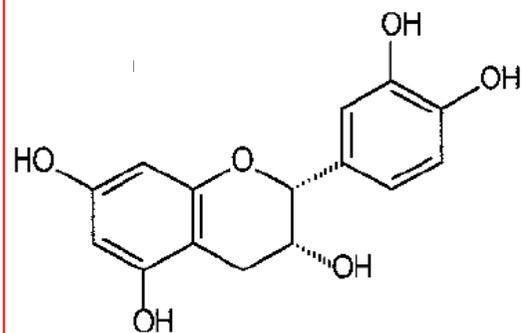
Ergebnisse der Fraktionierung



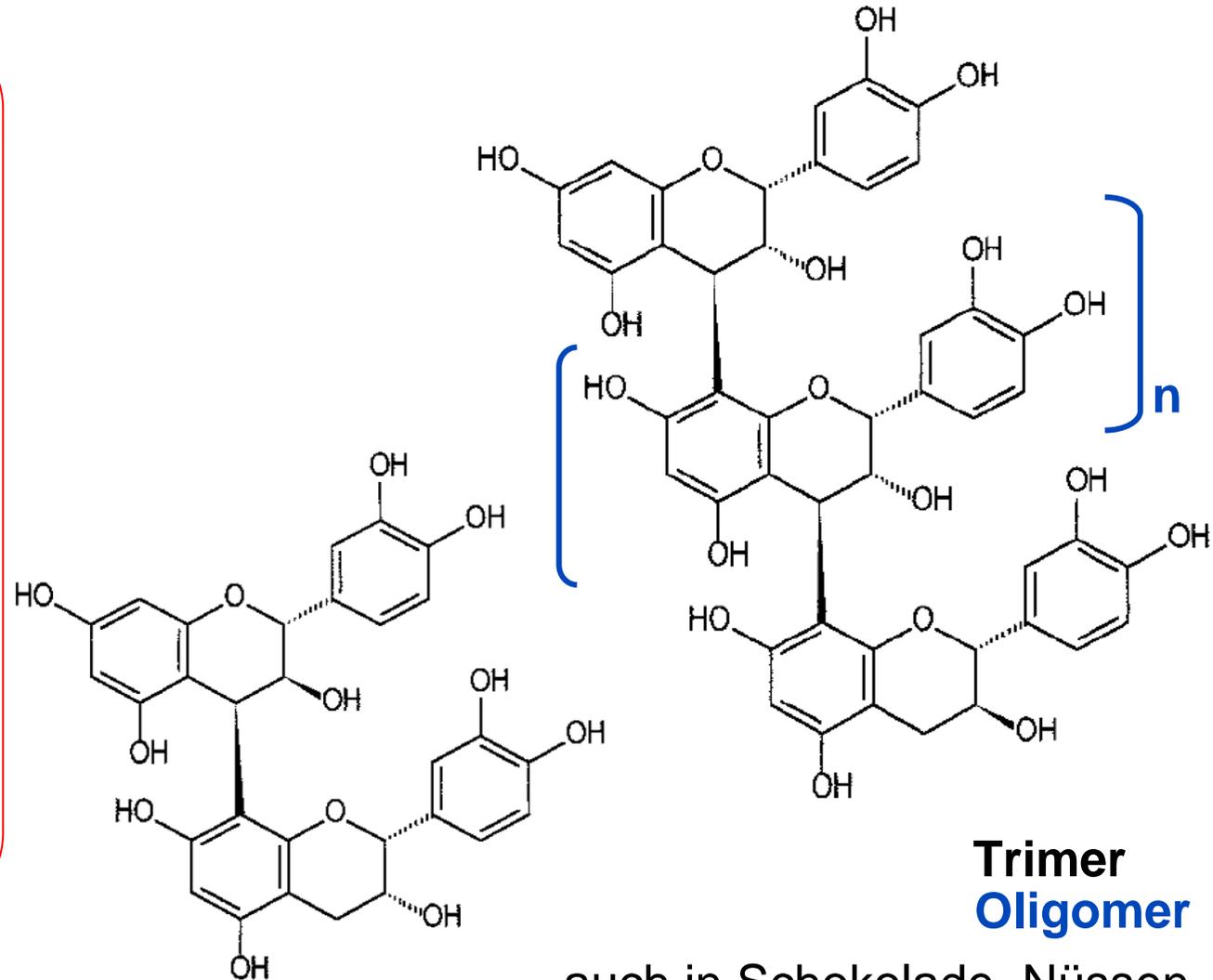
Identifizierung von (oligomeren) Procyanidinen: Di- bis Polymere aus (Epi-)Catechin-Einheiten



