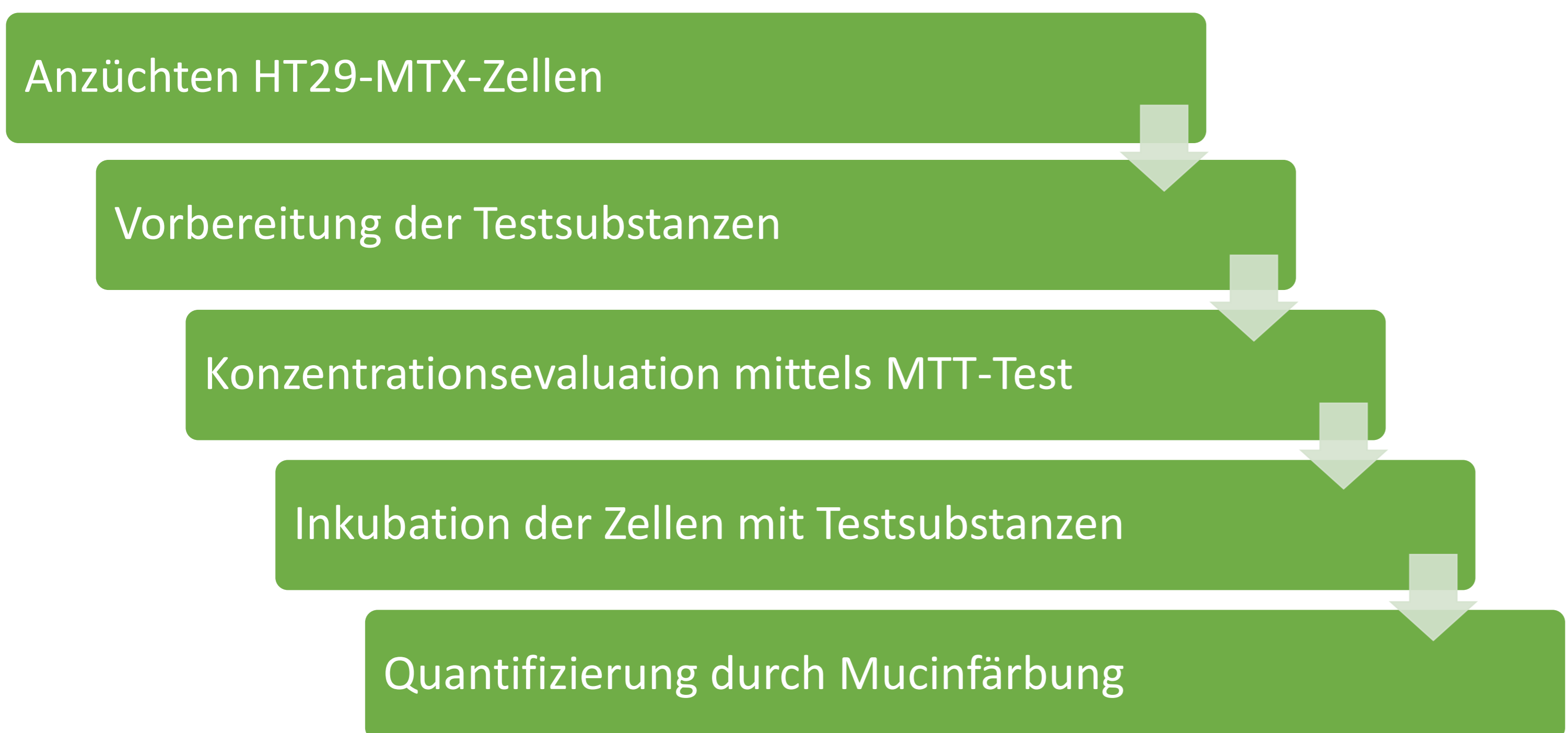


Viel Qualm um nichts? Schützt Rauchen vor Chronisch Entzündlichen Darmerkrankungen (CED)?

