

Inês Alexandra Marreiros Silva
Dr. sc.hum.

Mechanisms of carcinogenic iron accumulation in alcoholic liver disease

Fach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. Sebastian Mueller

Bei Patienten mit alkoholischer Lebererkrankung (ALE) zählt Eisenablagerung in der Leber als unabhängiger Risikofaktor für den weiteren Krankheitsverlauf, die Entwicklung von Leberzellkarzinom und das Überleben. In einer oxidativen Umgebung kann Eisen eine höchst karzinogene Wirkung durch Fenton-ähnliche Reaktionen, die zur Produktion von reaktiven Hydroxylradikalen führen, hervorrufen. Deshalb könnte die Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen zu neuen potentiellen klinischen Anwendungen führen, die die Eisenablagerung in ALE Patienten verhindern oder senken. Das Peptid-Hormon Hepcidin zählt aufgrund seiner einzigartigen Eigenschaft den Eisenexporter Ferroportin zu regulieren als Masterregulator der systemischen Eisenhomeostase. Sowohl erblich bedingte Eisenüberladungen (Hämochromatosen) als auch Eisenmangelkrankungen können auf eine Fehlregulation von Hepcidin zurückgeführt werden. Hepcidin wird hauptsächlich von Hepatozyten sekretiert und durch viele Faktoren, wie dem Eisenspiegel im Blut, Zytokine oder H_2O_2 reguliert. Jedoch sind die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen, welche durch ALE-vermittelte Bedingungen reguliert werden, noch nicht vollständig erklärt. In dieser Studie wurde die Hepcidinregulation *in vitro*, in Hepatozyten und Makrophagen, unter (patho-)physiologischen Sauerstoff- und H_2O_2 -Spiegel erforscht. *In vivo* wurden die verschiedensten Faktoren und Signale, die zu einer Fehlregulation von Hepcidin führen, in einer großen ALE Patientenkohorte untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass ausgeprägte (1% O_2) sowie milde (5% O_2) Hypoxie Hepcidin mRNA in Huh7 Zellen und primären Hepatozyten über den STAT3 Signalweg induziert, dies jedoch unabhängig von HIF-1 α geschieht. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass niedrige Sauerstofflevel zu einer drastischen Erhöhung und somit Sensibilisierung der H_2O_2 -vermittelten Hepcidin Induktion führen. Dies deutet darauf hin, dass intrazelluläre Oxidasen eine wichtige Rolle bei der Hepcidinregulation spielen. Im Detail konnte gezeigt werden, dass NOX4 über die Phosphorylierung von STAT3 wesentlich an der Hepcidin Induktion in Hepatozyten beteiligt ist. Eine wichtige Rolle von anderen Oxidasen, wie NOX2 bei der Hepcidinregulation während der Monozyten zu Makrophagen Differenzierung konnte ebenfalls nachgewiesen werden. Durch die Inhibierung von NOX2 konnte die Hepcidin-Induktion und die Sekretion von Zytokinen, wie IL-1 β , während der Differenzierung komplett aufgehoben werden. Ko-Kulturen von Huh7 und Makrophagen sowie Makrophagen konditioniertes Medium führte ebenfalls zu einer vermehrten Hepcidinexpression in Hepatozyten unter Hypoxie. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass von Makrophagen sekretiertes IL-1 β für die Hepcidin-Induktion in Hepatozyten über die Aktivierung von STAT3 und C/EBP δ , jedoch unabhängig von IL-6 verantwortlich ist. Es konnte bewiesen werden, dass die Aktivierung von NOX2 während der Monozyten zu Makrophagen Differenzierung und die nachfolgende Hepcidin-Induktion in Hepatozyten hauptsächlich durch IL-1 β vermittelt wird. Ergänzend zu den *in vitro* Versuchen und gegensätzlich zu früheren Patientenstudien zeigte die klinische Studie, dass Hepcidin bei chronischen Alkoholikern stark induziert und sehr variabel ist. Dies ist wahrscheinlich auf die Beteiligung vieler Faktoren, die während der Alkohol-induzierten Leberschädigung eine Rolle spielen, zurückzuführen. Darüber hinaus wurde hierbei eine positive Korrelation zwischen Hämolyse und erhöhten

Eisenablagerung gezeigt, was die Rolle der alkoholinduzierten-Hämolyse bei der Förderung der hepatischen Eisenüberladung belegt. Außerdem konnte eine vermehrte Expression von NOX4 sowie Entzündung und eine Beteiligung des STAT3 Signalweges bei der Heparidin Induktion im Patienten nachgewiesen werden, jedoch scheint STAT3 nicht maßgeblich an der Induktion von Heparidin bei Zirrhotikern beteiligt zu sein. Zusammenfassend schlägt diese Arbeit die Hämolyse als mögliche Ursache der hepatischen Eisenablagerung bei Patienten mit ALE vor sowie eine neue Rolle von Oxidasen wie NOX4 und NOX2, die über den STAT3 Signalweg Heparidin induziert. Alle diese Mechanismen tragen zur (Dys-)Regulation der systemischen Eisenhomöostase bei Patienten mit ALE bei.