

**Wie wirken antientzündliche Therapien?
Steroide, Curcuma, Vitamin D und andere
-
Die Rolle der Toll-like-Rezeptoren**

7. November 2012, 15:00 Uhr

Dr. med. Volker von Baehr

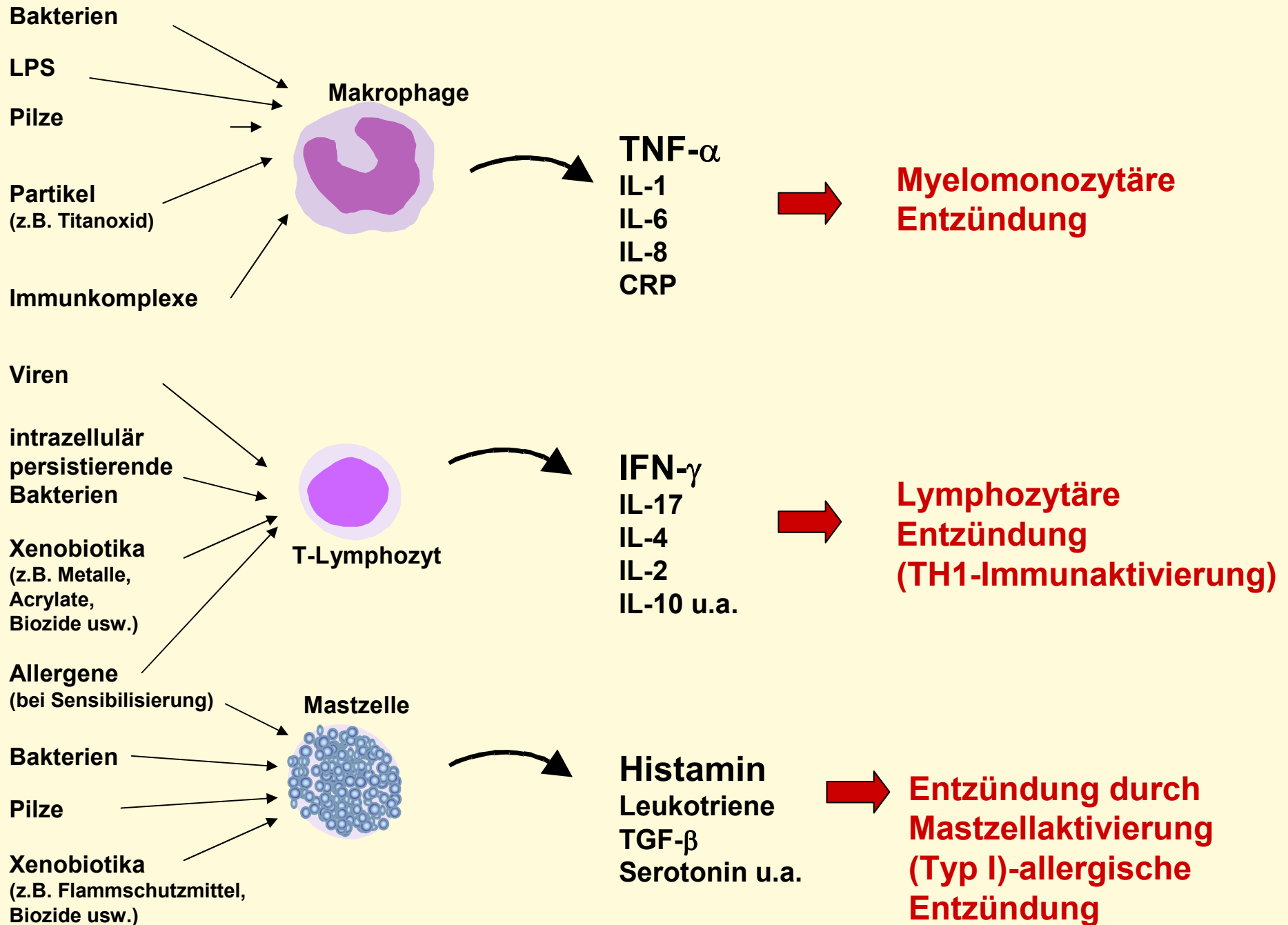
Was ist (chronische) Entzündung ?

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S. (CLIA)	17.8	pg/ml	< 8.1
IP-10 i.Serum (PIA)	1555	pg/ml	< 1072
Hinweis auf systemische Entzündung (TNF-a) und auch TH1-Immunaktivierung (IP-10).			
Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)	11.5	ng/ml	< 75
Kein Hinweis auf Mastzell-assoziierte Entzündung			
ATP intrazellulär ^{oo} (CLIA)	1.44	µM	> 2.0
Vermindertes intrazelluläres ATP als Hinweis auf eine sekundäre Mitochondriopathie.			
MDA-LDL i.S. (EIA)	144	U/l	< 40.0
Ein erhöhtes MDA-modifiziertes LDL spricht für eine gesteigerte Lipidperoxidation bei oxidativem Stress.			
Freies 3-Nitrotyrosin i. EDTA-Pl. ^o	<0.1	µg/l	< 1
Kein Hinweis auf nitrosativen Stress			

