

Roller, Anja

## **Extrazelluläre Nukleotide führen zu einer Proliferationshemmung von Gallengangsepithelien in vitro**

Geboren am 3.5.1971 in Heilbronn-Sontheim

Reifeprüfung am 11.6.1991 in Beilstein

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1994 bis SS 2001

Physikum am 20.3.1997 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

1. Staatsexamen am 24.3.1998 an der Universität Heidelberg

2. Staatsexamen am 4.4.2000 an der Universität Heidelberg

Praktisches Jahr im Caritas Krankenhaus Bad Mergentheim und Spital Grenchen (Schweiz)

3. Staatsexamen am 15.5.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Christoph Elsing

Gallengangsepithelzellen sind an der Entstehung vieler cholestatischer Erkrankungen beteiligt. Die veränderte Zellproliferation spielt hierbei eine wesentliche Rolle und stellt somit therapeutische Angriffspunkte bei immunologischen und toxischen Lebererkrankungen dar.

Unser Anliegen war es daher, die Wirkung von extrazellulären Nukleotiden auf das Proliferationsverhalten von Gallengangsepithelzellen und den zugrundeliegenden Purinrezeptor zu identifizieren.

Wir untersuchten die Wirkung von extrazellulären Nukleotiden auf die Proliferation der Gallengangsepithelzellen. Dazu kultivierten wir Mz-ChA-1 Zellen bei 37<sup>0</sup>C und einem 5% igen CO<sub>2</sub> Anteil. Nach einer Inkubationszeit von 24h wurde dem Nährmedium extrazelluläres ATP in den Konzentrationen 10µM, 30µM, 60µM, 100µM, 150µM und 200µM und 1µCi/ml (6-<sup>3</sup>H)Thymidin zugesetzt und bei 37<sup>0</sup>C und 5% CO<sub>2</sub> 6h, 12h und 24h inkubiert. Als Kontrollgruppe dienten ATP-unbehandelte Zellen. Mittels photometrischer Bestimmung der DNA-Konzentration und der Messung des <sup>3</sup>H-Thymidineinbaus in die DNA konnten wir die Proliferation der Gallengangsepithelzellen in Abhängigkeit von der jeweiligen Inkubationszeit und ATP-Konzentration bestimmen. Zur Identifikation des beteiligten Nukleotidrezeptors wurde der Versuch mit den Nukleotiden ATP, UTP, ATP-γS und Adenosin in einer Konzentration von 100µM und bei einer Inkubationszeit von 24h wiederholt. Um herauszufinden wie schnell extrazelluläres ATP metabolisiert wurde, bestimmten wir mit Hilfe der HPLC-Methode die Konzentration der Katabolite.

In den Kontrollgruppen blieben die DNA-Konzentrationen und die Optischen Dichte Werte nahezu konstant.

Nach einer Inkubationszeit von 24h konnte bei allen ATP-Konzentrationen eine signifikante, zum Teil sogar hochsignifikante, Proliferationshemmung beobachtet werden, die bei einer ATP-Konzentration von 100 $\mu$ M ihr Maximum erreichte.

Bei der Identifikation des beteiligten Nukleotidrezeptors übten extrazelluläres ATP und Adenosin in fast gleichem Maße eine proliferationshemmende Wirkung auf die Gallengangsepithelien aus. Extrazelluläres UTP und ATP- $\gamma$ S hatten keinen Einfluß auf das Proliferationsverhalten.

Die Konzentrationsmessung von ATP und seiner Metabolite mittels HPLC zeigte, daß nach einer Inkubationszeit von 6h bereits 75% des zugesetzten ATPs metabolisiert war und die intrazellulären Metabolitkonzentrationen nur geringen Schwankungen unterlagen.

Insgesamt läßt sich aufgrund dieser Studie sagen, daß sowohl extrazelluläres ATP als auch Adenosin nach einer Inkubationszeit von 24h die Proliferation der Gallengangsepithelzellen konzentrationsabhängig hemmen. Aufgrund des schnellen ATP-Metabolismus und der Ergebnisse bezüglich des beteiligten Nukleotidrezeptors könnte extrazelluläres ATP und Adenosin über einen P1 Rezeptor vermittelten Anstieg des intrazellulären K<sup>+</sup>-Spiegels zu einer Proliferationshemmung führen. Es wäre jedoch auch denkbar, daß die extrazellulären Nukleotide eine Apoptose induzieren und somit das Wachstum der Gallengangsepithelzellen hemmen.