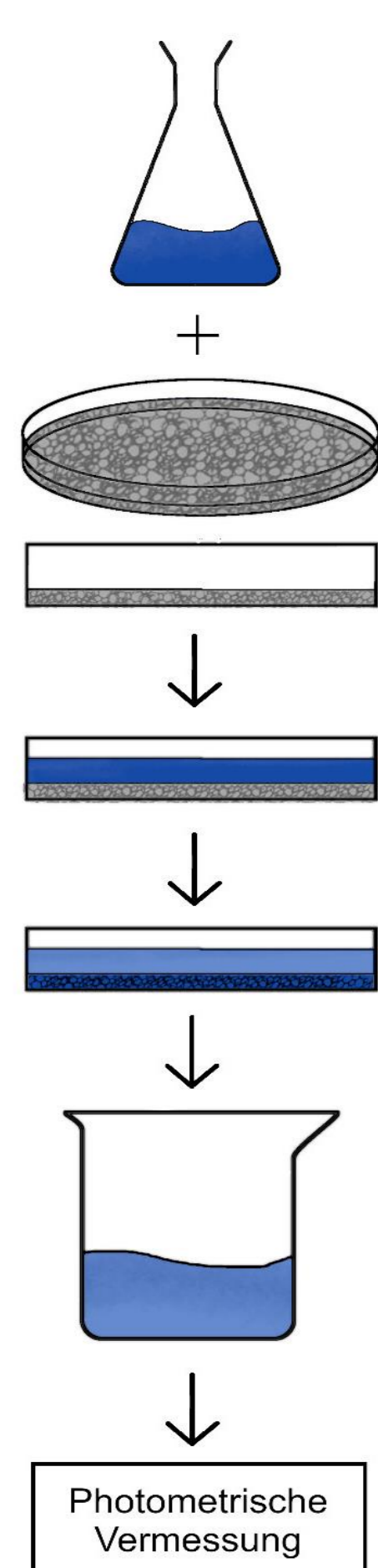
Fragestellung

Im Zusammenhang mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen gibt es immer wieder die Hypothese, Raucher seien weniger häufig betroffen. Manche Autoren beschreiben, dass die chronische Entzündung unter anderem auf einer nicht intakten Mucinschicht beruhe [1]. Mit diesem Projekt soll der Frage auf den Grund gegangen werden, ob verschiedene Substanzen, insbesondere Nikotin aus dem Rauch einer Zigarette, Einfluss auf die Mucinproduktion der Zellen der Darmschleimhaut nehmen, wodurch die mechanische Schutzbarriere der Darmwand gestärkt werden könnte.

Material und Methoden



Für das Experiment wurden sowohl synthetische Arzneistoffe als auch Extrakte von *Zingiber officinale* (Ingwer) und *Nicotiana tabacum* (Tabak) verwendet. Als Auszugsmittel bei der Extrakterstellung wurden Methanol für Ingwer und Dichlormethan für den Tabak verwendet. An Reinsubstanzen kamen neben Nikotin die Wirkstoffe Mesalazin und Budesonid zum Einsatz.



- ▶ Inkubation der HT-29-MTX-Zellen [2] mit den Arzneistoff-Lösungen bzw. den Extrakten
- ▶ Zugabe einer wässrigen Lösung des Farbstoffes Alcian Blue [3] zur Mucinquantifizierung
- ▶ Inkubation der Zellen mit dem Farbstoff für 2 Stunden
- ▶ Photometrische Vermessung des Überstands bei 620 nm → Inverser Assay

Abbildung 1: Schematischer Ablauf der Arbeitsschritte des inversen Mucin-Assays

Referenzen

[1] Christoph Möhle, DNA-Microarray Analyse bei Chronisch Entzündlichen Darmerkrankungen: Differentielle Expression von Mucin Genen, 2006
 [2] Thécla Lesuffleur, Alain Barbat et al., Growth Adaption to Methotrexate of HT-29 Human Colon Carcinoma Cells Is Associated with Their Ability to Differentiate into Columnar Absorptive and Mucus-secreting Cells
 [3] HF Steedman, Alcian blue 8GS: a new stain for mucin, 1950
 [4] Neal L. Benowitz, Janne Hukkanen, Peyton Jacob, Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers, 2010

Ergebnisse

Da alle getesteten Konzentrationen im MTT-Test ein negatives Ergebnis zeigten, konnte die Höchstkonzentration der jeweiligen Substanz aufgetragen werden, ohne mit toxischen Effekten rechnen zu müssen. Im Mucin-Assay zeigen Budesonid, Mesalazin und Ingwer mit 110%, 111% und 104%, bezogen auf die Unbehandelte Kontrolle (UK), keine signifikanten Ergebnisse. Für Nikotin als Reinsubstanz zeigt sich eine Erhöhung der Mucinproduktion, wohingegen Tabak diese stark verringert.

