

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Die Leber und ihre Funktionen .....	1
1.1.1	Der Aufbau der Leber .....	1
1.2	Entstehung chronischer Lebererkrankungen .....	3
1.2.1	Hepatokarzinogenese .....	3
1.2.2	Cholestatische Lebererkrankungen .....	5
1.2.2.1	Cholestase kann zu cholämischer Nephropathie führen .....	5
1.3	TAK1 – ein zentraler Regulator von Zellüberleben und -tod .....	7
1.3.1	Die Aktivierung des kanonischen NF- $\kappa$ B Signalwegs durch TNF- $\alpha$ .....	9
1.3.2	TNF- $\alpha$ vermittelte Apoptose .....	11
1.3.3	TNF- $\alpha$ vermittelte Nekroptose .....	13
1.4	Zielsetzung dieser Arbeit .....	15
2	Material und Methoden .....	16
2.1	Material .....	16
2.1.1	Arbeitsgeräte .....	16
2.1.2	Verbrauchsmaterialien .....	17
2.1.3	Chemikalien und Kits .....	18
2.1.4	Puffer und Stammlösungen .....	21
2.1.5	Antikörper .....	25
2.1.6	Oligonukleotide .....	27
2.1.7	Zytokine und Inhibitoren für <i>in vitro</i> -Experimente .....	27
2.1.8	Fluoreszenzfarbstoffe .....	28
2.1.9	Mauslinien .....	28
2.1.10	Software und Internetseiten .....	29
2.2	Methoden .....	30
2.2.1	Genotypisierung der Mauslinien mittels PCR .....	30
2.2.2	Analyse des murinen Serums .....	31
2.2.3	Organeinbettung in Paraffin und Herstellung von Gewebsschnitten .....	32

2.2.4	Hämatoxylin & Eosin (H&E) Färbung .....	32
2.2.5	Immunhistochemische Färbung .....	32
2.2.5.1	Auswertung der immunhistochemischen Färbung .....	33
2.2.6	Hepatozytenisolation mit anschließender Stimulation .....	33
2.2.7	Cholangiozytenisolation, Passagieren der Zellen und Stimulation .....	34
2.2.8	Lactatdehydrogenase (LDH)-Assay .....	36
2.2.9	Proteinisolation aus Gewebe und Zellpellets .....	36
2.2.10	Western-Blot Analyse .....	37
2.2.11	RNA-Isolation aus Zellpellets .....	38
2.2.12	Quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR) .....	38
2.2.13	Zwei-Photonen-Mikroskopie .....	39
2.2.14	Analyse der Gallensalz-Profile .....	40
2.2.15	Statistische Auswertung .....	40
3	Ergebnisse .....	41
3.1	TAK1 <sup>LPC-KO</sup> /IKK2 <sup>LPC-ca</sup> Mäuse sterben innerhalb von 16 Wochen und weisen einen starken Ikterus auf .....	41
3.2	Die Hyperaktivierung von NF-κB in TAK1 <sup>LPC-KO</sup> Mäusen ist nicht mit einer weiteren Verstärkung der Immuzellinfiltration verbunden .....	46
3.3	Die Wiederherstellung des NF-κB Signalwegs in TAK1 <sup>LPC-KO</sup> /IKK2 <sup>LPC-ca</sup> Mäusen hemmt die Apoptose-Aktivierung .....	48
3.4	Nekroptose ist die dominante Zelltodform in Cholangiozyten unter TAK1-Inhibierung 50	
3.5	Die Duktopenie in TAK1 <sup>LPC-KO</sup> /IKK2 <sup>LPC-ca</sup> Mäusen führt zu einer Akkumulation von Gallensäuren im Serum und in der Leber .....	57
3.6	Erhöhte Gallensalzkonzentrationen im Blut von TAK1 <sup>LPC-KO</sup> /IKK2 <sup>LPC-ca</sup> Mäusen sind mit einer Nierenschädigung assoziiert .....	62
4	Diskussion .....	66
4.1	Immuzellinfiltration in die Leber der TAK1 <sup>LPC-KO</sup> /IKK2 <sup>LPC-ca</sup> Mäuse .....	66
4.2	Mögliche Zelltodmechanismen der Hepatozyten der TAK1 <sup>LPC-KO</sup> /IKK2 <sup>LPC-ca</sup> Mäuse .....	67
4.3	Ursache der Duktopenie in TAK1 <sup>LPC-KO</sup> /IKK2 <sup>LPC-ca</sup> Mäusen .....	69

4.3.1	Transdifferenzierung von Hepatozyten in Cholangiozyten in $TAK1^{LPC-KO}/IKK2^{LPC-ca}$ Mäusen .....	70
4.4	Fehlende Gallengänge und Akkumulation von Gallensäuren im Serum als mögliche Ursache der Organschädigung in $TAK1^{LPC-KO}/IKK2^{LPC-ca}$ Mäusen .....	71
4.5	Ausblick .....	73
5	Referenzen .....	75
6	Anhang .....	84
7	Abkürzungsverzeichnis .....	85
8	Tabellenverzeichnis .....	89
9	Abbildungsverzeichnis .....	90
10	Eidesstattliche Erklärung .....	92
11	Danksagung .....	93