

Rebecca Maier  
Dr. med.

## **Cytochrom P450-Enzyme und Glutathion-S-Transferase Pi in normalen und in mit Karzinogenen behandelten pankreatischen Betazellen des Syrischen Goldhamsters**

Geboren am 24.03.1982 in Heidelberg  
Staatsexamen am 19.11.2008 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Alexis Ulrich

Das Pankreaskarzinom stellt in Deutschland die viert- bzw. fünfhäufigste Krebstodesursache dar. Über die Histogenese dieser prognostisch sehr ungünstig verlaufenden Erkrankung ist bisher jedoch wenig bekannt. Um die Mechanismen der Karzinogenese im Pankreas besser zu verstehen, und insbesondere um die Ursprungszelle der malignen Entartung innerhalb des Pankreas zu identifizieren, wurde das Hamstermodell etabliert.

Unter Verwendung des kanzerogenen Nitrosamins N-nitroso(2-oxopropyl)amin (BOP) konnten Pankreasadenokarzinome in Syrischen Goldhamstern induziert werden, die biologisch und morphologisch der entsprechenden Krankheit beim Menschen ähneln. Das Hamstermodell liefert wichtige Hinweise darauf, dass Inselzellen und insbesondere intakte Betazellen Voraussetzung für den kanzerogenen Effekt von BOP sind. Dies und die Tatsache, dass Betazellen nach den Alphazellen von allen pankreatischen Zellen als erstes mit der arteriellen Blutversorgung des Pankreas in Kontakt treten, führte zu der Fragestellung, inwieweit Betazellen Enzyme exprimieren, die möglicherweise an der Metabolisierung von kanzerogenen Stoffen wie BOP beteiligt sind.

Als Enzyme, die neben der Metabolisierung von endogenen Stoffen und Medikamenten auch immer häufiger mit der Aktivierung oder Detoxifizierung kanzerogener Stoffe in Verbindung gebracht werden, gelten die Cytochrom P450-Enzyme und die Glutathion-S-Transferasen.

Es wurden für diese Studie vier Cytochrom P450-Enzyme (CYP 3A4, CYP 2B6, CYP 2C8/9/19 und CYP 2E1) sowie Glutathion-S-Transferase Pi (GST-pi) ausgewählt.

Mittels PCR, Westernblot und Immunhistochemie wurde die Expression der genannten Enzyme in isolierten pankreatischen Betazellen des Syrischen Goldhamsters untersucht, die zuvor mit BOP oder 13-cis Retinoic Acid, einem weiteren, als potenziell kanzerogen geltenden Stoff, behandelt wurden.

Dabei wurde die Enzymexpression sowohl in kurz als auch in lange behandelten Betazellen untersucht und mit der Enzymexpression in unbehandelten Betazellen sowie in unbehandelten Inselzellen verglichen.

Ergebnisse: Bei der Enzymexpression der mit BOP behandelten Betazellen fielen besonders CYP 2E1 und GST-pi auf.

Auf cDNA-Ebene zeigten unbehandelte Betazellen hinsichtlich der CYP 2E1-Expression kein Signal, dagegen fanden sich bei der cDNA von mit BOP behandelten Betazellen sowohl nach kurzer als auch langer Exposition mit BOP deutliche Signale.

Pankreatische Betazellen, die kurz mit BOP behandelt wurden, zeigten in der Immunhistochemie keine Färbung, aber lange mit BOP behandelte Zellen waren in 50 % der Fälle schwach positiv.

Es scheint hier ein Zusammenhang vorzuliegen zwischen dem Kontakt der Zellen mit BOP und der (möglicherweise konsekutiv) verstärkten Expression von CYP 2E1 nach längerer Behandlungsdauer. Eine Erklärung hierfür wäre eine Hochregulation der Expression dieses Enzyms in den Betazellen im Rahmen der Metabolisierung von BOP.

Für GST-pi zeigten sich sowohl auf DNA- als auch auf Proteinebene Signale mit relativ ähnlicher, deutlicher Intensität. Immunhistochemisch war bemerkenswert, dass lange mit BOP behandelte Zellen offenbar deutlich mehr GST-pi-Enzyme exprimierten als nur kurz behandelte und unbehandelte Zellen. Es ist denkbar, dass die GST-pi als Reaktion auf BOP hochreguliert wird, um die durch Cytochrom P450-Enzyme produzierten Metabolite zu detoxifizieren. Betazellen, die mit 13-cis Retinoic Acid behandelt wurden, zeigten interessante Konstellationen bei der Expression von CYP 3A4 und GST-pi.

CYP 3A4 wurde bei der Immunhistochemie bei 20 % der kurz behandelten Zellen schwach exprimiert. Lange behandelte Zellen waren zu 80 % relativ stark gefärbt. Bei langer Behandlung scheint die Expression dieses Enzyms durch Betazellen stark hochreguliert zu werden, was aber nicht mit der Expression auf cDNA-Ebene korrelierte.

Für die Expression von GST-pi in mit 13-cis behandelten Betazellen fanden sich auf cDNA-Ebene für kurz und lang behandelte Zellen starke, aber nahezu identische Signale.

Immunhistochemisch war aber ein deutlicher Unterschied zwischen kurz behandelten Zellen, die zu 25 % schwach angefärbt waren, und lang behandelten, die zu 80 % sehr stark angefärbt waren, erkennbar. Glutathion-S-Transferase Pi ist möglicherweise ein potenter Katalysator bei der Metabolisierung von 13-cis-Retinoic Acid.

Schlussfolgerung: Die Konfrontation mit kanzerogenen Stoffen wie BOP oder 13-cis Retinoic Acid induziert in pankreatischen Betazellen des Syrischen Goldhamsters eine Veränderung

der Expression bestimmter Enzyme, die mit der Metabolisierung dieser Stoffe in Verbindung gebracht werden. Somit und angesichts ihrer mikroanatomischen Schlüsselposition könnten Betazellen eine nicht unwesentliche Funktion bei Kontakt des Pankreas mit kanzerogenen Stoffen ausüben.