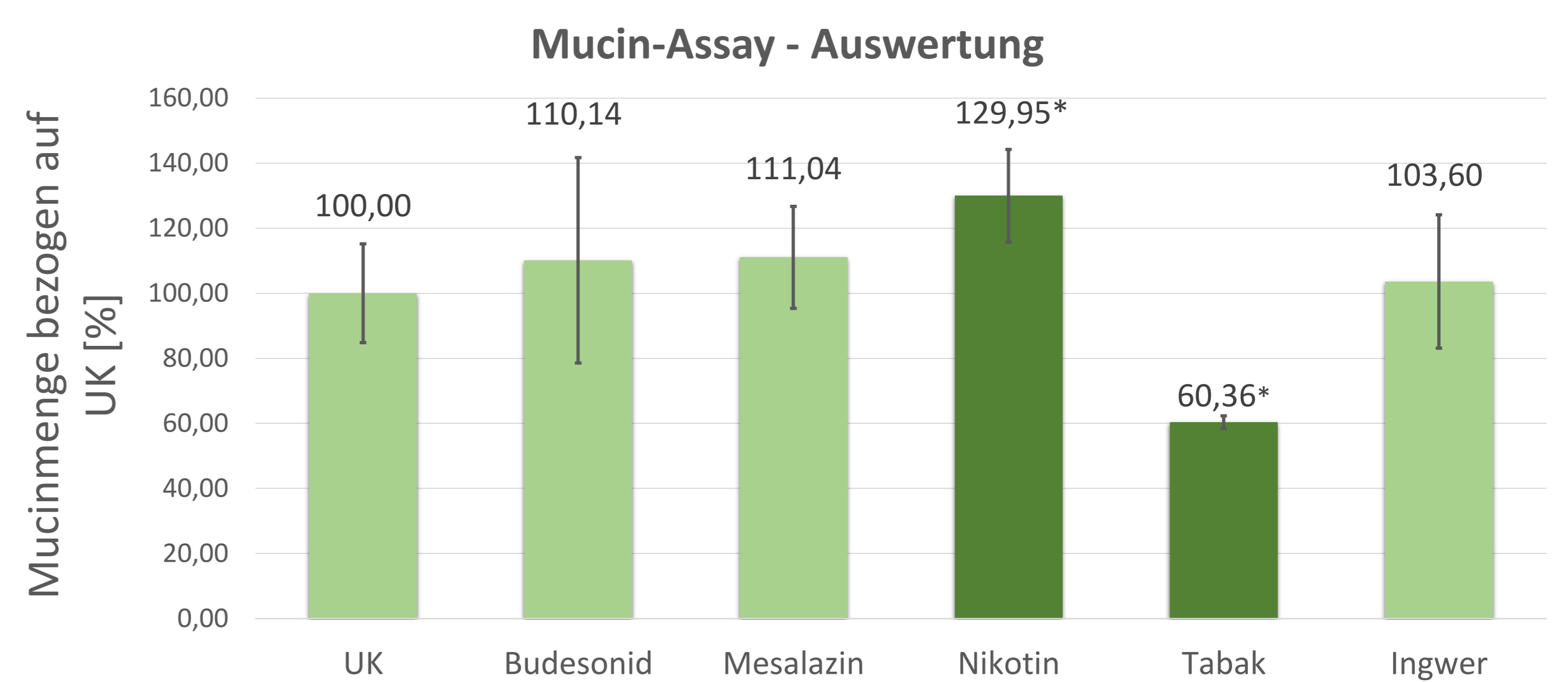


Abbildung 2: Mucinbildung der Testsubstanzen bezogen auf die unbehandelte Kontrolle als 100%. Die aufgetragenen Konzentrationen betragen für Mesalazin, Budesonid und Nikotin 100 µmol/mL (entsprechen 16,2 mg/L Nikotin); für Tabak- und Ingwerextrakt 100 µg/mL, Signifikanz gekennzeichnet durch *

Die folgende Tabelle vergleicht die Effekte der untersuchten Substanzen auf die Zellrasenbeschaffenheit und die Mucinbildung im Vergleich zur UK.


