

**Analyse der geschlechtsspezifischen
Dysregulation des hepatischen Stoffwechsels
bei *Schistosoma mansoni*-Infektion**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

(Dr. med.)

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Anne Sophie Baier

aus München

Gießen 2025

Aus dem Fachbereich Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Zentrum für Innere Medizin

Medizinische Klinik II

Schwerpunkt Gastroenterologie

Leiterin: Univ.-Prof. Dr. med. Elke Roeb, MHAC

Betreuer: Univ.-Prof. Dr. med. Elke Roeb
PD Dr. rer. nat. Martin Roderfeld

Gutachterin: Prof. Dr. Elke Roeb

Gutachter: Prof. Dr. Thomas Karrasch

Tag der Disputation: 13.01.2025

für Lauri

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	2
2.1	Schistosomiasis.....	2
2.2	Hepatischer Stoffwechsel	5
2.2.1	Kohlenhydratstoffwechsel	6
2.2.2	Lipidstoffwechsel.....	7
2.2.3	Autophagie	7
2.3	Hepatische Schäden bei Schistosomiasis.....	9
2.3.1	Metabolischer Stress	10
2.3.2	Redox-Status und Autophagie	10
2.4	Geschlechtsspezifische Unterschiede	11
2.4.1	Hepatischer Stoffwechsel.....	11
2.4.2	<i>S. mansoni</i> -Infektion	12
2.5	Ziele der Arbeit.....	13
3	MATERIAL UND METHODEN	15
3.1	Geräte und Materialien	15
3.1.1	Geräte	15
3.1.2	Verbrauchsmaterialien	17
3.1.3	Chemikalien und Reagenzien	18
3.1.4	Puffer und Lösungen.....	21
3.1.5	Antikörper	23
3.1.6	Kommerzielles Kit	24

3.1.7	Versuchstiere.....	24
3.1.8	Zelllinie.....	25
3.1.9	Medien und Zusatzstoffe.....	25
3.1.10	Software.....	26
3.2	Methoden.....	27
3.2.1	Konservierung Hamsterlebergewebe nach Perfusion.....	27
3.2.2	Zellkultur.....	27
3.2.2.1	Auftauen der Zelllinie.....	27
3.2.2.2	Zellkultivierung und Aussaat.....	27
3.2.2.3	Stimulations- und Inhibitionsversuche.....	28
3.2.3	Western Blot Analyse.....	29
3.2.3.1	Gewinnung von Lysaten.....	29
3.2.3.2	Proteinauftrennung durch SDS-PAGE.....	30
3.2.3.3	Proteintransfer durch Western Blotting.....	31
3.2.3.4	Immunchemischer Nachweis spezifischer Proteine.....	31
3.2.4	Photometrische Messung von Malondialdehyd.....	32
3.2.4.1	Hamsterleberproben.....	32
3.2.4.2	Zellkulturproben.....	33
3.2.5	Statistische Auswertung.....	34
4	ERGEBNISSE.....	35
4.1	Dysregulation des hepatischen Stoffwechsels durch <i>S. mansoni</i>	35
4.1.1	Geschlechtsunabhängige Dysregulation des Kohlenhydratstoffwechsels.....	36
4.1.1.1	Steigerung der hepatischen PKM2-Expression.....	36
4.1.1.2	Reduktion der hepatischen GS-Expression.....	36
4.1.1.3	Steigerung der hepatischen G6PD-Expression.....	38

4.1.1.4	Reduktion der hepatischen PCK2-Expression	38
4.1.2	Geschlechtsunabhängige Dysregulation des Lipidstoffwechsels	38
4.1.2.1	Reduktion der hepatischen FAS-Expression.....	38
4.1.2.2	Reduktion der hepatischen ACC1-Expression.....	40
4.1.2.3	Reduktion der hepatischen ACS-Expression	40
4.1.2.4	Keine Dysregulation der hepatischen ATGL-Expression.....	40
4.1.2.5	Reduktion der hepatischen AMPK-Expression	41
4.2	Dysregulation der hepatischen Autophagie durch <i>S. mansoni</i>	42
4.2.1	Geschlechtsspezifische Dysregulation der Autophagie in Hamsterlebern	42
4.2.1.1	Geschlechtsunabhängige Reduktion der mTOR-Expression.....	42
4.2.1.2	Geschlechtsunabhängige Steigerung der p62-Expression	44
4.2.1.3	Geschlechtsspezifische Regulation der Beclin-Expression	45
4.2.1.4	Geschlechtsspezifische Regulation der ATG5-Expression.....	46
4.2.1.5	Geschlechtsspezifische Regulation der LAMP2-Expression.....	47
4.2.2	SEA beeinflusst Autophagie in HepG2-Zellen.....	49
4.3	Geschlechtsspezifische Dysregulation des oxidativen Stresses durch <i>S. mansoni</i>	50
4.3.1	Geschlechtsspezifische Unterschiede der MDA-Konzentration in Hamsterlebern	51
4.3.2	Normalisierung der durch SEA induzierten MDA-Spiegel mittels Chloroquins.....	52
5	DISKUSSION	53
5.1	Hepatischer Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel	54
5.2	<i>S. mansoni</i> und hepatische Autophagie	57
5.3	Autophagie und oxidativer Stress	61

5.4	Translationale Anwendbarkeit.....	64
5.5	Limitationen der Arbeit	65
6	ZUSAMMENFASSUNG	68
7	SUMMARY	69
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	71
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	73
10	TABELLENVERZEICHNIS	74
11	LITERATURVERZEICHNIS	75
12	ANHANG	89
13	PUBLIKATIONSVERZEICHNIS	90
13.1	Originalarbeiten	90
13.2	Abstracts	91
14	EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	93
15	DANKSAGUNG	94
16	LEBENS LAUF	95

1 Einleitung

Die geschlechtsspezifische Medizin ist eine junge medizinische Disziplin, die die Auswirkungen von Geschlecht auf die Gesundheit von Frauen und Männern berücksichtigt und sich dabei mit Unterschieden sowie mit Gemeinsamkeiten zwischen den Geschlechtern befasst (Regitz-Zagrosek & Seeland, 2013). Durch eine enorme Zunahme wissenschaftlicher Studien in den letzten Jahren, beginnt sich die große Wissenslücke in Bezug auf geschlechtsspezifische Unterschiede zu verringern (Tokatli et al., 2022). „Sex and Gender Medicine“ ist der ursprüngliche Name der geschlechtsspezifischen Medizin (Grego et al., 2020). Grundsätzlich bezieht sich der Begriff „Sex“ auf die biologischen Unterschiede, während sich der Begriff „Gender“ auf den sozialen Kontext bezieht, in dem Menschen leben und der eine subjektive sexuelle Identität beschreibt (Reale et al., 2023). Sowohl „Sex“ als auch „Gender“ beeinflussen verschiedene Aspekte der menschlichen Gesundheit und haben erhebliche und häufig unterschätzte Auswirkungen auf die tägliche medizinische Praxis und Wirkungen von Therapien (Reale et al., 2023; Regitz-Zagrosek & Seeland, 2013). Es hat sich gezeigt, dass das Geschlecht ein unabhängiger Risikofaktor für zahlreiche Erkrankungen ist (Regitz-Zagrosek & Seeland, 2013). Im Zeitalter der personalisierten Medizin darf nicht vergessen werden, wie wichtig die Gender-Medizin ist, um eine personalisierte Versorgung für jeden Patienten zu fördern (Reale et al., 2023).

Diese Dissertationsarbeit fokussiert sich auf geschlechtsspezifische Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Beeinflussung des Leberstoffwechsels durch Schistosomiasis.

Schistosomiasis ist eine der häufigsten parasitären Erkrankungen und wird von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als „neglected tropical disease“ (NTD) eingestuft (Lo et al., 2022). NTDs umfassen derzeit eine Gruppe von 20 verschiedenen Krankheiten, von denen 20 % der Weltbevölkerung betroffen sind (The Lancet, 2022). Die Agenda zur Beendigung von NTDs spielt eine wichtige Rolle bei der Armutsbekämpfung und der Priorisierung der Bedürfnisse und Rechte unterversorgter Bevölkerungsgruppen (The Lancet, 2022). Auch der Klimawandel wirkt sich auf die Verbreitung und Übertragung dieser Krankheiten aus und gefährdet zunehmend neue Orte und Populationen (Booth, 2018).

Trotz hoher weltweiter Prävalenz sind die Therapiemöglichkeiten der Schistosomiasis bislang beschränkt (Gasparotto et al., 2021). Durch Aufklärung mechanistischer Zusammenhänge molekularbiologischer Prozesse könnten neue Ansätze für Chemotherapeutika

im Sinne einer modernen, zielgerichteten und personalisierten Medizin identifiziert werden.

2 Literaturübersicht

2.1 Schistosomiasis

Schistosomiasis, früher Bilharziose genannt, ist eine parasitäre Erkrankung, die durch die Trematoden der Gattung *Schistosoma spp* verursacht wird (Klohe et al., 2021). Die Erkrankung wird von der WHO als NTD eingestuft und betrifft über 250 Millionen Menschen weltweit (Lo et al., 2022). Jedes Jahr sterben bis zu 200.000 an einer Schistosomiasis (Verjee, 2020). Damit ist die Schistosomiasis nach Malaria die zweithäufigste parasitäre Erkrankung der Welt (Almeer et al., 2018). Weltweit sind derzeit 78 Länder betroffen (Klohe et al., 2021). Dabei ist die Erkrankung hauptsächlich in Afrika, Südamerika und in Teilen Asiens weit verbreitet, steht in engem Zusammenhang zu Armut, schlechten Umwelt- und Hygienebedingungen und betrifft daher v.a. Menschen mit geringem sozioökonomischem Status (Gasparotto et al., 2021). Die Erkrankung stellt einerseits medizinisch und andererseits sozioökonomisch eine große Herausforderung dar (Gabaake et al., 2023). Aufgrund der Übertragung der Schistosomiasis durch den Kontakt mit kontaminiertem Süßwasser, sind die Übertragungsquellen in den tropischen Endemiegebieten v.a. in Flüssen, Seen, Stauseen und Bewässerungskanälen zu finden (Verjee, 2020). Aufgrund des Klimawandels, der zu wärmeren, tropischen Temperaturen und veränderten Niederschlagsmustern führt, kann es zu einer Veränderung bzw. Zunahme der geografischen und periodischen Verteilung von Schistosomiasis kommen (Klohe et al., 2021). Weiterhin besteht das Risiko einer Ausbreitung der Schistosomiasis, wie epidemiologische Fallstudien über einen Ausbruch der urogenitalen Schistosomiasis auf Korsika (Frankreich) und die Ausbreitung der afrikanischen Schistosomiasis in China unterstreichen (von Bülow et al., 2021). Des Weiteren wird die Erkrankung im Rahmen der zunehmenden Globalisierung vermehrt durch Reisende und Migranten aus den Endemiegebieten nach Europa gebracht (Witzenrath et al., 2017).

Die wichtigsten humanpathogenen Arten sind *Schistosoma (S.) mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum* und *S. guineensis*, die eine intestinale Schistosomiasis verursachen, sowie *S. haematobium*, welches eine urogenitale Form verursacht (Schwartz & Fallon, 2018). Während *S. haematobium* durch häufig auftretendes Nierenversagen eine

der Hauptursachen für Todesfälle durch Schistosomiasis ist, stellen die intestinalen Formen durch die chronische Morbidität ein großes Problem dar (Schwartz & Fallon, 2018). So werden etwa 3,3 Millionen durch gesundheitliche Einschränkungen und Tod verlorene Lebensjahre (sog. Disability-adjusted life years, ein Maß für die gesamte Krankheitslast) verursacht (Schwartz & Fallon, 2018). Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher *S. mansoni* als häufigster Verursacher der intestinalen Schistosomiasis untersucht. *S. mansoni* kommt in 52 Ländern vor, darunter Länder in der Karibik, des östlichen Mittelmeerraumes, Südamerikas sowie die meisten Länder Afrikas (Verjee, 2020).

Schistosomen spp haben einen komplexen Lebenszyklus, der Schnecken und Säugetiere als Zwischen- und Endwirte nutzt (Gasparotto et al., 2021). In Abbildung 1 ist der Lebenszyklus von *S. mansoni* vereinfacht, schematisch dargestellt.

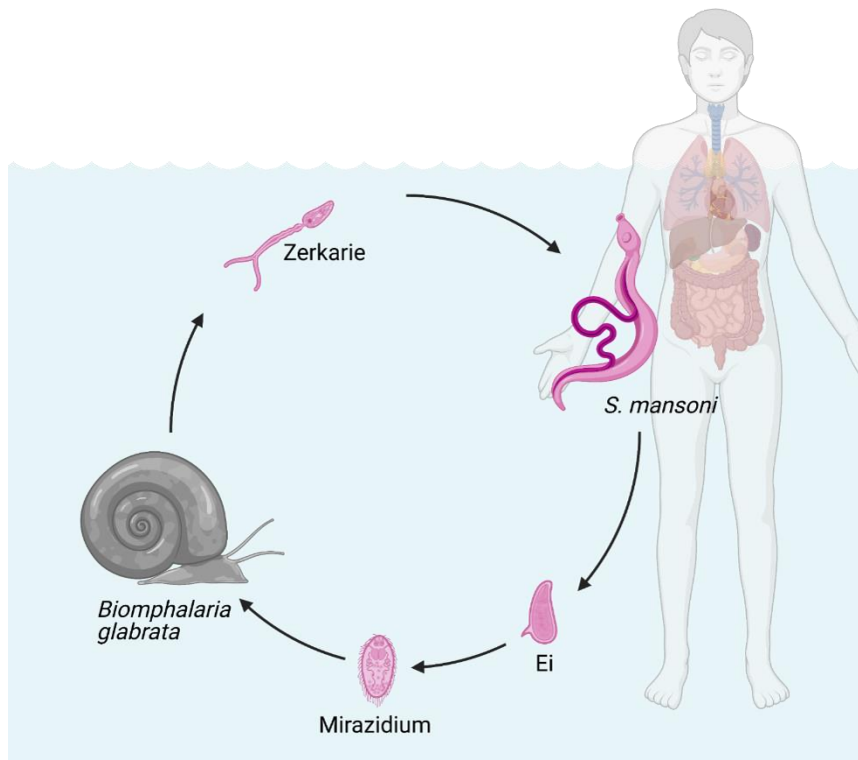


Abbildung 1: Lebenszyklus der Schistosomen. Die Eier der Schistosomen werden mit den Fäzes ausgeschieden. Unter optimalen Bedingungen entwickeln sich daraus Mirazidien, die in Süßwasserschnecken der Gattung *Biomphalaria glabrata* eindringen. Innerhalb dieser Zwischenwirte kommt es zur asexuellen Vermehrung und Ausscheidung von infektiösen Zerkarien in das Gewässer. Diese Zerkarien können die menschliche Haut penetrieren und so in das menschliche Blutgefäßsystem gelangen, wo sie sich weiterentwickeln, paaren und schließlich in den Mesenterialgefäßen Eier produzieren, die zum Teil über den Darm ausgeschieden und so in die Umwelt abgegeben werden. Eigene Abbildung erstellt mit BioRender.com (Baier, 2020)

Die Eier von *S. mansoni* werden vom menschlichen Wirt mit den Fäzes ausgeschieden. Gelangen diese in Süßwasser und herrschen optimalen Bedingungen, schlüpfen die Eier und entwickeln sich zu Mirazidien (Schwartz & Fallon, 2018). Durch asexuelle Vermehrung im Schneckenzwischenwirt der Gattung *Biomphalaria glabrata* werden tausende freischwimmende, infektiöse Zerkarien ins Wasser abgegeben (Schwartz & Fallon, 2018). Diese Zerkarien dringen über die Haut, wo sie mehrere Tage verbleiben, in den Organismus des Endwirtes ein und wandeln sich dabei in *Schistosomulae* um (Schwartz & Fallon, 2018). Die *Schistosomulae* gelangen über Lymphgefäße und Venolen schließlich nach über zwei Wochen zum hepatoportalen Kreislauf, wo sie zu erwachsenen männlichen und weiblichen *Schistosomen* reifen, sich paaren und als Paar in die Mesenterialvenen wandern (von Bülow et al., 2021). Ausgewachsene *S. mansoni*-Würmer finden sich vor allem in den kleinen mesenterialen Blutgefäßen, die Kolon und Zökum umgeben (Schwartz & Fallon, 2018). Dort beginnt nun etwa 28 Tage nach Infektion die Eiproduktion (Schwartz & Fallon, 2018). Gepaarte *Schistosomen* können täglich etwa 300-2000 Eier produzieren, die zum Teil mit dem Stuhl in die Umwelt gelangen und so den Lebenszyklus komplettieren (von Bülow et al., 2021).

Jedoch wird etwa die Hälfte der Eier mit dem Blutstrom in verschiedene Organe geschwemmt. Die meisten davon verbleiben in der Leber (von Bülow et al., 2021). Die Eier sind stoffwechselaktiv und lösen eine granulomatöse Immunreaktion des Wirts aus, die eine chronische Entzündung hervorruft, was zu den pathologischen Manifestationen der chronischen Schistosomiasis wie zunehmender hepatischer Fibrose mit portaler Hypertension, gastrointestinalen Blutungen, hepatischer Enzephalopathie oder Leberversagen führen kann (von Bülow et al., 2021). Die derzeitige Behandlung der Schistosomiasis basiert auf der Verabreichung des Medikaments Praziquantel, das erwachsene Würmer wirksam eliminiert, aber nur eine geringe Wirkung auf Eier und unreife Formen hat (Gasparotto et al., 2021). Beschwerden der akuten Schistosomiasis mit Fieber, Husten, Durchfällen oder Arthralgien bessern sich in der Regel durch Praziquantel. Bei der chronischen Form sind jedoch hauptsächlich die eingeschwemmten Eier der pathogene Faktor (Xie et al., 2023).

Von den *Schistosoma spp* wurde nur *S. haematobium* von der Internationalen Agentur für Krebsforschung als definitiv karzinogen eingestuft. Obwohl *S. mansoni* nicht als definitiv karzinogen eingestuft wurde, deuten zahlreichen Fallberichte und Daten aus Tiermodellen und Zellkulturexperimenten darauf hin, dass *S. mansoni* für Leber- und Darmkrebs

prädisponieren kann (von Bülow et al., 2021). Eine Ko-Infektion von *S. mansoni* mit Hepatitisviren führt zu einer Progression der hepatozellulären Karzinogenese (Omar et al., 2013).

2.2 Hepatischer Stoffwechsel

Die Leber ist eines der wichtigsten Organe, die an der Regulierung der Energiehomöostase beteiligt sind (Ren et al., 2019). Als wichtiges Stoffwechselorgan steuert sie den Energiestoffwechsel des Körpers und fungiert als Knotenpunkt für den Stoffwechsel verschiedener Gewebe, z.B. Skelettmuskulatur und Fettgewebe (Rui, 2014). Der Energiestoffwechsel der Leber unterliegt einer strengen Kontrolle durch verschiedene Nährstoff-, Hormon- und neuronale Signale (Rui, 2014).

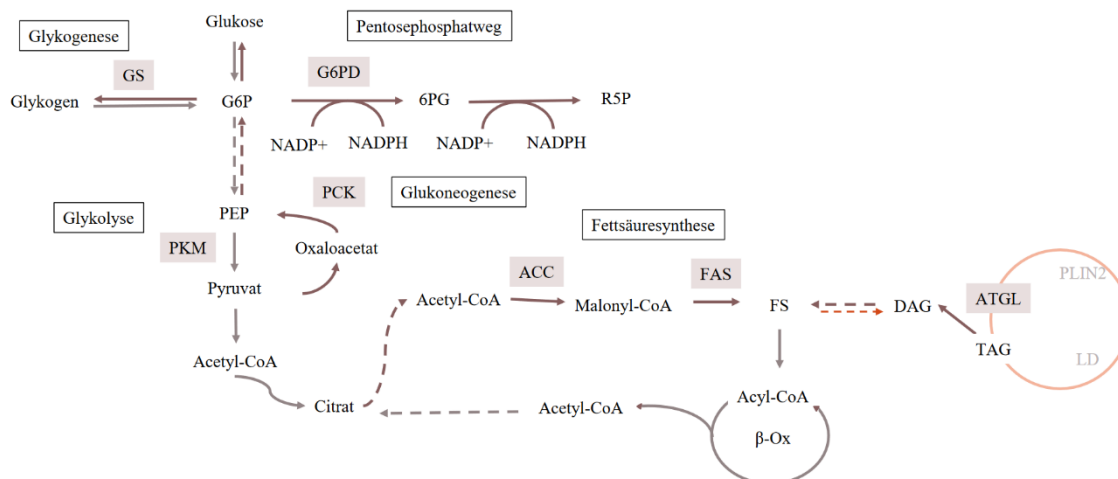


Abbildung 2: Schematische Darstellung des hepatischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels. Die Glykolyse dient der Energiegewinnung durch den Abbau von Glukose zu Pyruvat, u.a. über eines der Schlüsselenzyme PKM. Die Glukoneogenese ist der gegenteilige Prozess, der der Aufrechterhaltung des Blutzuckerspiegels dient, u.a. über das Schlüsselenzym PCK. Über die Glykogensynthese und das Schlüsselenzym GS wird Glukose zur Speicherung in Glykogen umgewandelt. Der Pentosephosphatweg stellt einen alternativen Abbauweg für Glukose dar, über das Schlüsselenzym G6PD. Die Fettsäuresynthese mit den Schlüsselenzymen FAS und ACC dient der Herstellung von Fettsäuren, die zu Triacylglyceriden weiterverarbeitet werden können. An deren Abbau über die Lipolyse ist das Enzym ATGL beteiligt. 6PG, 6-Phosphoglukonolaktone; ACC, Acetyl-CoA-Carboxylase; ATGL, Adipozyten-Triglycerid-Lipase; DAG, Diacylglycerid; FAS, Fettsäuresynthase; FS, Fettsäure; G6P, Glukose-6-Phosphat; G6PD, Glukose-6-Phosphatdehydrogenase; GS, Glykogensynthase; LD, Lipidtröpfchen; PCK, Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase; PEP, Phosphoenolpyruvat; PKM, Pyruvatkinase; PLIN2, Perilipin-2; R5P, Ribose-5-Phosphat; TAG, Triacylglycerid; β-Ox, β-Oxidation. Eigene Abbildung

Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung des hepatischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels. Hepatozyten sind mit 80 % Volumenanteil der wichtigste Zelltyp in der Leber, daher wird im Folgenden über den Stoffwechsel der Hepatozyten gesprochen (Rui,

2014). Glukose gelangt über spezielle Glukosetransporter in die Hepatozyten, wo sie direkt in Glukose-6-Phosphat (G6P) umgewandelt wird, um die Glukosekonzentration innerhalb der Zelle zu senken und die Glukoseaufnahme zu steigern (Sternisha & Miller, 2019). Im gesättigten Zustand wird G6P für die Glykogensynthese genutzt (Agius, 2008). Außerdem wird es durch die Glykolyse in Pyruvat umgewandelt (Sternisha & Miller, 2019). Pyruvat wird in die Mitochondrien geleitet und oxidiert, um Energie bereitzustellen (Rui, 2014). Alternativ wird Pyruvat zur Synthese von Fettsäuren verwendet (Rui, 2014). G6P wird auch über den Pentosephosphatweg verstoffwechselt, um NADPH zu erzeugen, was u.a. für die Lipogenese benötigt wird (Bertels et al., 2021). Langkettige Fettsäuren werden in den Hepatozyten in Triacylglyceriden (TAG), Phospholipide und Cholesterinester eingebaut und gespeichert (Rui, 2014). Im fastenden Zustand gibt die Leber Glukose sowohl durch den Abbau von Glykogen als auch durch Glukoneogenese ab (Chen et al., 2012). Das Fasten fördert auch die Lipolyse im Fettgewebe zur Freisetzung nicht veresterter Fettsäuren, die in der Leber durch β -Oxidation und Ketogenese in Ketonkörper umgewandelt werden (Hiltunen et al., 2010).