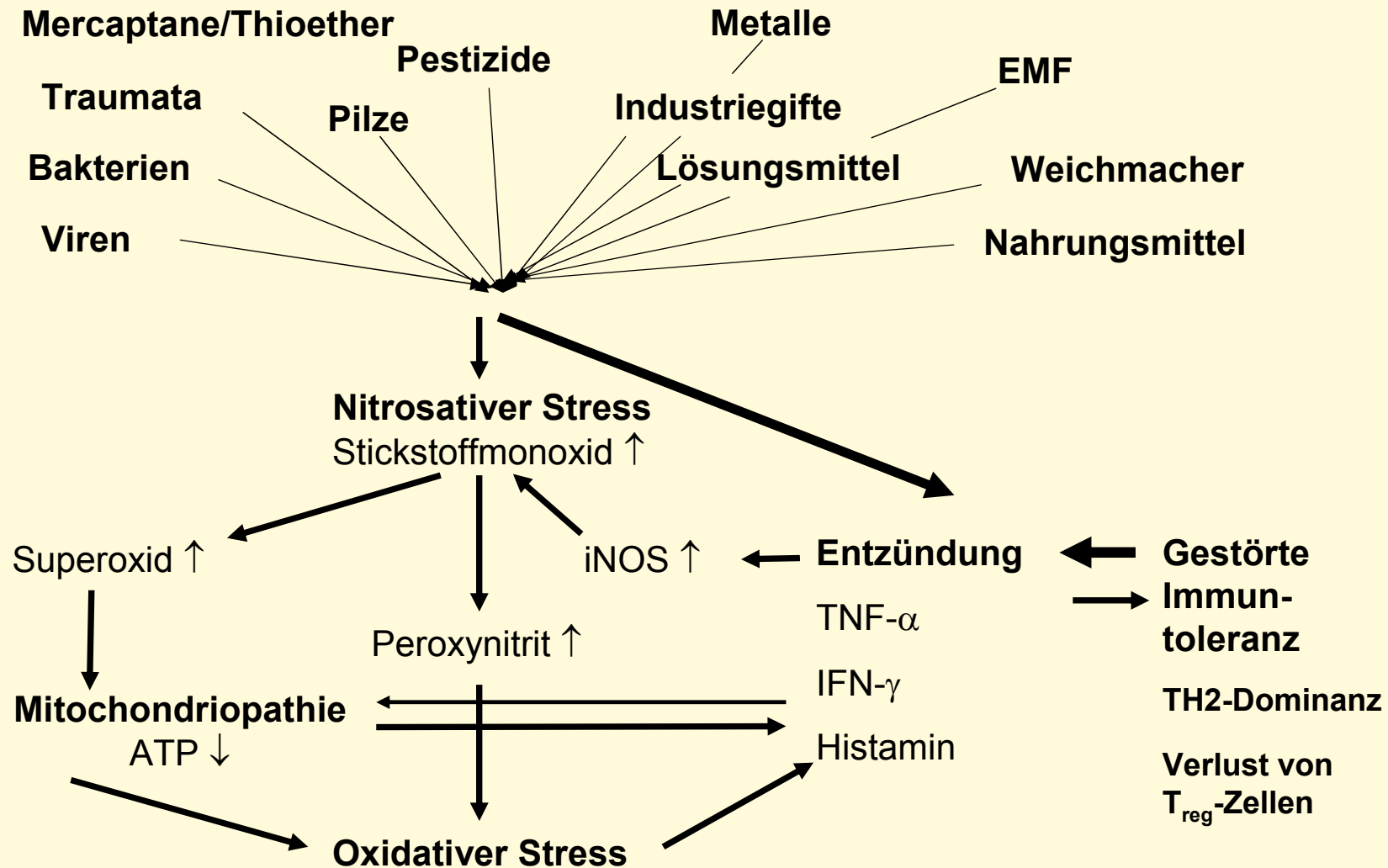
①

②

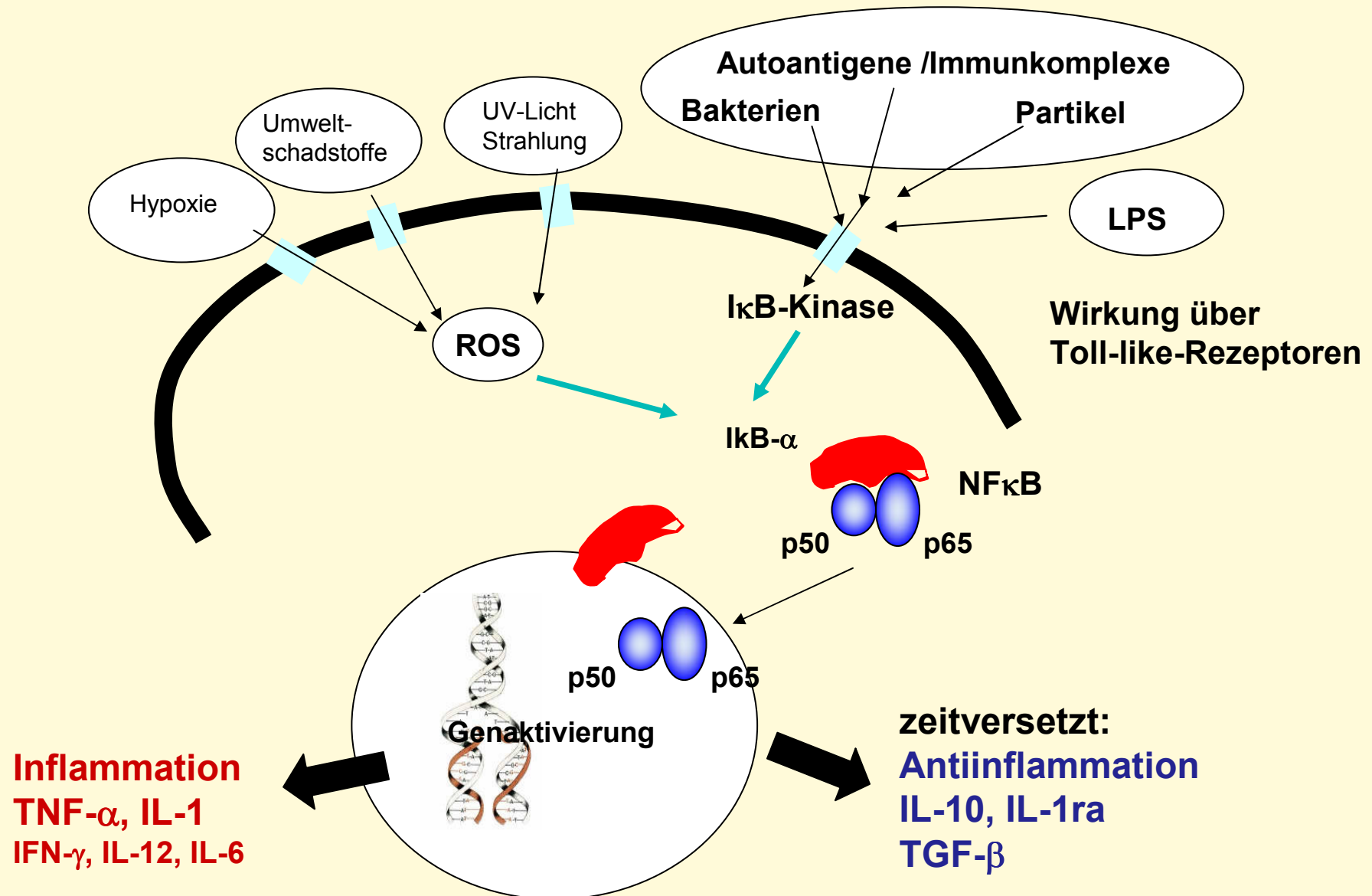
③



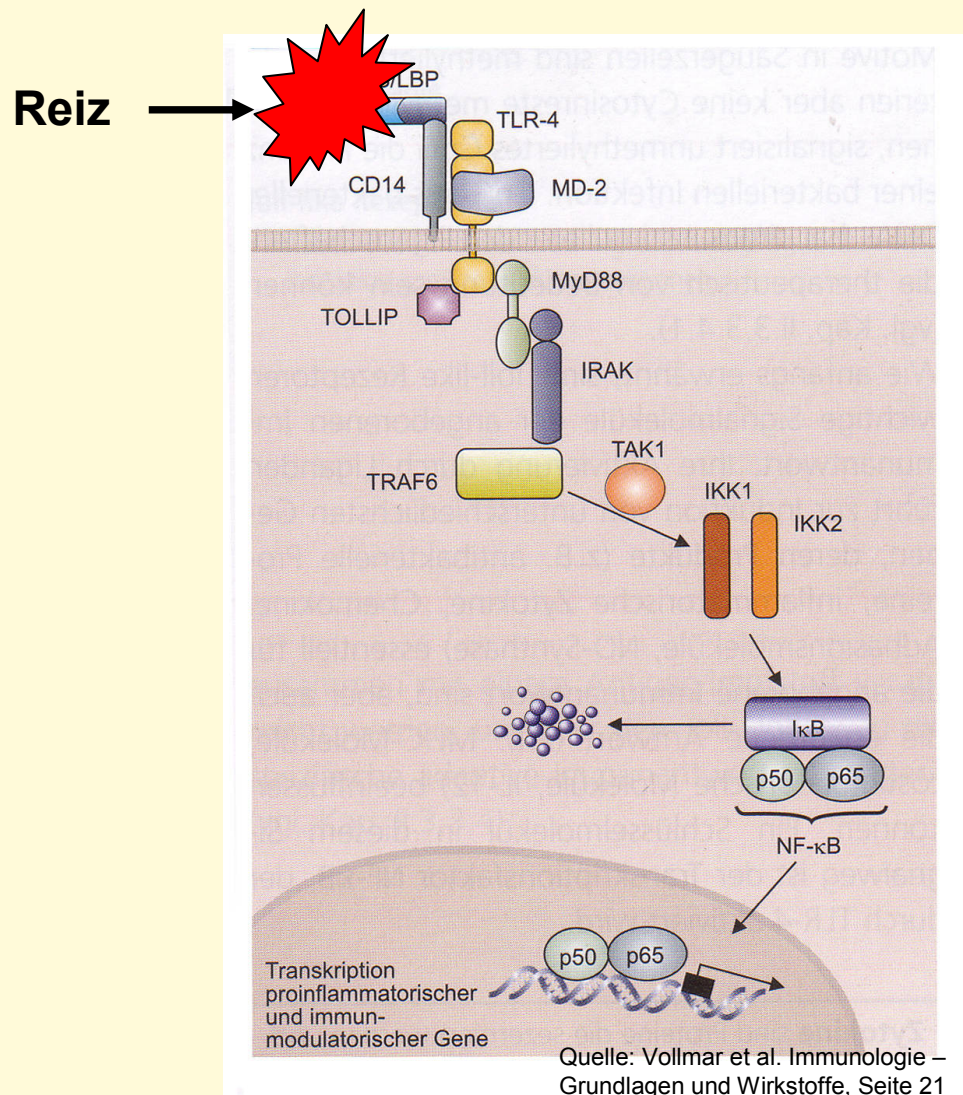
Wie kommt es zur (chronischen) Entzündung? |



Wie kommt es zur (chronischen) Entzündung? II



Entzündung ist die Folge der Aktivierung von Toll-like-Rezeptoren auf Immunzellen