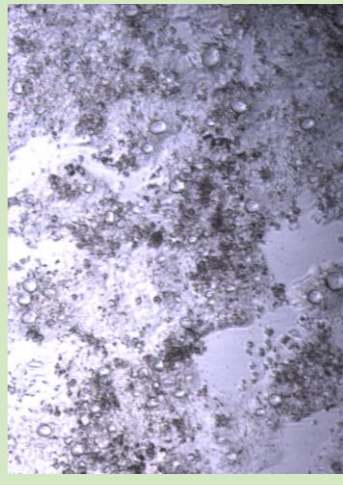
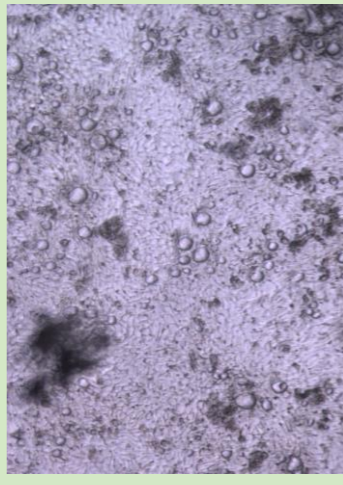

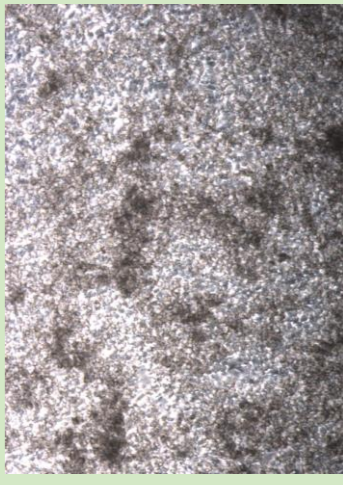
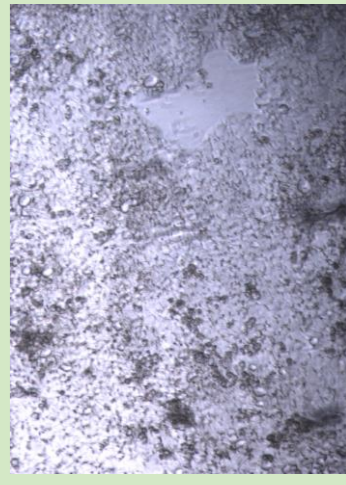

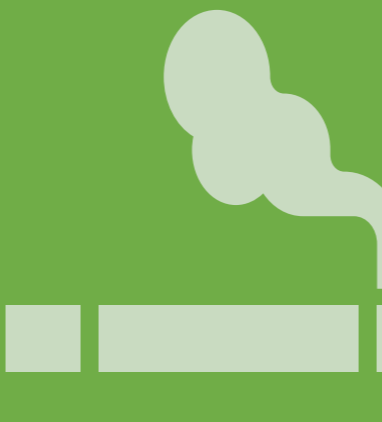

| Substanz | UK | Budesonid | Mesalazin | Nikotin | Tabak | Ingwer |
|--------------|---|---|---|---|---|---|
| |  |  |  |  |  |  |
| Zellrasen | durchgehend bewachsen | größere Lücken | durchgehend bewachsen | durchgehend bewachsen | abweichend nicht durchgehend, körniges Aussehen | kleinere Lücken |
| Mucinbildung | festgelegt als 100% | +10% | +11% | +30% * | -40% * | +4% |

Abbildung 3: Gegenüberstellung der Testsubstanzen im mikroskopischen Aussehen des Zellrasens und der Mucinbildung im Vergleich mit der unbehandelten Kontrolle, Signifikanz gekennzeichnet durch *

Diskussion

-  **Ingwer/Mesalazin/Budesonid**
Kein signifikanter Einfluss auf CED durch Mucinbildung
-  **Nikotin/Tabak**
Nikotin als Reinsubstanz erhöht die Mucinproduktion zwar stark, beim Rauchen wird jedoch der Tabak konsumiert, der sich negativ auswirkt. Außerdem beträgt die Nikotinkonzentration im Blut nach dem Rauchen einer Zigarette lediglich 5-30 µg/L [4]; Konzentration im Assay: 16,2 mg/L
-  **Ausblick**
Testung des Einflusses von Nikotin und Tabak auf andere Mechanismen die mit der Entstehung von CED zusammenhängen

Danksagungen

An dieser Stelle wollen wir uns ganz herzlich beim PharMSchool-Team, besonders Herrn Dr. Esch, für die intensive Betreuung während dieses Projektes bedanken. Außerdem gilt unser Dank unserem Mentor Prof. Dr. Hensel durch den die Idee für dieses Projekt erst entstanden ist.