



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Fakultät für Klinische Medizin Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Differentielle Regulation der Endotoxinantwort intestinaler Epithelzellen im Kontext chronisch entzündlicher Darmerkrankungen**

Autor: Oleksandr Yezerskyy  
Institut / Klinik: II. Medizinische Universitäts-Klinik  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. U. Böcker

**Einleitung:** Die Ätiologie der chronischen entzündlichen Darmerkrankungen bleibt bis heute ungeklärt. Genetische, immunologische und Umweltfaktoren sowie ortständige und sekundär eingewanderte Zellpopulationen sind an der Pathogenese der chronischen entzündlichen Darmerkrankungen beteiligt. Tierexperimente haben zur Entdeckung der Rolle bestimmter Zellpopulationen, regulierender Faktoren und bakterieller Komponenten geführt. Intestinale Epithelzellen sind in der Lage, sich an der Initiierung und Unterstützung der intestinalen Entzündung durch Expression und Synthese von zahlreichen Entzündungsmediatoren zu beteiligen. Lipopolysaccharid (LPS/Endotoxin), ein Glycolipid der Zellwand gramnegativer Bakterien, stimuliert die Bildung und Freisetzung von IL-8 in intestinalen Epithelzellen. Potentielle Vermittler der LPS Antwort sind CD14, Toll-artige (TLR) sowie NOD Rezeptoren.

**Ziel:** In der vorliegenden Arbeit wurde die Stimulation der intestinalen epithelialen Zelllinien durch LPS, die LPS-vermittelte IL-8 Produktion, daran beteiligte Rezeptoren, dadurch aktivierte Signaltransduktionselemente sowie potentielle modulierende Einflüsse untersucht.

**Methodik:** Die IL-8 Produktion in HT-29 und Caco-2 Zellkulturen wurde mittels IL-8 ELISA, die Genexpression von TLR4, TLR2, CD14, NOD1 und NOD2 mittels RT-PCR, TLR4 Protein Expression mittels Western Blot sowie die IL-8 Genpromotor Expression mittels Transfektion untersucht.

**Ergebnisse:** 1. Die an der LPS Signalkette beteiligten Rezeptoren CD14, TLR2, TLR4, NOD1, NOD2 sind differentiell in intestinalen Epithelzelllinien exprimiert. Nur LPS-sensitive HT-29 Zellen exprimieren TLR4. Außerdem exprimieren LPS-sensitive HT-29/p Zellen keinen zytosolischen NOD2 Rezeptor und nur schwach den zytosolischen NOD1 Rezeptor. Butyrat vermindert die TLR4 mRNA Expression in undifferenzierten intestinalen Epithelzellen.

2. Undifferenzierte, transient und permanent differenzierte HT-29p Zellen reagieren unterschiedlich auf die LPS-Stimulation.

3. Die IL-8 Produktion der HT-29/p Zellen ist bei einer LPS Konzentration von 1 µg/ml unabhängig von funktionalem CD14.

4. Die LPS Antwort ist teilweise abhängig von der G Protein vermittelten p38 MAP Kinase und wird fast komplett durch die Hemmung der PI-3 Kinase aufgehoben.

**Schlussfolgerung:** LPS induzierte dosisabhängig die IL-8 Sekretion in undifferenzierten HT-29/p Zellen, die mit der Anwesenheit des TLR4 Rezeptors korreliert. Die IL-8 Produktion wird durch Vorbehandlung mit Butyrat, Inhibition G-Protein abhängiger Kinasen Aktivierung und Hemmung der Phosphatidyl-inositol-3' Kinase durch LY294002 vermindert bzw. komplett inhibiert. Eine Modulation der TLR4 Expression auf Rezeptorebene und der Rezeptor-nachgeschalteten Signaltransduktionswege könnte zur Verminderung der LPS-vermittelten Aktivierung eingesetzt werden.