2.2.1 Kohlenhydratstoffwechsel

Die Pyruvatkinase (PKM) als ein Schlüsselenzym der Glykolyse katalysiert die Umwandlung von Phosphoenolpyruvat in Pyruvat und spielt eine wichtige Rolle bei der Regulierung des Zellstoffwechsels (Israelsen & Vander Heiden, 2015). Die in dieser Arbeit untersuchte M2-Isoform der Pyruvatkinase (PKM) 2 unterstützt den anabolen Stoffwechsel und wird u.a. vermehrt in Tumorzellen exprimiert (Israelsen & Vander Heiden, 2015). Diese Art der Energiebereitstellung und gleichzeitige De-novo-Synthese von Nukleotiden, Lipiden und Aminosäuren für die Tumorzellen ist bekannt als Warburg-Effekt (B. Xu et al., 2022). Weiterhin wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Glykogensynthese (GS) als Schlüsselenzym der Glykogensynthese untersucht. Diese katalysiert dabei die Umwandlung von Glukose in Glykogen, einer verzweigten, polymeren Speicherform (Contreras et al., 2016). Ebenfalls wurde die Glukose-6-Phosphatdehydrogenase (G6PD) als Schlüsselenzym des Pentosephosphatweges untersucht, welches die Oxidation von G6P zu 6-Phosphoglukunolakton (6PG) katalysiert. Dabei wird NADPH erzeugt, was für die Reduktion im Rahmen der Synthese von Fettsäuren und Lipiden sowie von Glutathion, das für die Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies dient, benötigt wird (Bertels et al., 2021). Außerdem wurde die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (PCK) als Schlüsselenzym der Glukoneogenese untersucht. Dabei lassen sich zwei Isoformen

unterscheiden: die untersuchte mitochondriale Form PCK2 und die zytosolische Form PCK1 (Yu et al., 2021). PCK1 und PCK2 kommen in der menschlichen Leber etwa gleich häufig vor, PCK2 wird dabei durch verschiedene Stresssituationen aktiviert (Yu et al., 2021).

2.2.2 Lipidstoffwechsel

Lipide sind wesentliche Bestandteile aller lebenden Zellen. So sind sie Hauptbestandteile biologischer Membranen und dienen als Energiereserven, sowie als Signalmoleküle (Roche et al., 2013). Die Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC) stellt neben der Fettsäuresynthase (FAS) ein Schlüsselenzym der Fettsäuresynthese dar, welches die Carboxylierung von Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA katalysiert (Kaushik et al., 2009). Die FAS katalysiert die Synthese bzw. Kettenverlängerung von Fettsäuren aus Acetyl-CoA und Malonyl-CoA (Snowden et al., 2021). Ein weiteres wichtiges Enzym ist die Acetyl-CoA-Synthetase, welches die Synthese von Acetyl-CoA aus Acetat und Coenzym A katalysiert (Roche et al., 2013). Die Fettsäuren werden im Folgenden beispielsweise in TAG eingebaut und in Form von Lipidtröpfchen gespeichert (Fhu & Ali, 2020). An deren Lipolyse ist u.a. die Adipozyten-Triglycerid-Lipase (ATGL) beteiligt (Schreiber et al., 2019).

Eine große Rolle bei der Regulation von oben genannten Enzymen spielt die durch Adenosinmonophosphat (AMP) aktivierte AMP-abhängige Kinase (AMPK). Diese wird durch Phosphorylierung in Energiemangelzuständen der Zelle aktiviert (Ovens et al., 2021). Insgesamt reguliert AMPK katabole, energieerzeugende Prozesse wie die Fettoxidation, die Glukoseaufnahme und die Autophagie hoch, während AMPK anabole, energieverbrauchende Prozesse wie die Protein- und Lipidsynthese herunterreguliert (Ovens et al., 2021).

2.2.3 Autophagie

Autophagie dient dem Abbau von intrazellulären Komponenten, wie Proteinen und Zellorganellen in Lysosomen, sowie dem anschließenden Recycling ihrer wesentlichen Bestandteile und dem Nutzen der Abbauprodukte als interne Energiequelle (Kouroumalis et al., 2021). Das ist in stoffwechselaktiven Organen wie der Leber besonders wichtig, wo bereits vierstündiges Fasten ausreicht, um eine maximale Aktivierung der Autophagie zu bewirken (Deter et al., 1967). Doch auch für eine angemessene zelluläre Reaktion auf Stressfaktoren wie metabolische Dysregulation, oxidativen Stress, Infektionen und Karzinogenese ist der Prozess wichtig (Schneider & Cuervo, 2014). Eine Fehlfunktion der

Autophagie wurde außerdem mit der Pathogenese zahlreicher Lebererkrankungen in Verbindung gebracht (Kouroumalis et al., 2021). Die Modulierung der Autophagie zu therapeutischen Zwecken birgt Potential für die Behandlung einer Vielzahl von Krankheiten, bei denen Autophagieprozesse dysreguliert sind (Schneider & Cuervo, 2014).

In Abbildung 3 ist schematisch der Ablauf der Autophagie mit einigen beteiligten Proteinen dargestellt. Der charakteristische Schritt der Makroautophagie ist die Bildung eines Doppelmembran-Vesikels, des Autophagosoms, das zytosolisches Material sequestriert und durch lysosomale Hydrolasen abgebaut wird, sobald das Autophagosom mit den Lysosomen verschmilzt (Schneider & Cuervo, 2014). Über 40 Autophagie-verwandte Gene und ihre Proteinprodukte (ATG) organisieren sich in funktionellen Komplexen, die koordiniert in verschiedenen Schritten dieses Prozesses wirken (Qian et al., 2021). So ist z.B. das mechanistische Zielmolekül von Rapamycin (mTOR), eine Serin/Threonin-Kinase, der am besten charakterisierte negative Regulator der Makroautophagie (Schneider & Cuervo, 2014). Durch verschiedene Stimuli, wie u.a. Hypoxie, oxidativen Stress, DNA-Schäden oder Mitochondrien-Dysfunktion wird die Makroautophagie über eine breite Palette von Signalwegen aktiviert, zu denen u.a. JNK (c-Jun N-terminale Kinase), AKT (Proteinkinase B), AMPK und p53-vermittelte Signalwege gehören (Kroemer et al., 2010).

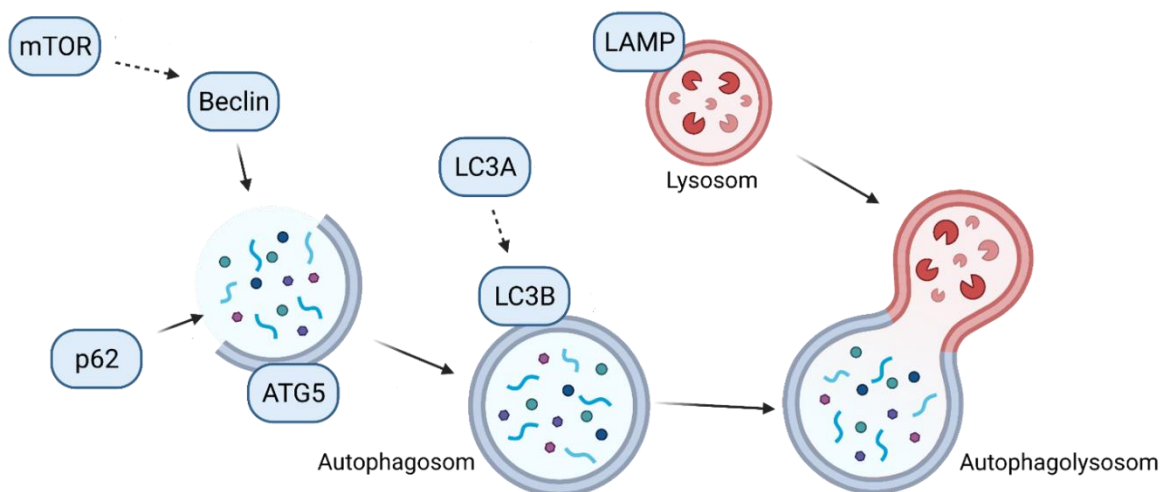


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Autophagie. Autophagie ist ein eng mit dem Energiehaushalt und Stressreaktionen verbundener Prozess. Abbau und Recycling von Zellbestandteilen durch Autophagie versorgt die Zelle mit Nährstoffen und wirkt als Schutzmechanismus gegen den programmierten Zelltod. Mehrere Faktoren führen zur Bildung eines Autophagosoms, das durch Verschmelzung mit einem Lysosom zu einem Autophagolysosom wird. Eigene Abbildung erstellt mit BioRender.com (Baier, 2020)

Beclin wirkt als Teil eines Komplexes während der Initiationsphase der Autophagie, indem es eine Doppelmembranstruktur bildet, die zytoplasmatisches Material zur Bildung des Autophagosoms umschließt (Ye et al., 2023). Aber auch zahlreiche nicht-autophagische Funktionen von Beclin bei u.a. Apoptose, Angiogenese und Immunregulation sind bekannt (Ye et al., 2023). Das Ubiquitin-bindende Protein p62 bindet als autophagosomales Frachtprotein ubiquitinierte Proteine, um sie der selektiven Autophagie zuzuführen, und ist weiterhin an verschiedenen zellulären Prozessen beteiligt (Huang et al., 2023). So aktiviert es beispielsweise ein antioxidatives Transkriptionsprogramm, den Keap1-Nrf2-Signalweg, um bei Beeinträchtigung der Autophagie Schäden durch oxidativen Stress zu verringern (Schneider & Cuervo, 2014). ATG5 ist an der Ausdehnung der Membran in autophagischen Vesikeln beteiligt und erleichtert die Umwandlung des wichtigen Mikrotubuli-assoziierten Strukturproteins 1A/1B Leichtkette 3A/B (LC3) A zu B (Demirbag-Sarikaya et al., 2022). Das Lysosomen-assoziierte Membranprotein (LAMP) ist ein lysosomaler Marker und an deren Verschmelzung mit Autophagosomen beteiligt (Qian et al., 2021). LAMP2 ist ein wesentlicher Akteur der Chaperon-vermittelten Autophagie (CMA). Dabei bringt ein Chaperon die Proteine direkt zu den Lysosomen, wo sie die Membran durch einen Translokationskomplex durchqueren (Schneider & Cuervo, 2014). Die Hochregulierung der CMA erfolgt als Teil der zellulären Reaktion auf verschiedene Störungen, wie z.B. längerer Nährstoffentzug, oxidativen Stress und Proteotoxizität (Schneider & Cuervo, 2014).

2.3 Hepatische Schäden bei Schistosomiasis

In der hepatischen Langzeitschädigung sind v.a. Schistosomen-Eier, weniger die erwachsenen Würmer, für die Schistosomiasis-spezifische Morbidität verantwortlich (von Bülow et al., 2023). Die in den präsinusoidalen Pfortadervenien eingeschlossenen Eier sezernieren lösliche Ei-Antigene (SEA), die von Immunzellen aufgenommen werden und so zur Granulombildung und Fibrose führen (Olveda et al., 2014). Die Fibrose mit der Folge einer portalen Hypertension ist die Hauptursache für die Morbidität und Mortalität der Krankheit (Olveda et al., 2014). Obwohl diese Granulome für den Wirt pathogen sind, gibt es einige Hinweise darauf, dass diese auch eine Schutzfunktion gegen die schistosomenbedingte Hepatotoxizität haben könnten (Olveda et al., 2014).

2.3.1 Metabolischer Stress

Schistosomiasis tritt hauptsächlich in Entwicklungsländern auf, wo diese oft mit Unterernährung einhergeht, was sich auf die Infektion und die Granulombildung auswirkt (Maciel et al., 2021). *S. mansoni* kann Lipide nicht *de novo* synthetisieren, daher nehmen die Parasiten Lipide aus ihrer Umgebung auf (Maciel et al., 2021). Es wurde bereits mehrfach gezeigt, dass eine Infektion mit *S. mansoni* möglicherweise vor der Entwicklung des metabolischen Syndroms einschließlich Typ-2-Diabetes-mellitus und Herz-Kreislauf-Erkrankungen schützen kann (Hussaarts et al., 2015; Stanley et al., 2009; Wolde et al., 2019). Gleichzeitig sind bei adipösen Wirten die Produktion und Reifung der Schistosomen-Eier im Vergleich zur normalgewichtigen Kontrollgruppe gesteigert (Amer et al., 2023). Zwischen Ablage und Reifung eines Schistosomen-Eis nimmt dessen Masse um mehr als das Dreifache zu, was zur Hypothese führte, dass Schistosomen-Eier Lipid- und Glukosereserven des Wirts über eine Umprogrammierung des Lebermetabolismus nutzen (von Bülow et al., 2023). Eine Studie aus 2021 zeigte eine geschlechtsabhängige Umprogrammierung des Stoffwechsels von Makrophagen bei einer Infektion mit *S. mansoni* (Cortes-Selva et al., 2021). Für die Infektion mit *S. japonicum* wurde ebenfalls gezeigt, dass der hepatische Metabolismus in Richtung einer katabolen Stoffwechsellaage verändert wird (Z.-P. Xu et al., 2019).

2.3.2 Redox-Status und Autophagie

Ungleichgewichte in der Nährstoffversorgung wurden mit erhöhtem oxidativem Stress in der Leber in Verbindung gebracht, der Lebererkrankungen begünstigt (von Bülow et al., 2023). Es wurde gezeigt, dass Veränderungen im Redoxprofil in frühen Stadien der *S. mansoni*-Infektion zu beobachten sind (de Oliveira et al., 2013). Diese Beobachtung wurde auf die Entzündungsreaktion granulomatöser Immunzellen in der Leber zurückgeführt (von Bülow et al., 2023). In Studien der Arbeitsgruppe von Prof. Roeb wurde bereits gezeigt, dass SEA von *S. mansoni* onkogene Signale in Leber und Dickdarm aktiviert (Roderfeld et al., 2020; Weglage et al., 2020a). Zuletzt wurde gezeigt, dass die metabolische Umprogrammierung durch *S. mansoni* oxidativen Stress in Hepatozyten verursacht, der zu DNA-Schäden führt und hepatozelluläre Proliferation auslöst (von Bülow et al., 2023, 2024). Diese schädlichen Auswirkungen des oxidativen Stresses können durch die Verabreichung von Fängern reaktiver Sauerstoffspezies wie reduziertem Glutathion gemildert werden (von Bülow et al., 2023, 2024).

In anderen parasitischen Erkrankungen wurde die Modulation der Autophagie von Wirtszellen durch den Parasiten beschrieben. So kann beispielsweise *Trypanosoma cruzi* unter Bedingungen des Nährstoffmangels Wirtszellen dazu veranlassen, Zellbestandteile über den Autophagie-Stoffwechselweg abzubauen, um eine Nährstoffquelle für die eigene Differenzierung und Entwicklung zu schaffen (Zheng et al., 2022). Auch *Toxoplasma gondii* kann die Autophagie der Wirtszellen induzieren, was zum Wachstum des Parasiten beiträgt (Wang et al., 2009).

Es wurde weiterhin gezeigt, dass es im Rahmen einer *S. japonicum*-Infektion durch SEA in Zellkultur von Makrophagen zu einer veränderten Regulation der Autophagie kommt (J. Zhu et al., 2018). Dabei unterdrückte das von *S. japonicum* induzierte Interleukin (IL)-7 über AMPK die SEA-vermittelte protektive Autophagie, was die Leberschädigung verstärkte (J. Zhu et al., 2018). Ein Farnesoid-X-Rezeptor-Mangel in Hepatozyten stört die Gallensäure-Homöostase und hemmt die Autophagie, was die durch eine *S. japonicum*-Infektion verursachten Schäden an den Hepatozyten verschlimmern kann (Zhang et al., 2022).

2.4 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass das Geschlecht Pathophysiologie, Auftreten, Inzidenz, Prävalenz, Symptome, Verlauf und Ansprechen auf die Therapie vieler Krankheiten beeinflusst (Mauvais-Jarvis, 2018). Daher ist es wichtig, Geschlechtsunterschiede und damit geschlechtsspezifische biologische Faktoren aufzuspüren, die zu einer besseren Prävention und Therapie im Rahmen der Präzisionsmedizin führen könnten (Mauvais-Jarvis, 2018; Shang et al., 2021).

2.4.1 Hepatischer Stoffwechsel

Es ist inzwischen bekannt, dass viele Aspekte des Energiehaushalts und des Glukosestoffwechsels bei Männern und Frauen unterschiedlich reguliert werden (Tramunt et al., 2020). Über Tausend menschliche Gene weisen in ihrer Expression in Hepatozyten eine geschlechtsspezifische Abweichung auf, davon betreffen die häufigsten den Fettstoffwechsel (Palmisano et al., 2017). Es wurde beobachtet, dass Fettverteilung, die metabolische Reaktion auf Gewichtszunahme und das Fettsäureprofil in der Leber geschlechtsabhängige Unterschiede zeigen (González-Granillo et al., 2019). Sexualhormone beeinflussen Hauptregulatoren des Lipidstoffwechsels und des oxidativen Stresses in der Leber und tragen so zum höheren Schutz von Frauen vor mit metabolischer Dysfunktion-

assoziierter steatotischer Lebererkrankung (MASLD) bei (Morán-Costoya et al., 2021). Bei Frauen reguliert Östradiol über Östrogenrezeptoren den Leberstoffwechsel, indem es Lipogenese, Glukoneogenese und Fettsäureaufnahme verringert, während es Lipolyse, Cholesterinsekretion und Glukoseabbau fördert (Shen & Shi, 2015). Bei Männern wirkt Testosteron über Androgenrezeptoren, um die Expression von Insulinrezeptoren und Glykogensynthese zu erhöhen, die Glukoseaufnahme und Lipogenese zu verringern und die Cholesterinspeicherung in der Leber zu fördern (Shen & Shi, 2015).

Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Reaktion auf oxidativen Stress sind häufig und stehen in Zusammenhang mit geschlechtsspezifischen Unterschieden in der Häufigkeit und Schwere von Krankheiten, die damit einhergehen (Tower et al., 2020). Autophagie weist sowohl bei physiologischen als auch bei pathologischen Prozessen geschlechtsabhängige Unterschiede auf und ist so an zahlreichen Aspekten der Geschlechtsunterschiede bei u.a. neurodegenerativen-, Krebs- und Herz-Kreislauf-Erkrankungen beteiligt (Shang et al., 2021). Es wurden ebenfalls geschlechtsspezifische Unterschiede im Redox-Zustand und in der Autophagie organspezifisch beschrieben (Campesi et al., 2013; Oliván et al., 2014). In den Lebern männlicher Ratten wurde eine höhere Anzahl von Autophagosomen festgestellt (Campesi et al., 2013). Bei Menschen weisen Frauen weniger Marker für oxidativen Stress auf, was durch eine Steigerung des Glutathion-Stoffwechsels durch Östrogen erklärt werden könnte (Tower et al., 2020). Die molekularen Mechanismen der geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Autophagie sind noch weitgehend unerforscht, jedoch regulieren u.a. Sexualhormonrezeptoren viele Aspekte der Autophagie (Shang et al., 2021).

2.4.2 *S. mansoni*-Infektion

Bei Kindern und Erwachsenen in endemischen Gebieten sind Intensität und Prävalenz einer Schistosoma-Infektion bei Männern höher als bei Frauen (Ayabina et al., 2021; Klein, 2004). Da die Infektion durch Kontakt mit Wasser übertragen wird, hängt das Risiko stark von sozioökonomischen und soziokulturellen Verhaltensweisen des Einzelnen und der Gemeinschaft ab, wodurch die Zuverlässigkeit epidemiologischer Studien beeinträchtigt ist (Bernin & Lotter, 2014). Allerdings wird Schistosomiasis auch bei männlichen Reisenden häufiger diagnostiziert als bei weiblichen (Bernin & Lotter, 2014). Weiterhin wurde eine erhöhte Parasitenbelastung bei Männern festgestellt, die vermutlich zu einer erhöhten pro-inflammatorischen Reaktion im Vergleich zu Frauen führt (Klein, 2004). Auch Leberfibrose im Spätstadium tritt überwiegend bei Männern auf (Bernin &

Lotter, 2014). Eine Infektion mit *S. mansoni* führte bei brasilianischen Schulkindern zu Wachstumsdefiziten (Blanton et al., 1996). Mädchen wiesen dabei im Vergleich zu Jungen ein besseres Entwicklungs- und Ernährungsniveau auf (Blanton et al., 1996). Obwohl beim Menschen eine Tendenz zu einem männlichen Bias bei Schistosomiasis zu beobachten ist, scheint dieser Geschlechtsunterschied in Mäusen umgekehrt zu sein (Klein, 2004). So weisen mit *S. mansoni* infizierte weibliche Mäuse eine höhere Parasitenlast auf (Bernin & Lotter, 2014). Weibliche Mäuse zeigten auch eine stärkere Entzündungsreaktion auf eine Schistosomeninfektion als männliche (Boissier et al., 2003). Weibliche Mäuse, die früh während der Infektion mit Dehydroepiandrosteronsulfat oder Testosteron behandelt wurden, waren teilweise vor einer Infektion mit *S. mansoni* geschützt (Fallon et al., 1998; Nakazawa et al., 1997). *S. mansoni* ist außerdem in der Lage, die Testosteronproduktion bei männlichen Mäusen zu unterdrücken (Klein, 2004). Interessant ist darüber hinaus die Tatsache, dass Schistosomen steroidhormonähnliche Metabolite produzieren (Botelho et al., 2009). Eier von *S. haematobium* produzieren Katechol-Östrogene, welche in aktive Chinone umgewandelt werden und Veränderungen in der DNA von Urothelzellen hervorrufen (C. Botelho et al., 2016). Schließlich scheint auch die durch *S. mansoni* induzierte Modulation des Stoffwechsels von Makrophagen geschlechtsabhängig zu sein, wobei die Infektion männliche, aber nicht weibliche Mäuse vor Glukoseintoleranz und Fettleibigkeit schützt (Cortes-Selva et al., 2021).

2.5 Ziele der Arbeit

Mit der vorliegenden Arbeit sollten hepatische, Wirts-geschlechtsspezifische Unterschiede bei einer *S. mansoni*-Infektion charakterisiert und mechanistische Zusammenhänge weiter aufgeklärt werden. Im Rahmen der Vorarbeiten zu Studien der Arbeitsgruppe von Prof. Roeb (Buß, 2021; Hehr, 2021; von Bülow et al., 2023) wurden bereits in weiblichen Hamsterlebern Schlüsselenzyme des Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels sowie Marker des oxidativen Stresses untersucht. Geschlechtsunterschiede im hepatischen Stoffwechsel sowie bei Infektion mit *S. mansoni* sind in der Literatur beschrieben, daher sollten im Rahmen dieser Arbeit zunächst geschlechtsspezifische Unterschiede mit Hinblick auf Kohlenhydrat-, Lipidstoffwechsel und oxidativen Stress untersucht werden. Als weiteren interessanten Mediator geschlechtsspezifischer Unterschiede sollte der eng im Zusammenhang zu Stoffwechsel und oxidativem Stress stehendem Prozess der Autophagie im Zusammenhang mit einer *S. mansoni*-Infektion und im Hinblick auf

Geschlechtsunterschiede untersucht werden. Die schematische Darstellung dieser Fragestellung ist in Abbildung 4 abgebildet.

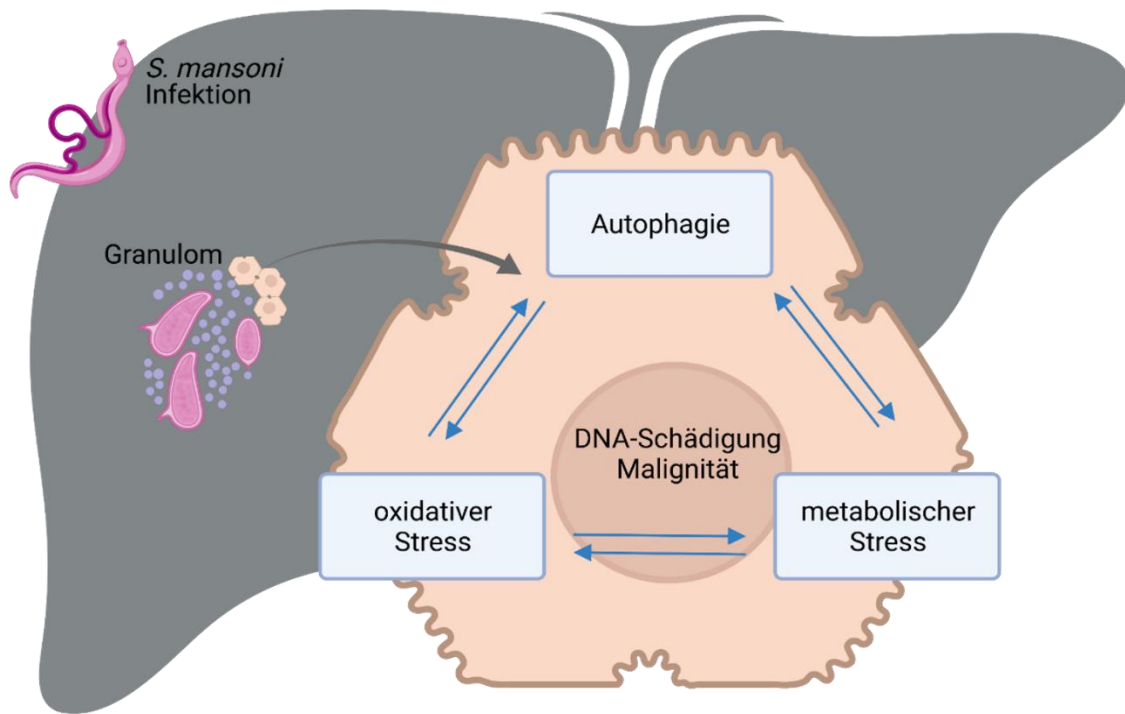


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Fragestellung der Arbeit. In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen einer *S. mansoni*-Infektion und insbesondere die Wirkung der Eier und der von den Eiern abgesonderten Faktoren auf Hepatozyten in der Nähe von Granulomen untersucht. Dazu wurden Marker und Schlüsselenzyme des hepatischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels, der Autophagie und des oxidativen Stresses vorwiegend in männlichen Hamsterlebern mit besonderem Augenmerk auf wirtsspezifische Geschlechtsunterschiede analysiert. Eigene Abbildung erstellt mit BioRender.com (Baier, 2020)

Dafür wurden im Verlauf der explorativen Datenerhebung folgende Hypothesen gebildet:

Hypothese 1: Es gibt keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Dysregulation des hepatischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels bei *S. mansoni*-Infektion. Dafür wurde die Expression von Schlüsselenzymen des hepatischen Stoffwechsels im Lebergewebe männlicher *S. mansoni*-infizierter Hamster mittels Western Blot Analyse untersucht und die Richtung der Regulation mit bereits vorbekannten Werten der weiblichen Tiere verglichen. Als Kontrollen wurden nicht-infizierte Hamster und Hamster, die nur mit Zerkarien eines Geschlechts ohne Eiproduktion infiziert wurden, verwendet.

