

6. Zusammenfassung

Celecoxib ist ein wichtiger Vertreter selektiver COX-2-Inhibitoren. Dabei handelt es sich um eine potente antiinflammatorische und analgetische Substanz, die zur Behandlung von Erkrankungen des Bewegungsapparates, wie der rheumatoiden Arthritis oder der Arthrose, eingesetzt wird.

Mit Hilfe eines *in vitro* Systems sollte der Einfluss von Celecoxib auf die Zellvitalität, den Knochenstoffwechsel und den Energiemetabolismus humaner Osteoblasten näher untersucht werden. Es wurden sowohl Zellen der humanen Osteosarkomzelllinie MG-63 als auch primäre humane Osteoblasten verwendet und mit Celecoxibkonzentrationen von 10 μM und 50 μM inkubiert. Die Vitalitätsbestimmungen erfolgten mikroskopisch mit der Trypanblau-Ausschlussfärbung. Als ein bedeutendes Zytokin im Knochenstoffwechsel wurde Osteoprotegerin (OPG), welches knochenabbauende Prozesse verhindert, auf Transkriptionsebene (Realtime-PCR) und Proteinebene (ELISA) bestimmt. Die Wirkungen von Celecoxib auf den Energiemetabolismus der humanen Osteoblasten wurden beschrieben durch die Messung der Effekte auf den Glukosetransporter GLUT-1 (Realtime-PCR), den Sauerstoffverbrauch (Clark-Elektrode) und das Regulatorprotein HIF-1 α (Westernblot).

Celecoxib verursachte eine zeit- und konzentrationsabhängige Abnahme der Zellvitalität. 6 % der Zellen, die mit Celecoxib 50 μM inkubiert wurden, waren nach 24 Stunden nicht mehr vital. Dagegen bewirkte Celecoxib 10 μM nach 24 Stunden Inkubation nur einen Anteil von etwa 1,5 % avitalen Zellen. Celecoxib 10 μM rief weder in MG-63 Osteoblasten noch in primären humanen Osteoblasten eine messbare Expressionsveränderung von OPG auf Transkriptions- und Proteinebene im Inkubationszeitraum hervor. Dagegen führte Celecoxib 50 μM bei den primären humanen Osteoblasten zu einer 2,2fachen und bei den MG-63 Osteoblasten zu einer 3,6fachen, jeweils signifikanten, Reduzierung der OPG-mRNA-Expression nach 24 Stunden. Auf Proteinebene kam es bei den primären humanen Osteoblasten zu einer signifikanten (1,6fachen) Abnahme der OPG-Sekretion. Die Sauerstoffverbrauchsmessungen zeigten keine Soforteffekte nach Applikation von Celecoxib 10 μM . Nach 24 Stunden war jedoch eine etwa 20 %ige Erhöhung der zellulären Atmung eingetreten. Celecoxib 50 μM steigerte schon unmittelbar nach Zugabe den Sauerstoffverbrauch der Zellen signifikant um 21 %. Nach 24 Stunden zeigte sich ein um 32 % signifikant gesteigerter Sauerstoffverbrauch. Die Hypothese, dass diese Effekte durch eine Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung hervorgerufen werden, bestätigte sich durch parallele Untersuchungen mit dem Protonophore FCCP. Dem erhöhten Sauerstoffverbrauch der Zellen folgte konsekutiv die verstärkte mRNA-Expression des Glukosetransporters GLUT-1, was ebenfalls zeit- und konzentrationsabhängig war. Nach 24stündiger Inkubation mit Celecoxib 10 μM nahm die mRNA-Expression von GLUT-1 um den Faktor 2 zu; Celecoxib 50 μM bewirkte sogar eine 24fache Steigerung. Vermutlich wird unter diesen Bedingungen ATP nun verstärkt durch Glykolyse gebildet. Die gesteigerte Expression von GLUT-1 würde somit eine erhöhte Glukoseaufnahme zur Synthese des notwendigen ATPs garantieren. Die Expression von HIF-1 α war zu keinem Inkubationszeitpunkt messbar, was den Nachweis normoxischer Zustände während der Inkubation reflektierte.

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit geht hervor, dass Celecoxib neben der bekannten selektiven Hemmung der COX-2 auch andere Effekte, u. a. auf den zellulären Energie- und Knochenstoffwechsel und die Zellproliferation, hat. Diese Effekte treten jedoch nur bei sehr hohen Celecoxibkonzentrationen

Zusammenfassung

(50 μM) auf, die im klinischen Alltag bisher noch nicht erreicht wurden. Unter Berücksichtigung klinisch relevanter Celecoxibdosierungen werden in der Tumorthherapie der familiären adenomatösen Polyposis (FAP) maximale Konzentrationen von bis zu 10 μM erreicht. Bei diesen Konzentrationen bewirkt die Substanz in der vorliegenden Arbeit weder deutliche Effekte auf die Zellproliferation noch auf den Knochenstoffwechsel. Dagegen kann Celecoxib 10 μM eine Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung nach 24 h hervorrufen.

Für Celecoxib kann als Schmerzmittel zur Behandlung von Erkrankungen des Bewegungsapparates, wie der Rheumatoiden Arthritis, aus den dargestellten Ergebnissen kein klinischer Verzicht hergeleitet werden. Sowohl pharmakologische Aspekte als auch Aufklärungen von Nebenwirkungen bei hohen Celecoxibkonzentrationen werden Resultate weiterer Studien und Analysen erbringen.