**Aktivierung über
Toll-like-Rezeptoren auf der
Oberfläche von Makrophagen
und Endothelzellen**



**Intrazelluläre Kettenreaktion
von Proteinkinasen**

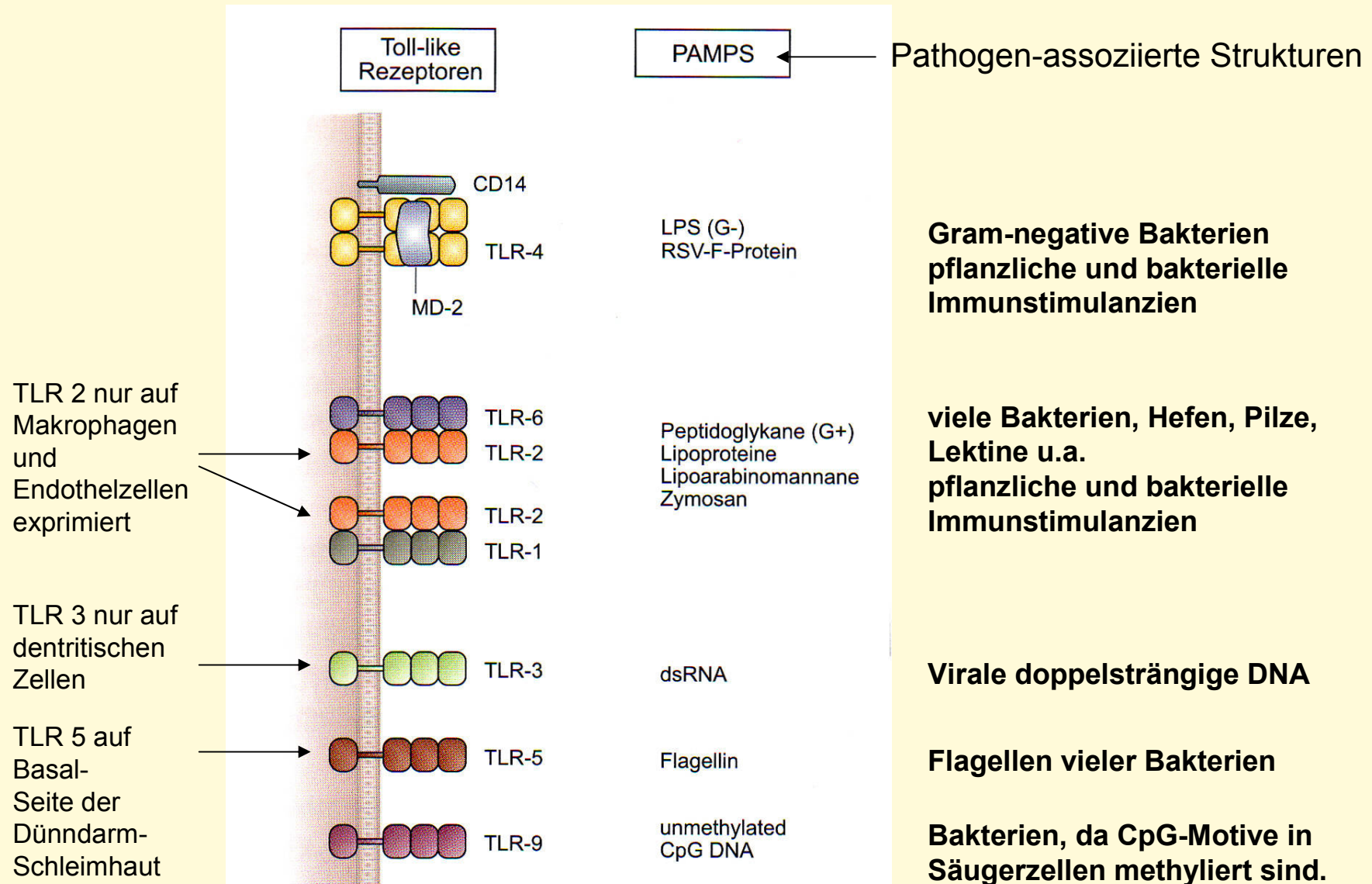


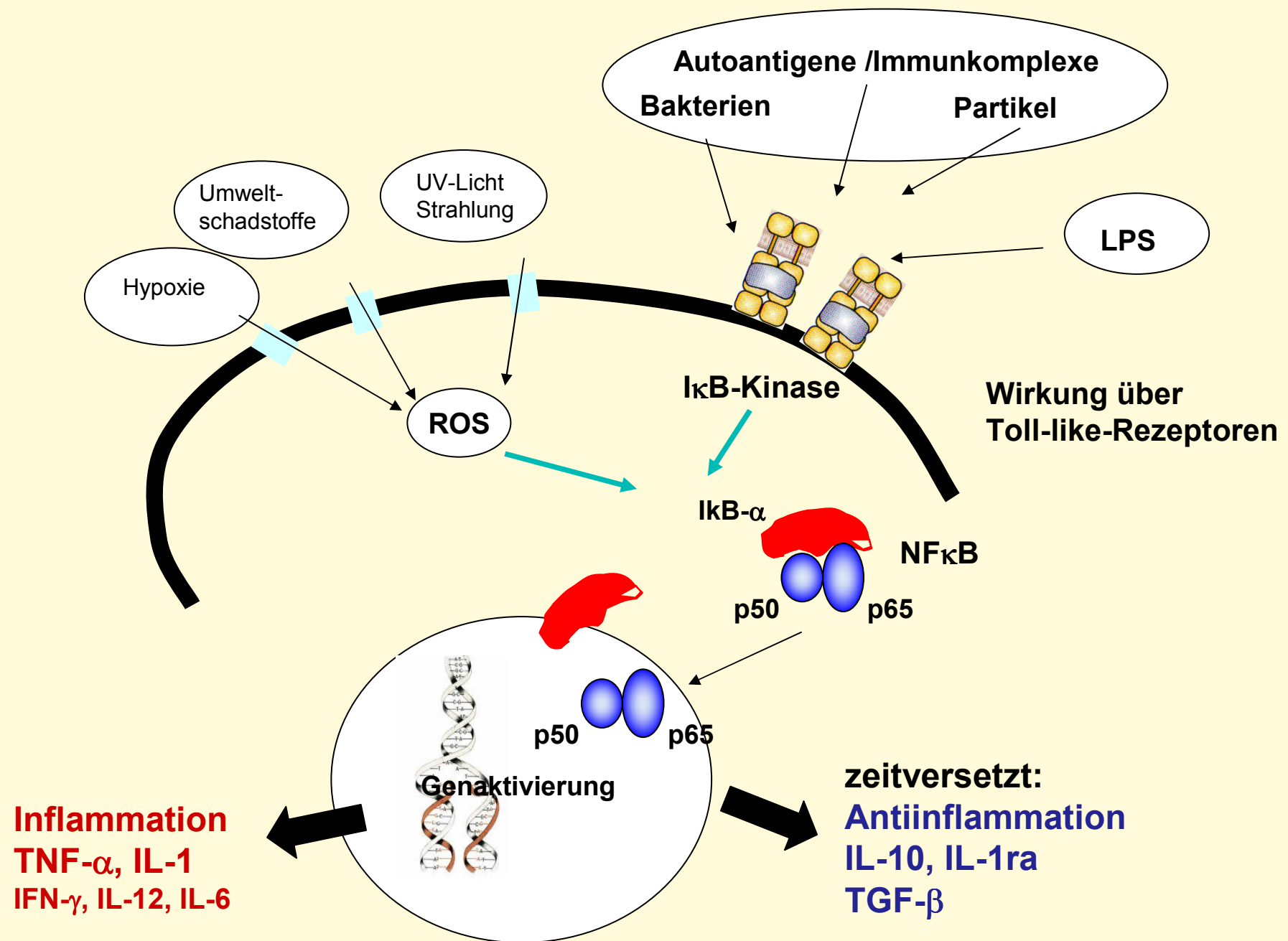
**NFκB-Aktivierung
(Ablesung von mRNA für Aktivierungs-
zytokine und Adhäsionsmoleküle)**



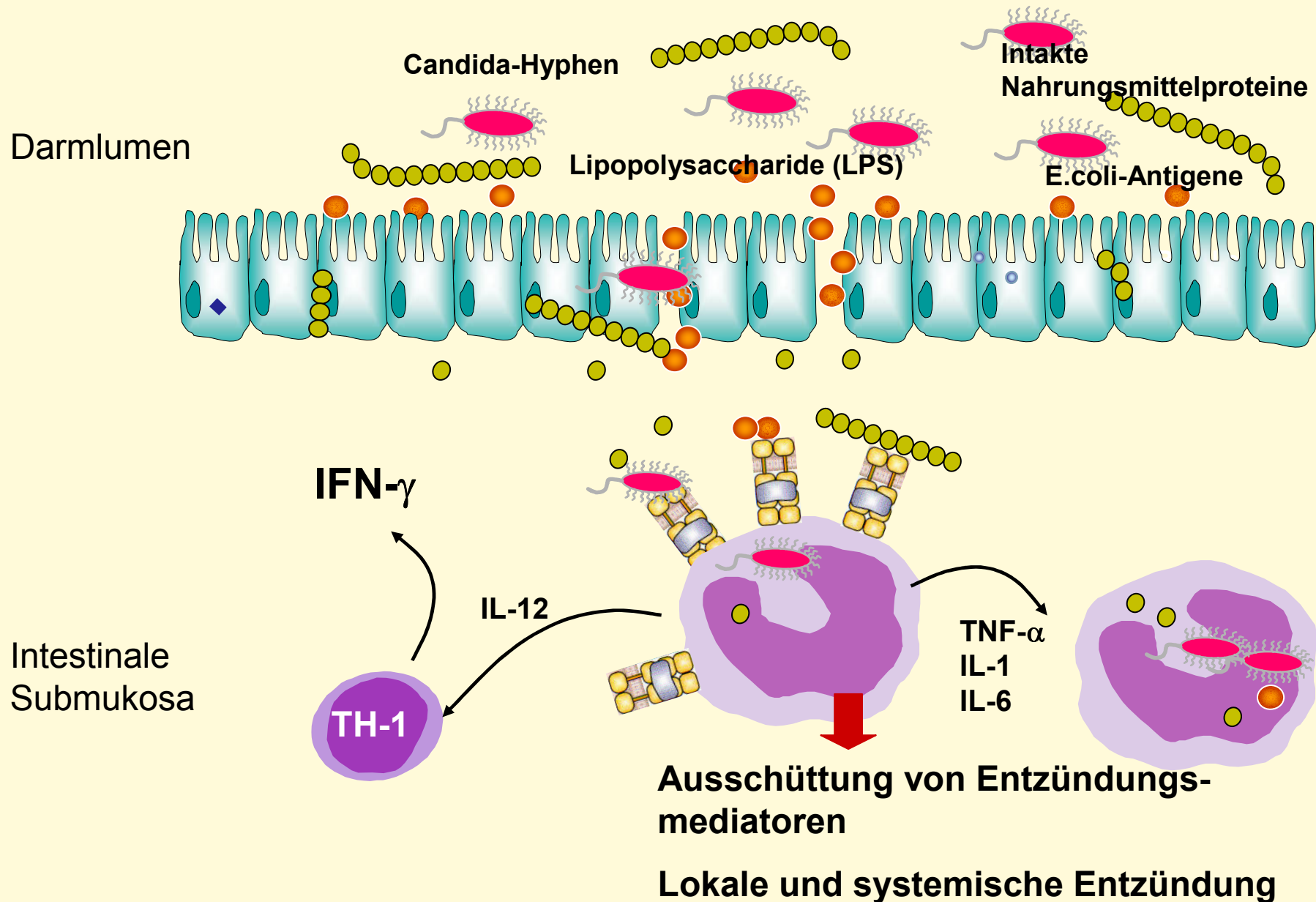
**Freisetzung von TNF-α und IL-1
Entzündung**

TLR-Rezeptoren sind phylogenetisch alte Erkennungsstrukturen von Fremdmolekülen (PAMPS)





Über den Darm findet Immunstimulation mit Fremdantigenen statt.



Ein erhöhtes Zonulin im Serum spricht für ein *leaky gut*

Eine systemische Entzündung bei gleichzeitigem Hinweis auf leaky gut spricht für die Bedeutung des Darmes als Entzündungsquelle

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Zonulin i.S. (EIA)	92.4	ng/ml	< 31
Das erhöhte Zonulin im Serum spricht für eine gesteigerte intestinale Permeabilität ("leaky gut")			
TNF-alpha i.S.	23.6	pg/ml	< 8.1
Interleukin 1-β i.S.	6.1	pg/ml	< 5.0

Chronische systemische Entzündung ist Folge einer dauerhaften, nicht regulierten Stimulation von körpereigenen Entzündungszellen

Jedes körperfremde (bedrohliche) Signal kann Auslöser der Entzündung sein

z.B. Bakterien, Hefen, Pilze, Parasiten, Fremdartigene inkl. Nahrungsmittel, Entzündungszytokine, ROS's, Partikel (auch Nanopartikel), Immunkomplexe, Xenobiotika

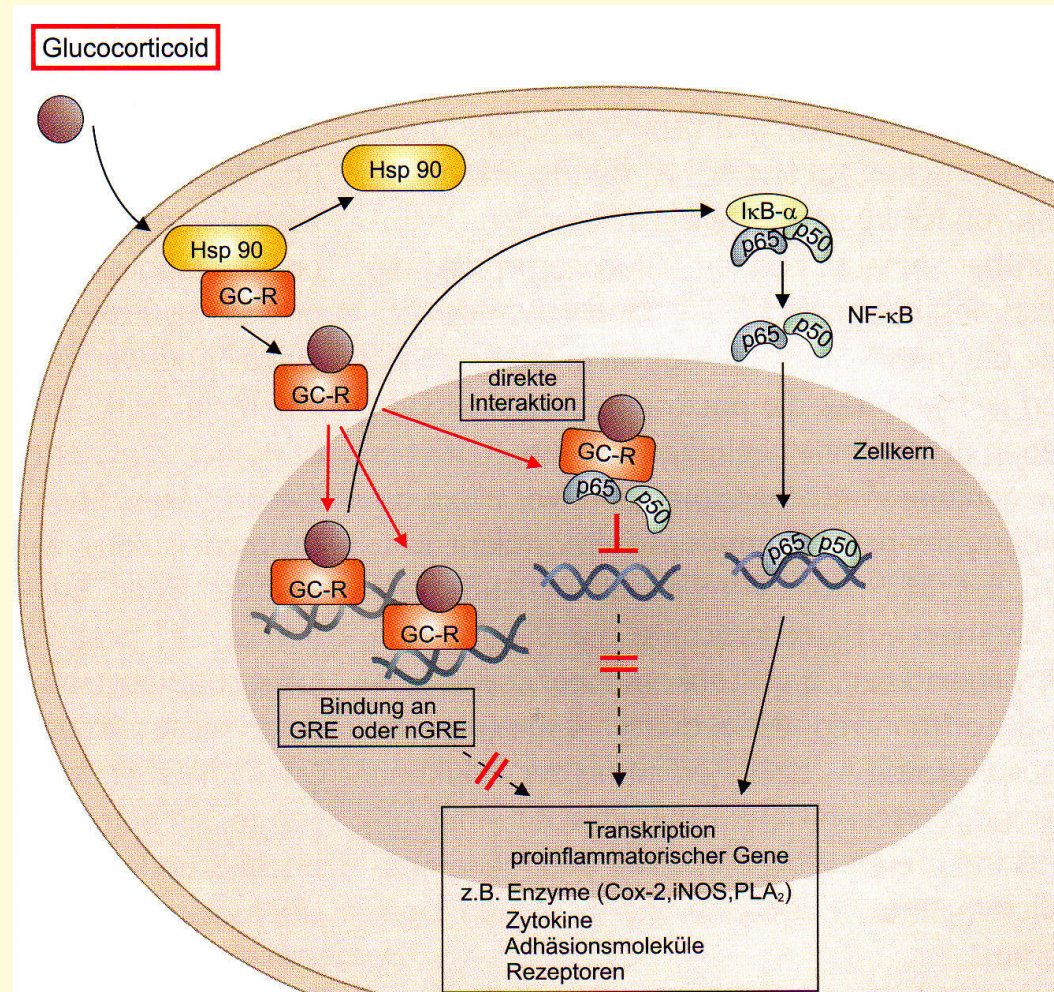
Wie lässt sich die gesteigerte chronische Entzündungsantwort hemmen?