Hypothese 2: Es kommt zur Dysregulation der hepatischen Autophagie bei *S. mansoni*-Infektion; dies geschieht nicht geschlechtsspezifisch. Dafür wurden Autophagiemarker im Lebergewebe *S. mansoni*-infizierter Hamster beider Geschlechter, sowie den oben genannten Kontrollgruppen, mittels Western Blot analysiert. Zusätzlich wurden *in vitro*

Zellkulturexperimente an der humanen, männlichen Zelllinie HepG2, die mit löslichen Ei-Antigenen (SEA) von *S. mansoni* stimuliert wurden, durchgeführt. Die Autophagiemarker in diesen Proben wurden ebenfalls mittels Western Blot analysiert.

Hypothese 3: Die Dysregulation der Autophagie führt zu oxidativem Stress in der Leber. Zunächst wurde in den männlichen Hamsterlebern Malondialdehyd (MDA) als Marker für oxidativen Stress mittels eines quantitativen Assays bestimmt und die Richtung der Regulation mit bereits vorbekannten Werten der weiblichen Tiere verglichen. Zusätzlich wurden *in vitro* Inhibitionsexperimente an der humanen, männlichen Zelllinie HepG2, die mit SEA stimuliert wurden, durchgeführt. Zur Inhibition der Autophagie wurde dabei Chloroquin benutzt.

3 Material und Methoden

3.1 Geräte und Materialien

3.1.1 Geräte

Die für die Experimente im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Geräte sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: Geräte mit Herstellerangaben

Geräte	Hersteller
Biometra-Fastblot™	Biometra-GmbH, Göttingen
Brutschrank IG 150	Jouan, Unterhaching
ChemoStar enhanced chemiluminescent (ECL) & Fluorescence Imager	Intas Science Imaging Instruments GmbH, Göttingen
Electrophoresis Power Supply Consort EV #243	Fisher Bioblock Scientific, Villeneuve-d'Ascq (Frankreich)
Electrophorese-Kammer Multigel	Biometra-GmbH, Göttingen
Feinwaage Sartorius A200S	Sartorius, Göttingen
Gefrierschrank (-20 °C) #GNP3376	Liebherr, Biberach
Gefrierschrank (-80 °C) #907	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts (USA)
HERACELL 150 i CO2 Incubator	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts (USA)
Infinite® 200 PRO #30050303	Tecan Group Ltd., Männedorf (Schweiz)

Kühlschrank Profi Line	Liebherr, Biberach
LaminAir® HBB #2448	Heraeus Instruments GmbH, Hanau
Lichtmikroskop #156585	Leica Microsystems, Wetzlar
Magnetrührer #RCTB 00.084009	IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen
Microliter Syringe Model 805 N # 84856	Hamilton Company, Reno, Nevada (USA)
MIKRO 120 (Zentrifuge)	Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen
Mini-PROTEAN® Tetra Handcast Systems	Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, Kalifornien (USA)
Motorisiertes inverses System Mikroskop #IX81S1F-3	Olympus Deutschland GmbH, Hamburg
Neubauer Zählkammer 0,1 mm	LO Laboroptik Ltd., Lancing (Vereinigtes Königreich)
pH-Meter 632	Metrohm AG, Herisau (Schweiz)
Pipetten Abimed	International Labmate Ltd., St Albans (Vereinigtes Königreich)
Pipetten Research plus	Eppendorf AG, Hamburg
Pipette serologisch 10 ml #607180	Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster (Österreich)
Pipette serologische 5 ml #606180	Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster (Österreich)
Pipetus®-akku	Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG, Eberstadt
Rocking Platform	VWR International GmbH, Darmstadt
Rüttler #444-0142	VWR International GmbH, Darmstadt
Slamed 8-Kanal Pipette 20-200 µl #451833437	Ratiolab GmbH, Dreieich
Stickstoffbehälter	KGW, Karlsruhe
Stickstofftank #CFB-160	Taylor-Wharton Harsco GmbH, Husum-Mildstedt
ThermoMixer #5436	Eppendorf AG, Hamburg

Trans-Blot® Turbo™ System #690BR028141	Bio-Rad Laboratories GmbH, Feldkirchen
Ultra TURRAX T8	IKA-Labortechnik, Staufen
Vortex-Mixer 7-2020	NeoLab, Heidelberg
Vortex Schüttler VF2	IKA-Labortechnik, Staufen
Waage Kern #440-47	KERN & SOHN GmbH, Albstadt
Wasserbad H1210	Leica, Wetzlar

3.1.2 Verbrauchsmaterialien

Die für die Experimente im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Verbrauchsmaterialien sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Verbrauchsmaterialien mit Herstellerangaben

Verbrauchsmaterialien	Artikelnummer	Hersteller
6.5 mm Transwell® with 8.0 µm Pore Polyester Membrane Insert	3464	Corning, Inc., Corning (USA)
Biosphere® Filter Tips	70.760.211	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht
Biosphere® Filter Tips 100	70.762.211	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht
CELLSTAR® 24 Well Cell Culture Plate	662 160	Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster (Österreich)
CELLSTAR® TUBES, 15 ml	188 271	Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster (Österreich)
CELLSTAR® TUBES, 50 ml	227 261	Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster (Österreich)
CELLSTAR® Zellkultur Schale	664160	Greiner Bio-One GmbH, Frickhausen
Disposable Glass Pasteur Pipettes 230 mm	612-1702	VWR International GmbH, Darmstadt
Immobilon®-P Transfer Membrane	IPVH00010	Merck Millipore Limited, Tullagreen, Carrigtohill ED (Irland)
Micro-Touch®	18074824DF	Ansell, Richmond (Australien)

Pipettenpitzen 1000 µl	70.762.010	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht
Pipettenspitzen 10 µl	70.1130	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht
Pipettenspitzen 200 µl	70.760.012	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht
Reagiergefäß 1,5 ml	72.690.001	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht
Reagiergefäß 2,0 ml	72.691	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht
Rotilabo®-Aluminiumdosen	1084.1	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Sterile Syringe Filter; 0,20 µm	431219	Corning, Inc., Corning (USA)
Vernichtungsbeutel	86.1197	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht
Whatman™ Gel Blot Paper	10426892	GE Healthcare Uk Limited, Buckinghamshire (Vereinigtes Königreich)

3.1.3 Chemikalien und Reagenzien

Die für die Experimente im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Chemikalien und Reagenzien sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tabelle 3: Chemikalien und Reagenzien mit Herstellerangaben

Chemikalien und Reagenzien	Artikelnummer	LOT-Nummer	Hersteller
2-Propanol	33539-2.5L-M	#STBH8355	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
2-Thiobarbituric acid (TBA)	T5500-25G	BCCD1032	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
2 x Lysis Buffer	EL-LYSIS	J06111988	RayBiotech, Inc., Peachtree Corners, Georgia (USA)
Ammoniumperoxodisulfat (APS)	9592.2	324212912	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe

Butylhydroxytoluol (BHT)	MAK085C.1ML-KC	6B06K07390	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Bovine Serum Albumin (BSA), pH=7	BSA-1T	CP19-3020	Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund
Bromphenolblau	A512.1	34573814	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Citronensäure	X863.2	049279507	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
1,4-Dithiothreitol (DTT)	6908.2	487265723	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Dimethylsulfoxid (DMSO) ROTIPURAN®	4720.4	207257752	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Di-Natriumhydrogenphosphat	P030.2	397263590	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Dodecylsulfate-Na-salt in pellets (SDS)	20765.03	140489	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
EMSURE® ISO Hydrogenperoxide 30 % (Perhydrol®)	1.072.101.000	K51402110920	Merck KGaA, Darmstadt
Essigsäure (Eisessig) 100 %	1.00063.1011	K49316063729	Merck KGaA, Darmstadt
Ethanol ROTIPURAN®	9065.4	067254793	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Glycin PUFFERAN®	3908.2	479289535	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Hydrochloric acid (HCl)	30721-1L-M	STBH3589	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Isopropanol	33539-2,5L	STBH5929	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Kaliumchlorid	7447-40-7	252169418	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe

Material und Methoden

Kaliumdihydrogenphosphat	3904.1	039279224	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Luminol	A8511-5G	MKCB1206V	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Methanol	32213-2.5L	STBJ6534	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Milchpulver (Blotting grade)	T145.3	358270656	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Natriumchlorid (NaCl)	3957.1	477264300	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Natriumhydroxid	6771.1	324214628	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED)	35925.01	170294	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Page Ruler™ Plus Prestained Protein Ladder	26619	00852767	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts (USA)
Paraformaldehyd	150146	8163F	ICN Biomedicals, Inc., Aurora (USA)
p-Cumarsäure	110M1259V	501-98-4	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Polyoxyethylensorbitan	P-7949	SLBX6047	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
R.T.U. Normal Horse Serum (2,5 %)	MP-5401	ZE0712	Vector Laboratories, Inc., Burlingame (USA)
Restore™ Western Blot Stripping Buffer	21059	VH311321	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts (USA)
Rotiphorese® Gel 30 (37, 5:1)	3029.1	260298010	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe

Sodium chloride	31434-1KG	SZBF2180V	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Tri-Natriumcitrat-Dihydrat	6132-04-3	141297389	Merck KGaA, Darmstadt
TRIS PUFFERAN®	4855.2	298267208	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Polyoxyethylensorbitan (Tween®) 20	P7949-500ML	#SLBX6047	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Wasserstoffperoxid 30 % (H ₂ O ₂)	1.072.101.000	K51879910942	Merck KGaA, Darmstadt

3.1.4 Puffer und Lösungen

Die für die Experimente im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Chemikalien und Reagenzien sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Tabelle 4: Puffer, Lösungen und deren Zusammensetzung

Puffer/Lösung	Zusammensetzung
5 % BSA-Lösung	2,5 g BSA 50 ml TBS-T
5 % Milchpulverlösung	2,5 g Milchpulver 50 ml TBS-T
30 mM H ₂ O ₂	170 µl 30 % H ₂ O ₂ 49,83 ml PBS
Citratpuffer	2,65 g Citronensäure 25,7 g Tri-Natriumcitrat-Dihydrat mit dH ₂ O auf 1000 ml auffüllen 100 ml der Flüssigkeit in 900 ml dH ₂ O lösen
ECL-Entwicklungslösung	9500 µl dH ₂ O 500 µl Tris Puffer 2 M pH 8,5 50 µl Luminol (250 mM) 25 µl p-Cumarsäure (90 mM) 2,6 µl H ₂ O ₂ (unmittelbar vor Entwicklung)
Kollagen II (50 µg/ml)	49,17 ml Essigsäure (20 mM) 833 µl Kollagen I (3 mg/ml)
Lämmli-Puffer	20 ml Glycerin 3,08 g DTT 4 g SDS 6,25 ml 2 M Tris pH 6,8 10 mg Bromphenolblau mit dH ₂ O auf 50 ml auffüllen

Material und Methoden

Laufpuffer	10 g SDS 30 g TRIS PUFFERAN 144 g Glycin mit dH ₂ O auf 1 l auffüllen 100 ml dieser Stammlösung in 900 ml dH ₂ O lösen
PBS-Puffer	80 g NaCl 2 g Kaliumchlorid 2,45 g Kaliumdihydrogenphosphat 11,5 g Natriumhydrogenphosphat mit dH ₂ O auf 1000 ml auffüllen 100 ml dieser Stammlösung in 900 ml dH ₂ O lösen pH-Wert auf 7,4 einstellen
Sammelgel-Lösung (3 %)	330 µl Rotiphorese Gel 30 2130 µl dH ₂ O. 830 µl Sammelgel-Puffer (pH 6,8) 40 µl APS 4 µl TEMED
Sammelgel-Puffer (pH 6,8)	125 ml 2 M Tris pH 6,8 10 ml 20 % SDS 365 ml dH ₂ O
TBA-Lösung	1 TBA-Flasche (MDA-Kit) 7,5 ml Essigsäure mit dH ₂ O auf 25 ml auffüllen
TBS-Stammlösung (10x)	200 mM Tris pH 7 1,37 M NaCl mit dH ₂ O auf 1 l auffüllen
TBS-T-Puffer	250 ml TBS-Stammlösung (10x) 2,5 ml Tween 20 2250 ml dH ₂ O
Transferpuffer (pH 9,2)	5,82 g TRIS PUFFERAN 2,93 g Glycin 200 ml Methanol mit dH ₂ O auf 1 l auffüllen
Trenngel-Lösung (10 %)	3332 µl Rotiphorese Gel 30 100 µl SDS 10 % 1950 µl Trenngel-Puffer (pH 8,8) 4550 µl dH ₂ O 100 µl APS 10 µl TEMED
Trenngel-Puffer (pH 8,8)	375 ml 2 M Tris/HCl 10 ml 20 % SDS 365 ml dH ₂ O
Tris pH 6,8	6,05 g Tris base (=0,5 M) in 40 ml dH ₂ O lösen mit 1 M HCl auf pH 6,8 bringen 100 ml dH ₂ O Lösung filtrieren (0,45 µm) 0,4 g SDS

3.1.5 Antikörper

Die für die Experimente im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Primärantikörper sind in Tabelle 5 aufgelistet. Der Tabelle 6 sind die verwendeten Sekundärantikörper zu entnehmen.

Tabelle 5: Primärantikörper

Primärantikörper	Daten
ACC1 (1:1000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 260 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. 21923-1-AP LOT: 00016059 Proteintech Group Inc., Rosemont (USA)
ACS (1:2000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 79 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. 16087-1-AP LOT: 00056343 Proteintech Group Inc., Rosemont (USA)
AMPK (1:1000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 62 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. GTX50863 LOT: 821800356 GeneTex, Inc., Irvine (USA)
ATG5 (1:1000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 55 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. 10181-2-AP LOT: 00054450 Proteintech Group Inc., Rosemont (USA)
ATGL (1:1000 in Milch, Detektion: 120 s) Molekulargewicht: 55 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. 55190-1-AP LOT: 00043444 Proteintech Group Inc., Rosemont (USA)
Beclin (1:1000 in Milch, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 60 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. 11306-1-AP LOT: 00049557 Proteintech Group Inc., Rosemont (USA)
FAS (1:1000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 273 kDa	Kaninchen monoklonal; Art.Nr. #3180 LOT: 2 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)
G6PD (1:1000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 58 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. #8866 LOT: 3 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)
GAPDH (1:10000 in BSA, Detektion: 3 s) Molekulargewicht: 35 kDa	Maus monoklonal; Art.Nr. 60004-1-Ig LOT: 10008047 Proteintech Group Inc., Rosemont (USA)
GS (1:1000 in BSA, Detektion: 20 s) Molekulargewicht: 84 kDa	Kaninchen monoklonal; Art.Nr. #3886 LOT: 3 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)
LAMP2 (1:1000 in Milch, Detektion: 180 s) Molekulargewicht: 120 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. NB 300-591 LOT: SE248727 Novus Biologicals, Littelton (USA)

mTOR (1:1000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 289 kDa	Kaninchen monoklonal; Art.Nr. #2983 LOT: 19 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)
p62 (1:2000 in Milch, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 62 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. 18420-1-AP LOT: 00044264 Proteintech Group Inc., Rosemont (USA)
pAMPK (1:1000 in BSA, Detektion: 45 s) Molekulargewicht: 62 kDa	Kaninchen monoklonal; Art.Nr. #2535 LOT: 21 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)
pmTOR (1:1000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 289 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. #2971 LOT: 9 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)
PCK2 (1:1000 in BSA, Detektion: 20 s) Molekulargewicht: 71 kDa	Kaninchen polyklonal; Art.Nr. #6924 LOT: 1 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)
PKM2 (1:1000 in BSA, Detektion: 30 s) Molekulargewicht: 60 kDa	Kaninchen monoklonal; Art.Nr. #4053 LOT: 6 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)

Tabelle 6: Sekundärantikörper

Sekundärantikörper	Daten
Anti-Kaninchen (1:5000 in BSA)	HRP-linked Antibody; Art.Nr. #7074 LOT: 28, 29 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)
Anti-Maus (1:5000 in BSA)	HRP-linked Antibody; Art.Nr. #7076 LOT: 35 Cell Signaling Technology Inc., Danvers (USA)

3.1.6 Kommerzielles Kit

Das für die Experimente im Rahmen dieser Arbeit verwendete kommerzielle MDA-Assay Kit findet sich in Tabelle 7.

Tabelle 7: Kommerzielles Kit

Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim Art.Nr. MAK085-1KT; LOT: 6B06K07390
------------------------------------	--

3.1.7 Versuchstiere

Für die Experimente im Rahmen dieser Arbeit wurden Leberproben von männlichen und weiblichen syrischen Goldhamstern *Mesocricetus auratus* verwendet. Die Lebern wurden im Rahmen einer Kooperation von der Arbeitsgruppe Prof. Grevelding des Instituts

für Parasitologie der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Verfügung gestellt (Geschäftszeichen des Tierversuchantrags: V 54-19c 20 15 h 02 GI 18/10 Nr.A 1/2014). Die Hamster wurden zur Aufrechterhaltung des Lebenszyklus von *S. mansoni* verwendet. Als Zwischenwirte dienten *Biomphalaria glabrata* Schnecken. Der zur Infektion verwendete *S. mansoni*-Stamm, stammt von einem liberianischen Isolat, welches von der Bayer AG, Monheim, bezogen wurde (Grevelding, 1999). Eine Gruppe der Hamster wurde nur mit Zerkarien eines Geschlechts infiziert (monosex-infiziert), wodurch es nicht zur Eiablage im Organismus der Hamster kommt. Diese monosex-infizierten Tiere dienten neben den nicht-infizierten Hamstern als Kontrollgruppen zur bisex-infizierten Gruppe. Die bisex-infizierten Hamster wurden im Alter von 8 Monaten mit Zerkarien beider Geschlechter infiziert und die Infektion 46 Tage aufrechterhalten, um gemischtgeschlechtliche Wurmpopulationen im Endwirt zu erhalten. In monosex-infizierten Tieren wurde die Infektion 67 Tage aufrechtgehalten, da ohne männlichen Partner die weiblichen Würmer mehr Zeit bis zur vollständigen Reifung benötigen (von Bülow et al., 2023).

3.1.8 Zelllinie

Die für die Experimente im Rahmen dieser Arbeit verwendete Zelllinie HepG2 ist in Tabelle 8 beschrieben.

Tabelle 8: Zelllinie

HepG2-Zellen	
Firma	CLS Cell lines services GmbH, Eppelheim
Produktnummer	300198
Organismus	Homo sapiens (human)
Herkunft (Ethnie)	Kaukasus
Alter	15 Jahre
Geschlecht	Männlich
Gewebe	Leber
Morphologie	Epithelial
Zelltyp	Hepatoblastom (HCC)
Wachstumseigenschaften	Einzelschicht, adhärent

3.1.9 Medien und Zusatzstoffe

Die für die Zellkulturexperimente im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Medien und Zusatzstoffe sind in Tabelle 9 aufgelistet.

Tabelle 9: Medien und Zusatzstoffe

Medien und Zusatzstoffe	Artikelnummer	LOT-Nummer	Hersteller
Chloroquin	#tlrl-chq	bei Lagerung in Aliquots nicht verfügbar	InvivoGen, San Diego, Kalifornien (USA)
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)	P04-04510	7520220	PAN-Biotech GmbH, Aidenbach
DPBS	17-512F	0000937069	Lonza Group AG, Basel (Schweiz)
Fetal Constance steril filtered	AC-SM-0190	AN-40418FC	Anprotec, São Paulo (Brasilien)
Gibco™ Collagen 1, Rat Tail 3 mg/mL	A10483-01	1886600	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts (USA)
Penicillin/Streptomycin/Amphotericin B Mix	P06-07050	7980619	PAN-Biotech GmbH, Aidenbach
Trypsin/EDTA	P10-0231 SP	4651117	PAN-Biotech GmbH, Aidenbach

Das für Zellkultur-Stimulationsversuche im Rahmen dieser Arbeit verwendete lösliche Ei-Antigen (SEA) wurde vom Forschungszentrum Borstel (FZB) durch die Kooperation mit Dr. Gabriele Schramm zur Verfügung gestellt. SEA wurde in der Konzentration 1,52 mg/ml in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gelöst (Buß, 2021).

3.1.10 Software

Die zur Auswertung der Experimente im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Programme sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Software

Software	Hersteller
IBM® SPSS® Statistics Version 26	SPSS Inc., IBM Corporation, Armonk, New York (USA)
i-control™ Microplate Reader Software Version 2.0.10.0	Tecan Group AG, Männedorf (Schweiz)

ImageJ Version 1.52e	Wayne Rasband, National Institute of Health, Bethesda (USA)
Microsoft Excel® (für Office 365) Version 2101	Microsoft Corporation, Washington (USA)

3.2 Methoden

3.2.1 Konservierung Hamsterlebergewebe nach Perfusion

Die durch die Arbeitsgruppe von Prof. Grevelding des Instituts für Parasitologie der JLU Gießen zur Verfügung gestellten Hamsterlebern wurden *in situ* perfundiert, nach der Explantation mit flüssigem Stickstoff schockgefrostet und in einer Aluminiumdose bis zur Verwendung bei -80 °C gelagert (Buß, 2021). Teile der Leber wurden zur weiteren Verwendung für Experimente auf Trockeneis zu Leberpulver gemörsert.

3.2.2 Zellkultur

3.2.2.1 Auftauen der Zelllinie

Die HepG2-Zellen wurden bis zu ihrer Verwendung in einem Stickstofftank bei -196 °C gelagert. Das Auftauen der Zellen für Zellkulturversuche erfolgte im Wasserbad bei 37 °C. Kurz vor dem vollständigen Auftauen wurde der Inhalt des Kryoröhrchens in eine mit Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) und unten aufgeführten Zusätzen gefüllte Zellkulturschale überführt. Nach 24 Stunden und 48 Stunden wurde das Medium gewechselt. Die Zellen wurden anschließend über mehrere Wochen kultiviert und an Versuchstagen ausgesät.

3.2.2.2 Zellkultivierung und Aussaat

Die HepG2-Zellen wurden in Zellkulturschalen (58 cm² Wachstumsfläche) in DMEM mit 10 % fetalem Rinderserum und 1 % Penicillin/Streptomycin bei 37 °C, 95 % Luftfeuchtigkeit und 5 % CO₂-Anteil im Brutschrank kultiviert. Das Medium wurde vor dem Kontakt mit den HepG2-Zellen stets im Wasserbad auf 37 °C erwärmt. Je nach Wachstumsdichte wurden die Zellen 2-3-mal wöchentlich passagiert. Dabei wurde die Wachstumsdichte lichtmikroskopisch überprüft. Bei einer Konfluenz von über 90 % erfolgte die Passagierung. Dafür wurde zunächst das überständige Medium mit einer sterilen Pasteurpipette entfernt und die Zellen dreimal mit sterilem PBS-Puffer gewaschen. Daraufhin wurden 2 ml Trypsin hinzugegeben und die Zellen für 5 min bei 37 °C inkubiert. In der

Zwischenzeit wurden neue Zellkulturschalen vorbereitet. Dafür wurde deren Wachstumsfläche vollständig mit ca. 5 ml Kollagen II benetzt. Anschließend wurde das überschüssige Kollagen II abgesaugt und 10 ml serumhaltiges Medium hinzugegeben. Nach Ablauf der fünfminütigen Inkubation wurde lichtmikroskopisch die Ablösung der Zellen überprüft und die Reaktion durch Zugabe von 3 ml serumhaltigem Medium gestoppt. Die Zellsuspension wurde mehrfach mit Pipetten unterschiedlicher Größe zur Lösung der Zellen auf- und abpipettiert. Anschließend wurde 1 ml dieser Zellsuspension in die vorbereitete Zellkulturschale überführt, welche nach leichtem Schwenken zur Inkubation im Brutschrank platziert wurde.