(+)-Catechin



(-)-Epicatechin

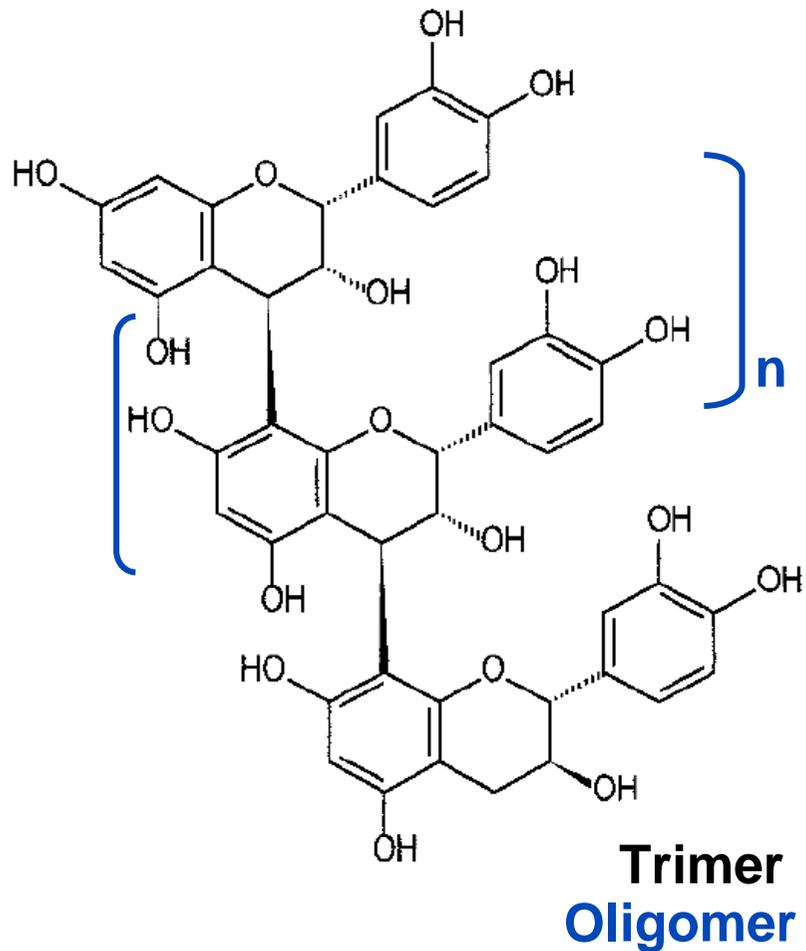


Dimer B2

**Trimer
Oligomer**

auch in Schokolade, Nüssen,
Bohnen, Rotwein, Tee...

Rolle der oligomeren Procyanidine?



**Durchschnittl. Procyanidin
Gehalt in Apfelsaftextrakten:
30 – 60%**

**Mittlerer Grad der
Polymerisation: 6 - 13**

Hümmer *et al.*, Biotechnol J. 2007

Zusammenfassung der ‚Activity-guided fractionation‘

- Insgesamt war der **Tresterextrakt** und Sub-Fractionen aktiver als der Apfelsaftextrakt
- Bei beiden Extrakten waren später eluierte, komplexere Fractionen aktiver
- **Oligomere Procyanidine** wurden als eine der interessantesten Inhaltsstoffklassen identifiziert und zeigen präventive Eigenschaften in allen Stadien der Krebsentstehung
- Effekte der oligomeren Procyanidine verstärken sich mit zunehmendem Grad der **Polymerisation**

Relevant für Krebs- präventives Potential?

In vivo Untersuchungen

Relevanz der *in vitro* Untersuchungen für die *in vivo* Situation?

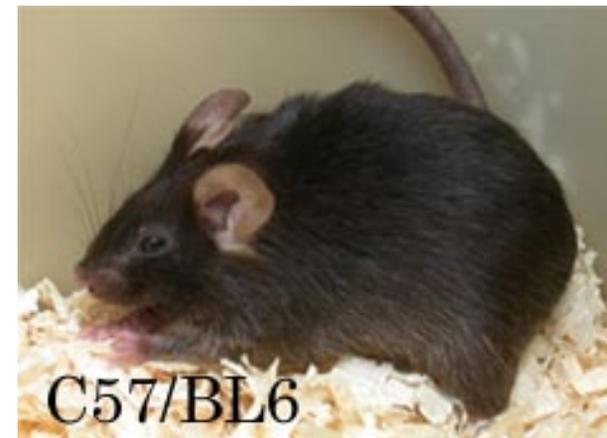
Tiermodelle zu Darmkrebsprävention

DMH/AOM Ratten Modell



- **chemisch** induzierte Karzinogenese
➔ BfEL Karlsruhe

APC^{Min/+} Maus Modell



- **genetisch** induzierte Karzinogenese
➔ DKFZ

$APC^{Min/+}$ Maus Modell



Genetisches Modell:

Mutation im *APC* Tumor Suppressor Gen führt zur Entwicklung **Multipler Intestinaler Neoplasien** (Adenome)

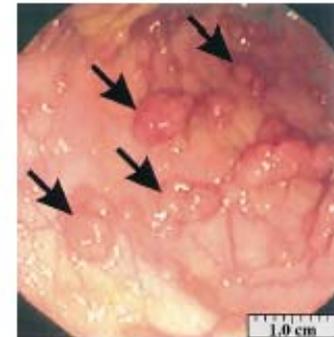
Auswertung:

⇒ Anzahl der Adenome im Dünndarm



APC – Adenomatöse Poliposis Coli

- > 80 % aller kolorektalen Karzinome tragen Mutationen im *APC* Gen
- Mutationen im *APC* Gen verursachen **Familiäre Adenomatöse Polyposis Coli (FAP)**, eine Form von vererbbarem Darmkrebs (nur max. 5% aller Darmkrebsfälle)
- **FAP**: Entwicklung intestinaler Polypen, die bereits im frühen Lebensalter zu Darmkrebs führen können



$Apc^{Min/+}$ Maus Interventions-Studie



3 Gruppen, n = 12



C57BL/6
(wild Typ wt)

