

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und  
Gastroenterologie  
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf die  
Zytokinproduktion in der  
D-Galaktosamin/Lipopolysaccharid-induzierten akuten Hepatitis  
im Maus-Modell

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

von

Christoph Schmöcker

aus Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Th. Berg  
2. Prof. Dr. med. R. Somasundaram  
3. Prof. Dr. med. G. Gerken

Datum der Promotion: 19.09.2008

## Inhaltsverzeichnis

Titelseite: Der Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf die Zytokinproduktion in der  
D-Galaktosamin/Lipopolysaccharid-induzierten akuten Hepatitis im Maus-Modell

1	Einleitung.....	1
1.1	Zytokine als Mediatoren akuter Hepatitiden.....	1
1.2	Aufbau und Vorkommen von Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren.....	3
1.3	Einfluss von Omega-6-Fettsäuren und ihrer Metabolite auf Entzündungsreaktionen.....	4
1.4	Einfluss von Omega-3-Fettsäuren und ihrer Metabolite auf Entzündungsreaktionen.....	7
1.5	Lipidmediatoren und Hepatitis.....	9
1.6	Das Fat-1-Maus-Modell als transgenes in vivo Modell für eine endogene Produktion von Omega-3-Fettsäuren.....	10
1.7	Wahl des experimentellen Modells zur Hepatitisinduktion.....	11
2	Aufgabenstellung.....	13
2.1	Wie wirkt sich ein verändertes n-6/n-3-Fettsäurenverhältnis auf die Leberschädigung während der D-GaIN/LPS Hepatitis aus?.....	13
2.2	In welcher Weise kann ein verändertes n-6/n-3-Fettsäurenverhältnis die Zytokin- produktion in der Leber während der akuten Hepatitis verändern?.....	13
3	Materialien und Methoden.....	15
3.1	Zucht und Auswahl der Fat-1-Mäuse.....	15
3.1.1	Zucht der Fat-1-Mäuse.....	15
3.1.2	Auswahl der Fat-1-Mäuse.....	15
3.2	Versuchsgruppen und Durchführung der Induktion der akuten Hepatitis durch D- Galaktosamin/Lipopolysaccharid.....	16
3.2.1	Versuchsgruppen.....	16
3.2.2	Durchführung der Induktion der akuten Hepatitis durch D-Galaktosamin/ Lipopolysaccharid.....	17
3.3	Bestimmung des Leberfettzusammensetzung mittels Gas-Chromatographie.....	17
3.3.1	Aufbau und Funktion des Gas-Chromatographen.....	18
3.3.2	Probenmessung und Datenauswertung.....	18

3.4 Bestimmung der Leberschädigung mittels colorimetrischer Messung der Alanin- Aminotransferase (ALT) im Serum.....	19
3.4.1 Aufbau und Funktion des colorimetrischen Tests.....	20
3.4.2 Probenmessungen und Datenauswertung.....	20
3.5 Nachweis morphologischer Veränderungen des Lebergewebes nach der D-GaIN/LPS Injektion mittels Licht- und Fluoreszenzmikroskopie.....	21
3.5.1 Quantifizierung der HE-Färbungen durch Anwendung des HAI-Scores.....	22
3.5.2 Quantifizierung der Apoptosen in den Versuchsgruppen mit Hilfe von DAPI und der Fluoreszenzmikroskopie.....	23
3.6 Bestimmung des TNF- $\alpha$ -Gehaltes im Plasma während der akuten Hepatitis mittels ELISA.....	23
3.6.1 Aufbau und Funktion des ELISAs.....	23
3.6.2 Probenmessung und Datenauswertung.....	24
3.7 Bestimmung der intrahepatischen mRNA-Konzentrationen von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IFN- $\gamma$ mittels Echtzeit RT-PCR.....	25
3.7.1 Funktionsweise der Echtzeit RT-PCR.....	25
3.7.2 Probenmessung und Datenauswertung.....	26
4 Ergebnisse.....	28
4.1 Ergebnisse der mittels Gas-Chromatographie gemessenen Leberfettkonzentrationen.....	28
4.2 Ergebnisse der ALT-Messung im Serum.....	31
4.3 Darstellung der morphologischen Veränderungen in der Leber anhand von Lichtmikroskopie und dem modifizierten HAI-Score sowie die Beurteilung der Apoptosen mittels Fluoreszenzmikroskopie.....	32
4.4 Ergebnisse des TNF- $\alpha$ -Gehaltes im Plasma und in der Leber.....	38
4.4.1 Ergebnisse des mittels ELISA analysierten TNF- $\alpha$ -Gehaltes im Plasma.....	38
4.4.2 Ergebnisse der mittels Echtzeit RT-PCR analysierten intrahepatischen TNF- $\alpha$ mRNA-Expression.....	39
4.5 Ergebnisse der mittels Echtzeit RT-PCR analysierten mRNA-Expressionen der Zytokine IL-6, IL-1 $\beta$ und IFN- $\gamma$ in der Leber.....	41
5 Diskussion.....	44
5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.....	45

5.2 Diskussion der Ergebnisse zum Gehalt an Omega-6- und Omega-3-Fettsäuren in der Leber.....	46
5.3 Einfluss der Omega-3-Fettsäuren auf die Leberschädigung.....	48
5.4 Diskussion der Ergebnisse zur Zytokinproduktion.....	49
5.4.1 Einfluss der Omega-3-Fettsäuren auf die TNF- $\alpha$ -Produktion.....	49
5.4.2 Einfluss der Omega-3-Fettsäuren auf die Expression von IL-6, IL-1 $\beta$ und IFN- $\gamma$ mRNA in der Leber.....	51
5.4.2.1 Einfluss auf die Expression von IL-6 mRNA in der Leber.....	51
5.4.2.2 Einfluss auf die Expression von IL-1 $\beta$ mRNA in der Leber.....	51
5.4.2.3 Einfluss auf die Expression von IFN- $\gamma$ mRNA in der Leber.....	52
5.5 Erklärungsversuche zum protektiven Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf die akute Leberentzündung in Fat-1-Tieren.....	53
5.6 Methodenkritik.....	56
5.7 Klinische Bedeutung der Arbeit und Ausblick.....	59
6 Zusammenfassung.....	62
Bibliographie.....	64
Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen.....	73
Danksagung.....	74
Selbstständigkeitserklärung.....	75
Lebenslauf.....	76