Die Aussaat der HepG2-Zellen erfolgte immer am ersten Versuchstag auf eine 24-Well-Platte. Dabei wurde zunächst wie bei der Kultivierung vorgegangen. Nach Entfernung des Mediums und dreimaligem Waschen mit PBS wurden die Zellen mit 2 ml zugegebenem Trypsin für 5 min bei 37 °C inkubiert. Dann wurden 3 ml serumhaltiges DMEM hinzugegeben und die Zellsuspension mehrfach auf- und abpipettiert. 1 ml dieser Suspension wurde mit 9 ml serumhaltigem Medium in ein steriles 50 ml Zentrifugenröhrchen gegeben. Davon wurden jeweils 500 µl pro Well der 24-Well-Platte ausgesät. Diese wurde anschließend über Nacht im Brutschrank inkubiert, so dass eine Zelldichte von ca. 100.000 Zellen pro Well erreicht wurde.

3.2.2.3 Stimations- und Inhibitionsversuche

Am Folgetag der Aussaat wurden die Zellen lichtmikroskopisch auf Kontamination und unregelmäßigen Bewuchs hin kontrolliert und entsprechende Wells vom Versuch ausgeschlossen. Anschließend wurde das Medium aus den Wells der 24-Well-Platte entfernt und pro Well wurden 500 µl serumfreies DMEM ohne weitere Zusätze hinzugegeben.

Nach weiteren 24 Stunden, am dritten Versuchstag, erfolgte die SEA-Stimulation und ggf. Inhibition. Dabei wurde das Medium aus den Wells abgesaugt und durch Medium mit zugesetztem SEA bzw. Inhibitor ersetzt.

SEA wurde bei -80 °C als Aliquots in Eppendorfgläsern gelagert und erst unmittelbar vor der Stimulation aufgetaut. Pro Well wurden 2 µl SEA auf 200 µl serumfreies DMEM zugegeben. Dabei ergab sich die SEA-Konzentration von 4,6 µg/ml. Als Kontrolle wurden äquivalent Wells mit 2 µl PBS mit 200µl serumfreiem DMEM behandelt. Das als Kontrolle verwendete PBS wurde dabei ebenfalls durch das FZB zu Verfügung gestellt

und dort zum Lösen des SEA eingesetzt. Es folgte die Inkubation für weitere 24 Stunden bei 37 °C bis zur Lyse.

Inhibitionsversuche wurden mit Chloroquin durchgeführt. Dieses wurde bei 4 °C in einer Konzentration von 10 mM in Eppendorfgefäßen gelagert. Für die Inhibitionsversuche wurde dieses zu einer Konzentration von 50 µM mit serumfreiem DMEM ohne weitere Zusätze verdünnt. Pro Well der 24-Well-Platte wurden 200 µl der Inhibitionslösung hinzugefügt. Als Kontrolle wurden äquivalent Wells mit 200 µl von serumfreien DMEM und DMSO behandelt. Die DMSO-Kontrolle wurde in einer Konzentration von 10 µM eingesetzt. Anschließend wurde die 24-Well-Platte zur Vorinkubation des Inhibitors für 30 min in den Brutschrank gestellt. Danach erfolgte die Zugabe von 2 µl SEA oder PBS pro Well. Es folgte die Inkubation für weitere 24 Stunden bei 37 °C bis zur Lyse.

3.2.3 Western Blot Analyse

Die Western Blot Analyse ermöglicht durch Proteinübertragung auf eine Trägermembran den Nachweis einzelner Proteine, die dabei elektrophoretisch nach Molekulargewicht aufgetrennt werden.

3.2.3.1 Gewinnung von Lysaten

Zur Herstellung der Zellkulturlysate wurde am vierten Tag der Zellkulturversuche zunächst der Überstand aus den Wells abgesaugt. Anschließend wurden die Zellen einmal mit 500 µl PBS gewaschen. Das PBS wurde abgesaugt und pro Well wurden 60 µl Lämmli-Puffer hinzugefügt. Eine ca. 2 mm gekürzte 200 µl Pipettenspitze wurde benutzt, um die Zellen am Boden der Wells zu lösen. Daraufhin wurde dieses Lysat mehrfach auf- und abpipettiert und in ein Eppendorfgefäß überführt. Darin wurde das Lysat für 10 min bei 95 °C im Thermomixer erhitzt. Dabei wurde nach einer Minute der Deckel kurzzeitig für einen Druckausgleich geöffnet. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Lysate bei -20 °C in den Eppendorfgefäßen gelagert.

Für die Gewinnung der Hamsterleberlysate wurden die Hamsterlebern auf Trockeneis gemörsert und anschließend 20 mg gefrorenes Leberpulver in ein in flüssigen Stickstoff getauchtes 2,0 ml-Eppendorfgefäß gegeben. Dazu wurden 0,4 ml Lämmli-Puffer gegeben. Anschließend wurden die Proben für ca. 10 s mit dem Dispergierer Ultraturrax® homogenisiert und über Nacht bei -80 °C gelagert. Am darauffolgenden Tag wurden die Proben für 10 min bei 95 °C im Thermomixer erhitzt und dann für 10 min bei 14.000 G

zentrifugiert. Der Überstand wurde entnommen, aliquotiert und bis zur Verwendung für die Versuche bei -20 °C in Eppendorfgefäßen gelagert.

Vor Beginn der Western Blot Analyse wurden die Lysate für 5 min bei 95 °C im Thermomixer erhitzt, für 10 s bei 10.000 G zentrifugiert, für ca. 3 s gevortext und erneut für 10 s zentrifugiert.

3.2.3.2 Proteinauftrennung durch SDS-PAGE

Zunächst erfolgt eine Auftrennung des Proteingemisches nach Molekulargewicht im elektrischen Feld durch die Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE). Als Teile der Gelplatte wurden zunächst Trenn- und ein Sammelgel hergestellt (Tabelle 4). Dabei wurden Ammoniumsulfat (APS) und Tetramethylethylen-diamin (TEMED) erst unmittelbar vor dem Gießen des jeweiligen Gels hinzugefügt, um die Polymerisation zu starten. Dafür wurden zunächst die Glasplatten mit Ethanol (70 %) gereinigt, im Gießrahmen fixiert und auf Dichtigkeit überprüft. Die fertige Trenngellösung wurde anschließend bis zur Markierung in die Vorrichtung gefüllt und mit Ethanol (70 %) bis zum Rand bedeckt, um eine glatte und blasenfreie Oberfläche zu erhalten. Nach 20-minütiger Polymerisation wurde das Ethanol entfernt und die Sammelgellösung bis zum oberen Rand zwischen die Glasplatten auf das Trenngel gegeben und ein Probenkamm eingesetzt. Nach erneuter 20-minütiger Polymerisation wurde der Probenkamm entfernt und die entstandenen Geltaschen mit destilliertem Wasser (dH₂O) befüllt. Bis zur Verwendung wurden die Gelplatten ggf. bei -4 °C, in feuchten Umschlägen verpackt, gelagert. Zur Durchführung der SDS-PAGE wurden die Gelplatten zunächst an einem Elektrodenrahmen angebracht und dieser in eine Elektrophoresekammer eingesetzt. In diese Elektrophoresekammer, sowie in den innenliegenden Elektrodenrahmen wurde dann bis zur Markierung Laufpuffer (Tabelle 4) eingefüllt. Nun wurden die Geltaschen mithilfe einer Hamilton™ Microliter-Spritze befüllt. In die erste Tasche wurden 7 µl des Proteinmarkers (PageRuler Prestained Marker) gegeben. In die übrigen Taschen wurden jeweils 10 µl des Lysats der jeweiligen Proben gefüllt. Die Elektrophoresekammer wurde verschlossen und die Spannung für die ersten 10 min auf 100 V eingestellt. Im Anschluss wurde die Spannung auf 130 V erhöht und das Gerät nach ca. einer Stunde bei Erreichen des unteren Randes des Gels durch den Marker ausgeschaltet.

3.2.3.3 Proteintransfer durch Western Blotting

Im Weiteren erfolgte nun der Proteintransfer als Semi-Dry-Blot-Transfer auf eine Polyvinylidenfluorid-Membran, um eine stabile Oberfläche und die spätere Bindung von Antikörpern zu ermöglichen (Buß, 2021). Zunächst wurde die Membran für 5 s in Methanol gelegt, um diese zu aktivieren. Danach wurde die Membran in dH₂O geschwenkt und schließlich in Transferpuffer (Tabelle 4) gelegt. In der Zwischenzeit wurden die Gelplatten aus dem Elektrodenrahmen entnommen und die Glasplatten mit einem Plastikspatel voneinander gelöst. Das Gel wurde vorsichtig entnommen und der Sammelgelanteil entfernt. Daraufhin wurde das Gel ebenfalls in Transferpuffer zwischengelagert. In der Kammer des Trans-Blot® Turbo™ Systems wurden nun drei Whatman-Papiere gestapelt, welche zuvor in Transferpuffer getränkt wurden. Darauf wurden anschließend blasenfrei die Membran und darauf das Gel gelegt. Drei weitere in Transferpuffer getränkte Filterpapiere wurden obenauf platziert. Die Blot-Kammer wurde geschlossen und das Western Blotting bei einer Standardeinstellung von 120 mA für 35 min bei zwei Gelen gestartet.

3.2.3.4 Immunchemischer Nachweis spezifischer Proteine

Zunächst wurde die Membran zum Blockieren spezifischer Bindungsstellen für eine Stunde in 5 % Milchpulverlösung (Tabelle 4) inkubiert, ein Vorgang der wie weitere Inkubationsschritte auf Stufe 30 des Kippschüttlers bei Raumtemperatur durchgeführt wurde. Im Anschluss an die Blockierung wurde die Membran dreimal hintereinander für jeweils 10 min mit TBS-T-Puffer (Tabelle 4) gewaschen. Anschließend wurde die Membran mit dem Primärantikörper über Nacht auf einem Kippschüttler bei -4 °C inkubiert. Dabei wurden die Primärantikörper nach Herstellerangaben in 5 % Milchpulverlösung oder 5 % BSA-Lösung (Tabelle 4) verdünnt. Die jeweiligen Verdünnungen sind Tabelle 5 zu entnehmen. Am darauffolgenden Tag wurde der Primärantikörper entfernt und die Membran im Anschluss dreimal für jeweils 10 min mit TBS-T-Puffer gewaschen. Danach wurde die Membran für eine Stunde mit dem Sekundärantikörper inkubiert. Der jeweilige Sekundärantikörper wurde 1:5000 in 5 % BSA-Lösung verdünnt (Tabelle 6). Nach Ende der Inkubationszeit erfolgten erneut drei Waschschrte für jeweils 10 min mit TBS-T-Puffer. Anschließend wurde die Membran für eine Minute in die zuvor vorbereitete ECL-Entwicklungslösung (Tabelle 4) gelegt, leicht darin geschwenkt und schließlich blasenfrei in eine Folie gelegt. Mithilfe des ChemoStar ECL & Fluorescence Imager wurden Chemolumineszenzaufnahmen erstellt. Dabei unterschieden sich die Detektionszeiten je nach Antikörper und sind im Einzelnen der Tabelle 5 zu entnehmen.

Für jede Western Blot Analyse wurde zur Kontrolle der gleichmäßigen Probenverteilung in den Geltaschen und eines erfolgreichen Proteintransfers eine Ladekontrolle durchgeführt. Dies erfolgte durch die Messung der Expression des Proteins Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH), aufgrund dessen hoher Expression in den meisten Geweben (Hehr, 2021).

Nach der Detektion wurde die Membran zur Wiederverwendung für 30 min mit 5 ml Stripping Puffer inkubiert. Im Anschluss wurde die Membran dreimal für jeweils 10 min mit TBS-T-Puffer gewaschen und danach für eine Stunde in 5 % Milchpulverlösung blockiert. Die Membran wurde nun erneut dreimal für jeweils 10 min mit TBS-T-Puffer gewaschen und konnte nun wieder über Nacht mit einem Primärantikörper inkubiert werden. Nach Abschluss der Analysen wurde die Membran getrocknet bei Raumtemperatur gelagert. Für eine Wiederverwendung nach Trocknung wurde die Membran zunächst für 5 s in Methanol aktiviert, mit dH₂O gespült und wie oben beschrieben gestrippt.

3.2.4 Photometrische Messung von Malondialdehyd

Für die Durchführung der Messung des Biomarkers Malondialdehyd in Anlehnung an die Methode nach Gutteridge und Halliwell wurde ein kommerzielles MDA-Assay Kit (Tabelle 7) verwendet (Gutteridge & Halliwell, 1990). Einzelne Bestandteile des Kits wurden nach Verbrauch einzeln zusammengestellt und sind Tabelle 3 zu entnehmen. Das Kit und seine Bestandteile wurden bis zur Benutzung bei -20 °C gelagert.

Vor Versuchsbeginn wurde zunächst der Lysepuffer angesetzt, indem 3,6 ml des vorläufigen Lysepuffers zu 48 µl Butylhydroxytoluol (BHT) gegeben wurde. Dabei wurde je nach Probenumfang die benötigte Menge in obigem Verhältnis hergestellt. Weiterhin wurde nach Herstelleranweisung eine Thiobarbitursäure (TBA)-Lösung angesetzt (Tabelle 4).

3.2.4.1 Hamsterleberproben

Für die Durchführung des MDA-Assays mit den Hamsterleberproben wurde zunächst zur späteren Quantifizierung der MDA-Spiegel ein Standard in verschiedenen Verdünnungen angesetzt. Dazu wurden 5 µl einer 4,17 M MDA-Lösung in 814 µl dH₂O verdünnt. 20 µl der entstandenen Lösung wurden dann erneut mit 980 µl dH₂O verdünnt. Von dieser zweiten Verdünnung wurden nun jeweils 0 µl, 2 µl, 4 µl, 6 µl, 8 µl und 10 µl in je ein Eppendorfgefäß gegeben und darauf jeweils bis zu einem Volumen von 200 µl mit dH₂O

aufgefüllt. Daraus ergaben sich die Standards von 0 nmol, 1 nmol, 2 nmol, 3 nmol, 4 nmol und 5 nmol.

Zur Bestimmung des MDA-Gehalts der Hamsterleberproben wurden die Hamsterlebern auf Trockeneis gemörsert und anschließend pro Versuchstier 20 mg gefrorenes Leberpulver in ein in flüssigen Stickstoff getauchtes 2,0 ml-Eppendorfgefäß eingewogen. Dazu wurden jeweils 300 µl des Lysepuffers gegeben. Anschließend wurden die Proben für ca. 10 s mit dem Dispergierer Ultraturrax® homogenisiert und schließlich auf Eis zwischengelagert. Im Folgenden wurden die Proben für 10 min zentrifugiert bei 13.000 G. Anschließend wurden jeweils 200 µl Überstand in ein frisches Eppendorfgefäß überführt. Dazu wurden dann jeweils 300 µl der vorbereiteten TBA-Lösung gegeben. Nun wurden die Proben für eine Stunde bei 95 °C im Thermomixer erhitzt. Danach wurden diese auf Eis zwischengelagert. Die Proben und Standards wurden im Folgenden durch einen Sterile Syringe Filter (0,20 µm) (Tabelle 2) in ein frisches Eppendorfgefäß filtriert, um gelegentlich auftretende Trübungen zu entfernen. Schließlich wurden jeweils 200 µl dieser gefilterten Proben bzw. Standards in eine 96-Well-Platte gegeben. Mit dem Infinite® 200 PRO Plattenlesegerät (Tabelle 1) wurde die Absorption der einzelnen Wells der Platte bei einer Wellenlänge von 532 nm bestimmt.

3.2.4.2 Zellkulturproben

Für die Durchführung des MDA-Assays mit den Zellkulturproben wurde zur späteren Quantifizierung der MDA-Spiegel ebenfalls zunächst ein Standard in verschiedenen Verdünnungen angesetzt. Dazu wurden gleichermaßen 5 µl einer 4,17 M MDA-Lösung in 814 µl dH₂O verdünnt. 4 µl der entstandenen Lösung wurden dann erneut mit 980 µl dH₂O verdünnt. Von dieser zweiten Verdünnung wurden nun jeweils 0 µl, 1 µl, 2 µl, 3 µl, 5 µl, 10 µl und 20 µl in je ein Eppendorfgefäß gegeben und darauf jeweils bis zu einem Volumen von 200 µl mit dH₂O aufgefüllt. Daraus ergaben sich die Standards von 0 nmol, 0,1 nmol, 0,2 nmol, 0,3 nmol, 0,5 nmol, 1 nmol und 2 nmol.

Zur Bestimmung des MDA-Gehalts der Kultur wurde die 24-Well-Platte zunächst auf Eis gestellt. Aus den einzelnen Wells der 24-Well-Platte wurde das Medium abgesaugt. Dazu wurden jeweils 150 µl des vorbereiteten Lysepuffers gegeben. Eine ca. 2 mm gekürzte 200 µl Pipettenspitze wurde benutzt, um die Zellen am Boden der Wells zu lösen. Daraufhin wurde dieses Lysat mehrfach auf- und abpipettiert, in ein Eppendorfgefäß überführt und auf Eis zwischengelagert. Im Folgenden wurden die Proben für 10 min

zentrifugiert bei 13.000 G. Anschließend wurden jeweils 100 µl Überstand in ein frisches Eppendorfgefäß überführt. Dazu wurden dann jeweils 150 µl der vorbereiteten TBA-Lösung gegeben. Nun wurden die Proben für eine Stunde bei 95 °C im Thermomixer erhitzt. Danach wurden diese auf Eis zwischengelagert. Die Proben und Standards wurden im Folgenden durch einen Sterile Syringe Filter (0,20 µm) in ein frisches Eppendorfgefäß filtriert, um gelegentlich auftretende Trübungen zu entfernen. Schließlich wurden jeweils 200 µl dieser gefilterten Proben bzw. Standards in eine 96-Well-Platte gegeben. Mit dem Infinite® 200 PRO Plattenlesegerät wurde die Absorption der einzelnen Wells der Platte bei einer Wellenlänge von 532 nm bestimmt.

3.2.5 Statistische Auswertung

Für die densitometrische Auswertung der Banden der Western Blot Analysen wurde die Software ImageJ V.1.52e verwendet. Die Bilder der Banden der Western Blot Analysen wurden elektronisch aufgehellt und kontrastiert, ohne deren Kernaussage dadurch zu verändern. Die Zusammenführung, Berechnung und Auswertung der Daten erfolgten durch die Software Microsoft Excel®. Zur besseren Vergleichbarkeit der Daten aus der densitometrischen Auswertung wurden diese durch Bildung eines Quotienten aus ermitteltem Wert und Mittelwert aller Banden normiert. Pro Versuchstier bzw. Well im Zellkulturversuch wurde der Quotient aus dem vorab errechneten Wert des zu untersuchenden Proteins und dem ebenso errechneten Wert für die zugehörige Ladekontrolle GAPDH gebildet. Diese Berechnungen wurden für alle im Rahmen dieser Arbeit entstandenen Western Blot Analysen durchgeführt. Für die statistische Auswertung wurde der Mittelwert jedes Versuchstieres bzw. Wells im Zellkulturversuch gebildet. Die im Rahmen des MDA-Assays direkt vom Plattenspektrometer erfassten Werte des MDA-Assays wurden ebenfalls durch Benutzung der Software Microsoft Excel® zusammengeführt und ausgewertet. Dabei wurde aus photometrischen Werten von bekannten Standard MDA-Konzentrationen eine Trendlinie ermittelt, deren Funktionsgleichung zur Berechnung der MDA-Konzentrationen der Hamsterproben bzw. der Zellkulturversuchsproben verwendet wurde. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die Werte durch Bildung eines Quotienten mit dem Mittelwert der MDA-Konzentrationen der Kontrollgruppe des jeweiligen Versuchstages normiert. Für die statistische Auswertung wurde der Mittelwert jedes Versuchstieres gebildet. Die untersuchten Variablen, die Expression der Proteine PKM2, GS, G6PD, PCK2, FAS, ACC1, ACS, ATGL, (p)AMPK, (p)mTOR, Beclin, p62, ATG5, LAMP2 und die MDA-Spiegel in den Hamsterleberproben, sowie die Expression der

Proteine mTOR, Beclin, ATG5, p62 und die MDA-Spiegel in den Zellkulturversuchsproben wurden rein explorativ ausgewertet. Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe der Software IBM® SPSS® Statistics Version 26. Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs wurde nicht von einer Normalverteilung ausgegangen und eine Auswertung durch den nicht-parametrischen Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Die Nullhypothese lautete hierbei (H₀): Die untersuchten Variablen entstammen der gleichen Verteilung, bei einem Signifikanzniveau von $p > 0,05$. Bei einem p-Wert $\leq 0,05$ wird die Alternativhypothese angenommen. Diese lautete dabei (H₁): Die untersuchten Variablen entstammen nicht der gleichen Verteilung. Um einer Kumulierung des α -Fehlers vorzubeugen, wurde die Bonferroni-Holm Korrektur angewendet. Die einzelnen Untergruppen wurden automatisch mit dem Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede untersucht. Dabei lautete H₀: Es gibt keinen Unterschied zwischen den getesteten Gruppen, H₁ lautete: Es gibt einen Unterschied zwischen den getesteten Gruppen. Die Nullhypothese wurde verworfen, wenn eine Signifikanz von $p \leq 0,05$ vorlag.

Zur graphischen Veranschaulichung wurden die Ergebnisse der Western Blot Analysen und der MDA-Assays in Box-Whisker-Plot-Diagrammen dargestellt. Dabei bildet die Box die mittleren 50 % der Daten ab, der Strich den Medianwert. Die Whisker stellen den größten und kleinsten Wert der Daten dar.

4 Ergebnisse

4.1 Dysregulation des hepatischen Stoffwechsels durch *S. mansoni*

Bei einer Infektion mit *S. mansoni* leben und paaren sich die erwachsenen männlichen und weiblichen Würmer in den Venen ihres Säugetierwirts und produzieren täglich über 300 Eier. Einige Eier setzen sich dauerhaft im Lebergewebe des Wirts fest und erzeugen granulomatöse Läsionen, die Entzündungen, Immunreaktionen und schließlich eine Leberfibrose auslösen. Um geschlechtsspezifische Unterschiede der Beeinflussung des hepatischen Wirtsstoffwechsels durch eine *S. mansoni*-Infektion zu untersuchen, wurde zunächst die hepatische Enzymexpression in männlichen Hamstern der Gruppen bisex (*S. mansoni*-infiziert), monosex (Kontrollgruppe) sowie der nicht-infizierten Superkontrollgruppe ermittelt. Eine Infektion der Hamster mit Zerkarien aus monosex-infizierten Schnecken hat keine Ei-Produktion zur Folge und wird daher als Kontrolle verwendet.

Anschließend wurde die veränderte Enzymexpression mit den bereits vorbekannten Werten der weiblichen Hamster verglichen. Die Untersuchung und Auswertung erfolgten dabei rein explorativ. Durch die Anwendung der Bonferroni-Korrektur zur Adjustierung der Signifikanzniveaus beim multiplen Testen verfehlten einige Vergleiche das Erreichen der Signifikanz.

4.1.1 Geschlechtsunabhängige Dysregulation des Kohlenhydratstoffwechsels

Um geschlechtsspezifische Unterschiede im Kohlenhydratstoffwechsels zu detektieren, wurde exemplarisch die Expression folgender Enzyme untersucht: PKM2 als ein Schlüsselenzym der Glykolyse, GS als Schlüsselenzym der Glykogensynthese, G6PD als Schlüsselenzym des Pentosephosphatweges, sowie PCK2 als Schlüsselenzym der Glukoneogenese. In Abbildung 5 sind diese Ergebnisse dargestellt.

4.1.1.1 Steigerung der hepatischen PKM2-Expression

Abbildung 5(a) zeigt die Expression der PKM2. Die Expression von PKM2 unterschied sich über die drei Gruppen der männlichen Hamster ($p=0,005$). In Gruppenvergleichen war die PKM2-Expression im Lebergewebe bisex-infizierter Hamster gegenüber der Expression nicht-infizierter Tiere erhöht ($p=0,005$). Die PKM2-Expression im Lebergewebe monosex-infizierter Tiere unterschied sich statistisch nicht von der PKM2-Expression bisex-infizierter ($p=0,127$) und nicht-infizierter Tiere ($p=0,479$). Diese Ergebnisse zeigen eine erhöhte hepatische PKM2-Expression in mit *S. mansoni* infizierten, männlichen Hamstern. Dieses Ergebnis entspricht der Dysregulation von PKM2 in weiblichen mit *S. mansoni* infizierten Hamstern.

