

# Small human hepatocytes in der Behandlung von Alkoholkranken? Verstoffwechslung von Ethanol, Diazepam und Oxazepam in der Rotationszellkultur

Marion Pavlic<sup>1</sup>, Kathrin Libiseller<sup>1</sup>, Martin Hermann<sup>2</sup>, Paul Hengster<sup>3</sup>, Raimund Margreiter<sup>3</sup>, Martin Wurm<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Institut für Gerichtliche Medizin, <sup>2</sup>KMT Labor, <sup>3</sup>Klin. Abt. f. Allgemeine und Transplantationschirurgie, <sup>4</sup>BAL Projekt. Medizinische Universität Innsbruck

## Hintergrund

Über 50% der Todesfälle an Leberzirrhose sind alkoholbedingt

Therapie: Alkoholreduktion/-abstinenz

Prophylaxe von Entzugssymptomen mit Benzodiazepinen: Diazepam, Oxazepam

Einzige Therapie eines akuten Leberversagens ist nach wie vor die Transplantation – Problem der Organverfügbarkeit

Notwendigkeit des „bridgings“ von Patienten bis zur Transplantation

Bioartificialer Leberersatz mit Zellsystemen

Erfordernis: ausreichende Anzahl vitaler humaner Zellen mit ausreichenden Stoffwechsellleistungen

### Rotationszellkultur (RZK)

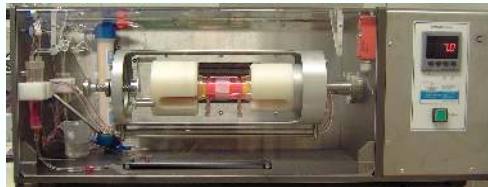
85 ml Kammer, 300 ml Medium

konstante Versorgung mit O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>

Diffusionsaustausch (Nährmedium, Stoffwechselprodukte)

über poröse Fasern

Zellwachstum an microcarriern (cytodex3-beads)

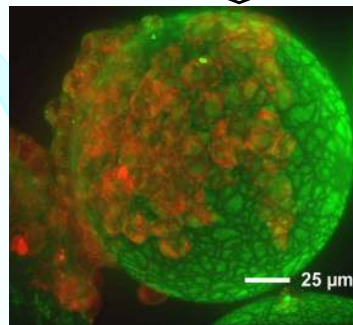
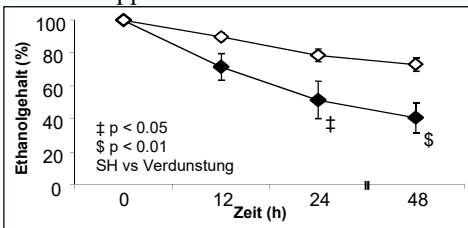


### A. Resultate Ethanol

Reduktion um 48±11% (24h) bzw. 59±9% (48h)

Vergl. Verdunstung 21±5% bzw. 27±5%

entspricht 4 ± 1.2 µg pro 10<sup>6</sup> Zellen pro h in RZK doppelt so schnell als in Standardzellkultur



grün (WGA): beads  
rot (TMRM): aktive Mitochondrien der SH

### Small human hepatocytes (SH)

hepatische Vorläuferzellen

Proliferation in vitro möglich

zeigen Leberzellfunktionen

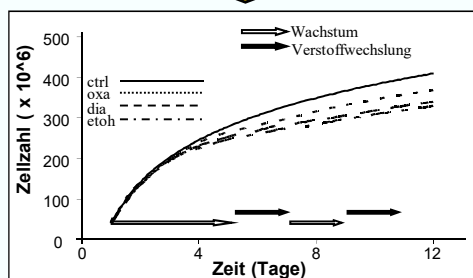
### Untersuchung von

Ethanol-Abbau

Diazepam-Metabolismus

Oxazepam-Metabolismus

Standardzellkulturparametern

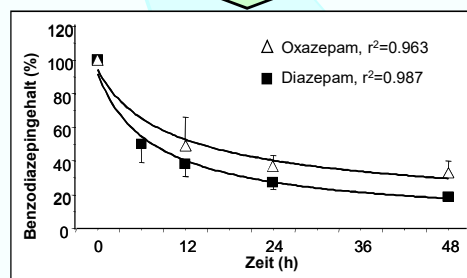


### Zell-Wachstum

reduziert um 18% (EtOH), 15% (Diazepam), 6% (Oxazepam)

	Glucose	Urea	LDH	Albumin
Kontrolle	0.90 ± 0.18	0.05 ± 0.016	9 ± 0.9	0.018 ± 0.011
Ethanol	0.90 ± 0.12	0.04 ± 0.005	56 ± 8.0 ‡	0.005 ± 0.001
Diazepam	1.30 ± 0.21	0.04 ± 0.005	77 ± 13 §	0.006 ± 0.001
Oxazepam	0.94 ± 0.11	0.04 ± 0.006	40 ± 16	0.002 ± 0.001 *

Standardzellkulturparameter der SH in RZK. Glucoseverbrauch, Urea-Produktion und Albuminsekretion (mg/24h/10<sup>6</sup> SH); LDH-Produktion (mU/24h/10<sup>6</sup> SH); ‡ p < 0.05, § p < 0.005, \* p = 0.08 vs Kontrolle.



### B. Resultate Oxazepam

Reduktion zu 36±6% (24h) bzw. 33±7% (48h)

### C. Resultate Diazepam

Reduktion zu 30±4% (24h) bzw. 19±5% (48h)

## Fazit

### SH verstoffwechseln Ethanol

Energiegewinnung

Belastung: Albuminproduktion sinkt, erhöhte Zelltodrate (6facher LDH-Anstieg), erniedrigtes Wachstum

### SH verstoffwechseln Diazepam

Hinweis für CYP 450 - Funktionen

Belastung: erhöhte Zelltodrate (LDH-Anstieg um 900%), erniedrigtes Wachstum, erhöhter Glukoseverbrauch

### SH verstoffwechseln Oxazepam

Hinweis für Konjugation (Glucuronsäure)

geringe Belastung: nur Albuminproduktion sinkt, schwach erniedrigtes Wachstum, Vitalität konstant bei 95%