



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Wirkung nicht-alkoholischer Inhaltsstoffe des Bieres auf die
Enzymsekretion von Pankreasazinuszellen der Ratte –
Zellbiologische Untersuchungen der molekularen Mechanismen**

Autor: Andreas Gerloff
Institut / Klinik: II. Medizinische Universitätsklinik
(Gastroenterologie, Hepatologie, Infektiologie)
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h. c. mult. Manfred V. Singer

Ziel der Studie war die direkten Effekte von alkoholischen Getränken, insbesondere Bier, auf die Enzymsekretion der Pankreasazinuszelllinie AR4-2J und von frisch isolierten Pankreasazinuszellen der Ratte *in vitro* zu untersuchen.

Methode: Die Rattenpankreasazinuszelllinie AR4-2J wurde für 72h mit Dexamethason differenziert und frisch isolierte Azinuszellen durch Collagenase-Verdau des Pankreas von Sprague-Dawley-Ratten gewonnen. Nach Inkubation der Zellen mit den Testlösungen für 60 Min. wurde die Amylasefreisetzung als Maß der Proteinsekretion mit Hilfe eines kommerziellen Testkits bestimmt. Zur Untersuchung der beteiligten Signalwege, wurden die Zellen vor der Stimulation für 15 min bzw. 30 min mit selektiven Inhibitoren oder Fura-2 AM vorinkubiert.

Ergebnisse: Die Inkubation von AR4-2J-Zellen mit Bier (1-10% (v/v)) bewirkte eine dosisabhängige Stimulation der basalen Amylasesekretion, während reines Ethanol, Wein oder alkoholische Getränke, die durch Destillation entstanden sind, keinen Effekt ausübten. Dieser stimulatorische Effekt war in frisch isolierten Pankreasazinuszellen reproduzierbar. Die Bestimmung von Lactatdehydrogenase nach 24h Inkubation der AR4-2J-Zellen zeigte, dass die bierinduzierte Amylasefreisetzung nicht auf einer Membranschädigung beruhte. Die Vorbehandlung der AR4-2J-Zellen mit selektiven Inhibitoren der bekannten Mediatoren der Stimulus-Sekretions-Kopplung in Pankreasazinuszellen zeigte, dass die bierinduzierte Amylasefreisetzung durch die Aktivierung der Phospholipase C (PLC), der Bindung von Inositol-1,4,5-triphosphat (IP₃) an seinen intrazellulären Rezeptor IP₃-R und der anschließenden Freisetzung von intrazellulärem Kalzium vermittelt wird. Die Beteiligung von Kalzium bei der bierinduzierten Amylasefreisetzung wurde auch durch die Verwendung des Kalziumchelators BAPTA/AM und der Fluoreszenzmessung mit dem Kalziumindikator Fura-2 AM bestätigt. Bezüglich der Charakterisierung der verantwortlichen stimulatorischen Substanzen des Bieres zeigte sich, dass sie ihren Ursprung in der Gerste haben und dass der Mälz- und Fermentationsprozess die Aktivität der Stimulantien kaum beeinflusst. Die Stimulation der Zellen mit behandeltem Bier (Destillation, Lyophilisierung, Dialyse und Proteaseverdau) deutete darauf hin, dass die verantwortlichen Komponenten hitzestabile, nichtflüchtige Proteine mit einem Molekulargewicht von größer als 15 kDa sind.

Diskussion: Zusammengefasst kann man sagen, dass sich die zuvor erhobenen humanen *in vivo* Daten in dem *in vitro* Modell bestätigt haben und Bier im Gegensatz zu reinem Ethanol und anderen alkoholischen Getränken eine stimulatorische Wirkung auf die Pankreassekretion von AR4-2J-Zellen und frisch isolierten Pankreasazinuszellen hat. Dieser Effekt wird hauptsächlich durch die Aktivierung von PLC und der anschließenden Kalziumfreisetzung vermittelt. Weitere Studien sind notwendig, um die noch unbekanntesten stimulatorischen Substanzen zu identifizieren. Die Ergebnisse legen aber den Schluss nahe, dass diese Substanzen bei weiteren Studien alkoholinduzierter pathologischer und funktioneller Veränderungen des Pankreas berücksichtigt werden müssen.