4.1.1.2 Reduktion der hepatischen GS-Expression

Abbildung 5(b) zeigt die Expression der GS. Diese war über die drei Gruppen der männlichen Hamster unterschiedlich ausgeprägt ($p=0,007$). Die hepatische Expression der GS war in bisex-infizierten Hamstern gegenüber den nicht-infizierten Tieren reduziert ($p=0,006$). Die GS-Expression der monosex-infizierten Tiere zeigte keine statistischen Unterschiede im Vergleich zur bisex-infizierten ($p=0,185$) und zur nicht-infizierten Gruppe ($p=0,419$). Diese Ergebnisse zeigen eine erniedrigte hepatische GS-Expression in mit *S. mansoni* infizierten männlichen Hamstern. Damit entspricht die Dysregulation der GS der in weiblichen Tieren.

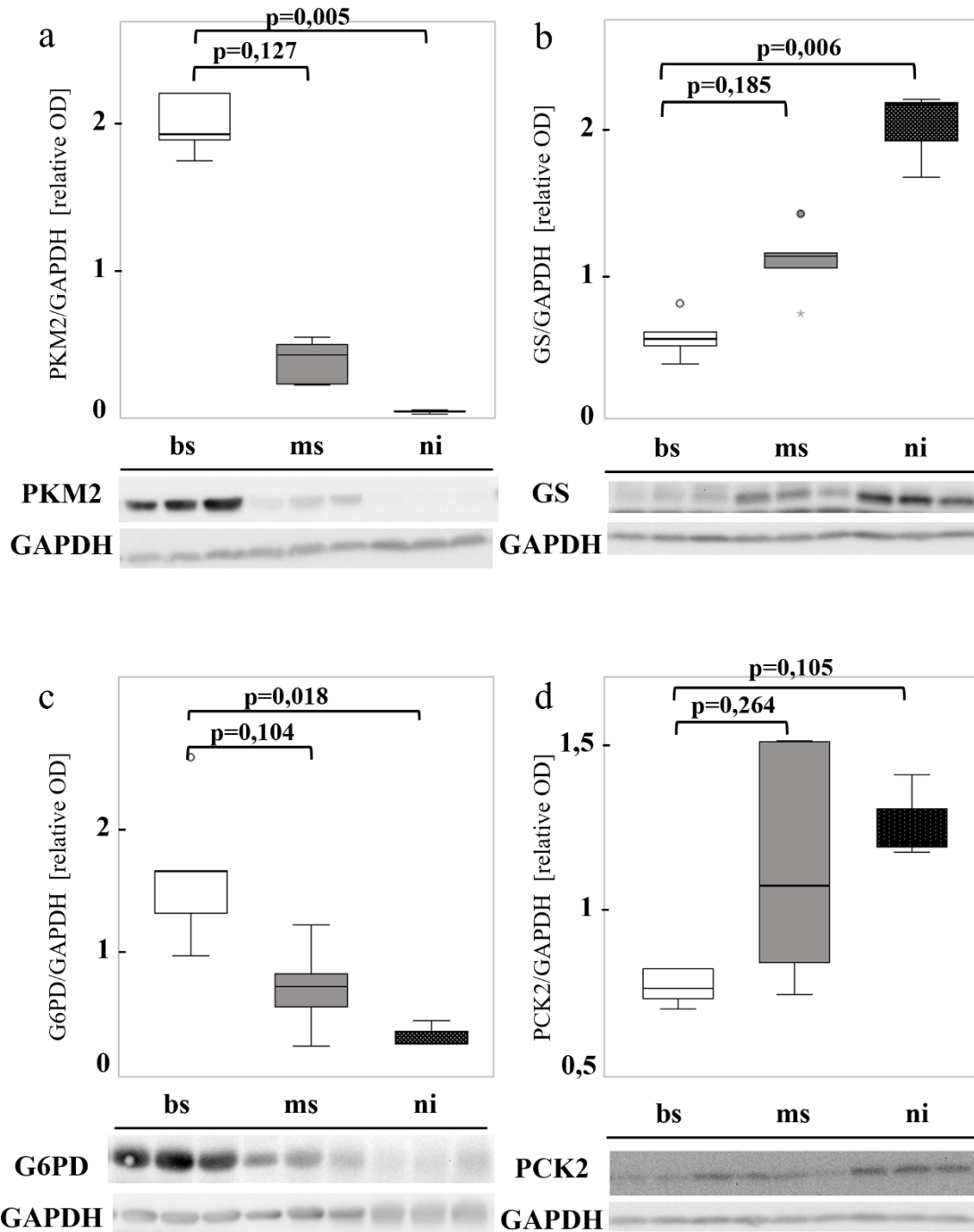


Abbildung 5: Dysregulation des Kohlenhydratstoffwechsels im Lebergewebe männlicher Hamster durch *S. mansoni*-Infektion. Die Western Blot Analyse und die anschließende semiquantitative Bestimmung der optischen Dichte (OD) zeigen Unterschiede zwischen den Gruppen bisex (weiß), monosex (grau) und nicht-infizierter Hamster (schwarz). (a) Steigerung der Expression der hepatischen Pyruvatkinase 2 (PKM2) in bisex-infizierten Tieren (b) Reduktion der Expression der hepatischen Glykogensynthese (GS) in bisex-infizierten Tieren (c) Steigerung der Expression der hepatischen Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PD) in bisex-infizierten Tieren (d) Reduktion der Expression der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase 2 (PCK2) in bisex-infizierten Tieren. GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Western Blot Analysen wurden mindestens dreimal reproduziert. Abgebildet sind repräsentative Blots; bisex (bs) n=5, monosex (ms) n=5, nicht-infiziert (ni) n=3. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

4.1.1.3 Steigerung der hepatischen G6PD-Expression

Abbildung 5(c) zeigt die Expression der G6PD. Diese war über die drei Gruppen der männlichen Hamster unterschiedlich reguliert ($p=0,014$). Die G6PD-Expression in den Lebern bisex-infizierter Hamster war gegenüber der nicht-infizierten Kontrollgruppe erhöht ($p=0,018$). In monosex-infizierten Hamstern war die G6PD-Expression im Vergleich zu den bisex-infizierten ($p=0,104$) sowie zu den nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$) unverändert. Diese Ergebnisse zeigen eine erhöhte hepatische G6PD-Expression in mit *S. mansoni* infizierten männlichen Hamstern, was der veränderten G6PD-Expression in weiblichen Hamstern entspricht.

4.1.1.4 Reduktion der hepatischen PCK2-Expression

Abbildung 5(d) zeigt die Expression der PCK2, welche in Gruppenvergleichen im Lebergewebe bisex-infizierter Hamster gegenüber der Expression nicht-infizierter Tieren reduziert schien, wobei jedoch eine statistische Signifikanz verfehlt wurde ($p=0,105$). Die PCK2-Expression der monosex-infizierten Tiere zeigte keine statistischen Unterschiede im Vergleich zur bisex-infizierten ($p=0,264$) und zur nicht-infizierten Gruppe ($p=1,000$). Diese Ergebnisse deuten auf eine erniedrigte hepatische PCK2-Expression in mit *S. mansoni*-infizierten, männlichen Hamstern hin. Damit scheint die Dysregulation von PCK2 männlicher Tiere vergleichbar der Dysregulation weiblicher Tiere.

4.1.2 Geschlechtsunabhängige Dysregulation des Lipidstoffwechsels

Um geschlechtsspezifische Unterschiede der Dysregulation des Lipidstoffwechsels zu detektieren, wurden exemplarisch die Expression folgender Enzyme untersucht: FAS und ACC1 als Schlüsselenzyme der Fettsäuresynthese, ACS, die die Aktivierung von Fettsäuren katalysiert, sowie ATGL als Schlüsselenzym für den Abbau von Triacylglyceriden. In Abbildung 6 werden diese Ergebnisse dargestellt.

4.1.2.1 Reduktion der hepatischen FAS-Expression

Abbildung 6(a) zeigt die Expression der FAS. Diese war über die drei Gruppen der männlichen Hamster unterschiedlich ($p=0,005$). Die hepatische FAS-Expression in bisex-infizierten Hamstern gegenüber der nicht-infizierten Kontrollgruppe war erniedrigt ($p=0,005$). Die monosex-infizierten Hamster unterschieden sich bezüglich der FAS-Expression nicht statistisch signifikant von den bisex-infizierten ($p=0,127$) und nicht-infizierten Hamstern ($p=0,479$). Diese Ergebnisse zeigen eine erniedrigte hepatische FAS-

Expression in mit *S. mansoni* infizierten männlichen Hamstern, womit die Dysregulation der FAS der in weiblichen Tieren entspricht.

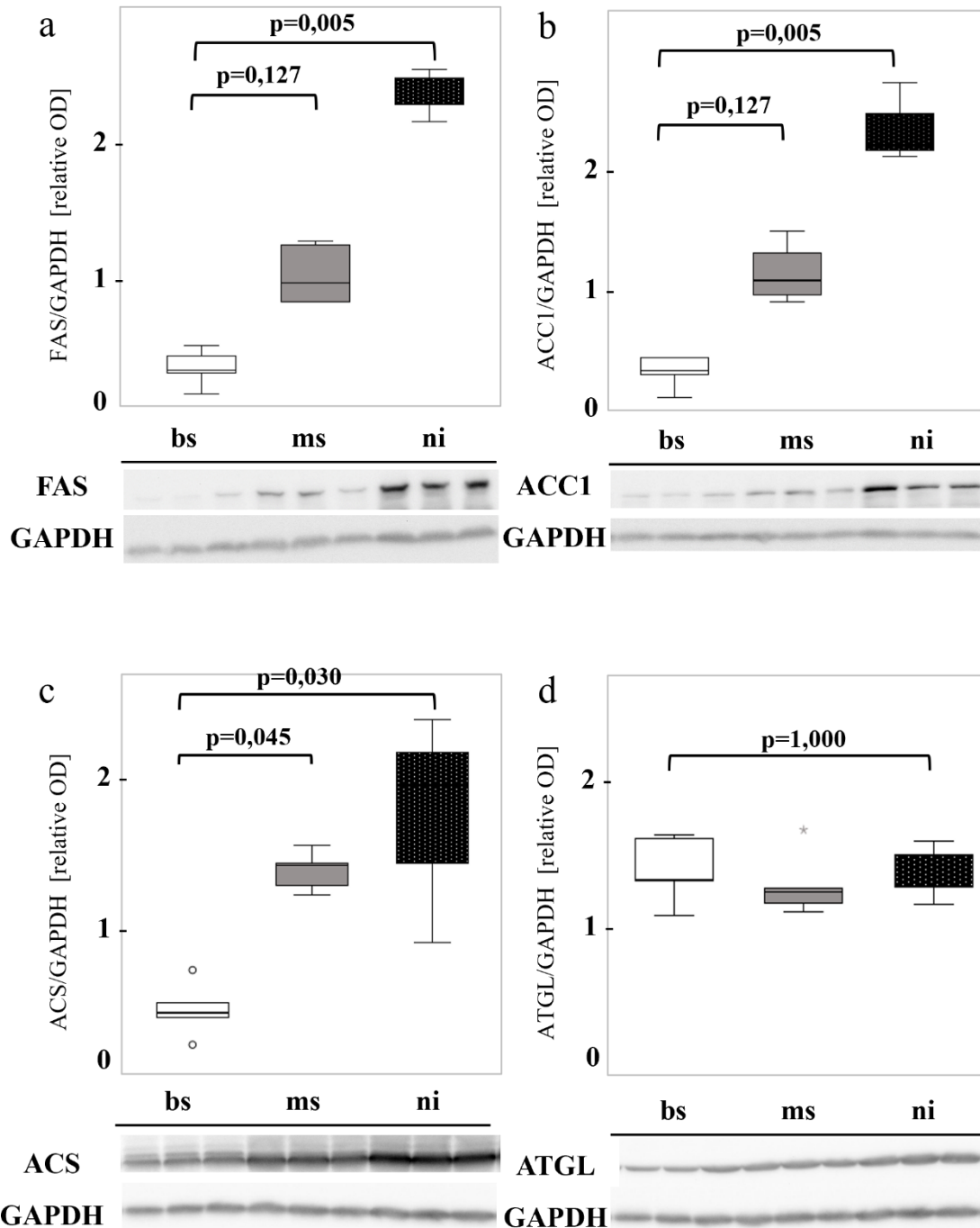


Abbildung 6: Dysregulation des Lipidstoffwechsels in männlichen Hamsterlebern durch *S. mansoni*-Infektion. Die Western Blot Analyse und die anschließende semiquantitative Bestimmung der OD zeigen Unterschiede zwischen den Gruppen bisex (weiß), monosex (grau) und nicht-infizierter Hamsterlebern Tieren. (a) Reduktion der Expression der hepatischen Fettsäuresynthase (FAS) in bisex-infizierten Tieren. (b) Reduktion der Expression der hepatischen Acetyl-CoA Carboxylase 1 (ACC1) in bisex-infizierten Tieren. (c) Reduktion der Expression der hepatischen Acetyl-CoA-Synthetase (ACS) in bisex-infizierten Tieren.

Tieren. (d) Keine Unterschiede der Expression der adipösen Triglyceridlipase (ATGL). GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Western Blot Analysen wurden mindestens dreimal reproduziert. Abgebildet sind repräsentative Blots; bisex (bs) n=5, monosex (ms) n=5, nicht-infiziert (ni) n=3. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

4.1.2.2 Reduktion der hepatischen ACC1-Expression

Abbildung 6(b) zeigt die Expression von ACC1, einem Schlüsselenzym der Fettsäuresynthese. Diese unterschied sich über die drei Gruppen der männlichen Hamster ($p=0,005$). In Gruppenvergleichen war die ACC1-Expression im Lebergewebe bisex-infizierter Hamstern gegenüber der Expression nicht-infizierter Tiere erniedrigt ($p=0,005$). In monosex-infizierten Hamstern war die ACC1-Expression im Vergleich zu den bisex-infizierten ($p=0,127$) sowie zu den nicht-infizierten Hamstern ($p=0,479$) nicht signifikant unterschiedlich. Diese Ergebnisse zeigen eine erniedrigte hepatische ACC1-Expression in mit *S. mansoni* infizierten männlichen Hamstern. Dieses Ergebnis entspricht der Dysregulation von ACC1 in weiblichen *S. mansoni*-infizierten Hamstern.

4.1.2.3 Reduktion der hepatischen ACS-Expression

Abbildung 6(c) zeigt die Expression der ACS, welche über die drei Gruppen der männlichen Hamster reguliert war ($p=0,012$). In Gruppenvergleichen war die hepatische ACS-Expression in bisex-infizierten Hamstern gegenüber den monosex-infizierten Tieren reduziert ($p=0,045$), sowie auch gegenüber der nicht-infizierten Kontrollgruppe erniedrigt ($p=0,030$). Die ACS-Expression der monosex-infizierten Tiere unterschied sich nicht im Vergleich zur nicht-infizierten Gruppe ($p=1,000$). Diese Ergebnisse zeigen eine erniedrigte hepatische ACS-Expression in mit *S. mansoni* infizierten männlichen Hamstern, was der Dysregulation von ACS in *S. mansoni*-infizierten weiblichen Hamstern entspricht.

4.1.2.4 Keine Dysregulation der hepatischen ATGL-Expression

Abbildung 6(d) zeigt die Expression der ATGL. Diese war über die drei Gruppen der männlichen Hamster identisch ($p \leq 1,000$). Diese Ergebnisse zeigen eine unveränderte hepatische ATGL-Expression in mit *S. mansoni* infizierten männlichen Hamstern. Damit entspricht die Dysregulation der ATGL der in weiblichen Tieren.

4.1.2.5 Reduktion der hepatischen AMPK-Expression

Die AMPK ist ein Schlüsselenzym der Regulation metabolischer Vorgänge wie z.B. der Cholesterin- und Fettsäuresynthese. Die phosphorylierte Form (pAMPK) entspricht dabei der aktivierten Form der AMPK. Abbildung 7 stellt die Ergebnisse bezüglich der hepatischen AMPK- und pAMPK-Expression dar. Die phosphorylierte Form der AMP-aktivierten Proteinkinase entspricht dabei der aktiven Form der AMPK. Um das Verhältnis von aktivierter AMPK und deaktivierter Form ermitteln zu können, wurden sowohl die Expression von pAMPK als auch von AMPK ermittelt.

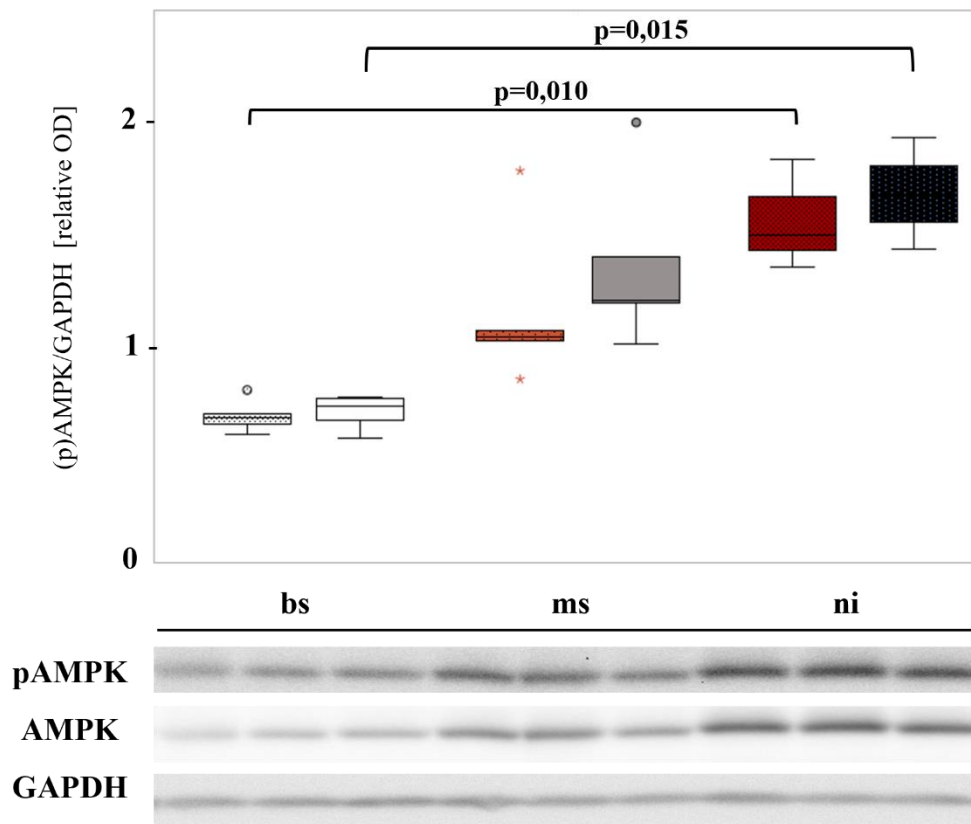


Abbildung 7: Reduktion der (p)AMPK-Expression in männlichen Hamsterlebern durch *S. mansoni*-Infektion. Die Western Blot Analyse und die anschließende semiquantitative Bestimmung der OD zeigen Unterschiede zwischen den Gruppen bisex, monosex und den Lebern nicht-infizierter Hamster. AMPK ist dabei in Graustufen dargestellt: bisex in Weiß, monosex in Grau und nicht-infiziert in Schwarz; die phosphorylierte Form gepunktet: bisex in Weiß, monosex in Orange und nicht-infiziert in Rot. GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Western Blot Analysen wurden mindestens dreimal reproduziert. Im unteren Abschnitt sind repräsentative Blots abgebildet; bisex (bs) n=5, monosex (ms) n=5, nicht-infiziert (ni) n=3. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

Abbildung 7 zeigt die Expression und Phosphorylierung der AMPK in den drei Gruppen. Die Expression von AMPK unterschied sich über die drei Gruppen der männlichen Hamster ($p=0,010$). In Gruppenvergleichen war die AMPK-Expression im Lebergewebe von

bisex-infizierten Hamstern gegenüber der nicht-infizierten Kontrollgruppe reduziert ($p=0,015$). In monosex-infizierten Hamstern war die AMPK-Expression im Vergleich zu den bisex-infizierten ($p=0,069$) sowie zu den nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$) nicht signifikant unterschiedlich. Abbildung 7 zeigt in Rottönen die Expression von phosphoryliertem AMPK, der aktivierten Form. Die Verteilung war über die drei Gruppen der männlichen Hamster ähnlich wie AMPK und ebenfalls unterschiedlich ($p=0,008$). In Gruppenvergleichen war die pAMPK-Expression im Lebergewebe von bisex-infizierten Hamstern gegenüber der nicht-infizierten Kontrollgruppe reduziert ($p=0,010$). In monosex-infizierten Hamstern war die pAMPK-Expression im Vergleich zu den bisex-infizierten ($p=0,085$) sowie zu den nicht-infizierten Hamstern ($p=0,907$) gleich. Diese Ergebnisse zeigen eine erniedrigte hepatische AMPK und pAMPK-Expression in mit *S. mansoni*-infizierten, männlichen Hamstern, was der Dysregulation von AMPK und pAMPK in *S. mansoni*-infizierten, weiblichen Hamstern entspricht.

4.2 Dysregulation der hepatischen Autophagie durch *S. mansoni*

Um eine Beeinflussung der hepatischen Autophagie durch *S. mansoni* zu untersuchen, wurde die Proteinexpression von Autophagiemarkern in männlichen und weiblichen Hamsterlebern bisex- und monosex-infizierter, sowie nicht-infizierter Tiere verglichen. Anschließend wurden diese Marker in mit SEA stimulierten Hepatozyten in Zellkultur analysiert.

4.2.1 Geschlechtsspezifische Dysregulation der Autophagie in Hamsterlebern

Um geschlechtsspezifische Unterschiede der Dysregulation der Autophagie zu detektieren, wurde exemplarisch die Expression folgender Enzyme in den Hamsterlebern untersucht: mTOR, ein zentraler Regulator, der u.a. Autophagie-hemmend wirkt; p62, ein Autophagosomen-Frachtprotein; Beclin, ein Regulator der Autophagieeinleitung; ATG5, ein Schlüsselprotein des Membranaufbaus des Autophagosoms und LAMP2, ein Membranglykoprotein.

4.2.1.1 Geschlechtsunabhängige Reduktion der mTOR-Expression

Abbildung 8 stellt die Ergebnisse bezüglich der hepatischen mTOR-Expression und Phosphorylierung von mTOR dar. Um das Verhältnis von phosphoryliertem mTOR und mTOR ermitteln zu können, wurden sowohl die Expression von pmTOR als auch von

mTOR analysiert. Abbildung 8 zeigt in Grautönen die Expression von mTOR. Diese war über die jeweils drei Gruppen der männlichen und weiblichen Hamster reguliert ($p=0,002$). In Gruppenvergleichen war die mTOR-Expression im Lebergewebe männlicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der männlichen, nicht-infizierten Kontrollgruppe tendenziell verringert, verfehlte dabei aber statistische Signifikanz ($p=0,131$). In männlichen, monosex-infizierten Hamstern war die mTOR-Expression im Vergleich zu den männlichen, bisex-infizierten ($p=1,000$) sowie zu den männlichen, nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$) nicht statistisch unterschiedlich. Die mTOR-Expression im Lebergewebe weiblicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der weiblichen, nicht-infizierten Kontrollgruppe zeigte sich signifikant erniedrigt ($p=0,006$). In weiblichen, monosex-infizierten Hamstern war die mTOR-Expression im Vergleich zu den weiblichen, bisex-infizierten ($p=1,000$) sowie zu den weiblichen, nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$) nicht statistisch unterschiedlich. Diese Ergebnisse zeigen eine erniedrigte hepatische mTOR-Expression in mit *S. mansoni*-infizierten Hamstern. Abbildung 8 zeigt in Rottönen die Phosphorylierung von mTOR. Die Verteilung von pmTOR war über die Hamstergruppen ähnlich zu mTOR und ebenfalls reguliert ($p=0,001$). In Gruppenvergleichen war die Phosphorylierung von mTOR im Lebergewebe männlicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der männlichen, nicht-infizierten Kontrollgruppe reduziert ($p=0,020$). In männlichen, monosex-infizierten Hamstern war pmTOR im Vergleich zu den männlichen, bisex-infizierten ($p=1,000$) sowie zu den männlichen, nicht-infizierten Hamstern ($p=0,738$) nicht statistisch unterschiedlich. pmTOR war im Lebergewebe weiblicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der weiblichen, nicht-infizierten Kontrollgruppe herunterreguliert ($p=0,045$). In weiblichen, monosex-infizierten Hamstern war pmTOR im Vergleich zu den weiblichen, bisex-infizierten ($p=1,000$) sowie zu den weiblichen, nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$) nicht statistisch unterschiedlich. Diese Ergebnisse zeigen eine erniedrigte hepatische Phosphorylierung von mTOR in mit *S. mansoni* infizierten männlichen und weiblichen Hamstern.