Gruppe 1:
Wasser

Gruppe 2:
Trüber Apfelsaft



3 Gruppen, n = 12

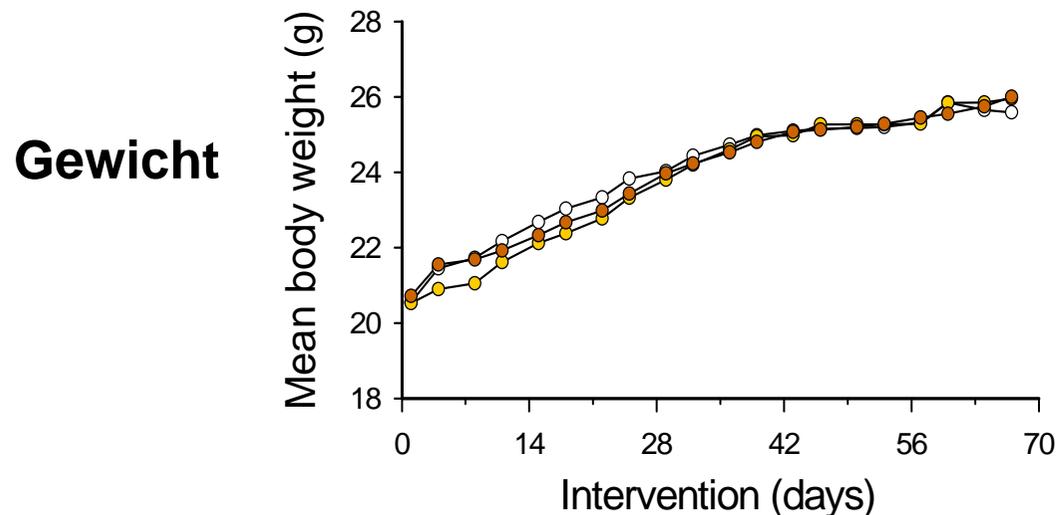
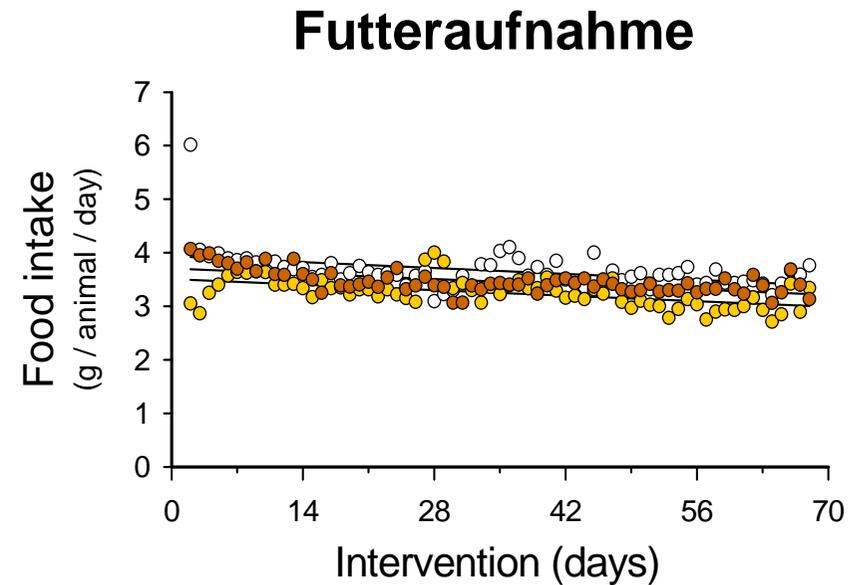
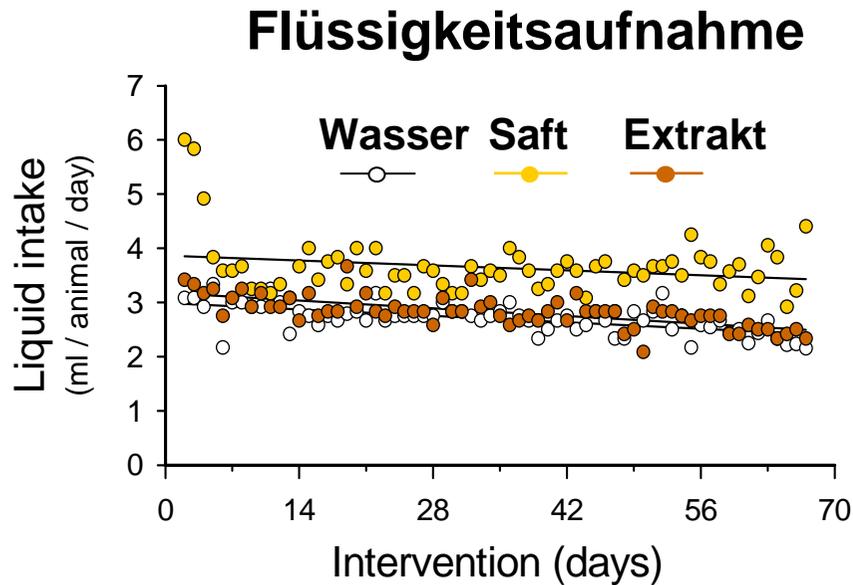


C57BL/6- Apc^{Min}

Gruppe 3:
0.2% Extrakt in Wasser
1:1 Mix von Extrakt AS02
und AS03B



$Apc^{Min/+}$ Maus Interventions-Studie



Krebspräventive Wirksamkeit?