1. Durch Elimination der Reize
(z.B. Behandlung von leaky gut oder Elimination eines bakteriellen Herdgeschehens)
 2. durch Hemmung der NF κ B-Aktivierung in Makrophagen und damit der Synthese von proentzündlichen Zytokinen
 3. durch Modulation der Toll-like-Rezeptoren auf Makrophagen mit dem Ziel, diese weniger responsiv auf proentzündliche Reize zu machen
- oder durch 2. und 3.

Wie lässt sich die gesteigerte chronische Entzündungsantwort hemmen?

1. Durch Elimination der Reize
(z.B. Behandlung von leaky gut oder Elimination eines bakteriellen Herdgeschehens)
 2. durch Hemmung der NF κ B-Aktivierung in Makrophagen und damit der Synthese von proentzündlichen Zytokinen
 3. durch Modulation der Toll-like-Rezeptoren auf Makrophagen mit dem Ziel, diese weniger responsiv auf proentzündliche Reize zu machen
- oder durch 2. und 3.

Glukokortikoide hemmen die Lösung von I κ B und somit die „Wanderung“ von p50/p65 in den Zellkern



GC-R = Glukokortikoidrezeptor, Hsp = Hitzeschockprotein, COX-2 Cyclooxygenase 2
iNOS = induzierbare NO-Synthase, PLA₂ Phospholipase A2

Incensole Acetate, a Novel Anti-Inflammatory Compound Isolated from *Boswellia* Resin, Inhibits Nuclear Factor- κ B Activation[§]

Arieh Moussaieff, Esther Shohami, Yoel Kashman, Ester Fride, M. Lienhard Schmitz, Florian Renner, Bernd L. Fiebich, Eduardo Munoz, Yinon Ben-Neriah, and Raphael Mechoulam

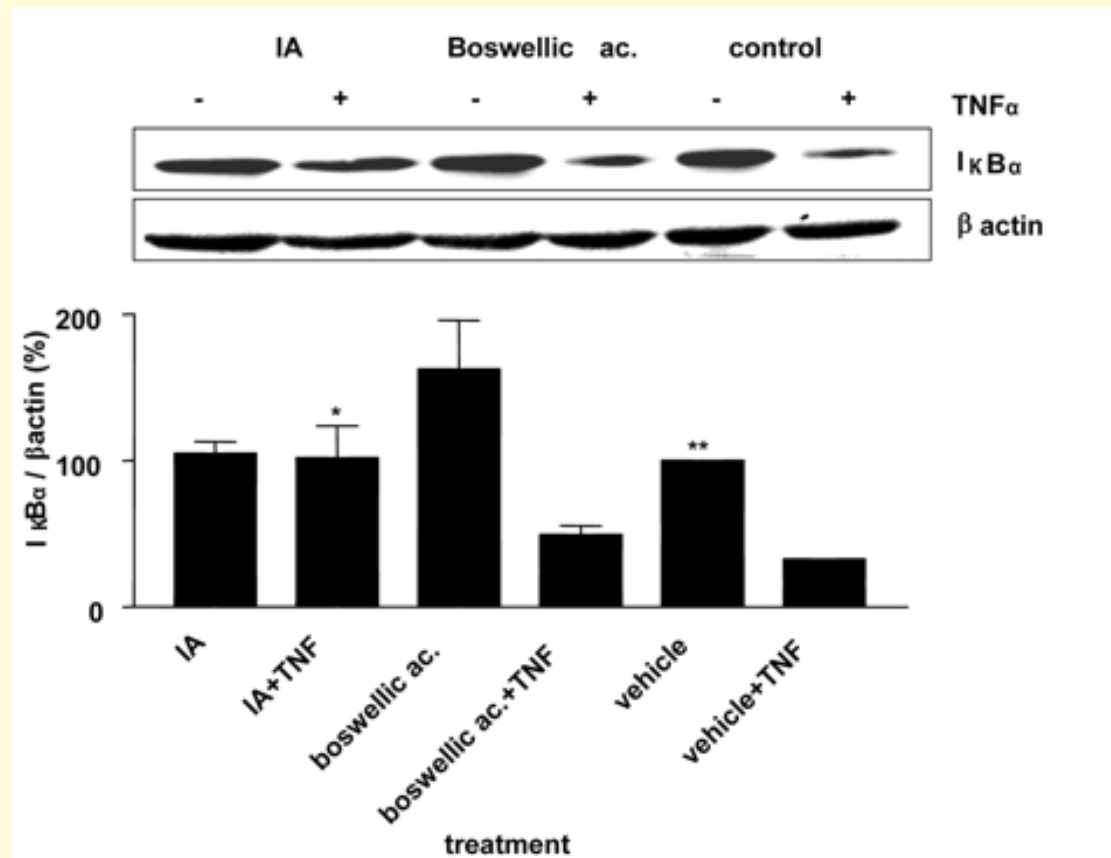
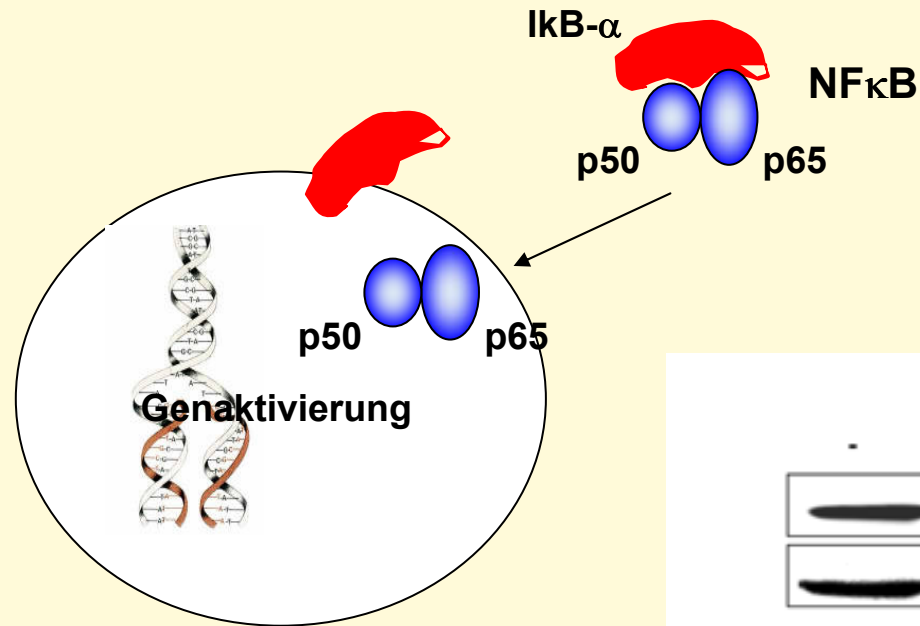
Department of Medicinal Chemistry and Natural Products, Medical Faculty (A.M., R.M.) and Department of Pharmacology and Experimental Therapeutics, School of Pharmacy (A.M., E.S.), Hebrew University, Jerusalem, Israel; School of Chemistry, Raymond and Beverly Sackler Faculty of Exact Sciences, Tel-Aviv University, Israel (Y.K.); Departments of Behavioral Sciences and Molecular Biology, the College of Judea and Samaria, Ariel, Israel (E.F.); Institute of Biochemistry, Medical Faculty, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany (M.L.S., F.R.); University of Freiburg Medical School, Department of Psychiatry, Germany (B.L.F.); Departamento Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba, Spain (E.M.); and the Lautenberg Center for Immunology, Hebrew University-Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel (Y.B.)

Received June 6, 2007; accepted September 6, 2007

ABSTRACT

Boswellia resin is a major anti-inflammatory agent in herbal medical tradition, as well as a common food supplement. Its anti-inflammatory activity has been attributed to boswellic

lipopolysaccharide-mediated NF- κ B activation. It had no effect on IKK activity in vitro, and it did not suppress I κ B α phosphorylation in costimulated T-cells, indicating that the



Incensole acetate, a novel anti-inflammatory compound isolated from Boswellia resin, inhibits nuclear factor-kappa B activation. Moussaieff A et al. Mol Pharmacol. 2007, 72:1657-64

Vitamin D decreases NF κ B activity by increasing I κ B α levels

Merav Cohen-Lahav^{1,2}, Shruga Shany¹, David Tobvin², Cidio Chaimovitz² and Amos Douvdevani^{1,2}