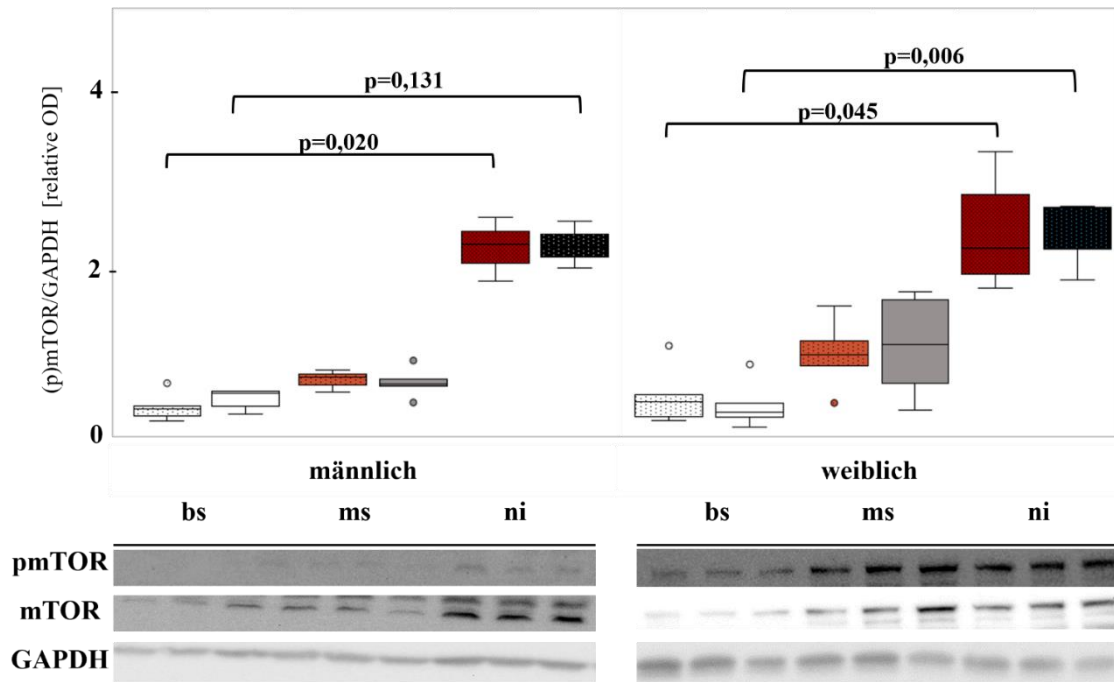


Abbildung 8: Reduktion der Expression von (p)mTOR in Hamsterlebern bei *S. mansoni*-Infektion ohne geschlechtsspezifische Unterschiede. Die Western Blot Analyse und die anschließende semiquantitative Bestimmung der OD zeigen Unterschiede zwischen den Gruppen bisex, monosex und nicht-infizierter Hamsterlebern. mTOR ist dabei in Graustufen dargestellt: bisex in Weiß, monosex in Grau und nicht-infiziert in Schwarz; die phosphorylierte Form gepunktet: bisex in Weiß, monosex in Orange und nicht-infiziert in Rot. GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Western Blot Analysen wurden mindestens dreimal reproduziert. Abgebildet sind repräsentative Blots; bisex (bs) n=5, monosex (ms) n=5, nicht-infiziert (ni) n=3. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

4.2.1.2 Geschlechtsunabhängige Steigerung der p62-Expression

Abbildung 9 zeigt die Expression des Autophagosomen-Frachtprotein p62. Diese war über die drei Gruppen der männlichen Hamster unterschiedlich verteilt ($p=0,005$). In Gruppenvergleichen war die hepatische p62-Expression in bisex-infizierten Hamstern gegenüber der nicht-infizierten Kontrollgruppe erhöht ($p=0,005$). In monosex-infizierten Hamstern war die p62-Expression im Vergleich zu bisex-infizierten ($p=0,127$) sowie zu nicht-infizierten Hamstern ($p=0,479$) nicht statistisch unterschiedlich. Diese Ergebnisse zeigen eine erhöhte hepatische p62-Expression in mit *S. mansoni*-infizierten, männlichen Hamstern, womit die Dysregulation von p62 der in weiblichen Tieren beobachteten entspricht.

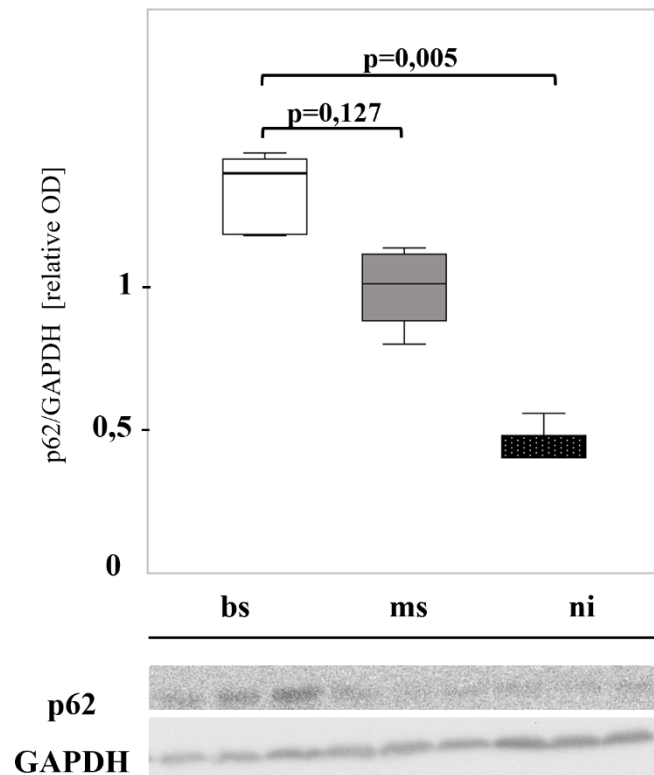


Abbildung 9: Steigerung der p62-Expression in männlichen Hamsterlebern durch *S. mansoni*-Infektion. Die Western Blot Analyse und die anschließende semiquantitative Bestimmung der OD zeigen Unterschiede zwischen den Gruppen bisex (weiß), monosex (grau) und nicht-infizierter Hamsterlebern (schwarz). GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Western Blot Analysen wurden mindestens dreimal reproduziert. Abgebildet sind repräsentative Blots; bisex (bs) n=5, monosex (ms) n=5, nicht-infiziert (ni) n=3. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

4.2.1.3 Geschlechtsspezifische Regulation der Beclin-Expression

Abbildung 10 zeigt die Expression von Beclin, einem Regulator der Autophagieeinleitung, welche über die Gruppen der männlichen und weiblichen Hamster unterschiedlich verteilt war ($p=0,001$). In Gruppenvergleichen unterschied sich die Beclin-Expression im Lebergewebe männlicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der männlichen, monosex-infizierten ($p=1,000$) sowie der männlichen, nicht-infizierten Kontrollgruppe nicht ($p=1,000$). Die männlichen, monosex-infizierten Hamster unterschieden sich statistisch nicht von den männlichen nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$). Die Beclin-Expression war im Lebergewebe weiblicher, bisex-infizierter Hamstern gegenüber der weiblichen, monosex-infizierten Kontrollgruppe ($p=0,004$), sowie der nicht-infizierten Kontrollgruppe erhöht ($p=0,002$). Die weiblichen, monosex-infizierten Hamster unterschieden sich statistisch nicht von den weiblichen, nicht-infizierten Hamstern bezüglich der Beclin-Expression ($p=1,000$). Diese Ergebnisse zeigen eine erhöhte hepatische Beclin-

Expression in mit *S. mansoni* infizierten weiblichen Hamstern. Wohingegen bei den männlichen Hamstern keine Gruppenunterschiede auftraten.

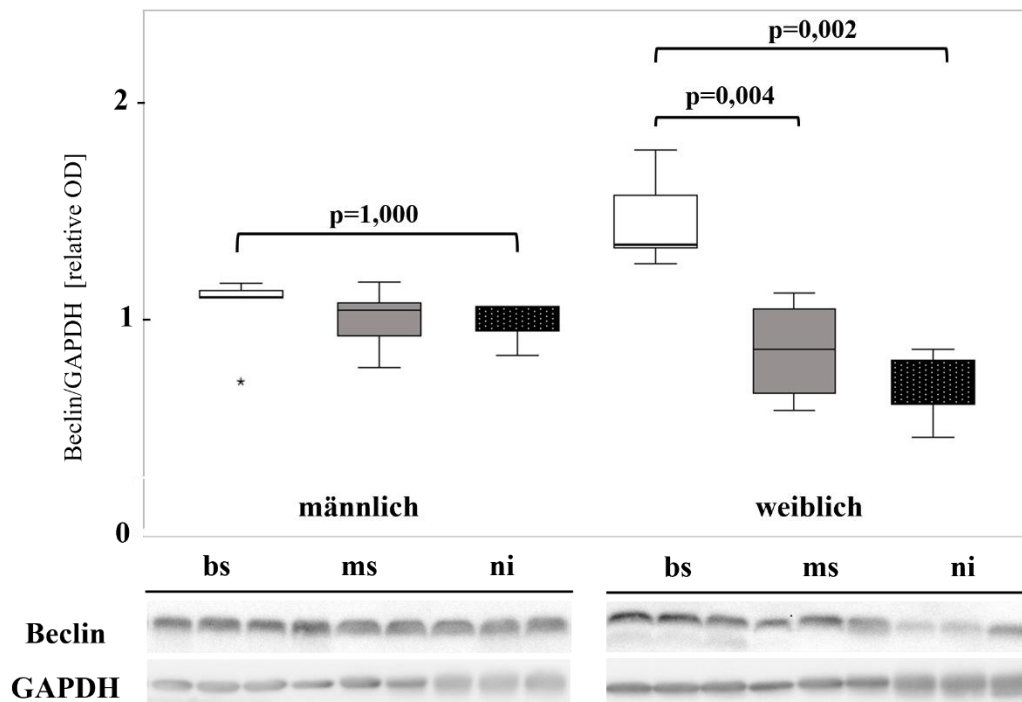


Abbildung 10: Geschlechtsspezifische Dysregulation der Beclin-Expression in Hamsterlebern bei *S. mansoni*-Infektion. Die Western Blot Analyse und die anschließende semiquantitative Bestimmung der OD zeigen Unterschiede zwischen den Gruppen der männlichen und weiblichen bisex (weiß), monosex (grau) und nicht-infizierter Hamsterlebern (schwarz). GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Western Blot Analysen wurden mindestens dreimal reproduziert. Abgebildet sind repräsentative Blots; bisex (bs) n=5, monosex (ms) n=5, nicht-infiziert (ni) n=3. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

4.2.1.4 Geschlechtsspezifische Regulation der ATG5-Expression

Abbildung 11 zeigt die Expression von ATG5, einem Schlüsselprotein des Membranaufbaus des Autophagosoms. Diese war über die jeweils drei Gruppen der männlichen und weiblichen Hamster reguliert ($p=0,005$). In Gruppenvergleichen war die ATG5-Expression im Lebergewebe männlicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der männlichen, monosex-infizierten Kontrollgruppe erniedrigt ($p=0,025$), gegenüber den nicht-infizierten Tieren nicht statistisch unterschiedlich verändert ($p=1,000$). In männlichen, monosex-infizierten Hamstern gab es keine statistischen Unterschiede im Vergleich zu den nicht-infizierten Tieren bezüglich der ATG5-Expression ($p=1,000$). In Gruppenvergleichen war die hepatische ATG5-Expression in weiblichen, bisex-infizierten Hamstern gegenüber der weiblichen, nicht-infizierten Kontrollgruppe tendenziell erhöht, verfehlte

jedoch statistische Signifikanz ($p=0,237$). In weiblichen, monosex-infizierten Hamstern war die ATG5-Expression im Vergleich zu den bisex-infizierten ($p=0,917$) sowie zu den nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$) nicht signifikant unterschiedlich. Die ATG5-Expression zeigte sich im Lebergewebe weiblicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der männlichen, bisex-infizierten Tieren erhöht ($p=0,014$). Diese Ergebnisse deuten auf geschlechtsspezifische Unterschiede in der Richtung der Regulation der ATG5-Expression hin.

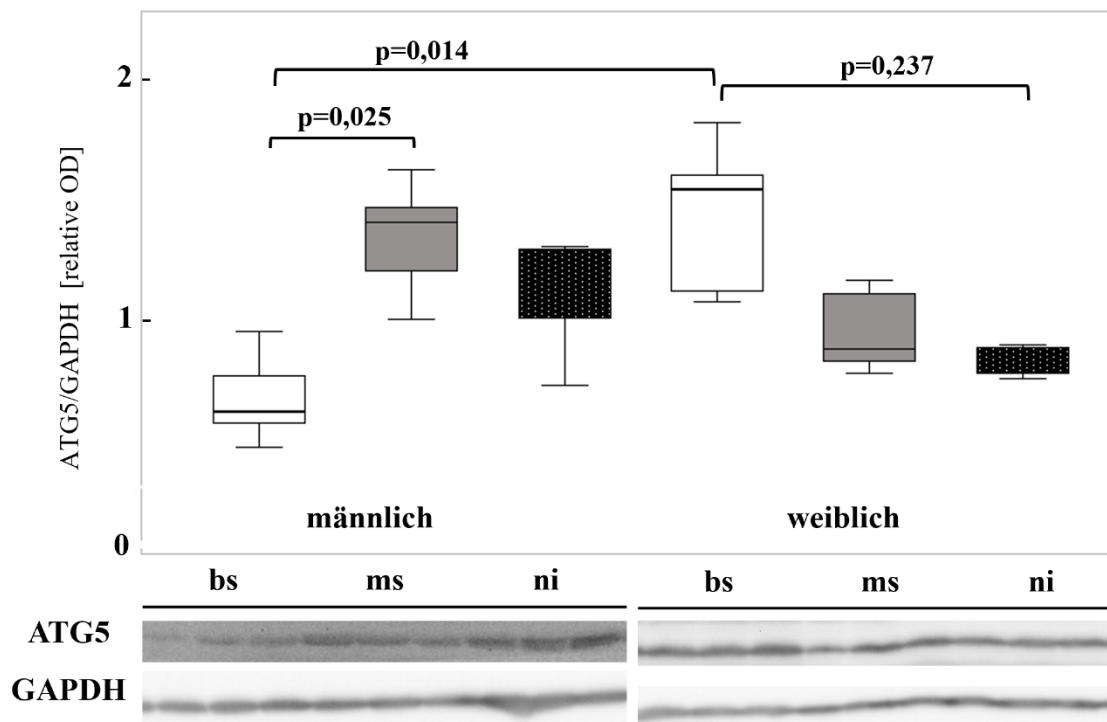


Abbildung 11: Geschlechtsspezifische Dysregulation der ATG5-Expression in Hamsterlebern bei *S. mansoni*-Infektion. Die Western Blot Analyse und die anschließende semiquantitative Bestimmung der OD zeigen Unterschiede zwischen den Gruppen der männlichen und weiblichen bisex (weiß), monosex (grau) und nicht-infizierter Hamsterlebern (schwarz). GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Western Blot Analysen wurden mindestens dreimal reproduziert. Abgebildet sind repräsentative Blots; bisex (bs) $n=5$, monosex (ms) $n=5$, nicht-infiziert (ni) $n=3$. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

4.2.1.5 Geschlechtsspezifische Regulation der LAMP2-Expression

Abbildung 12 zeigt die Expression von LAMP2, einem Membranglykoprotein. Diese war über die jeweils drei Gruppen der männlichen und weiblichen Hamster reguliert ($p=0,019$). In Gruppenvergleichen war die LAMP2-Expression im Lebergewebe männlicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der männlichen, nicht-infizierten

Kontrollgruppe tendenziell erniedrigt, verfehlte aber statistische Signifikanz ($p=0,157$). In männlichen, monosex-infizierten Hamstern war die LAMP2-Expression im Vergleich zu den männlichen, bisex-infizierten ($p=1,000$) sowie zu den nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$) nicht signifikant unterschiedlich. Die LAMP2-Expression war im Lebergewebe weiblicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der weiblichen, nicht-infizierten Kontrollgruppe tendenziell erhöht, verfehlte aber statistische Signifikanz ($p=0,165$). In weiblichen, monosex-infizierten Hamstern war die LAMP2-Expression im Vergleich zu den weiblichen, bisex-infizierten ($p=1,000$) sowie zu den nicht-infizierten Hamstern ($p=1,000$) nicht signifikant unterschiedlich. Die LAMP2-Expression war im Lebergewebe weiblicher nicht-infizierter Hamster gegenüber den männlichen nicht-infizierten Tieren erniedrigt ($p=0,035$). In weiblichen im Vergleich zu männlichen bisex-infizierten Tieren war diese nicht signifikant unterschiedlich ($p=0,810$).

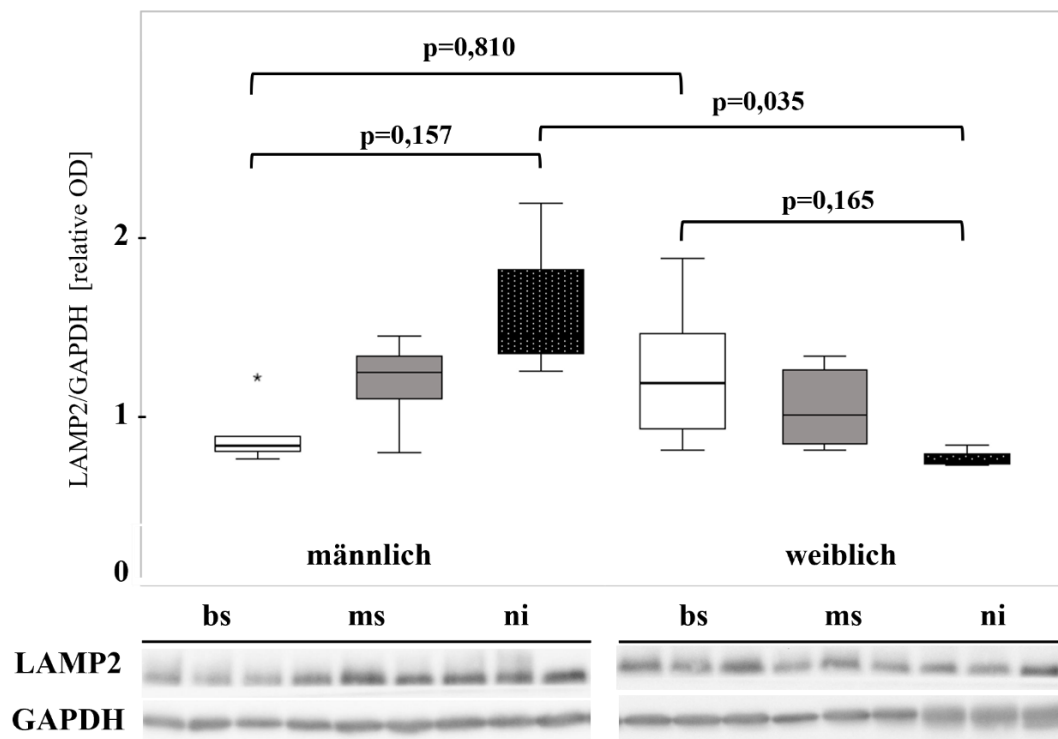


Abbildung 12: Geschlechtsspezifische Dysregulation der LAMP2-Expression in Hamsterlebern bei *S. mansoni*-Infektion. Die Western-Blot-Analyse und die anschließende semiquantitative Bestimmung der OD zeigen Unterschiede zwischen den Gruppen der männlichen und weiblichen bisex (weiß), monosex (grau) und nicht-infizierter Hamsterlebern (schwarz). GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Western Blot Analysen wurden mindestens dreimal reproduziert. Abgebildet sind repräsentative Blots; bisex (bs) $n=5$, monosex (ms) $n=5$, nicht-infiziert (ni) $n=3$. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

4.2.2 SEA beeinflusst Autophagie in HepG2-Zellen

Um die Ursache der im vorigen Abschnitt beschriebene Dysregulation der Autophagie in Hamsterlebern aufzuklären, wurde diese im Anschluss in Zellkultur untersucht. Die Expression folgender Enzyme wurde nach 24-stündiger Inkubation in mit SEA-stimulierten (4,6 µg/ml) männlichen HepG2-Zellen im Vergleich zur mit PBS behandelten Kontrollgruppe analysiert: mTOR, p62, Beclin und ATG5. Abbildung 13 stellt diese Ergebnisse der Western Blot Analysen und statistischen Auswertung dar.

Abbildung 13(a) zeigt die Expression von mTOR. Die Expression von mTOR war in den mit SEA-stimulierten HepG2-Zellen im Vergleich zur mit PBS behandelten Kontrollgruppe reduziert ($p=0,029$). Dieses Ergebnis entspricht der Reduktion von mTOR in weiblichen bisex-infizierten im Vergleich zu nicht-infizierten Tieren. Die mTOR-Expression im Lebergewebe männlicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der männlichen, nicht-infizierten Kontrollgruppe war ebenfalls tendenziell verringert, verfehlte dabei aber statistische Signifikanz.

Abbildung 13(b) zeigt die Expression von p62. p62 war in den mit SEA-stimulierten HepG2-Zellen im Vergleich zur mit PBS behandelten Kontrollgruppe erhöht ($p=0,001$). Dies entspricht der erhöhten hepatischen p62-Expression in mit *S. mansoni* infizierten männlichen Hamstern, sowie den aus Vorbefunden zu Studien der Arbeitsgruppe von Prof. Roeb bekannten Werte der weiblichen Hamster.

Abbildung 13(c) zeigt die Expression von Beclin. Diese war in den mit SEA-stimulierten HepG2-Zellen im Vergleich zur mit PBS behandelten Kontrollgruppe erhöht ($p=0,016$). Dieses Ergebnis entspricht der Erhöhung von Beclin in mit *S. mansoni* infizierten weiblichen Hamstern. Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den männlichen Tieren keine Regulation von Beclin durch *S. mansoni* Infektion.

Abbildung 13(d) zeigt die Expression von ATG5. ATG5 war in den mit SEA-stimulierten HepG2-Zellen im Vergleich zur mit PBS behandelten Kontrollgruppe erhöht ($p=0,010$). Die ATG5-Expression im Lebergewebe weiblicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der nicht-infizierten Kontrollgruppe war ebenfalls tendenziell erhöht, verfehlte dabei aber statistische Signifikanz. Im Gegensatz dazu war ATG5 in männlichen, bisex-infizierten im Vergleich zu den monosex-infizierten erniedrigt.

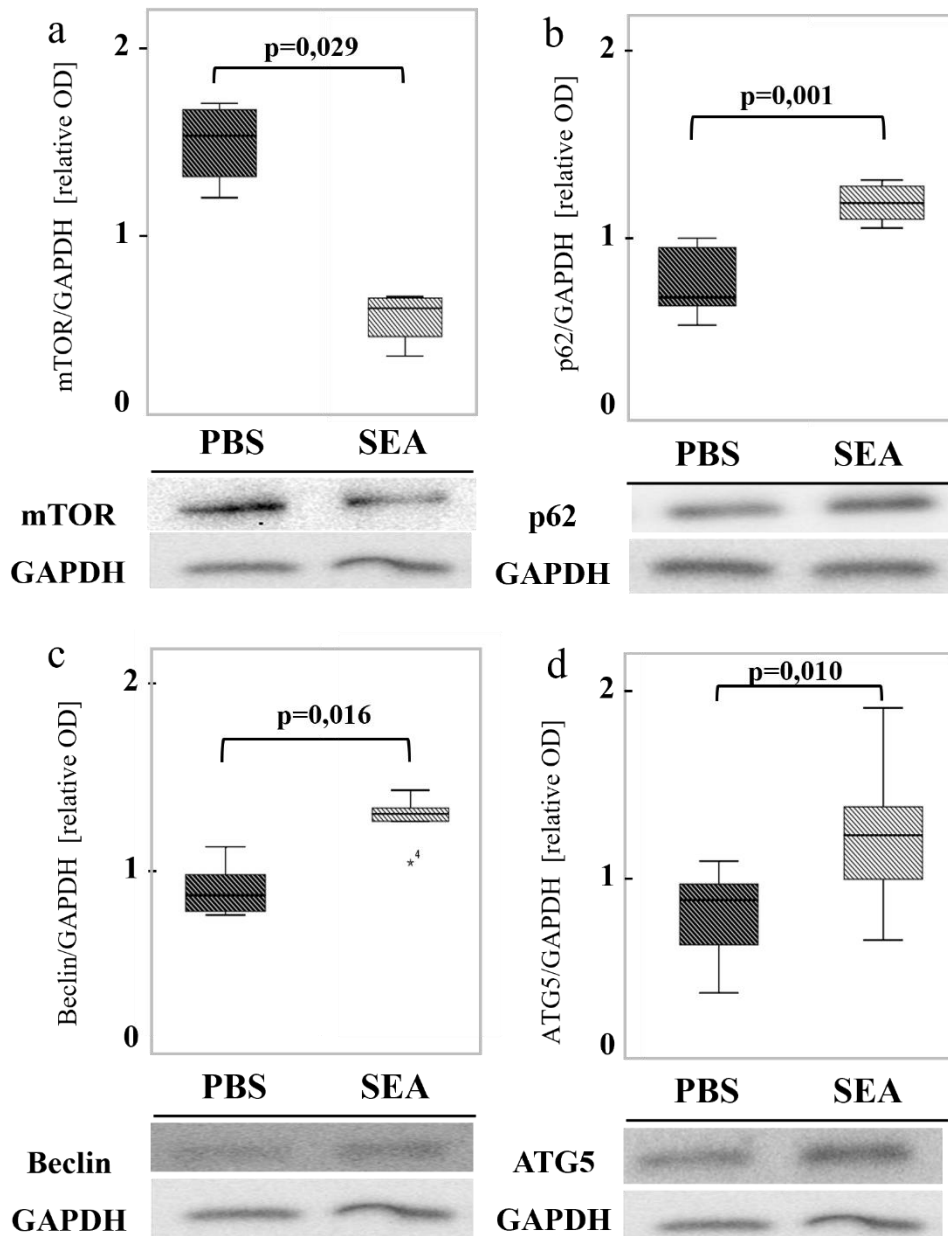


Abbildung 13: SEA-induzierte Veränderung von Autophagieparametern a) SEA-induzierte erniedrigte Expression von mTOR b)-d) SEA-induzierte erhöhte Expression von p62, Beclin und ATG5. Verwendet wurden die Zelllysate männlicher HepG2-Zellen nach 24-stündiger Inkubation bei einer SEA-Konzentration von 4,6 $\mu\text{g/ml}$ (hellgrau) im Vergleich zur PBS-Kontrolle (dunkelgrau). Semiquantitative densitometrische Auswertung der OD der Western Blot Analyse mit anschließender Normierung durch Division mit dem Mittelwert der Kontrollgruppe des jeweiligen Versuchstages. GAPDH wurde als Ladekontrolle verwendet. Gezeigt wird ein repräsentativer Blot bei $n \geq 5$ pro Gruppe. Die Unterschiede wurden statistisch mittels Mann-Whitney-U-Test analysiert.