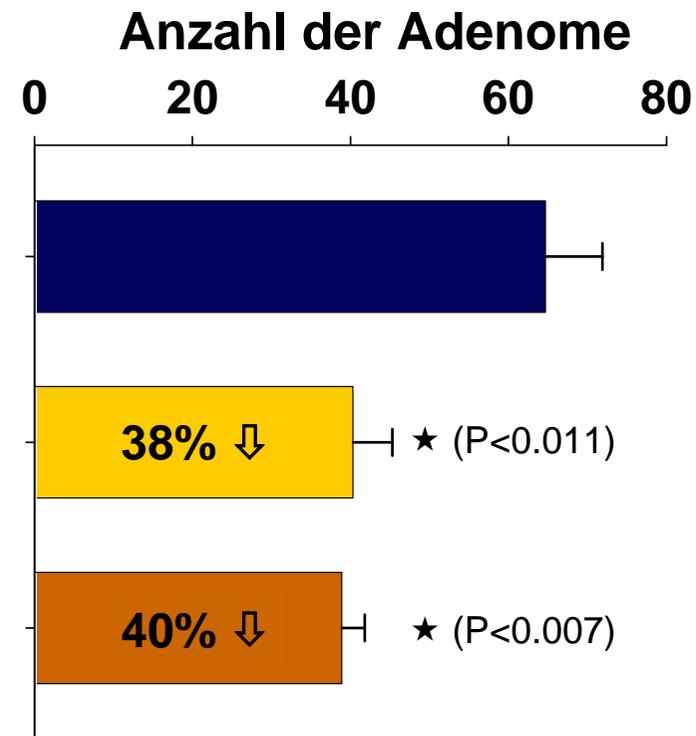
C57BL/6-Apc^{Min}



Trüber Apfelsaft

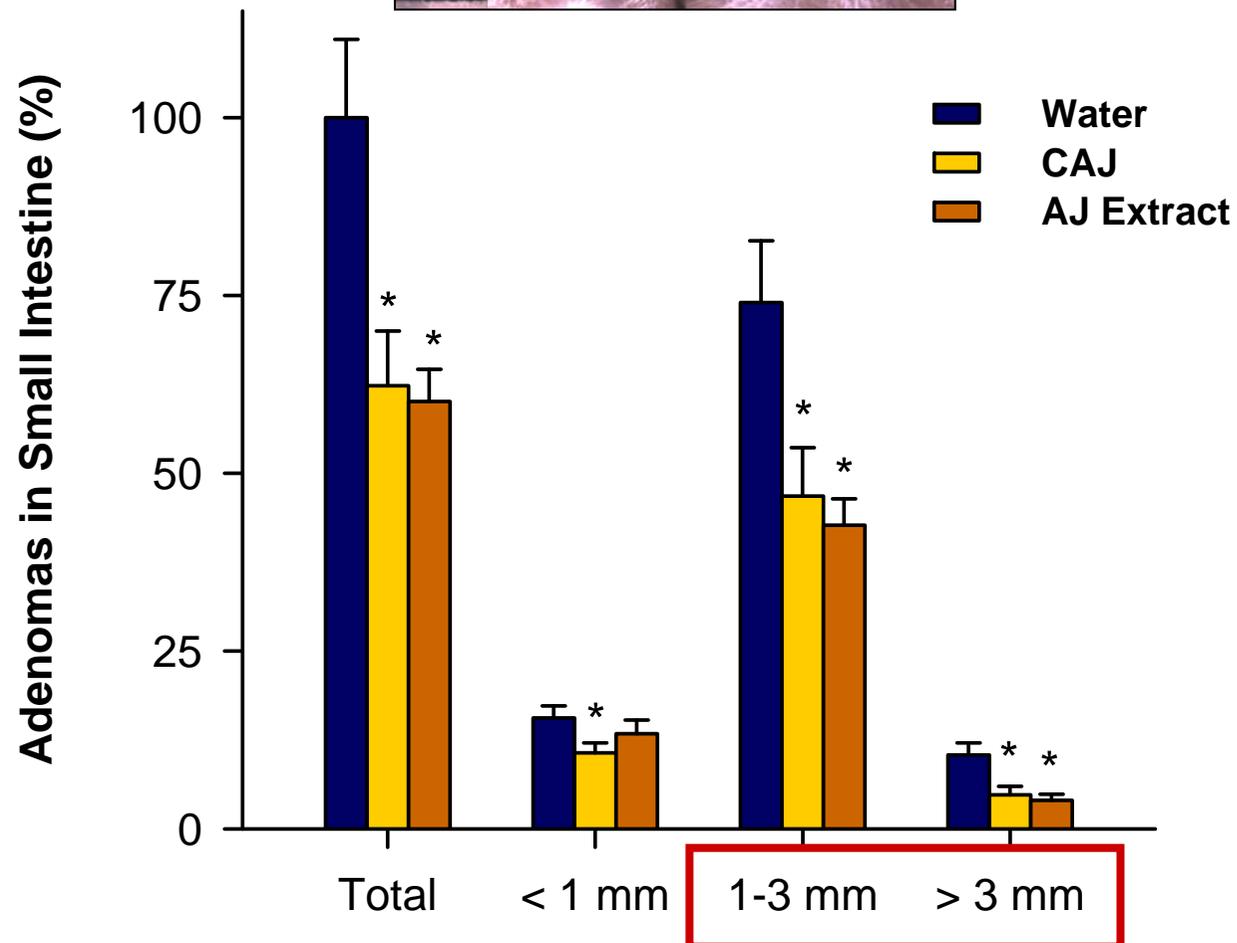
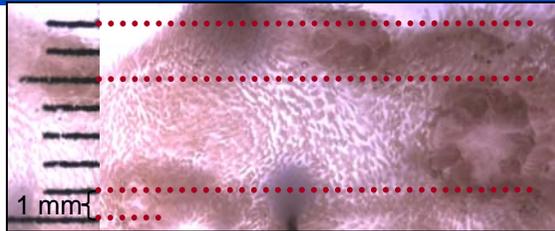


Apfelextrakt (0.2% in W)