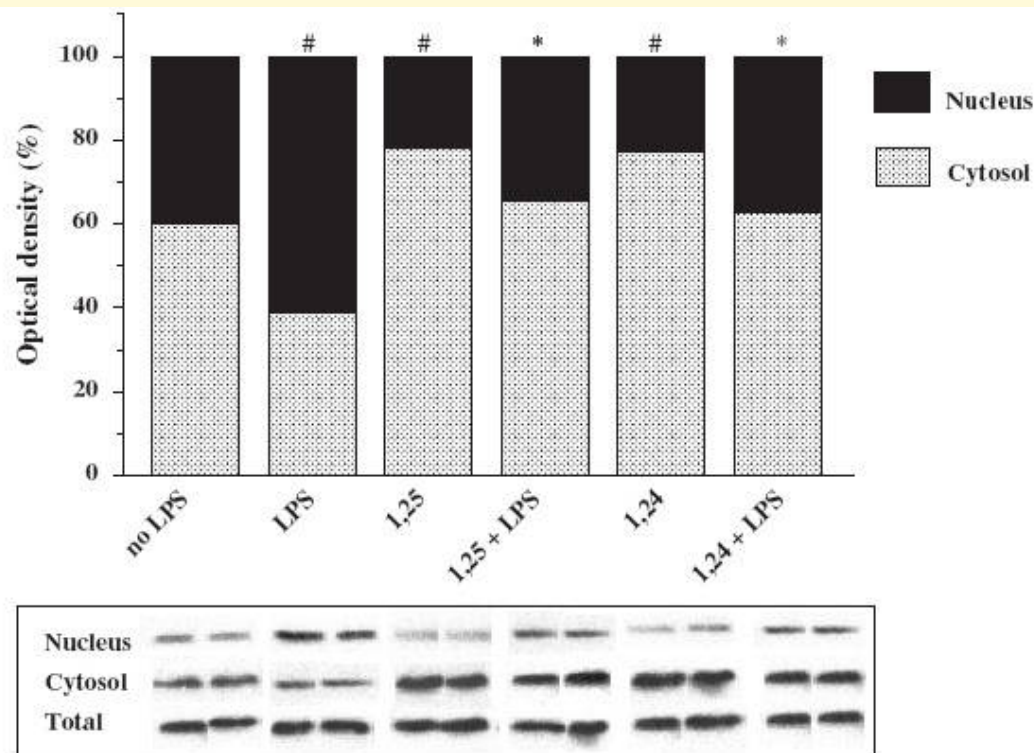


Fig. 4. Treatment of P388D1 cells with 1,25(OH) $_2$ D $_3$ or 1,24(OH) $_2$ D $_2$ reduces NF κ B-p65 in the nucleus and increases NF κ B-p65 in the cytosol. P388D1 cells were preincubated for 16h with 1,25(OH) $_2$ D $_3$ or 1,24(OH) $_2$ D $_2$ (10^{-7} M) followed by activation with LPS (1 μ g/ml) for an additional 0.5h. Nuclear and cytosol extracts were prepared and western blot analysis was performed, using an anti-NF κ B-p65 antibody. The results are expressed as mean $\pm$ SE and represent three experiments performed in duplicate # P < 0.05 vs no LPS, * P < 0.05 vs LPS alone.

Vitamin D hemmt dosisabhängig die Freisetzung von LPS-induziertem TNF- α

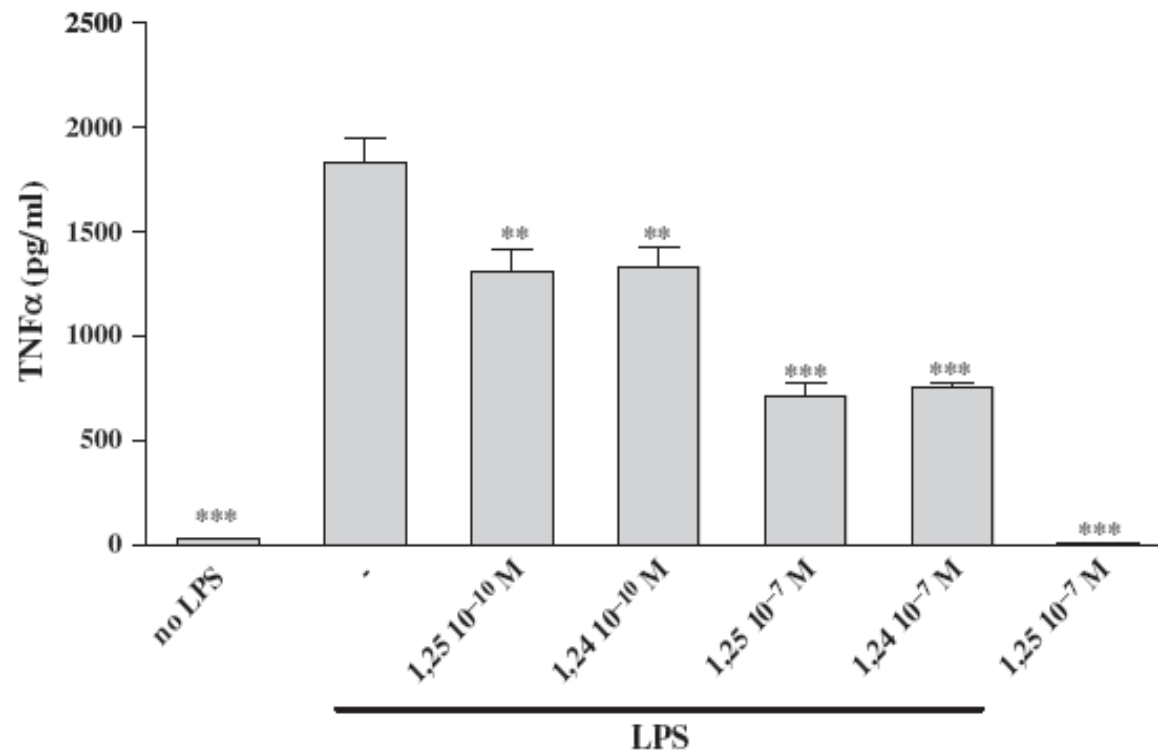


Fig. 1. Treatment of P388D1 cells with 1,25(OH) $_2$ D $_3$ or 1,24(OH) $_2$ D $_2$ reduces TNF α protein secretion. P388D1 (1×10^6 cells/well) were incubated for 16h with increased concentrations of 1,25(OH) $_2$ D $_3$ or 1,24(OH) $_2$ D $_2$ (10^{-10} to 10^{-7} M). This was followed by an additional 6h of incubation with LPS (1 μ g/ml). Supernatants were collected and subsequently assayed for TNF α protein levels by ELISA. The results are expressed as mean SE and represent three experiments performed in triplicate (*** P < 0.001, ** P < 0.01 vs LPS alone).

Wie lässt sich die gesteigerte chronische Entzündungsantwort hemmen?

1. Durch Elimination der Reize
(z.B. Behandlung von leaky gut oder Elimination eines bakteriellen Herdgeschehens)
2. durch Hemmung der NF κ B-Aktivierung in Makrophagen und damit der Synthese von proentzündlichen Zytokinen
3. durch Modulation der Toll-like-Rezeptoren auf Makrophagen mit dem Ziel, diese weniger responsiv auf proentzündliche Reize zu machen

oder durch 2. und 3.

Die entzündungshemmende Wirkung vieler Präparate ist durch Suppression der Toll like-Rezeptoren auf Makrophagen zu erklären

Specific inhibition of MyD88-independent signaling pathways of TLR3 and TLR4 by **resveratrol**.

J Immunol. 2005;175:3339-46

Inhibition of homodimerization of Toll-like receptor 4 by **curcumin**.

Biochem Pharmacol. 2006;72:62-9

S-adenosylmethionine prevents the up regulation of Toll-like receptor (TLR) signaling caused by chronic ethanol feeding in rats.

Exp Mol Pathol. 2011;90:239-43

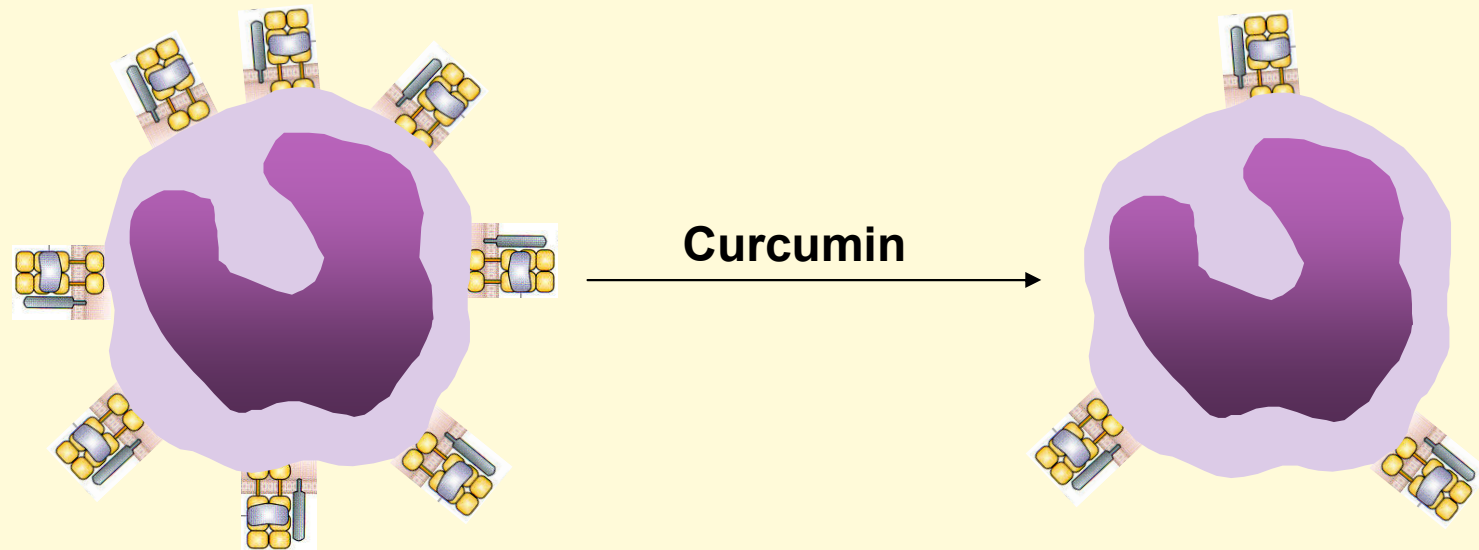
Vitamin D3 down-regulates intracellular Toll-like receptor 9 expression and Toll-like receptor 9-induced IL-6 production in human monocytes.

Rheumatology 2010;49:1466-71

Statins decrease Toll-like receptor 4 expression and downstream signaling in human monocytes.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005;25:1439-45.

