

Jan Rolf Müller  
Dr. med.

## **Charakterisierung protektiver Eigenschaften von Ursodeoxycholy- Lysophosphatidylethanolamid in der Hepatofibrogenese**

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. W. Stremmel

Fibrotische Veränderungen der Leber entstehen durch einen chronischen Schädigungsprozess, welcher zur Akkumulation von extrazellulären Matrixproteinen führt. Zu den Hauptursachen dieses Krankheitsbildes gehören in den Industrienationen der Alkoholmissbrauch, die chronische Virushepatitis sowie die nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH), deren Entstehung wiederum auf weit verbreitete Risikofaktoren wie Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 zurückzuführen ist. Historisch als ein passiver irreversibler Prozess erachtet, der über einen Zeitraum von 15 bis 20 Jahren zur Entwicklung der komplikationsreichen Leberzirrhose führt, besteht auch heute noch die effektivste Therapie der Leberfibrose in der Entfernung des auslösenden Agens.

Mit den ersten klinischen Hinweisen auf eine potentielle Reversibilität der fortgeschrittenen Leberfibrose in den 70er Jahren sowie der Identifizierung der hepatischen Sternzellen als Hauptproduzenten des Kollagens in den 80er Jahren gelang es, experimentelle Modelle der Leberfibrose zu entwickeln, mit deren Hilfe Schlüsselzytokine wie TGF- $\beta$ 1, Angiotensin II, Leptin und Aktivin entdeckt wurden. Trotz des kontinuierlich zunehmenden Interesses der Forschung sowie biotechnologischer und pharmazeutischer Firmen an der Entwicklung antifibrotischer Therapien konnten bisher trotz vielversprechender Ansätze noch keine durchschlagenden Erfolge erzielt werden. Die Zielsetzung dieser Arbeit bestand darin, unter Verwendung bekannter Modelle (MCD-Modell *in vivo*) sowie durch die Etablierung neuer Fibrosemodelle (MCD-Modell und TNF- $\alpha$ /CHX-Modell *in vitro*), die antifibrotischen Eigenschaften des neu entwickelten Gallensäure-Phospholipidkonjugats UDCA-LPE zu untersuchen. Dabei ist es gelungen, die Wirkung von UDCA-LPE auf den zentralen profibrotischen TGF- $\beta$ -Signalweg, insbesondere auf die Aktivitäten von Smad3 und Smad2, zu charakterisieren. In den *in vitro* Versuchen konnten unter Verwendung einer hepatischen Sternzelllinie (LX 2) sowie einer humanen embryonalen Hepatozytenzelllinie (CL 48) im chronischen MCD-Modell und im akuten TNF- $\alpha$ /CHX-Modell inhibitorische Effekte von UDCA-LPE auf die mRNA-Expression zentraler Fibroseproteine (Kollagen Typ 1,  $\alpha$ -SMA, TGF- $\beta$ 1) nachgewiesen werden. Als Zeichen eines geringeren Aktivierungsstatus der hepatischen Kollagenproduzenten wurde im Western-Blot der hemmende Einfluss auf den

$\alpha$ -SMA-Proteingehalt in hepatischen Sternzellen dargestellt. Diese Ergebnisse konnten ebenfalls unter *in vivo* Bedingungen anhand eines 13,5-wöchigen MCD-Versuchs sowohl in der quantitativen RT-PCR als auch im Western-Blot bestätigt werden.

Die Untersuchungen des TGF- $\beta$ /Smad-Signalwegs im *in vitro* MCD- und TNF- $\alpha$ /CHX-Modell zeigten eine signifikante Inhibition dieses Signalwegs unter UDCA-LPE-Behandlung. In nachfolgenden Experimenten ergab sich auch unter dem direkten Einsatz des TGF- $\beta$ 1-Zytokins eine UDCA-LPE-vermittelte Inhibition der C-terminalen Phosphorylierung von Smad3 sowie eine Reduktion der Smad2-Proteinexpression verbunden mit einer reduzierten Aktivität von pSmad2 (Ser245/250/255, Ser465/467) sowohl in der humanen embryonalen Hepatozyten- (CL 48) als auch in der hepatischen Sternzelllinie (LX 2). Daraus resultierten drei zentrale Erklärungen für die antifibrotischen Eigenschaften von UDCA-LPE in der TGF- $\beta$ -induzierten Fibrose:

(1) Verminderung von C-terminal phosphoryliertem Smad3 in hepatischen Sternzellen und Hepatozyten, (2) Reduktion des Smad2-Proteingehalts in hepatischen Sternzellen und Hepatozyten und (3) Reduktion des an der Linker-Region phosphorylierten Smad2 in hepatischen Sternzellen.

Schlussfolgernd zeigte UDCA-LPE basierend auf der Inhibition des TGF- $\beta$ /Smad-Signalwegs sowie der hepatoprotektiven Eigenschaften sowohl *in vitro* als auch *in vivo* potente antifibrotische Fähigkeiten, die weitere präklinische und klinische Untersuchungen nahelegen, um den zukünftigen Einsatz von UDCA-LPE zur Behandlung der Leberfibrose zu ermöglichen.