Pan *et al.*, in Vorbereitung

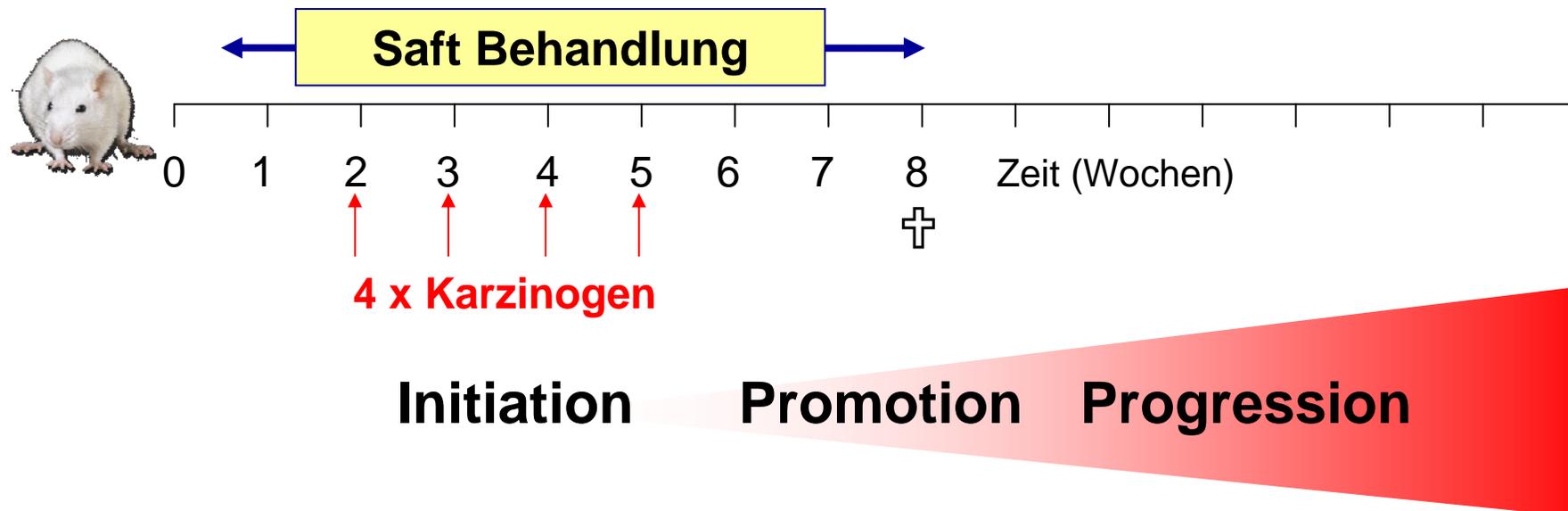
Einfluß auf die Adenom Größe



Ratten Interventionsstudie



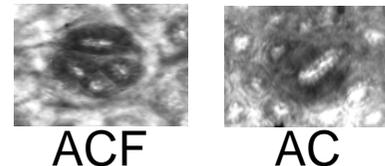
- Wasser
- klarer Apfelsaft
- trüber Apfelsaft



Barth *et al.*, Carcinogenesis 2005

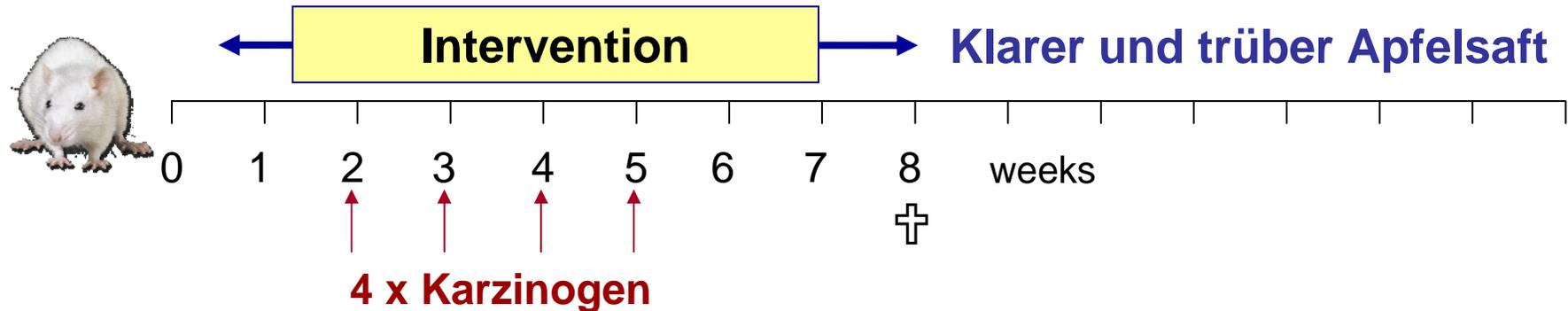
Untersuchte Parameter:

1. **DNA Schäden** in Darmzellen, verursacht durch das Karzinogen
2. Unterschiede im **Zellwachstum** (vermehrtes Wachstum durch Karzinogen)
3. Auftreten von **Krebsvorstufen** im Darm