Inhibition of homodimerization of Toll-like receptor 4 by **curcumin**.
*Biochem Pharmacol.*2006;72:62-9

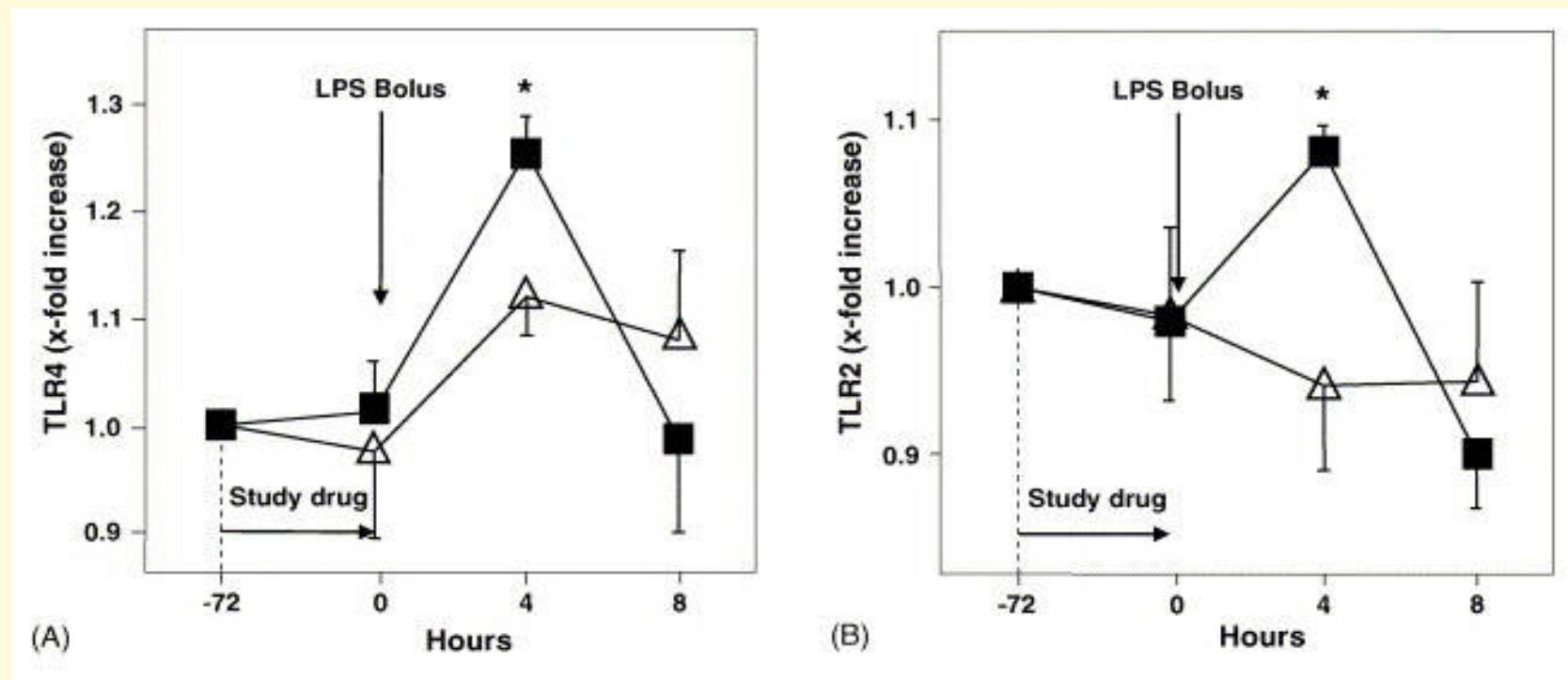


Makrophage ist weniger reagibel
auf (normale) endogene und exogene
Entzündungsreize (transloziertes LPS,
Immunkomplexe u.a.)

➡ **NFκB-Aktivierung ↓**
TNF-α, IL-1 Freisetzung ↓

Simvastatin suppresses endotoxin-induced upregulation of toll-like receptors 4 and 2 in vivo

Alexander Niessner^{a,d,*}, Sabine Steiner^b, Walter S. Speidl^a, Johannes Pleiner^c, Daniela Seidinger^b, Gerald Maurer^a, Jörg J. Goronzy^d, Cornelia M. Weyand^d, Christoph W. Kopp^b, Kurt Huber^e, Michael Wolzt^c, Johann Wojta^a



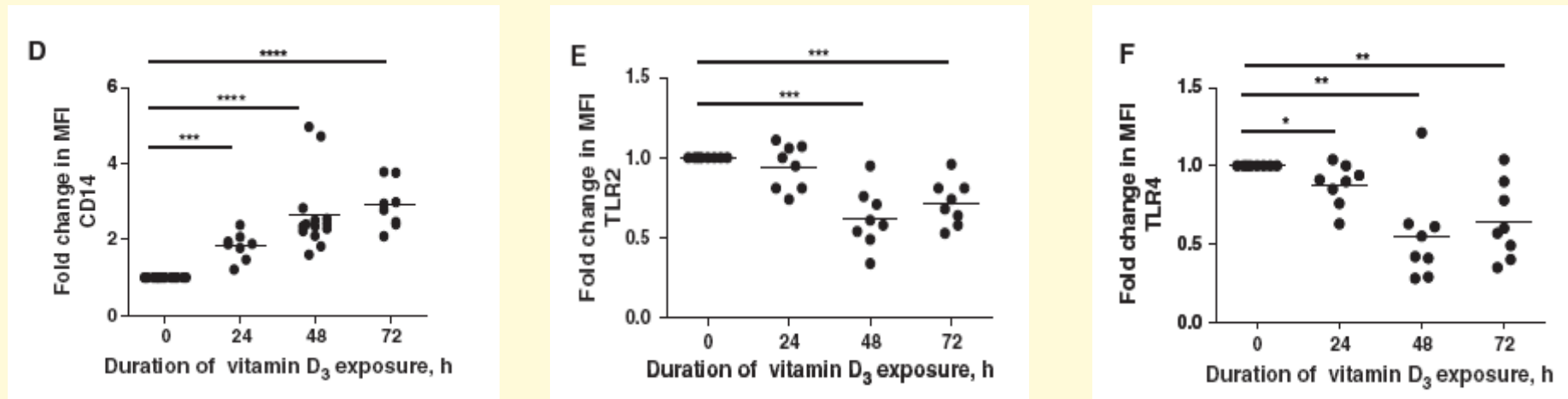
■ ohne Simvastatin
△ mit Simvastatin

Atherosclerosis 2006; 189: 408-413

Concise report

Vitamin D₃ down-regulates intracellular Toll-like receptor 9 expression and Toll-like receptor 9-induced IL-6 production in human monocytes

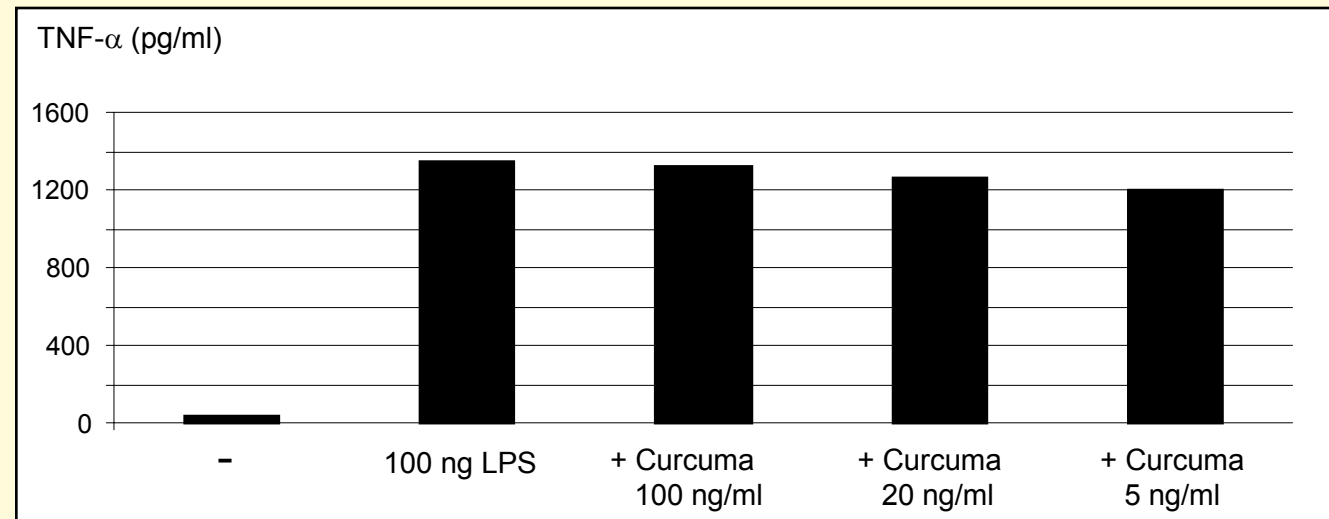
Laura J. Dickie¹, Leigh D. Church², Lydia R. Coulthard¹, Rebecca J. Mathews¹, Paul Emery¹ and Michael F. McDermott¹

**Rheumatology key messages**

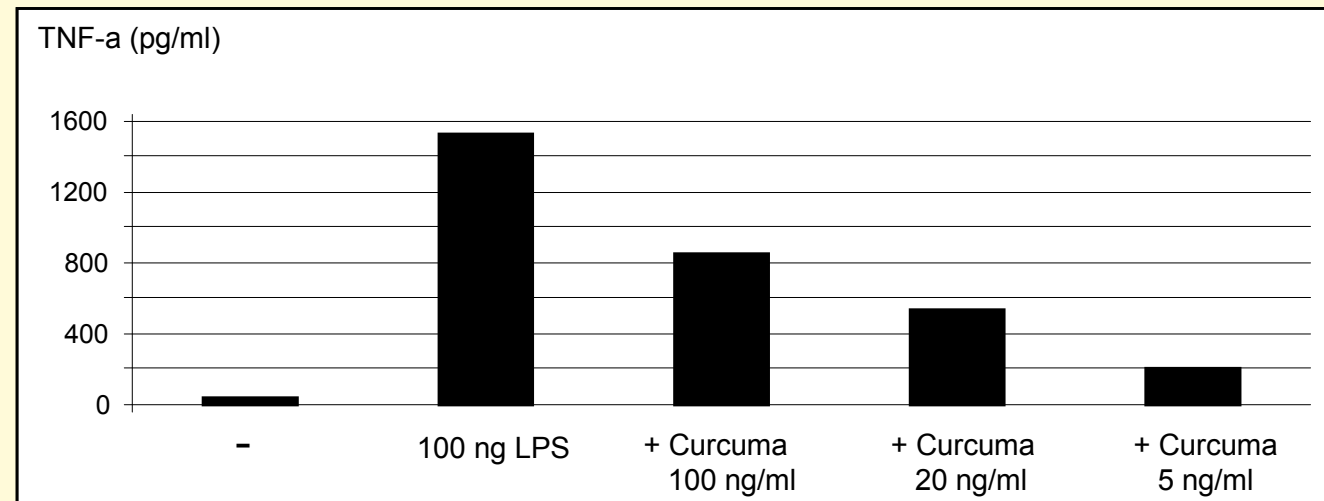
- Vitamin D₃ modulates expression of TLR9 in healthy human monocytes.
- Vitamin D₃ down-regulates TLR9 expression, which is associated with decreased IL-6 production.
- Modulation by vitamin D₃ may have clinical implications for susceptibility to autoimmune disease.

