

## In vitro-Identifizierung fettassimilationsinhibierender Bioaktivität

Das Metabolische Syndrom beschreibt das Zusammentreffen verschiedener Risikofaktoren für koronare Herzerkrankungen wie abdominale Adipositas und Diabetes Typ 2 sowie deren Folgeerkrankungen Hypertonie, Dyslipoproteinämie und verfrühte Atherosklerose. In zahlreichen Studien wurde ein eindeutiger Zusammenhang zwischen postprandialer Hyperlipämie und Übergewicht [37], Insulinresistenz [6-8] sowie Atherosklerose [9,38,39,10,33,40] festgestellt. Aufgrund der eindeutigen Assoziation zwischen erhöhten postprandialen Triglyceridwerten und verschiedenen Symptomen des Metabolischen Syndroms muss das Ziel einer Prävention und Beeinflussung von kardiovaskulären Erkrankungen die Verzögerung des Einstroms von Nahrungsfetten in das Blutkompartiment und somit die Senkung von postprandialen Triglyceridwerten sein.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten durch *in vitro*-Versuche Stoffe identifiziert werden, die durch ihre Fähigkeit, die Pankreaslipase oder den intestinalen Fettsäuretransport zu hemmen, in der Lage sind, postprandiale Triglyceridwerte zu senken. Vielversprechende Kandidaten sollten nach Abschluss dieser Arbeit in *in vivo*-Studien auf ihre Wirksamkeit an Tier und Mensch untersucht werden, um damit die Voraussetzung für die Entwicklung von funktionellen Lebensmitteln zur Prävention und Beeinflussung des Metabolischen Syndroms zu schaffen.

560 Proben pflanzlicher und tierischer Herkunft wurden *in vitro* auf eine Lipase-hemmende Wirkung mit 1,2-O-Dilauryl-rac-glycero-3-glutarsäure-(6-Methylresorufin)-ester als Substrat (Methylresorufinmethode) untersucht.

Den Ergebnissen dieser Studie zufolge befindet sich das größte Potential Lipase-hemmender Verbindungen in pflanzlichen Auszügen mit einem hohen Anteil lipophiler Substanzen.

Bei lediglich acht der 24 wirksamsten Lipase-hemmenden Testsubstanzen, ermittelt bei der 1/100-Verdünnung mit der Methylresorufinmethode, konnte mit Triolein als Substrat (Trioleinmethode) eine > 50%-ige Lipasehemmung herbeigefügt werden. Mit dem Test auf Hemmung der alkalischen Phosphatase wurde bei 23 der 24 wirksamsten Proben ein unspezifischer Effekt ausgeschlossen. Unter diesen befand sich eine Extraktion mit 100% Ethanol aus *Tabebuia impetiginosa* (Lapachotee), ein Tee, der aus der inneren Rinde des amazonischen Taheebobaums gewonnen wird. Dieser Extrakt erzielte *in vitro* eine deutliche Lipasehemmung. In einem Tierversuch mit Wistarratten führte dieser Extrakt zu einer signifikanten Erniedrigung der postprandialen Triglyceridwerte [persönliche Mitteilung von Jürgen Schrezenmeir].

Auf der Suche nach Modulatoren der Fettsäureaufnahme in Enterozyten wurde der Effekt synthetischer PPAR $\gamma$ - und PPAR $\alpha$ -Liganden untersucht, welchen eine bedeutende Rolle in der Regulierung des Fettstoffwechsels zugeschrieben wird [15-17]. Hierzu wurde die Palmitinsäureaufnahme in Caco-2 Zellen, einem etablierten Zellkulturmodell für Enterozyten [19,20,18] in Abhängigkeit von den PPAR-Liganden Troglitazone, GW1929, GW9662, GW7647 und MK886 bestimmt. Lediglich durch den Einsatz des PPAR $\alpha$ -Agonisten GW7647 bei der Konzentration von 1  $\mu$ mol/L konnte eine signifikante Hemmung der Palmitinsäureaufnahme ermittelt werden ( $p = 0,027$ ). Alle anderen Liganden wiesen in den eingesetzten Konzentrationen keine signifikanten Effekte auf.

Es stellte sich die Frage, inwieweit freie Fettsäuren im FCS des Kulturmediums als natürliche PPAR-Liganden eine erwartete Modulation des Fettsäuretransportes durch die synthetischen PPAR-Liganden kaschiert haben könnten. Die Bestimmung der freien Fettsäuren im Medium ergab eine durchaus nennenswerte Konzentration, die eine PPAR-vermittelte Modulation der Fettsäureaufnahme denkbar erscheinen lassen. Diese Konzentration liegt jedoch weit unterhalb physiologisch vorkommender Konzentrationen an freien Fettsäuren.

Durch den Nachweis von FABP1, FABP6 sowie FATP4 mittels RT-PCR konnte die Vermutung widerlegt werden, dass diese an der Fettsäureaufnahme beteiligten Proteine in

den für diese Studie eingesetzten Caco-2 Zellen nicht exprimiert wurden. Auch das FABP2 konnte in einem Teil der Proben nachgewiesen werden.

Mittels MTT-Test wurde ein zytotoxischer Effekt der Testsubstanzen ausgeschlossen.

Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass die eingesetzten PPAR-Liganden in einem geeigneten Testsystem keinen oder einen nur sehr geringen Effekt auf die Fettsäureaufnahme ausüben.

Weitere Untersuchungen zur Inhibierung vermutlich beteiligter Fettsäure-Bindungs- und Transportproteine sowie des Energiestoffwechsels der Zellen könnte über die Art und das Ausmaß der Beteiligung von Proteinen bzw. Transportern an der Fettsäureaufnahme in Dünndarmzellen Aufschluss geben.

In Anbetracht der ermittelten Ergebnisse eignen sich natürliche PPAR $\gamma$ - und PPAR $\alpha$ -Liganden nicht zur Verzögerung der Fettsäureaufnahme im Darm.

Mit Lapachotee konnte jedoch ein vielversprechender Kandidat für die Entwicklung eines funktionellen Lebensmittels und eines Nahrungsergänzungsmittels für das Metabolische Syndrom identifiziert werden.