Barth *et al.*, Carcinogenesis 2005

Ratten Interventionsstudie



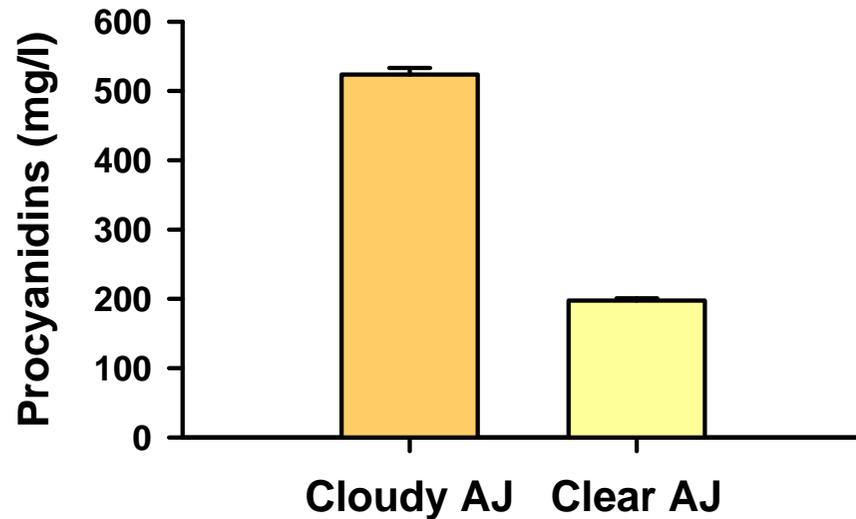
	Klarer Saft	Trüber Saft
DNA Schäden (Comet assay)	↓ 21 %	↓ 72 %**
Zellwachstum	↓ 45 %***	↓ 72 %***
Krebsvorstufe ACF/Darm	--	↓ 19 %
Krebsvorstufe AC/Darm	--	↓ 29 %

Warum ist trüber Apfelsaft wirksamer als klarer Saft?

ACF AC

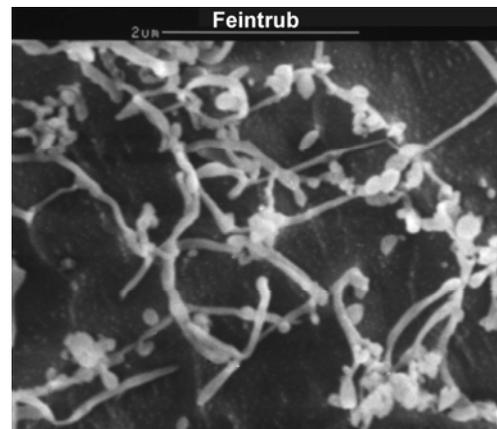
Barth *et al.*, *Carcinogenesis* (2005)

... weil er mehr Procyanidine enthält!



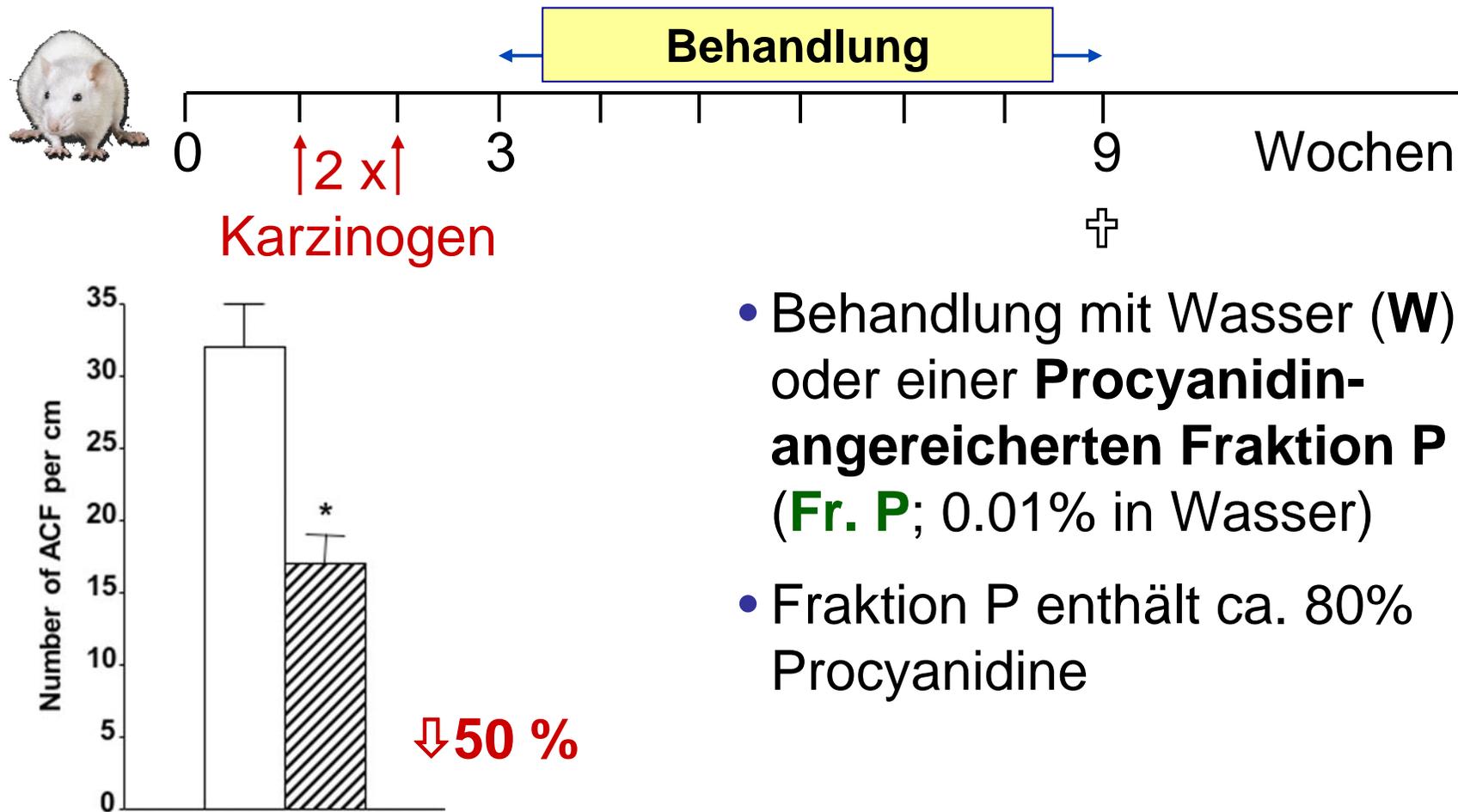
Oszmianski *et al.*,
J. Sci. Food Agric. (2007)
Hümmer *et al.*, *Biotechnol J.* (2007)