ABER: Das Ausmaß der NF κ B-Hemmung auf verschiedene Präparate ist sehr individuell.

Patient A

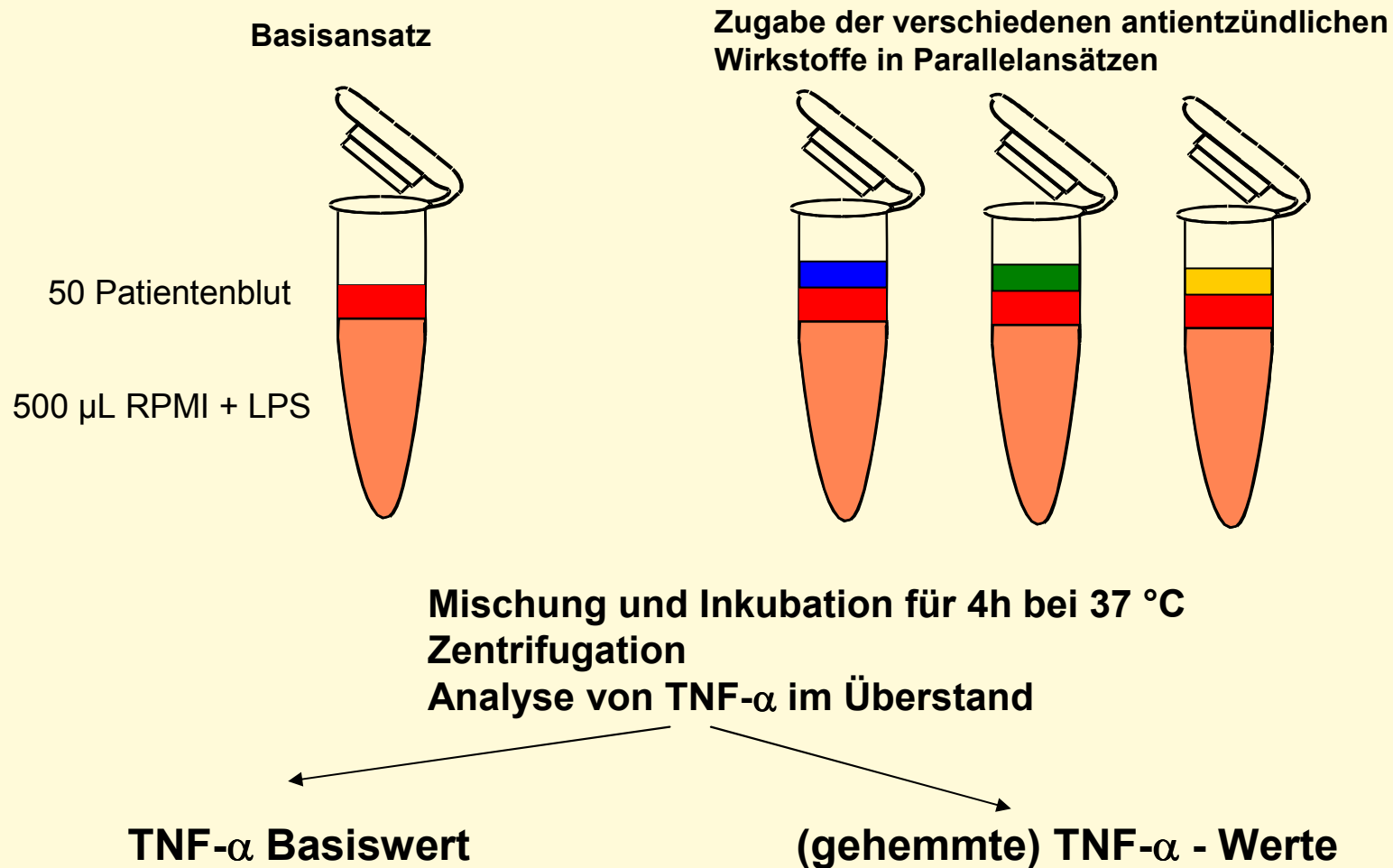


Patient B



Damsgaard CT et al.

Whole-blood culture is a valid low-cost method to measure monocytic cytokines - a comparison of cytokine production in cultures of human whole-blood, mononuclear cells and monocytes. *J Immunol Methods*. 2009;340:95-101



**Hier wirkt Silymarin und Boswellia-Extrakt am stärksten antientzündlich.
Hox alpha und Colibiogen wirken hier eher proentzündlich !**

TNF-alpha-Hemmtest

Der TNF-a-Basiswert ist die Bezugsgröße mit der die TNF-a-Werte der einzelnen Präparate verglichen werden.

Werte die niedriger als der Basiswert sind, zeigen eine anti-entzündliche Wirkung an. Höhere Werte sprechen für einen pro-entzündlichen in vitro-Effekt des jeweiligen Präparates.

			Hemmwirkung
TNF-a-Basiswert (LPS stimuliert)	1243.0	pg/ml	
TNF-a Präparat 1 Ziehöl	322.0	pg/ml	75% ↓
TNF-a Präparat 2 Hox alpha (Brennessel)	1476.0	pg/ml	+18% ↑ 
TNF-a Präparat 3 Boswellia	188.0	pg/ml	85% ↓
TNF-a Präparat 4 Silymarin (Mariendiestel)	64.9	pg/ml	94% ↓
TNF-a Präparat 5 Colibiogen	2177.0	pg/ml	+75% ↑ 

Interpretation

Deutliche antientzündliche Effekte zeigen sich durch das getestete Ziehöl, Boswellia und auch Silymarin. Das Hox alpha-Präparat wirkt eher TNF-a-induzierend. Colibiogen hat erwartungsgemäß proentzündliche Effekte auf Makrophagen.

Das Ausmaß der entzündungshemmenden Wirkung der Präparate ist individuell

n= 122 Patienten

Curcumin

Boswellia

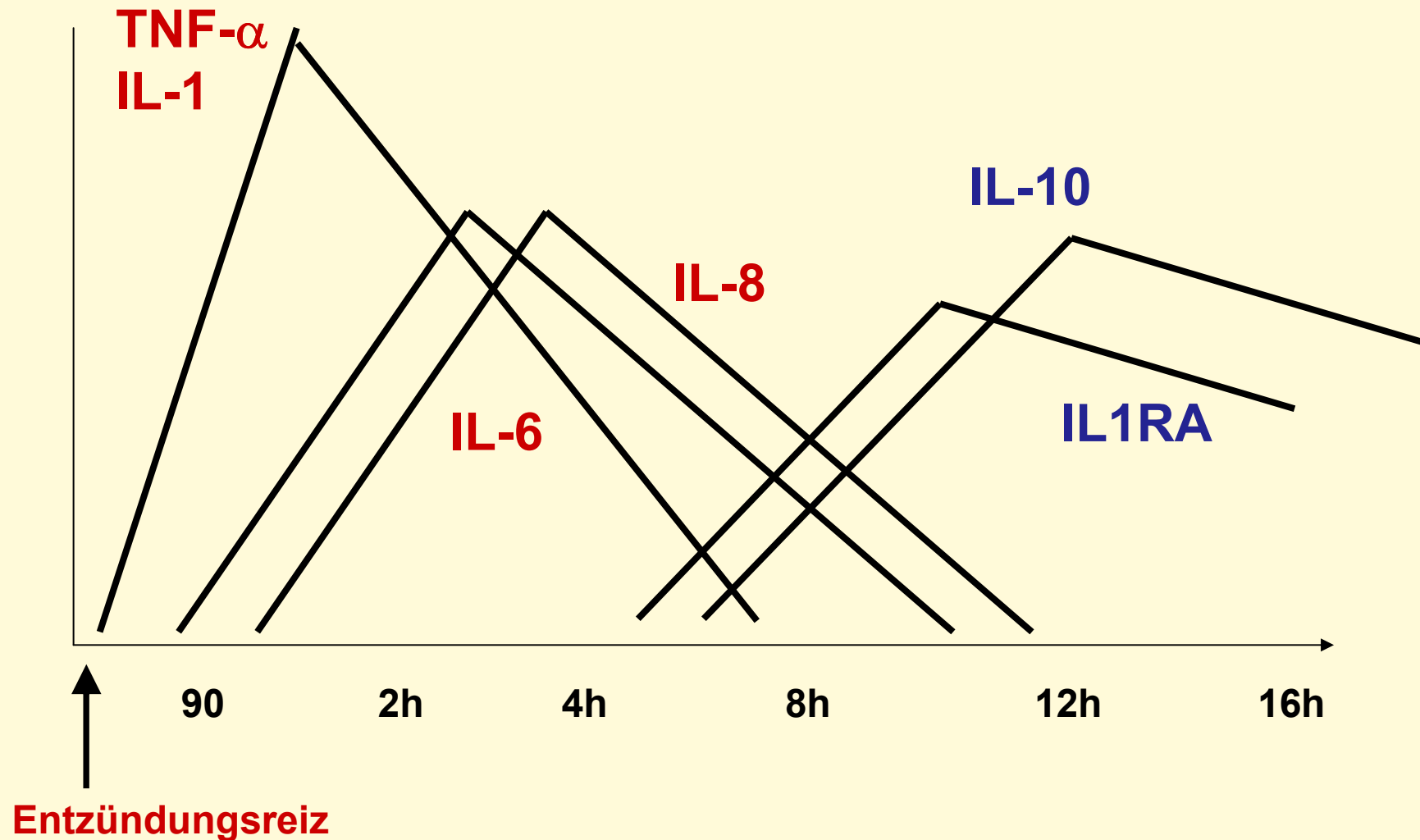
Resveratrol

S-Adenosylmethionin

Prednisolon

	Hemmung LPS-induzierte TNF- α -Freisetzung im Vergleich zum LPS-Basalwert		
	< 10%	10 – 50%	> 50%
Curcumin	17 %	47 %	36 %
Boswellia	22 %	36 %	42 %
Resveratrol	12 %	84 %	4 %
SAM	17 %	24 %	59 %
Prednisolon	3 %	22 %	75 %