4.3 Geschlechtsspezifische Dysregulation des oxidativen Stresses durch *S. mansoni*

Um eine geschlechtsspezifische Beeinflussung des oxidativen Stresses durch *S. mansoni* zu untersuchen, wurden die hepatischen MDA-Spiegel in männlichen Hamsterlebern

bisex- und monosex-infizierter, sowie nicht-infizierter Tiere bestimmt und mit bereits vorbekannten Werten der weiblichen Hamster verglichen. Im Folgenden wurde dieser Marker in mit SEA stimulierten Hepatozyten in Zellkultur bei Autophagie-Hemmung durch Chloroquin analysiert.

4.3.1 Geschlechtsspezifische Unterschiede der MDA-Konzentration in Hamsterlebern

Abbildung 14 zeigt die Verteilung der relativen MDA-Konzentration. Diese verhielt sich über die sechs Gruppen der männlichen und weiblichen Hamster unterschiedlich ($p=0,001$). In Gruppenvergleichen unterschied sich die MDA-Konzentration im Lebergewebe männlicher, bisex-infizierter Hamster gegenüber der männlichen, monosex-infizierten ($p=1,000$) sowie der nicht-infizierten Kontrollgruppe nicht ($p=1,000$). Zum Vergleich wurden MDA-Konzentrationen weiblicher Tiere aus Buß (2021) herangezogen. Diese sind in Abbildung 14 mit einem orangefarbenen Stern markiert. In der Arbeit Buß (2021) ist die signifikante Erhöhung der MDA-Konzentration der bisex-infizierten im Vergleich zu den nicht-infizierten weiblichen Hamstern beschrieben. Die MDA-Konzentration war im Lebergewebe weiblicher bisex-infizierter Hamster gegenüber der in männlichen, bisex-infizierten Tieren signifikant erhöht ($p=0,001$). Diese Ergebnisse zeigen geschlechtsspezifische Unterschiede in der Regulation der MDA-Konzentration.

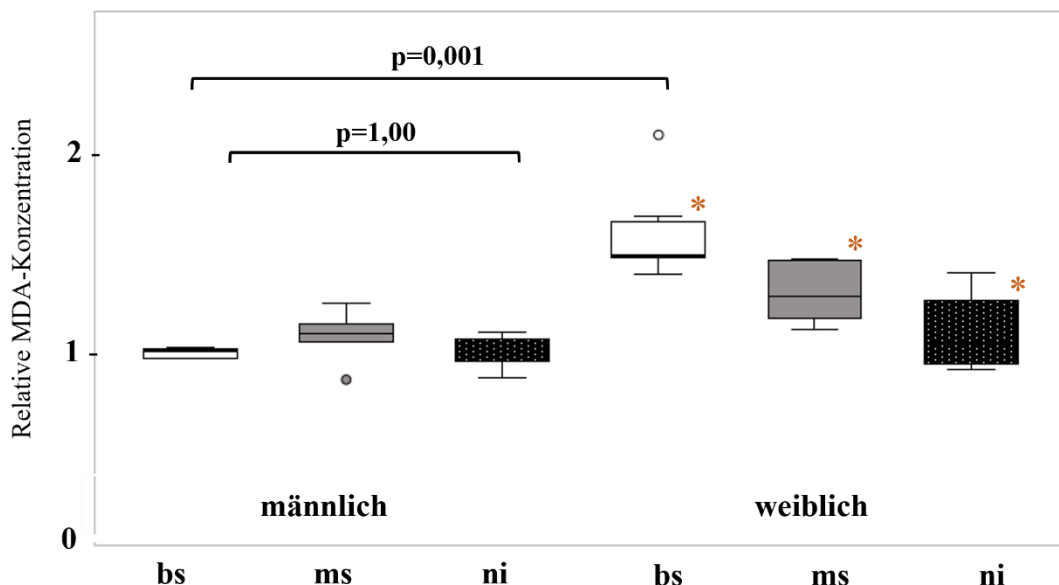


Abbildung 14: Geschlechtsspezifische Unterschiede der MDA-Spiegel in Hamsterlebern bei *S. mansoni*-Infektion. Die mit * markierten Werte der weiblichen Tiere entstammen Buß (2021) und wurden zum Vergleich herangezogen. Es wurden ≥ 3 technische Replikate durchgeführt. Auswertung der MDA-Spiegel pro männlichem Hamster bisex (bs) $n=5$, monosex (ms) $n=5$, nicht-infiziert (ni) $n=3$ in nmol MDA mit anschließender Normierung durch Bildung des Quotienten mit dem Mittelwert der Kontrollgruppe des

jeweiligen Versuchstages. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

4.3.2 Normalisierung der durch SEA induzierten MDA-Spiegel mittels Chloroquins

Um den Zusammenhang von Autophagie und oxidativem Stress im Rahmen einer *S. mansoni* Infektion zu untersuchen, führten wir in Zellkultur Inhibitionsversuche durch, wobei die Autophagie mittels Chloroquin gehemmt wurde. Die relative MDA-Konzentration wurde in vier unterschiedlich behandelten Gruppen HepG2-Zellen ermittelt und verglichen. Die Zellen wurden entweder in normalem Medium oder in mit Chloroquin angereichertem Medium (50 μ M) mit SEA in der Konzentration von 4,6 μ g/ml stimuliert und für 24 Stunden inkubiert und im Vergleich zu den mit PBS behandelten Kontrollgruppen analysiert. Daraus ergaben sich vier unterschiedlich behandelte Gruppen: PBS, PBS+CQ, SEA, SEA+CQ. Abbildung 15 stellt diese Ergebnisse dar. Abbildung 15 zeigt die Verteilung der relativen MDA-Konzentration. Diese war über die vier Gruppen der Hepatozytenlysate unterschiedlich ($p=0,004$). Die relative MDA-Konzentration in mit SEA stimulierten HepG2-Zellen wurde durch Chloroquin Zugabe reduziert ($p=0,003$).

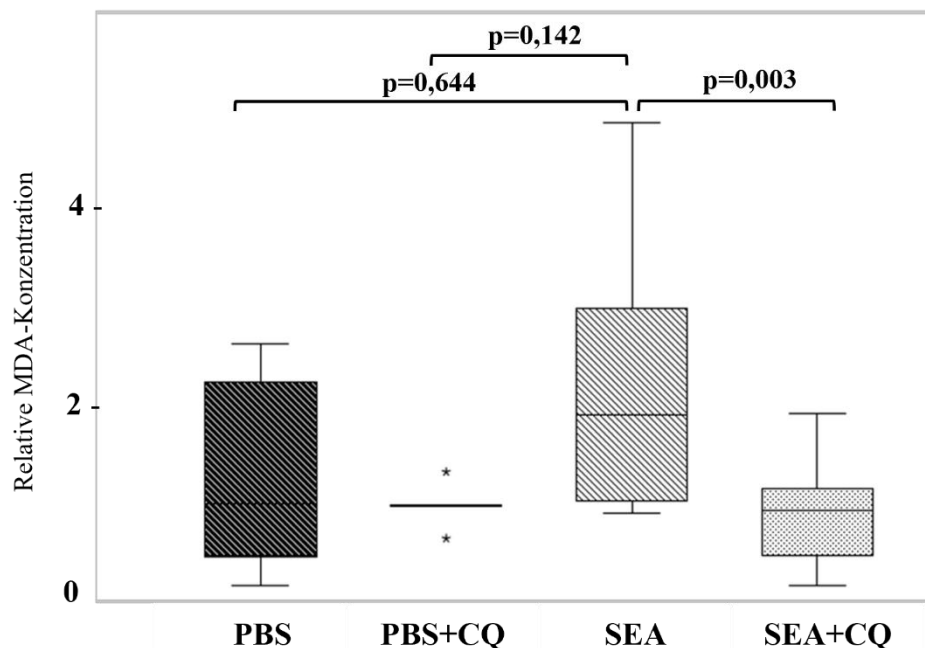


Abbildung 15: Chloroquin reduziert SEA-induzierte, erhöhte MDA-Spiegel in HepG2-Zellen. Die relative MDA-Konzentration in mit SEA stimulierten männlichen HepG2-Zellen wurde durch Chloroquin-Zugabe reduziert. Es wurden fünf technische Replikate durchgeführt. $n \geq 15$ für jede Gruppe. Die Auswertung der MDA-Spiegel erfolgte in nmol mit anschließender Normierung durch Bildung des Quotienten mit dem Mittelwert der Kontrollgruppe PBS+CQ des jeweiligen Versuchstages. Die Unterschiede wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließenden paarweisen Gruppenvergleichen mit Bonferroni-Korrektur statistisch ausgewertet.

5 Diskussion

Schistosomiasis betrifft über 250 Millionen Menschen und ist damit eine der häufigsten parasitären Infektionskrankheiten weltweit (Lo et al., 2022). Die Krankheit steht in engem Zusammenhang zu Armut und stellt auch sozioökonomisch eine große Herausforderung dar (Gasparotto et al., 2021). Die Erkrankung kommt v.a. in tropischen und subtropischen Gebieten vor, doch das Risiko einer Ausbreitung in gemäßigten Breitengraden besteht (Gasparotto et al., 2021; von Bülow et al., 2023). Die intestinale Form, die u.a. von *S. mansoni* ausgelöst wird, führt nicht selten zur chronischen Erkrankung mit zunehmender Leberfibrose, welche vor allem durch die Schistosomen-Eier entsteht (Schwartz & Fallon, 2018). Derzeit ist kein Medikament verfügbar, das wirksam gegen diese Eier und unreife Vorstufen der Schistosomen ist (Gasparotto et al., 2021). Durch die Arbeitsgruppe von Prof. Roeb wurde bereits gezeigt, dass eine *S. mansoni* Infektion onkogene Signale in Leber und Dickdarm aktiviert (Roderfeld et al., 2020; Weglage et al., 2020b). Zuletzt wurde gezeigt, dass die metabolische Umprogrammierung durch Eier von *S. mansoni* oxidativen Stress in Hepatozyten verursacht, der zu DNA-Schäden führt und eine hepatozelluläre Proliferation auslöst (von Bülow et al., 2023, 2024). Diese schädlichen Auswirkungen des oxidativen Stresses können durch die Verabreichung von Fängern reaktiver Sauerstoffspezies wie reduziertem Glutathion gemildert werden (von Bülow et al., 2023, 2024). Im Rahmen der Vorarbeiten zu den dieser Dissertation zugrundeliegenden Studien (Buß, 2021; Hehr, 2021; von Bülow et al., 2023) wurden Schlüsselenzyme des Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels sowie Marker des oxidativen Stresses in weiblichen Hamsterlebern untersucht. Mit der vorliegenden Arbeit sollten nun geschlechtsspezifische Unterschiede des Wirts bei einer *S. mansoni*-Infektion charakterisiert und mechanistische Zusammenhänge weiter aufgeklärt werden. Geschlechtsunterschiede im hepatischen Stoffwechsel sowie bei Infektion mit *S. mansoni* sind in der Literatur beschrieben, daher wurde im Rahmen dieser Arbeit zunächst geschlechtsspezifische Unterschiede mit Hinblick auf Kohlenhydrat-, Lipidstoffwechsel und oxidativen Stress untersucht. Als weiteren interessanten Mediator geschlechtsspezifischer Unterschiede wurde der eng im Bezug zu Stoffwechsel und oxidativem Stress stehende Prozess der Autophagie im Zusammenhang mit einer *S. mansoni*-Infektion im Hinblick auf Geschlechtsunterschiede untersucht.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit geschlechtsspezifische Unterschiede in der Expression der Autophagiemarker Beclin und ATG5 sowie der

MDA-Konzentration. Die Inhibition der Autophagie in HepG2 Zellen mittels Chloroquins führte in HepG2 Zellen zu einer Verminderung des durch SEA tendenziell erhöhten MDA-Spiegels. In der Expression der untersuchten Enzyme aus Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel wurden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede festgestellt. (siehe: tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse im Anhang)

Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die *S. mansoni*-Infektion zu einer Wirtsgeschlechts-abhängigen Dysregulation der Autophagie führt. Nur in weiblichen Hamstern scheint durch die Infektion oxidativer Stress ausgelöst zu werden. Worauf diese geschlechtsspezifischen Unterschiede zurückzuführen sind, bedarf weiterer Aufklärung. Der Einfluss der Immunreaktion könnte hier eine Rolle spielen, da in Zellkulturversuchen männliche HepG2-Zellen ebenfalls erhöhte Autophagie und vermehrten oxidativen Stress aufwiesen. Interessant wäre sicher auch in Folgestudien Einflüsse von Geschlechtshormonen zu klären. Weiterhin werfen die Ergebnisse dieser Arbeit ein neues Licht auf das Zusammenspiel von oxidativem Stress und Autophagie bzw. Chloroquin.

5.1 Hepatischer Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel

Zusammenfassend wurden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Richtung der Veränderung des hepatischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels bei *S. mansoni*-Infektion gefunden. (siehe Tabelle: Anhang) Dabei wurden die Ergebnisse der weiblichen Hamsterlebern, die im Rahmen der Vorarbeiten zu Studien der Arbeitsgruppe von Prof. Roeb (Buß, 2021; Hehr, 2021; von Bülow et al., 2023) analysiert wurden, mit den Ergebnissen der männlichen Hamster, die im Rahmen dieser Dissertation untersucht wurden, verglichen. In allen Gruppen wurde jeweils die Expression der Schlüsselenzyme des Kohlenhydrat- und des Lipidstoffwechsels in bisex-, monosex- und nicht-infizierten Hamsterlebern untersucht.

Die Expression der Pyruvatkinase 2, einem Schlüsselenzym der Glykolyse, und der Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, einem Schlüsselenzym des Pentosephosphatweges, war in bisex-infizierten zu nicht-infizierten Hamsterlebern signifikant erhöht und damit genauso reguliert wie bei weiblichen Hamstern (von Bülow et al., 2023). Im Vergleich von bisex-infizierten zur monosex-infizierten Gruppe wurde eine Signifikanz knapp verfehlt, was vermutlich durch die kleine Stichprobengröße bedingt war. Eine Steigerung der Expression Glykolyse-assoziiierter Gene, u.a. PKM2 wurde auch in Lebern von *S. japonicum*-infizierten weiblichen Mäusen beobachtet (Z.-P. Xu et al., 2019). G6PD dient als

Schlüsselenzym des Pentosephosphatweges der NADPH-Produktion und damit auch der Fettsäuresynthese und dem Schutz der Zellen vor oxidativem Stress (Bertels et al., 2021). Bei einer durch *S. mansoni* erniedrigten Fettsäuresynthese könnte diese Schutzfunktion des NADPH bei der Synthese von Glutathion der Grund für die Erhöhung von G6PD in infizierten Hamsterlebern sein (Bertels et al., 2021). Durch die Arbeitsgruppe von Prof. Roeb wurde bereits gezeigt, dass Glutathion den durch SEA erhöhten, oxidativen Stress in Hepatozyten senkt (Buß, 2021; von Bülow et al., 2023). Die Expression der Glykogensynthese, einem Schlüsselenzym der Glykogensynthese, war in bisex- zu nicht-infizierten Hamsterlebern signifikant erniedrigt und damit in der gleichen Richtung reguliert wie bei den weiblichen Hamstern (von Bülow et al., 2023). Die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase 2, ein Schlüsselenzym der Glukoneogenese war über die Gruppen nicht signifikant verändert. Es ließ sich jedoch eine Tendenz zur Reduktion der PCK2-Expression bei Infektion erkennen, die durch Verwenden einer größeren Stichprobe Signifikanz erreichen könnte. Diese Tendenz stimmt ebenfalls mit der PCK-Expression bei weiblichen infizierten Tieren überein (von Bülow et al., 2023). Es kommt durch *S. mansoni* somit zur Unterdrückung von anabolen Stoffwechselwege wie Glykogensynthese und Glukoneogenese, was ebenfalls im Einklang mit den Beobachtungen zu *S. japonicum* ist (Z.-P. Xu et al., 2019).

Die Expression der Fettsäuresynthase, der Acetyl-CoA-Carboxylase 1 und der Acetyl-CoA-Synthetase war im Vergleich von bisex- zu nicht-infizierten Hamsterlebern erniedrigt und damit in der gleichen Richtung reguliert wie bei weiblichen Hamstern (von Bülow et al., 2023). Eine Reduktion der Expression Fettsäuresynthese-assoziiierter Gene wurde auch in Lebern von *S. japonicum*-infizierten weiblichen Mäusen beobachtet (Z.-P. Xu et al., 2019). Die Lipolyse scheint mit der Adipozyten-Triglycerid-Lipase durch *S. mansoni* bei beiden Geschlechtern nicht reguliert zu sein.

Zusammenfassend passen die bislang diskutierten Befunde gut zu parasitärem Verhalten, wobei die Eier durch metabolische Umprogrammierung Nährstoffe aus Hepatozyten zu nutzen scheinen. Dabei sind katabole Prozesse wie Glykolyse gesteigert und anabole Prozesse wie Fettsäuresynthese, Glukoneogenese und Glykogensynthese vermindert. Die Arbeitsgruppe von Prof. Roeb konnte weiterhin zeigen, dass die Infektion mit *S. mansoni* zu einer Entleerung hepatischer Speicher neutraler Lipide und des Glykogens führt, wobei die Schistosomen-Eier Wirtslipide mobilisieren, inkorporieren und speichern (von Bülow et al., 2023). Die meisten im Rahmen der Studie von Bülow et al. analysierten Faktoren

deuten darauf hin, dass sich der Leberstoffwechsel von monosex- zu bisex-Infektion unterscheidet, was die Rolle der Eier hervorhebt, die nur bei bisex-Infektion gebildet werden (von Bülow et al., 2023). Auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen diese Tendenz, wenngleich ein signifikanter Unterschied von monosex- zu bisex-infizierten Tieren nur für ACS erfüllt ist. Die Arbeitsgruppe von Prof. Roeb konnte durch Beobachtung der Expression dieser Schlüsselenzyme im Dickdarm von bisex-infizierten Hamstern zeigen, dass die hepatische Umprogrammierung ihren evolutionären Ursprung in der Translokation des Eis durch die Darmwand in das Darmlumen haben könnte (von Bülow et al., 2023). Um mit dem Stuhl ausgeschieden zu werden, müssen die Eier Blutgefäß- und Darmwand durchdringen. (Schwartz & Fallon, 2018) Für die Versorgung der Eier mit Nährstoffen während dieses Prozesses könnte die metabolische Umprogrammierung von Enterozyten dienen – analog zur Umprogrammierung von Hepatozyten, wenn die Eier in die Leber geschwemmt werden. Xu et al. (2019) erklären die metabolischen Veränderungen in *S. japonicum*-infizierten Mäusen über eine Beeinflussung der Hepatozyten durch Makrophagen des M2-Phänotyps. Bülow et al. (2023) zeigen jedoch durch Zellkulturexperimente, dass die metabolische Umprogrammierung des hepatischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels des Wirts auch unabhängig von einer Immunantwort erfolgt. So deckt sich die Dysregulation des Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels bei Stimulation von HepG2-Zellen mit SEA mit den Ergebnissen dieser Arbeit aus dem Hamstermodell. (von Bülow et al., 2023)

Die übergeordneten Regulatoren AMPK und mTOR waren in ihrer durch Phosphorylierung aktivierten sowie in ihrer unphosphorylierten Form in männlichen wie in weiblichen bisex- im Vergleich zu nicht-infizierten Tieren erniedrigt (von Bülow et al., 2023). Das Verhältnis von phosphorylierter zu unphosphorylierter Form blieb dabei bei AMPK und mTOR zwischen den Gruppen gleich, d.h. bei einer verminderten Expression, wird auch weniger phosphoryliert, woraus ein schwächeres Signal folgt. mTOR steuert das Gleichgewicht zwischen Anabolismus und Katabolismus, indem Lipid- und Proteinsynthese gesteigert und katabole Prozesse wie Autophagie gehemmt werden, was auch zu den Befunden der Autophagie passt (Saxton & Sabatini, 2017). AMPK im Gegensatz reguliert katabole Prozesse hoch, während es anabole Prozesse herunterreguliert (Ovens et al., 2021). Möglicherweise könnte die in bisex-infizierten im Vergleich zu nicht-infizierten beobachtete Herabregulierung von AMPK *in vivo* durch negative Rückkopplungsmechanismen verursacht werden. In Zellkulturversuchen wurde allerdings eine Erhöhung von

pAMPK und pmTOR in Makrophagen durch SEA von *S. japonicum* beschrieben. (Z.-P. Xu et al., 2019). Jedoch wurden in mit *S. japonicum*-infizierten Mäusen in der Expression von p-mTORC1/ m-TORC1 keine Unterschiede zu den nicht-infizierten Tieren festgestellt, was sich mit unseren oben beschriebenen Beobachtungen im Hamstermodell deckt. (Luo et al., 2022). Dieser Unterschied der *in vivo* zu *in vitro* Ergebnisse könnte durch den Einfluss des Immunsystems erklärbar sein. Die Zellkulturergebnisse dieser Arbeit zeigen übereinstimmend zu den Ergebnissen aus dem Tiermodell eine Erniedrigung von mTOR bei Stimulation mit SEA, wobei das Verhältnis von mTOR zu pmTOR nicht untersucht wurde.

Es wurde beschrieben, dass eine *S. mansoni*-Infektion männliche, nicht aber weibliche Mäuse vor Glukoseintoleranz und Übergewicht schützt (Cortes-Selva et al., 2021). Ob dies durch eine geschlechtsspezifische Umprogrammierung des Kohlenhydrat- oder Lipidstoffwechsels erfolgen könnte, wurde in dieser Arbeit untersucht. Die Ergebnisse zu Schlüsselenzymen des Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels zeigen jedoch, dass deren Umprogrammierung geschlechtsunabhängig erfolgt. Die von Cortes-Selva et al. beobachteten Geschlechtsunterschiede im Bezug auf die protektiven Stoffwechselveränderungen durch *S. mansoni* könnten daher in Unterschieden anderer stoffwechselbeeinflussender Faktoren, wie von schützenden Mechanismen wie der Autophagie oder Unterschieden im Immunsystem begründet sein.

5.2 *S. mansoni* und hepatische Autophagie

Eine Fehlfunktion der Autophagie wurde bereits mit der Pathogenese zahlreicher Erkrankungen in Verbindung gebracht (Kouroumalis et al., 2021). Beispielsweise bei Krebserkrankungen, wie dem hepatozellulären Karzinom, Infektionskrankheiten, wie der Hepatitis B oder C oder bei Stoffwechselerkrankungen spielt eine Dysfunktion der hepatischen Autophagie eine Rolle. (Schneider & Cuervo, 2014) Der Prozess steht in engem Verhältnis zu Stoffwechsel, Energieversorgung und Redoxstatus und schien damit im Zusammenhang zu den Vorbefunden im Bezug auf Metabolismus und oxidativen Stress bei *S. mansoni* Infektion als ein mögliches, wichtiges Bindeglied (Schneider & Cuervo, 2014). Dabei wird die Autophagie oft als „zweischneidiges Schwert“ bezeichnet, da sie einerseits Zellen als Schutzmechanismus vor Schäden bewahrt, auf der anderen Seite, manipuliert durch Krebszellen oder Erreger, zur Krankheitsentstehung beiträgt (Chavez-Dominguez et al., 2020; Choi et al., 2018). So beeinflussen Parasiten wie z.B.