Procyanidine sind an die Trübstoffe gebunden:



Trub-Partikel
(Zellwandbestandteile):
Fette, Proteine,
Kohlehydrate,
Bis zu 60% Procyanidine

Spielen die Procyanidine eine Rolle bei der Darmkrebsprävention?



- Behandlung mit Wasser (**W**) oder einer **Procyanidin-angereicherten Fraktion P** (**Fr. P**; 0.01% in Wasser)
- Fraktion P enthält ca. 80% Procyanidine

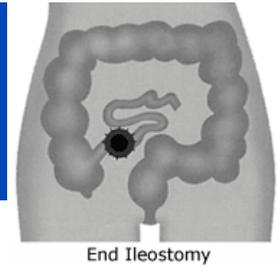
Ist das relevant für die Darmkrebsprävention beim Menschen?

Systemischer oder lokaler Effekt?

- Nur Procyanidine mit niedrigem Molekulargewicht ($DP \leq 3$) werden im GI-Trakt absorbiert
 - Aber: der Hauptteil der Procyanidine in der Nahrung sind Oligo- oder Polymere
 - Lokale biologische Effekte?
- Colonic availability of apple polyphenols – A study in ileostomy subjects (Kahle *et al.*, *MNF* 49, 2005)

Reviews on procyanidins: Rasmussen *et al.*, *MNF* 49 (2005)
Aron and Kennedy, *MNF* 52 (2008)

Ileostomie Studie



Fasten über Nacht

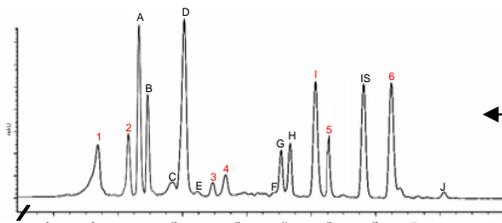
1 l trüber Apfelsaft



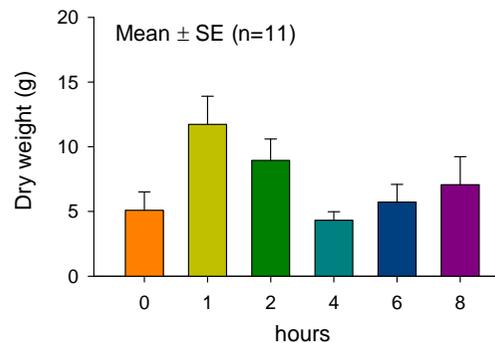
Wechsel der Ileostomie-Beutel nach 0, 1, 2, 4, 6, 8 h

