

## Zusammenfassung

Mit Hilfe des Fluoreszenzindikators BCECF wurde die Regulation des cytosolischen pH ( $\text{pH}_i$ ) in kultivierten MCF-7 Brustkrebszellen untersucht. Ziel der Arbeit war es, die unterschiedlichen Mechanismen zur Regulation des  $\text{pH}_i$  zu beschreiben. Dazu wurde zum einen die Reaktion der Zellen auf unterschiedlich starke Ansäuerung mit Natriumpropionat in Form einer Dosis-Wirkungsbeziehung ermittelt und weiterhin die antiproliferative Wirkung einer  $\text{pH}_i$ -Senkung in einer MCF-7 Zellkultur geprüft. Zum anderen wurden die verschiedenen, zur Konstanthaltung des  $\text{pH}_i$  vorhandenen Systeme mit Hilfe von spezifischen Inhibitoren nachgewiesen und untersucht. Darüber hinaus sollten Temperatureinflüsse Informationen über den Einfluß der Veränderung von Reaktionsgeschwindigkeit und Membranfluidität auf die pH-Wertregulation liefern. Zusätzlich sollte der Einfluß der adrenergen Transmitter Noradrenalin und ATP auf den Ruhe- $\text{pH}_i$  und den Wiederanstieg getestet werden.

- Die Dosis-/Wirkungsbeziehung zwischen Ansäuerung mit Natriumpropionat und Verhalten des  $\text{pH}_i$  zeigt, daß ein starker Säurereiz (20 mM Natriumpropionat) einen steilen Abfall des  $\text{pH}_i$  hervorruft, der von einem Wiederanstieg gefolgt ist. Dabei erreicht der  $\text{pH}_i$  nach ca. 40 min ein stabiles Plateau, das ca. 0,06 Einheiten unter dem Ausgangswert vor Ansäuerung liegt. Nach schwachen Säurereizen (0,2 mM Natriumpropionat) fällt der  $\text{pH}_i$  hingegen stetig ab. Ein Wiederanstieg wird nicht beobachtet. Nach ca. 50 min liegt der  $\text{pH}_i$  um 0,28 pH-Einheiten unter seinem Ausgangswert vor Zugabe des Natriumpropionats.
- Obwohl der  $\text{pH}_i$  nach hoher Säurebelastung durch den Wiederanstieg näher am Ausgangswert vor Ansäuerung liegt als nach niedriger Belastung, haben hohe Natriumpropionatkonzentrationen einen Stillstand des Wachstums der Krebszellen in der Zellkultur zur Folge, während nach Belastung mit niedrigen Konzentrationen ein, wenn auch eingeschränktes, Wachstum noch möglich ist.
- Mittels der Inhibitoren Bafilomycin  $\text{A}_1$ , EIPA und Lonidamin konnten die drei wichtigsten bicarbonatunabhängigen Transportproteine V-Typ  $\text{H}^+$ -ATPase,  $\text{Na}^+$ / $\text{H}^+$ -Antiporter und Lactat/ $\text{H}^+$ -Symport funktionell und bezüglich ihrer jeweiligen Aktivität nachgewiesen werden. Auf den Ruhe- $\text{pH}_i$  haben dabei EIPA und Lonidamin die größte Wirkung, auf den frühen Wiederanstieg nach intrazellulärer

Ansäuerung hingegen Bafilomycin A<sub>1</sub>, während EIPA und Lonidamin den späten Anteil des Wiederanstiegs hemmen.

- Durch hohe Temperaturen (42°C) läßt sich vor allem der frühe Wiederanstieg stimulieren. Niedrige Temperaturen (22°C) haben hingegen einen hemmenden Einfluß auf die frühe und auf die späte Phase.
- Noradrenalin wirkt stimulierend auf den späten Anteil des Wiederanstiegs während ATP vor allem die frühe Phase aktiviert.

Die Ergebnisse zeigen, daß nach niedrigen Dosen Natriumpropionat der gewünschte Effekt (intrazelluläre Ansäuerung) viel stärker eintritt als nach höheren Dosen. Dennoch haben hohe Konzentrationen einen Stillstand des Wachstums der Krebszellen zur Folge während nach Belastung mit niedrigen Konzentrationen ein, wenn auch eingeschränktes, Wachstum noch möglich ist. Es ist anzunehmen, daß die für das Wachstum erforderliche Energie durch die erforderliche pH-Regulation nicht mehr zur Verfügung steht. Die Ergebnisse der Hemmversuche zeigen, daß alle drei Transporter in den MCF-7 Zellen vorhanden und an der Regulation des pH<sub>i</sub> maßgeblich beteiligt sind. Dabei haben im Ruhezustand der Zelle der NHE und der Lactat-/H<sup>+</sup>-Symport die größte Aktivität, während nach Säurebelastung die V-Typ H<sup>+</sup>-ATPase in der frühen Phase und der NHE in der späten Phase des Wiederanstiegs am aktivsten sind. Die frühe Phase des Wiederanstiegs ist durch erhöhte Temperatur sowie durch Zugabe von ATP stimulierbar. Die späte Phase kann durch Noradrenalin aktiviert werden.