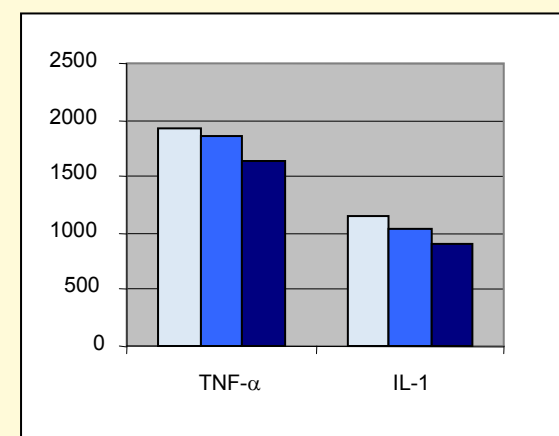
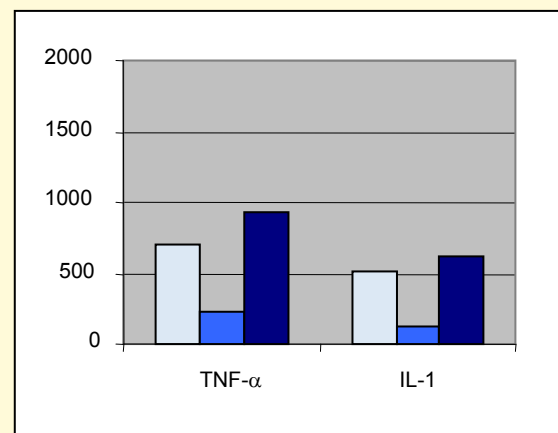
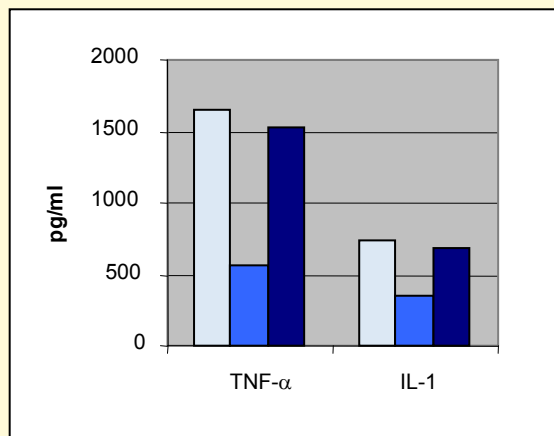
TNF- α ist als proentzündliches Schlüsselzytokin der ideale Marker um den Einfluss von Präparaten auf die NF κ B-Aktivität zu messen?



Warum TNF- α und nicht IL-1 ?

TNF- α ist als *read out* Parameter für die NF κ B-Aktivierung aussagekräftig für die Entzündungsantwort der Makrophagen

■ Basiswert ■ Curcumin ■ Resveratrol



TNF- α und IL-1 unterscheiden sich zwar in der absolut freigesetzten Menge, nicht aber in ihrer Reaktivität auf entzündungshemmende Präparate

TNF- α zeigt die höheren Basiswerte im Vergleich zum IL-1

Präparate die für die TNF- α -Hemmtest im Labor zur Verfügung stehen

Activomin	Colestyramin	Pro Sirtusan
Aktren	Colostrum	ProCurmin Complete II
Angocin	Curcumin	Pro Dialvit 44
Anti Inflamm	Dolozym	Quercitin
Arcoxia MSD	Eicosapen	Resveratrol
Arthroflexan plus	Enzymatin Omega 600	Rheuma-Hek
ASS	Eritrea Weihrauch	Salofalk
Bioflavonoids Citrus	Felis	SAM / Gumbaral
Boscari	Heridium-Erinaceus	Sanomit Q10
Boswellia	Hox-Alpha	Silymarin
Boswellia plus	Incanus	TNF-direkt (Viathen-A)
Bromelain	Inflazym	Trans Max
Cefatec 480	Lachsöl	Turmeric
Cellagon aurum	MSM	Urbason
Cell-Defense	Omega 3 Duo	Vayara
Cilantris	Praevent Loges	Viathen-T
Coenzym Q10	Prednisolon	Voltaren Resinat

Hier nicht genannte Präparate müssen einmalig mit eingesendet werden

Die zu untersuchenden Präparate müssen auf dem Anforderungsschein angegeben sein.

24	IL-1	S	27,98
25	IL-6	S	27,98
26	IL-8	Sz	27,98
27	IL-10	S	27,98
28	IFN- γ	S	27,98
29	IP-10 (TH1-Aktivität)	S	27,98
30	sIL-2-Rezeptor	S	27,98
31	TGF- β NEU	S	27,98
32	Histamin	H	33,22
32a	RANTES NEU	S	43,72

Oxidativer / Nitrosativer Stress			€
33	ATP-intrazellulär	24h H	43,71
34	MDA-modifiziertes LDL	S	27,98
35	Glutathion intrazellulär	24h H	66,22
36	Nitrotyrosin	E	29,15
37	Laktat / Pyruvat	2NaF	25,64

Immunmodulation				€
54	X TNF- α -Hemmtest	24h H	20,40 je	89
Zuzügl. einmalig 20,40 € für die Basalsekretion.				Präparat
55	IL-4-Hemmtest	24h H	20,40 je	90
Zuzügl. einmalig 20,40 € für die Basalsekretion.				Präparat
56	IFN- γ /IL-10-Modulation	24h H	40,80 je	91
Zuzügl. einmalig 23,31 € für die Basalsekretion.				Präparat
Zu testende Präparate (für 54, 55 oder 56) bitte hier eintragen:				
1.	X			
2.				
3.				
4.				
5.		+H	93	
6.		94		
				94a

Material: S Serum, Sz Serum zentrifugiert (aus Vollblut getrennt), H Heparin, E EDTA, NaF Natrium

Der Erfolg einer antientzündlichen Therapie ist an mehreren Labormarkern des zellulären Regulationssystems abzulesen.

1. Untersuchung: 8.3.2011

Untersuchung	Ergebnis	Einheit
Glutathion GSH-intrazellulär		
Lymphozyten CD3	122	mfi
Monozyten CD14	855	mfi
NK-Zellen CD16/56	725	mfi
Befund		
Grenzwertiger intrazellulärer Gehalt an reduziertem Glutathion (GSH). Wohingegen bei Monozyten und NK-Zellen der Normbereich erreicht wird, zeigen sich bei T-Zellen verminderte Spiegel.		
TNF-alpha i.S.	26.2	pg/ml
Interleukin 1-β i.S.	5.8	pg/ml
Interleukin 6 i.S.	11.8	pg/ml
Hinweise auf proentzündliche Reaktion		
Interleukin 10 i.S.	<5.0	pg/ml
Der fehlende Anstieg des antientzündlichen IL-10 verstärkt den Befund einer bestehenden proentzündlichen Reaktionslage.		
CRP hoch sensitiv i.S. (CLIA)	5.77	mg/l
IP-10 i.Serum (ELISA)	233	pg/ml
Kein Hinweis auf eine begleitende Aktivierung des TH1-Immunsystems.		
ATP intrazellulär ^{oo} (CLIA)	0.66	μM
Vermindertes intrazelluläres ATP als Hinweis auf eine sekundäre Mitochondriopathie.		

2. Untersuchung: 19.04.2011

Untersuchung	Ergebnis	Einheit
Glutathion GSH-intrazellulär		
Lymphozyten CD3	322	mfi
Monozyten CD14	911	mfi
NK-Zellen CD16/56	822	mfi
Befund		
Im Vergleich zum Vorbefund nahezu Normalisierung des intrazellulären Glutathions (GSH).		
TNF-alpha i.S.	14.3	pg/ml
Interleukin 1-β i.S.	<5.0	pg/ml
Interleukin 6 i.S.	10.3	pg/ml
Rückläufige Entzündungszeichen		
CRP hoch sensitiv i.S. (CLIA)	5.34	mg/l
ATP intrazellulär ^{oo} (CLIA)	2.11	μM
Im Vergleich zum Vorbefund ist das ATP angestiegen und liegt jetzt geringgradig unter dem Erwartungsbereich.		

Die Ergebnisse des TNF-Hemmtest können sich längerfristig verändern!

(d.h. sie sind nicht nur genetisch bedingt)

1. Untersuchung: 12.10.2010

TNF-alpha-Hemmtest

Der TNF-a-Basiswert ist die Bezugsgröße mit der die TNF-a-Werte der einzelnen Präparate verglichen werden.

Werte die niedriger als der Basiswert sind, zeigen eine anti-entzündliche Wirkung an. Höhere Werte sprechen für einen pro-entzündlichen in vitro-Effekt des jeweiligen Präparates.

TNF-a-Basiswert (LPS stimuliert)	1655	pg/ml
TNF-a Präparat 1 Curcumin	877	pg/ml
TNF-a Präparat 2 Boswellia	593	pg/ml
TNF-a Präparat 3 Resveratrol	632	pg/ml
TNF-a Präparat 4 Brennnessel	1622	pg/ml
TNF-a Präparat 5 Colibiogen	2643	pg/ml

2. Untersuchung: 22.07.2011

TNF-alpha-Hemmtest

Der TNF-a-Basiswert ist die Bezugsgröße mit der die TNF-a-Werte der einzelnen Präparate verglichen werden.

Werte die niedriger als der Basiswert sind, zeigen eine anti-entzündliche Wirkung an. Höhere Werte sprechen für einen pro-entzündlichen in vitro-Effekt des jeweiligen Präparates.

TNF-a-Basiswert (LPS stimuliert)		1525	pg/ml
TNF-a Präparat 1 Curcumin		588	pg/ml
TNF-a Präparat 2 Boswellia	 	1477	pg/ml
TNF-a Präparat 3 Resveratrol		622	pg/ml
TNF-a Präparat 4 Brennnessel		1600	pg/ml
TNF-a Präparat 5 Colibiogen		2387	pg/ml

Zusammenfassung

Die chronische systemische Entzündung ist Folge einer andauernden, nicht regulierten Stimulation von körpereigenen Entzündungszellen

Jedes körperfremde Signal kann Auslöser der Entzündung sein

Eine Entzündungshemmung ist möglich durch:

1. Elimination der Entzündungsreize (leaky gut, Herdgeschehen)
2. durch Hemmung der NF κ B-Aktivierung in Makrophagen und damit der Synthese von proentzündlichen Zytokinen (z.B. Kortikoide, Boswellia, Vit.D)
3. durch Modulation der Toll-like-Rezeptoren auf Makrophagen mit dem Ziel, diese weniger responsiv auf proentzündliche Reize zu machen (z.B. Curcuma, Simvastatin, Vitamin D, SAM, Resveratrol u.v.a.)

Die Wirkung dieser Präparate ist sehr individuell

Das individuelle Ansprechen auf die NF κ B-Hemmung kann anhand der Hemmung der TNF- α -Freisetzung gemessen werden