

Elke Fischer  
Dr. sc. hum

***In vitro-* und *in vivo-*Untersuchungen zur Synthese und Sekretion von Fibrinogen in der Rattenleber. Einfluß von Bezafibrat auf die zonale Verteilung des Fibrinogens im Leberläppchen.**

Geboren am 03.06.1966 in Schrobenhausen  
Reifeprüfung am 17.05.1988 in Heidelberg  
Studiengang der Fachrichtung Biologie vom WS 1988 bis SS 1994  
Vordiplom am 27.09.90 an der Universität Heidelberg  
Diplom am 10.05.1994

Promotionsfach: Anatomie und Zellbiologie  
Betreuer: Prof. Dr. Dr. A. Völkl

In zahlreichen epidemiologischen Studien wurde eine Korrelation zwischen erhöhten Plasmakonzentrationen von Fibrinogen und koronaren Herzerkrankungen und Atherosklerose festgestellt und Hyperfibrinogenämie dementsprechend als ein weiterer, unabhängiger koronarer Risikofaktor eingestuft. Zu den am besten untersuchten "Fibrinogen-Senkern" gehört Bezafibrat, welches primär zur Behandlung von Hyperlipidämien eingesetzt wird.

In dieser Arbeit wurde der Einfluß von Bezafibrat auf die Fibrinogensynthese und -sekretion in: a) adulten Ratten, b) Monolayerkulturen primärer Gesamtheptacyten bzw. isolierter periportal und perizentraler Hepatocyten unter anderem nach Stimulation mit Interleukin-6 (IL-6) und Dexamethason (DEX) untersucht. Ferner wurde an der Rattenheptomzelllinie H-35 Neusynthese und intrazellulärer Transport der Fibrinogenketten im sogenannten pulse-chase-Experiment verfolgt.

Die wesentlichen Ergebnisse aus diesen Untersuchungen sind:

In den *in vivo*-Untersuchungen konnte nach Behandlung mit Bezafibrat eine 10 % ige Senkung des Plasmafibrinogenspiegels festgestellt werden, was durch zusätzliche Dot-Blot-Analysen noch untermauert werden konnte. Nach Defibrinierung der Ratten mit Ankrod konnte die inhibitorische Wirkung von Bezafibrat noch verdeutlicht werden. Die aus den Tierexperimenten erhobenen Daten gehen mit den Ergebnissen aus den *in vitro*-Untersuchungen weitgehend konform.

Die Behandlung der primären Hepatocyten mit IL-6 und DEX resultierte in einer erhöhten Fibrinogensynthese auf Proteinebene. Auf RNA-Ebene konnte nach dieser Akut-Phase-Stimulation eine erhöhte Menge an B $\beta$ -Fibrinogen-mRNA nachgewiesen werden.

Durch die Behandlung mit 100  $\mu$ M Bezafibrat konnte die Fibrinogensynthese um circa 20 % gesenkt werden. Dies zeigten die Ergebnisse aus ELISA-, Western-Blot- und Dot-Blot-Experimenten. In parallel durchgeführten Neutralrot-Tests konnten cytotoxische Wirkungen ausgeschlossen werden. In weiteren Untersuchungen konnte kein oder nur ein geringer Einfluß auf die Synthese anderer Akut-Phase-Proteine beobachtet werden, so daß die Spezifität von Bezafibrat auf die Fibrinogensynthese unterstrichen werden kann.

Die Expressionsrate periportalier Hepatocyten für Fibrinogen lag um den Faktor 1,5 höher als die perizentraler. Diese aus ELISA-Experimenten gewonnenen Ergebnisse konnten durch Northern-Blot-Experimente untermauert werden. Nach Behandlung mit Bezafibrat konnte in den periportalien Zellen mit 23 % eine größere Hemmrate gemessen werden als in den perizentralen Hepatocyten mit 10 %.

Im Vergleich zu primären Hepatocyten zeigten nicht-stimulierte H-35-Zellen eine geringere Fibrinogenexpression. Diese ließ sich jedoch nach Zugabe von IL-6 und DEX um das 4-fache stimulieren. Nach Behandlung mit Bezafibrat konnte hier, übereinstimmend mit den Ergebnissen aus den Experimenten mit primären Hepatocyten, eine Inhibition von ca. 15 % festgestellt werden.

Radioaktive Einbauexperimente mit [<sup>35</sup>S]-Methionin an H-35-Zellen weisen darauf hin, daß die Synthese der A $\alpha$ -Fibrinogenkette der limitierende Schritt in der Fibrinogensynthese sein könnte. Weitere Einbaustudien zeigten, daß alle drei Fibrinogen-Untereinheiten unter dem Einfluß von Bezafibrat koordiniert herunterreguliert werden und keine synergistischen Einflüsse des Pharmakons auf die Sekretion zu beobachten waren.