Gefriertrocknung

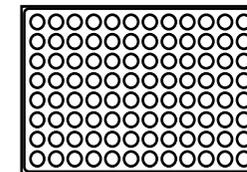
HPLC



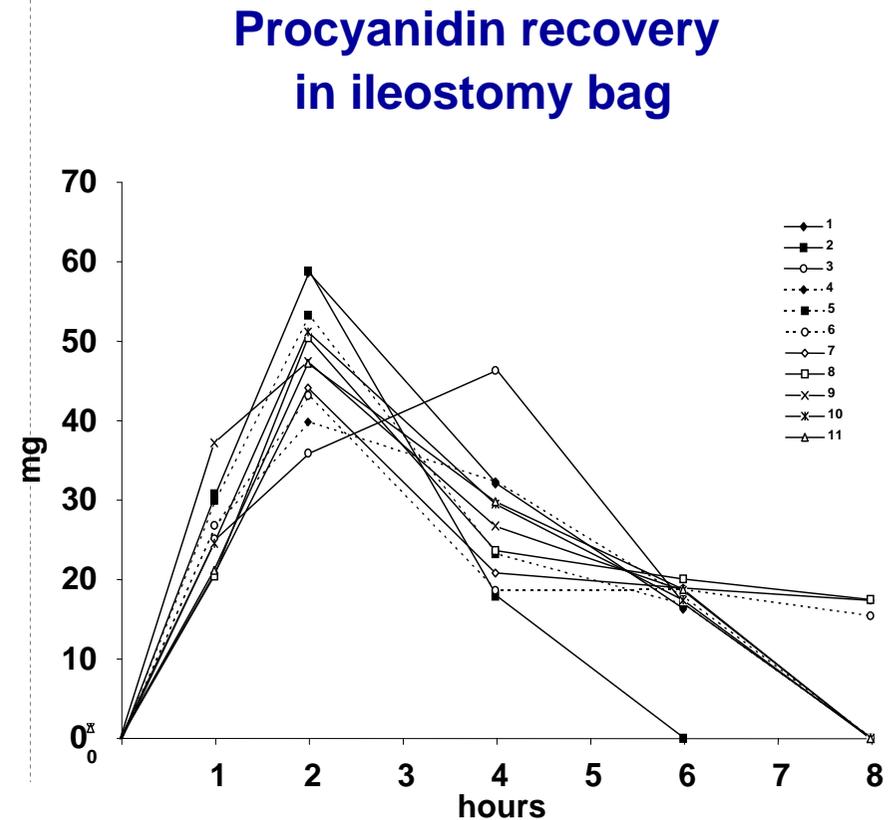
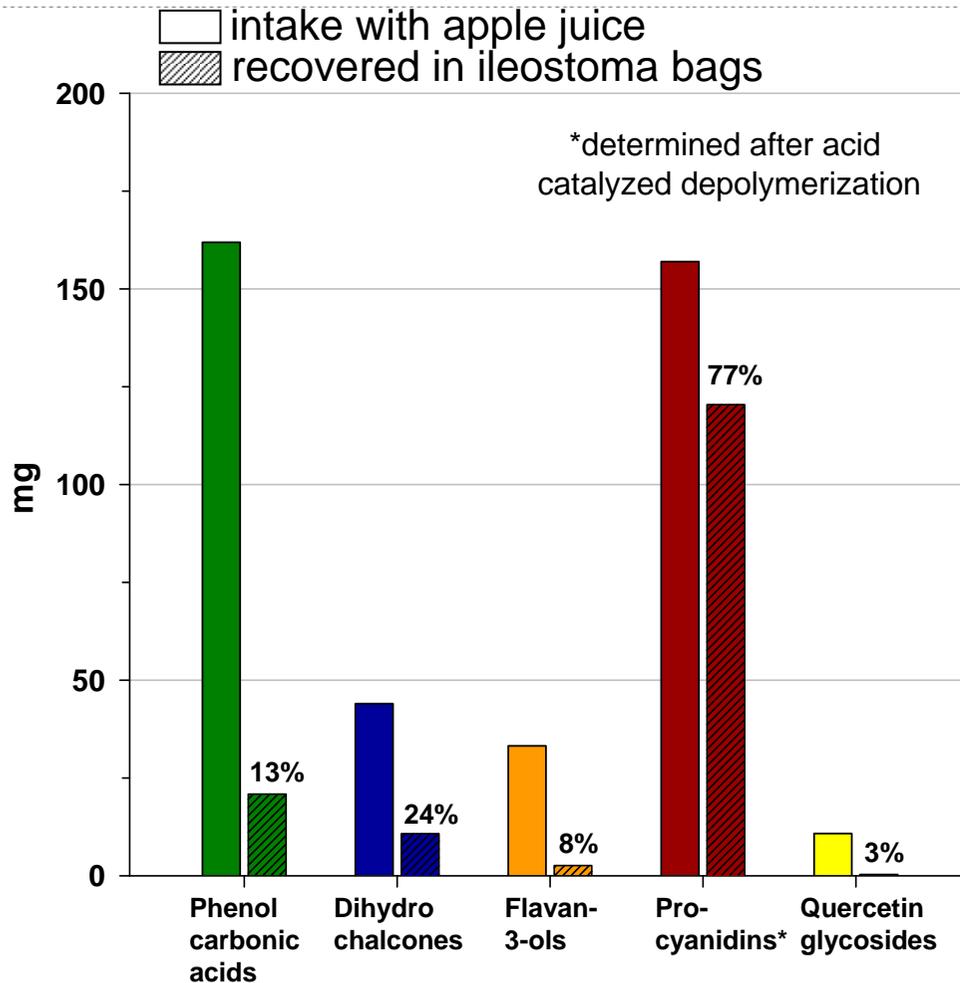
Kahle *et al.*, MNF 49 (2005)



Bioassay Testung



Ileostomie Studie – Wiederfindung



Kahle *et al.*, *MNF* 2005; *JAF* 2007

Zusammenfassung:

- Apfelsaft-Inhaltsstoffe fördern die Entgiftung, wirken antioxidativ und entzündungshemmend.
- **(Oligomere) Procyanidine** stellen eine sehr interessante Inhaltsstoffgruppe mit einem breiten Aktivitätsspektrum dar.
- **Trester-Extrakt** ist aktiver als Apfelsaft-Extrakt, enthält mehr Procyanidine und Flavonide.
- **Trüber Apfelsaft** hemmt die Bildung von Darmkrebs-Vorstufen in verschiedenen Tiermodellen.
- Im Rattenmodell ist **trüber Apfelsaft wirksamer als klarer Apfelsaft**; trüber Apfelsaft enthält mehr Procyanidine, die krebspräventiv wirken.
- Procyanidine **erreichen den Dickdarm** und können dort lokal wirken.

Danksagungen

Deutsches Krebsforschungs- zentrum, Heidelberg



L. Pan

R. Owen

C. Ittrich, W. Rittgen (Biostatistics)

Externe Kooperationspartner:

Forschungsanstalt Geisenheim

F. Will, H. Dietrich

Universität Saarbrücken

H. Zessner, H. Becker

Universität Würzburg/KL

E. Richling, W. Hümmer

BfEL Karlsruhe

S. Barth

BMBF für finanzielle Unterstützung

The background of the image consists of numerous thin, horizontal slices of a light-colored apple, likely a Golden Delicious or similar variety. The slices are arranged in a dense, overlapping pattern, showing the pale yellowish-white flesh, the central core with seeds, and the thin red or pinkish skin. The lighting is bright and even, highlighting the texture of the fruit.

*Vielen Dank für Ihre
Aufmerksamkeit!*

Welcher Apfelsaft ist der Beste?

- Naturtrüber Direktsaft (nicht aus Konzentrat!)
- hergestellt mit einem möglichst hohen Anteil an Mostäpfeln bzw. Tresterbestandteilen
- Alternativ spricht nichts dagegen, Äpfel zu essen!



