

Anselm Andreas Zdebik
Dr. med.

Calcium-regulierte exokrine Sekretion im Pankreas

Geboren am 06.04.1972 in Tübingen
Reifeprüfung am 11.06.1991 in Weinheim an der Bergstraße
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1991 bis WS 1997/98
Physikum am 27.08.1993 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Baltimore und Heidelberg
Staatsexamen am 28.05.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. phil. J.-C. Rüegg

Epithelien sezernieren nach Aktivierung verschiedener Signalwege Salze und Wasser, indem sie Cl^- an der basolateralen Seite aufnehmen und an der apikalen Seite wieder abgeben. Für den Transfer über die apikale Membran werden Cl^- -Kanäle postuliert. Pankreas-Acini werden durch Ca^{2+} -Agonisten (Azetylcholin, Cholezystokinin) zur Produktion eines Cl^- -reichen Sekrets angeregt.

Im Gegensatz zu vielen anderen Epithelzellen zeigen Pankreas-Acinuszellen der Ratte nach cholinergem Stimulation charakteristische Oszillationen ihres Membranpotentials. Sie werden von Oszillationen des intrazellulären Ca^{2+} begleitet. Aufbauend auf diese Befunde wurde ein Modell zur Aufnahme von Cl^- formuliert, das stark von den üblichen, auf Iontentransportern basierenden Modellen abweicht. Nach diesem sogenannten "push-pull"-Modell wird Cl^- in der "pull"-Phase über basolaterale Cl^- -Kanäle in die Acinuszelle aufgenommen. Sie wird dazu durch Öffnen nichtselektiver Kationenkanäle jenseits des Nernst-Potentials für Cl^- (E_{Cl}) depolarisiert und so der elektrochemische Gradient zum Einstrom von Cl^- in die Zelle geschaffen. In der "push"-Phase kehrt sich der Gradient um, d.h. das Membranpotential hyperpolarisiert gegenüber E_{Cl} , und Cl^- wird über apikale Kanäle wieder ins Lumen des Acinus abgegeben.

Voruntersuchungen zur vorliegenden Studie hatten eine Aktivierung nichtselektiver Kationenkanäle durch Ca^{2+} -Agonisten in höheren Konzentrationen (500 $\mu\text{mol/l}$ des Azetylcholin-Analogons Carbachol) unwahrscheinlich gemacht. Daher wurde zunächst mit der Ganzzellmodifikation der "patch-clamp"-Technik die Konzentrationsabhängigkeit der charakteristischen Membranpotentialoszillationen untersucht. Oszillationen des Membranpotentials traten nur bei Gabe einer niedrigen Konzentration von Carbachol auf. Sowohl in Ruhe, als auch unter solcher Stimulation war nur eine kleine nichtselektive Leitfähigkeit nachweisbar. Ihr Anteil an der Membranleitfähigkeit war zudem bei Gabe niedriger Konzentrationen von Carbachol deutlich geringer als in Ruhe. Die depolarisierenden Oszillationen erreichten E_{Cl} nicht und wurden durch eine Substitution des extrazellulären Na^+ nur wenig verändert. Die Beteiligung einer nichtselektiven Leitfähigkeit an den Oszillationen des Membranpotentials ist damit unwahrscheinlich. Sie konnten im wesentlichen auf eine oszillierende Cl^- -Leitfähigkeit zurückgeführt werden. Im zweiten Teil der Arbeit wurde diese Leitfähigkeit erstmals auf Einzelkanalebene charakterisiert. Carbachol aktivierte Kanäle der apikalen Membran an der Zelle mit sehr kleiner Leitfähigkeit (um 2 pS). Diese Kanäle waren auch exzidiert nachweisbar und zeigten dann eine nahezu identische Leitfähigkeit. Sie wurden

hinsichtlich ihrer Anionenselektivität untersucht und leiteten Γ besser als Br^- besser als Cl^- . Eine Substitution von Cl^- durch Glukonat reduzierte die Einzelkanalströme unter die Nachweisgrenze. Dagegen zeigte eine Substitution von Na^+ keine Wirkung auf die Einzelkanalströme. Hemmstoffe bereits bekannter epithelialer Cl^- -Kanäle hatten ebenfalls keine Wirkung auf die Einzelkanalströme. Durch Vergleich mit der basolateralen Membran wurde gezeigt, daß der Kanal spezifisch in der apikalen Membran lokalisiert ist. Die Regulation durch Ca^{2+} -Agonisten, seine Anionenselektivität und die apikale Lokalisation deuten darauf hin, daß der untersuchte Kanal dem Ca^{2+} -aktivierten sekretorischen Cl^- -Kanal vieler Epithelien entspricht, für den aufgrund von Rauschanalysen auch eine vergleichbare Einzelkanaleitfähigkeit postuliert wird.