

Peter Kvacskay

Dr. med.

Die Analyse des Glukosemetabolismus synovialer Fibroblasten unter der Stimulation mit T-Helferzellen bei der Rheumatoiden Arthritis

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Hanns-Martin Lorenz

Einleitung: Gemäß dem 1927 durch Otto Warburg beschriebenen und nach ihm benannten Effekt gewährleistet eine mit erhöhtem Umsatz betriebene anaerobe Glykolyse malignen Zellen die Bereitstellung energiereichen Adenosintriphosphats (ATP) und ermöglicht diesen dadurch die Zellteilung unter hypoxischen Bedingungen in einem sich schnell vergrößernden Tumorgewebe. Die pathogenetische Relevanz dieses Mechanismus konnte nicht nur für verschiedene Tumorentitäten nachgewiesen werden, sondern auch für die Rheumatoide Arthritis (RA). In zahlreichen Studien ist dargestellt worden, dass die Interaktion zwischen T-Helferzellen (T_H Zellen) und synovialen Fibroblasten (SF) eine bedeutende Rolle in der Entstehung und Aufrechterhaltung der intraartikulären Entzündung sowie der konsekutiven Destruktion des Gelenks bei der RA spielt. Analog zu malignen Zellen konnte sowohl für T_H Zellen als auch für SF eine Steigerung der anaeroben Glykolyse mit reduziertem aerobem Stoffwechsel aufgezeigt werden. Das invasive Wachstumsverhalten und die enthemmte Proliferation der synovialen Fibroblasten, welche bei der RA auf Veränderungen der intrazellulären Signalweiterleitung und Gentranskription ähnlich der von malignen Zellen beruhen, korrelierte dabei mit dem Ausmaß der anaeroben Glykolyse. Obwohl dieser Mechanismus bei T_H Zellen und SF einzeln beschrieben wurde, ist der Einfluss der T_H Zellen auf den Glukosemetabolismus und die inflammatorischen Eigenschaften der SF bisher nicht untersucht worden. Zielsetzung dieser Dissertation ist die Untersuchung des Einflusses von T_H Zellen auf den Glukosemetabolismus und die inflammatorischen Eigenschaften der SF sowie die Auswirkung der Inhibition dieses Mechanismus durch verschiedene Biologika, zwei Inhibitoren des Janus-Kinase (JAK) Signalweges und zwei glykolytischen Inhibitoren.

Methoden: RASF (*rheumatoid arthritis synovial fibroblasts*) sowie nicht-inflammatorische SF von Patienten mit Arthrose (OASF von engl. *osteoarthritis* = OA) wurden in Ruhebedingungen

sowie unter Stimulation mit Zellkulturüberständen (SN von engl. *supernatant*) stimulierter T_H Zellen kultiviert. Die Messung des Glukosemetabolismus erfolgte mit einem Magnetresonanzspektrometer (NMR). Die Konzentrationen der durch die SF in Ruhe und unter Stimulation sekretierten inflammatorischen Zytokine IL-6, IL-8 und des Enzyms MMP-3 wurden mittels ELISA quantifiziert. Die Expression der Glykolyse-regulierenden Enzyme Hexokinase II, Phosphofruktokinase 1 und Pyruvatkinase wurde mittels realtime-qPCR, Western-Blot und Immunfluoreszenz ermittelt. Die Stimulation der SF durch die T_H Zell-SNs wurde unter Hinzugabe von Etanercept, Tocilizumab, Secukinumab, Canakinumab, Tofacitinib und Baricitinib sowie 3-Brompyruvat und Fx11, welche die Hexokinase II und die Laktatdehydrogenase-A hemmen, inhibiert. Unter der Inhibition wurden der Umsatz der anaeroben Glykolyse sowie die Zytokinkonzentrationen erneut ermittelt. In einem letzten Schritt wurde der Effekt einer chronischen Stimulation auf den Glukosemetabolismus der SF sowie auf deren Sekretion inflammatorischer Zytokine untersucht.

Ergebnisse: Es konnte gezeigt werden, dass nicht-inflammatorische OASF, welche in Ruhe einen signifikant geringeren anaeroben Glukosemetabolismus als inflammatorische RASF aufwiesen sowie signifikant geringere Mengen inflammatorischer Zytokine sekretierten als letztere, sich unter der Stimulation mit T_H Zell-SN in beiden Parametern den RASF annäherten. Die Steigerung des anaeroben Glukosemetabolismus wurde durch eine Überexpression glykolytischer Enzyme vermittelt. Im Gegensatz zu den eingesetzten Biologika, welche die Stimulation der SF durch die T_H Zell-SN nur an einem Angriffspunkt hemmten und die Stimulation der SF nicht signifikant beeinflussten, konnte durch Hinzugabe der komplex wirksamen JAK-Inhibitoren sowohl die Rate der anaeroben Glykolyse als auch die Sekretion inflammatorischer Zytokine signifikant gesenkt werden. Durch die Hinzugabe der glykolytischen Inhibitoren, welche neben der anaeroben Glykolyse auch die Sekretion inflammatorischer Zytokine signifikant hemmten, konnte gezeigt werden, dass die verstärkt ablaufende anaerobe Glykolyse einen notwendigen Mechanismus für die Stimulation der SF durch die T_H Zellen darstellt. Auch unter einer chronischen Stimulation der SF mit T_H Zell-SN zeigte sich eine im Vergleich zur kurzfristigen Stimulation signifikant erhöhte Umsatzrate der anaeroben Glykolyse.

Schlussfolgerung: Es konnte in dieser Dissertation gezeigt werden, dass nicht-inflammatorische OASF unter der Stimulation mit SN aktivierter T_H Zellen einen inflammatorischen Phänotyp mit gesteigerter anaerober Glykolyse und vermehrter Sekretion inflammatorischer Zytokine annehmen analog des Phänotyps der inflammatorischen RASF. Die Inhibition dieser Stimulation durch die Hemmung des JAK-Signalswegs sowie durch die

Hemmung der anaeroben Glykolyse führte zu einer geringeren Stimulation der OASF. Die Beschreibung dieses Mechanismus soll sowohl zum weitergehenden Verständnis der Pathogenese der RA als auch zu möglichen künftigen Therapieoptionen beitragen.