Trypanosoma cruzi und *Toxoplasma gondii* die Autophagie als Nährstoff-liefernden Prozess (Wang et al., 2009; Zheng et al., 2022). Im Zusammenhang mit adulten Schistosomen wurde bereits gezeigt, dass Hsp70, als Teil der Chaperon vermittelten Autophagie (CMA), einer speziellen Form der Autophagie, bei der ein Chaperon Proteine direkt zu den Lysosomen bringt, in adulten *S. mansoni* hochreguliert wird, was zu deren abnehmender Empfindlichkeit gegenüber Praziquantel führt (Abou-El-Naga, 2020). Durch die Hemmung deubiquitinierender Enzyme kann die Eiablage der Parasitenpaare *in vitro* gehemmt werden, was mit mitochondrialen und autophagischen Veränderungen einhergeht (Barban do Patrocínio et al., 2021). Es wurde beobachtet, dass Rhesusaffen eine vollständige Immunität gegen eine Schistosomeninfektion entwickeln können (Amaral et al., 2021). Dabei kommt es in Schistosomulae zu einer verringerten Expression von Genen, die mit Lysosomen und Autophagie assoziiert sind (Amaral et al., 2021). Es wurde weiterhin gezeigt, dass es bei *S. japonicum*-Infektion durch SEA in Makrophagen zu einer veränderten Regulation der Autophagie kommt (J. Zhu et al., 2018). Dabei unterdrückte das von *S. japonicum* ausgelöste IL-7 über AMPK die SEA-induzierte protektive Autophagie, was die Leberpathologie verstärkte (J. Zhu et al., 2018). Ein Farnesoid-X-Rezeptor-Mangel in Hepatozyten stört die Gallensäure-Homöostase und hemmt die Autophagie, was die durch eine *S. japonicum*-Infektion verursachten Schäden an den Hepatozyten verschlimmern kann (Zhang et al., 2022). Es wurde gezeigt, dass das Medikament Artesunat eine Leberfibrose bei *S. japonicum*-Infektion in weiblichen Mäusen lindern kann, indem es die Aktivität des AMPK/mTORC1-Signalwegs hemmt und den mitochondrialen Sauerstoffverbrauch und die Autophagie fördert (Luo et al., 2022). Bei mit *S. japonicum* infizierten Mäusen wurde eine erhöhte Expression von IL-33 festgestellt. Dabei wurde eine Verbesserung der Leberfibrose durch IL-33 beobachtet, die u.a. mit einer erhöhten Expression von ATG5, Beclin und erniedrigten Expression von p62 einherging (Bai et al., 2021). Diese Befunde deuten auf die protektive Rolle der Autophagie bei einer Infektion mit *S. japonicum* hin und zeigen das therapeutische Potential in der Beeinflussung dieses Prozesses. In den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zeigte sich hingegen eine Erhöhung von p62 und eine Erniedrigung von Beclin. Des Weiteren scheint die Regulation der Autophagie verbunden mit Immunreaktionen zu sein. Betrachtet man die Zellkulturbefunde der vorliegenden Arbeit im Vergleich zu den Ergebnissen aus dem Hamstermodell, ergeben sich Unterschiede bei der Regulation von Autophagiemarkern, die ebenfalls Hinweise auf einen möglichen Einfluss des Immunsystems liefern.

Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Ergebnisse zeigen teilweise und v.a. in weiblichen Hamstern eine vermehrte Autophagie. mTOR als wichtiger Regulator, hemmt die Autophagie und zeigte sich bei *S. mansoni* Infektion erniedrigt. Die Expression von p62 war in bisex- zu nicht-infizierten Hamsterlebern signifikant erhöht und damit in der gleichen Richtung reguliert wie bei den weiblichen Hamstern (Vorarbeiten zu Hehr, 2021). Ebenso zeigte sich in Zellkulturversuchen eine Erhöhung von p62 bei Stimulation mit SEA. p62 bindet ubiquitinierte Proteine, um sie der selektiven Autophagie zuzuführen, aktiviert aber u.a. ein antioxidatives Transkriptionsprogramm, den Keap1-Nrf2-Signalweg (Huang et al., 2023; Schneider & Cuervo, 2014). Bei nachgewiesenem, erhöhten oxidativen Stress durch die *S. mansoni*-Infektion in weiblichen Tieren wäre dies eine mögliche Erklärung für die p62-Erhöhung (von Bülow et al., 2023). Die Expression von Beclin war in weiblichen bisex- zu nicht-infizierten, aber auch zu monosex-infizierten Hamsterlebern signifikant erhöht, wohingegen sich in den männlichen keine Gruppenunterschiede zeigten. Durch die vermehrte Beclinexpression und damit die vermehrte Autophagie in weiblichen Tieren bei *S. mansoni* Infektion und die protektive Rolle der Autophagie könnte das bessere Outcome von Frauen nach *S. mansoni*-Infektion erklärt werden. Im Widerspruch dazu zeigte sich in männlichen, humanen HepG2-Zellen eine Erhöhung von Beclin bei Stimulation mit SEA. Möglicherweise ist die Beclinexpression dabei durch das Immunsystem beeinflusst. Dafür sprechen auch die oben beschriebenen Beobachtungen von Bai et al. (2021) im Bezug auf den Einfluss von IL-33 auf Beclin. Beclin wirkt als Teil eines Komplexes während der Initiationsphase der Autophagie, indem es eine Doppelmembranstruktur bildet, die zytoplasmatisches Material zur Bildung des Autophagosoms umschließt, besitzt aber ebenso weitere Funktionen in Apoptose, Angiogenese und Immunregulation (Ye et al., 2023). Die Expression von ATG5 scheint in weiblichen bisex- zu nicht-infizierten Tieren unverändert. Im Gegensatz dazu war in männlichen bisex- zu monosex-Infizierten ATG5 signifikant erniedrigt exprimiert. In männlichen, humanen HepG2-Zellen zeigte sich hingegen eine Erhöhung von ATG5 bei Stimulation mit SEA. Dieser Unterschied zwischen den Befunden aus dem Tiermodell und der Zellkulturergebnisse könnte einen Hinweis auf eine Beteiligung von Immuneffekten liefern.

Die Expression von LAMP2 ist sowohl über die Gruppen der männlichen als auch der weiblichen Hamster nicht signifikant verändert. LAMP2 ist ein wesentlicher Akteur der Chaperon vermittelten Autophagie, deren Hochregulierung z.B. als Reaktion auf längeren

Nährstoffentzug und oxidativen Stress erfolgt (Schneider & Cuervo, 2014). Die CMA spielt auch eine Rolle im Stoffwechsel von Krebszellen, indem sie dazu beiträgt, hohe Glykolyse-Raten in transformierten Zellen aufrechtzuerhalten (Kon et al., 2011).

Zusammenfassend werden Autophagiemarker in männlichen HepG2-Zellen bei Stimulation mit SEA durchweg erhöht. *In vivo* ließ sich in weiblichen Hamsterlebern eine Steigerung der Autophagiemarker p62 und Beclin, in männlichen hingegen eine Steigerung von p62, aber Reduktion von ATG5 bei Infektion mit *S. mansoni* feststellen.

Diese gegensätzlich erscheinenden Ergebnisse lassen sich in Einklang bringen mit der Beobachtung, dass es in Mäusen im Vergleich zu Menschen eine gegensätzliche Tendenz bezüglich der Geschlechtsunterschiede bei Schistosomiasis zu geben scheint (Klein, 2004). So weisen mit *S. mansoni* infizierte weibliche Mäuse anders als Menschen eine höhere Parasitenlast sowie eine stärkere Entzündungsreaktion auf als männliche (Bernin & Lotter, 2014; Boissier et al., 2003). Womöglich spielen bei der beobachteten Dysregulation der Autophagie Immunreaktionen eine Rolle, die in den Zellkulturversuchen wegfallen. Die Unterschiede in der Expression von an der Autophagie beteiligten Proteinen scheinen nicht ungewöhnlich, da dabei auch im physiologischen Zustand geschlechtsspezifische Unterschiede bestehen. So wurde in den Lebern männlicher Ratten eine höhere Anzahl von Autophagolysosomen gegenüber den weiblichen festgestellt (Campesi et al., 2013). Auch in Mäusen wurden unterschiedliche p62 und LC3 Level abhängig vom Geschlecht beschrieben, wobei die mRNA Expression in männlichen Mäusen erhöht war. (Oliván et al., 2014) Die Ergebnisse dieser Arbeit spiegeln dies ebenso wider. So scheint in den nicht-infizierten, männlichen im Vergleich zu den nicht-infizierten, weiblichen Hamstern die Basis-Expression einiger Autophagiemarker erhöht, LAMP2 sogar signifikant.

Alles in allem zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit eine Beeinflussung der Autophagie durch *S. mansoni*. Die Steigerung der Autophagie in männlichen HepG2-Zellen durch SEA, sowie in den weiblichen Hamstern im Zusammenhang mit dem beschriebenen, erhöhten oxidativen Stress in weiblichen Hamsterlebern und Zellkultur unterstreichen die Bedeutung der Autophagie als Schutzmechanismus (Buß, 2021; von Bülow et al., 2023). Doch es besteht auch eine enge Wechselbeziehung zwischen Autophagie und Lipidstoffwechsel, wobei die Autophagie den Lipidgehalt der Zellen dahingehend reguliert, dass eine verringerte Autophagie die Lipidakkumulation fördert (Singh et al., 2009). Doch auch umgekehrt führt ein abnormer Anstieg der intrazellulären Lipide zur

Beeinträchtigung der Autophagie (Singh et al., 2009). So könnte auch die beschriebene Dysregulation des Lipidstoffwechsels mit Erschöpfung der neutralen Lipide in Hepatozyten die Autophagie beeinflussen (von Bülow et al., 2023).

5.3 Autophagie und oxidativer Stress

Eng in Zusammenhang zur Autophagie steht der oxidative Stress. Zuletzt wurde gezeigt, dass die metabolische Umprogrammierung durch *S. mansoni* oxidativen Stress in Hepatozyten verursacht, der zu DNA-Schäden führt und hepatozelluläre Proliferation auslöst (von Bülow et al., 2023, 2024). Diese schädlichen Auswirkungen des oxidativen Stresses können durch die Verabreichung von Fängern reaktiver Sauerstoffspezies wie reduziertem Glutathion gemildert werden (von Bülow et al., 2023, 2024). Malondialdehyd (MDA) als Produkt der Lipidperoxidation wird weitläufig als Biomarker für oxidativen Stress eingesetzt (Matés et al., 1999). Die relative MDA-Konzentration in den männlichen Hamsterlebern zeigte keine Veränderung bei Infektion mit *S. mansoni*, wohingegen zuvor in infizierten weiblichen Hamsterlebern eine erhöhte MDA-Konzentration beschrieben wurde (Buß, 2021; von Bülow et al., 2023). Die Infektion mit *S. mansoni* scheint in weiblichen Tieren zu oxidativem Stress zu führen, wohingegen in männlichen Tieren kein vermehrter oxidativer Stress aufzutreten scheint. In weiblichen Tieren wurde auch eine erhöhte Expression des Autophagiemarkers Beclin beobachtet. Möglicherweise führt der erhöhte oxidative Stress in weiblichen Hamstern zu einer Steigerung der Autophagie, wohingegen diese in männlichen Hamstern ausbleibt. Es ist beschrieben, dass reaktive Sauerstoffspezies (ROS) vorgelagerte Modulatoren der Autophagie sind und dabei auf mehreren Ebenen wirken (Filomeni et al., 2015). Eine Erklärung ist, dass Nährstoffentzug zu energetischem Stress führt, der zu einer Überlastung der Mitochondrien führt, wodurch Elektronenverlust und ROS-Produktion zunehmen (Filomeni et al., 2015). ROS wirken direkt über verschiedene Mechanismen auf die Autophagie, u.a. S-Glutathionylierung an AMPK und Oxidation von ATG4 (Filomeni et al., 2015). Doch auch indirekt stehen Autophagie und oxidativer Stress über p62 und Keap1/Nrf2 in Verbindung, wobei es zur Transkription von Antioxidantien-Genen kommt (Schneider & Cuervo, 2014). Geschlechtsspezifische Unterschiede bei Krankheiten mit oxidativem Stress sind weit verbreitet, wobei weibliche Zellen widerstandsfähiger gegen Zelltod durch oxidativen Stress sind (Tower et al., 2020). Dies könnte durch positive Auswirkungen von Östrogen, eine bessere Mitochondrienfunktion und verstärkte Expression von Stressreaktionsgenen in weiblichen Zellen begründet sein. (Tower et al., 2020) Dabei

scheinen Apoptose und Autophagie bei der Vermittlung von Geschlechtsunterschieden in der Stressreaktion besonders wichtig zu sein (Tower et al., 2020). In physiologischem Zustand von Rattenlebern wurden keine Unterschiede in MDA und Proteinoxidation zwischen den Geschlechtern beobachtet, bei zugleich erhöhter Bildung von Autophagolysosomen in der Leber von männlichen Ratten (Campesi et al., 2013). Bei *Drosophila* wurden bestimmte Anpassungen an Stress nur bei einem Geschlecht beobachtet, wobei sich beispielsweise *Drosophila*-Weibchen, nicht aber Männchen, an Wasserstoffperoxid-Stress anpassen konnten, während sich *Drosophila*-Männchen, nicht aber Weibchen, an Paraquat-Stress anpassen konnten (Pickering et al., 2012; Tower et al., 2020). In (Buß, 2021) zeigten männliche HepG2-Zellen bei Stimulation mit SEA erhöhte MDA-Spiegel. Diese Tendenz zeigte sich auch in den Ergebnissen dieser Arbeit. Diese Erhöhung des oxidativen Stress durch SEA-Stimulation wurde äquivalent zu der Erhöhung der Autophagiemarker in stimulierten HepG2-Zellen beobachtet, was die Frage nach einem möglichen Zusammenhang aufwirft.

Um die Auswirkungen einer Hemmung der Autophagie und deren mechanistische Zusammenhänge bei *S. mansoni*-Infektion zu untersuchen, wurde Chloroquin benutzt, das die Autophagie hauptsächlich durch die Beeinträchtigung der Fusion von Autophagosomen mit Lysosomen hemmt (Mauthe et al., 2018). Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die relative MDA-Konzentration in mit SEA behandelten HepG2-Zellen durch die Zugabe von Chloroquin signifikant gesenkt wurde. Die Inhibition der Autophagie mittels Chloroquins scheint den oxidativen Stress in den Hepatozyten zu senken. Dies erscheint widersprüchlich zu der Annahme, dass die Autophagie in diesem Fall als Schutzmechanismus den oxidativen Stress in den Zellen senkt.

Obwohl die Autophagie dazu neigt, schützend zu wirken und oxidativen Stress zu verringern, kann je nach Zell- oder Gewebeumgebung die Autophagie als Reaktion auf die ROS-Erzeugung auch Krankheiten verschlimmern (Yun et al., 2020). Beispielsweise bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen spielt die Autophagie eine schädliche Rolle (Yun et al., 2020). So verstärkte eine Überexpression von Beclin die pathologische Umbaureaktion in Kardiomyozyten und die Hemmung von Beclin schwächte den Zelltod von Kardiomyozyten durch übermäßige Autophagie-Induktion ab (Valentim et al., 2006; H. Zhu et al., 2007). Eine durch übermäßigen oxidativen Stress verursachte Beeinträchtigung der Autophagie ist an der Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen und deren Verschlimmerung beteiligt (Yun et al., 2020). Auch in der Krebsbiologie hat die durch ROS

regulierte Autophagie unterschiedliche nützliche und schädliche Funktionen (Yun et al., 2020). Die genetische Hemmung der Chaperon vermittelten Autophagie in menschlichen Krebszelllinien reduziert wirksam Tumorwachstum und Metastasierung, was für den möglichen antionkogenen therapeutischen Wert von negativen Modulatoren dieses Signalwegs spricht (Kon et al., 2011). Auch in Bezug auf die Schistosomiasis ist es wichtig, die Regulierungsmechanismen der Autophagie bei der Redox-Signalgebung weiter aufzuklären, um das Potential ihrer Beeinflussung als therapeutischen Angriffspunkt nutzen zu können.

Zahlreiche präklinische Studien haben gezeigt, dass mit Chloroquin eine wirksame Autophagiehemmung erreicht und es bei Krebserkrankungen therapeutisch eingesetzt werden kann (Pasquier, 2016). Obwohl Chloroquin als etablierter Inhibitor der Autophagie häufig genutzt wird, besitzt es neben dieser Eigenschaft noch weitere Funktionen, sodass eine Interpretation der Ergebnisse der Inhibitionsversuche mit Chloroquin mit Vorsicht geschehen sollte (Mauthe et al., 2018). Dass Chloroquin den durch SEA erzeugten oxidativen Stress in Hepatozyten senkt, ist auch deshalb überraschend, da mehrere *in vivo* Studien gezeigt haben, dass Chloroquin oxidativen Stress induziert und dadurch hepatotoxisch wirkt (Kumar Mishra et al., 2013). Chloroquin kann oxidativen Stress fördern, indem es die antioxidative Abwehr verringert, was oxidative DNA-Schäden im Gehirn und in den Nieren von Ratten verursacht (Giovanella et al., 2015). Weiterhin ruft Chloroquin durch die lysosomale Dysfunktion und oxidativen Stress Endothelschäden hervor (Gregório et al., 2021). Die Behandlung von Mausadipozyten mit Chloroquin führte zu oxidativem Stress, was mit einer beeinträchtigten mitochondrialen Qualität in Verbindung mit der Hemmung der Autophagie einherging (Javaid et al., 2022). Chloroquin verursacht auch systemischen oxidativen Stress, wobei es die Art der vorhandenen ROS und die Fähigkeit der ROS, Zellen und subzelluläre Organellen zu schädigen, verändert sowie zu einer systemischen Abnahme des GSH-Spiegels führt (Klouda & Stone, 2020). Auch wenn die oben genannten klinischen und tierexperimentellen Belege darauf hindeuten, dass Chloroquin oxidativen Stress auslösen kann, weisen einige neuere Forschungsarbeiten auf die Bedeutung von Chloroquin bei der Verringerung des oxidativen Stresses in der Nierenpathologie hin (Brkić et al., 2022). So wurde kürzlich zum ersten Mal gezeigt, dass Chloroquin in niedrigen Dosen eine schützende Wirkung auf biochemische und oxidative Stressparameter in einem experimentellen Modell der Gentamicin-induzierten Nephrotoxizität besitzt (Brkić et al., 2022). Weiterhin wurde gezeigt, dass

Hydroxychloroquin unter bestimmten Umständen eine ROS-induzierte Entzündung verhindern kann (Klouda & Stone, 2020). Chloroquin hat zahlreiche Wirkungen neben der Hemmung der Autophagie und des lysosomalen Proteinabbaus, wie Makrophagenaktivierung, und eine von der Autophagie unabhängige schwere Desorganisation des Golgi- und des endolysosomalen Systems (Mauthe et al., 2018; Ouyang et al., 2014). Außerdem senkt es den Gehalt an proinflammatorischen Zytokinen und anderen Mediatoren (Ouyang et al., 2014). Daher sollte die Interpretation der Ergebnisse, die durch Blockierung der Autophagie mit diesem Medikament erzielt werden, mit Vorsicht erfolgen (Mauthe et al., 2018).

Zusammenfassend werfen die geschlechtsspezifische Expression von Autophagiemarkern und MDA, sowie der durch Chloroquin verminderte MDA-Spiegel ein neues Licht auf das Zusammenspiel von oxidativem Stress und Autophagie bzw. Chloroquin - auch im Hinblick auf eine mögliche Beteiligung des Geschlechts, die allerdings noch weiterer Aufklärung bedarf. Die weitere Analyse der molekularbiologischen Zusammenhänge tragen zum Krankheitsverständnis der Schistosomiasis bei und könnten in der Zukunft der Detektion neuer therapeutischer Targets dienen.

5.4 Translationale Anwendbarkeit

Es wurde bereits beschrieben, dass oxidativer Stress zur Pathogenese der *S. mansoni*-Infektion beiträgt und eine hepatozelluläre Proliferation fördert, sodass eine Senkung des oxidativen Stresses einen wichtigen therapeutischen Ansatz darstellt (von Bülow et al., 2024). Obwohl die Ergebnisse der vorliegenden Dissertationsarbeit zeigen, dass Chloroquin oxidativen Stress in Zellkulturversuchen hemmen kann, ist aufgrund der beschriebenen schädlichen Erhöhung des systemischen, oxidativen Stresses dessen Eignung als potentiell Therapeutikum fraglich. Die gleichzeitige Gabe von Chloroquin kann die Bioverfügbarkeit von Praziquantel herabsetzen (Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit, 2017). Chloroquin hemmt allerdings die Bildung von Hämozoin, das für das Überleben der adulten Parasiten wichtig ist (El-Saadi et al., 2021). Kürzlich wurde im Mausmodell gezeigt, dass die kombinierte Verabreichung von Chloroquin und Praziquantel zu einer Verringerung der Parasitenlast sowie der mittleren Anzahl der Lebergranulome führt (El-Saadi et al., 2021).

Die im Rahmen dieser Arbeit beobachteten geschlechtsspezifischen Unterschiede der Autophagie-Marker Beclin und ATG5 sowie der MDA-Konzentration und deren

Verminderung durch Chloroquin in Zellkultur könnten hierbei durch weitere Aufklärung nutzbare, potentielle, protektive Mechanismen offenbaren. Auch im Hinblick auf Verbesserung von Therapien für Typ-2-Diabetes und Metabolisches Syndrom kann die Aufklärung metabolischer Veränderungen des Lebergewebes bei Schistosomiasis einen wertvollen Beitrag leisten.

Die Autophagie mit Wechselwirkung zu Metabolismus und oxidativem Stress könnte als Angriffspunkt neuer therapeutischer Interventionen dienen. Die Entwicklung krankheitsspezifischer Autophagie-Modulatoren erfordert ein umfassendes Verständnis der verschiedenen Signalwege, die auf die Autophagie einwirken (Schneider & Cuervo, 2014). Obwohl sich die Blockade der Autophagie bei verschiedenen Krankheiten als wirksam zur Verringerung von Leberschäden erwiesen hat, würde sich eine vollständige und langanhaltende Hemmung der Autophagie letztendlich nachteilig auf die Leber auswirken (Schneider & Cuervo, 2014). Die gezielte Beeinflussung der mit der Autophagie zusammenhängenden Stoffwechselwege stellt darüber hinaus ein vielversprechendes Instrument für die Entwicklung neuartiger Krebstherapeutika dar (Kocaturk et al., 2019). Besonders als Ergänzung zu anderen therapeutischen Ansätzen könnte die Modulation der Autophagie daher bei der Behandlung der *S. mansoni*-Infektion eine Rolle spielen.

5.5 Limitationen der Arbeit

Die geringe Anzahl an Versuchstieren stellt eine Limitation dieser Arbeit dar. Dabei wurden aus ethischen Gründen jeweils nur drei nicht-infizierte männliche und weibliche Tiere als Super-Kontrollgruppe verwendet. Es konnte daher nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden. Trotzdem waren unsere Daten unter strenger Testauswahl statistisch auswertbar. Die Untersuchung und Auswertung erfolgten dabei rein explorativ. Durch die Anwendung der Bonferroni-Korrektur zur Adjustierung der Signifikanzniveaus bei multiplem Testen verfehlen einige Vergleiche das Erreichen der Signifikanz. Bei neuer und größerer Stichprobe könnten Gruppenunterschiede vermutet werden. Der rein explorative Charakter dieser Arbeit dient vor allem dem Überblick, um die Richtung für fokussierende, konfirmatorische Folgestudien aufzuzeigen.

Die Verwendung eines Hamstermodells stellt die Frage nach der Übertragbarkeit der Ergebnisse dieser Arbeit auf den Menschen. Beim Hamster handelt es sich um ein etabliertes Modell für die *S. mansoni*-Infektion. Das Modell wurde eingeführt, da es im Vergleich zum Mausmodell gemäß des Reduktionsprinzips der 3R weniger Tiere erfordert

(Wiedemann et al., 2022). Die meisten der beobachteten biochemischen Wirkungen bei einer *S. japonicum*-Infektion im Hamster waren mit denen identisch, die zuvor in einem Mauswirt beschrieben wurden (Wang et al., 2006). Obwohl beim Menschen ein Bias zum männlichen Geschlecht bei Schistosomiasis zu beobachten ist, weisen mit *S. mansoni*-infizierte weibliche Mäuse eine höhere Parasitenlast auf und entwickeln stärkere entzündungsfördernde Immunreaktionen als männliche Mäuse (Bernin & Lotter, 2014). In diesem Zusammenhang sind Mausmodelle für *S. mansoni*-Infektionen in Bezug auf Studien am Menschen schwer zu interpretieren, da sich der Geschlechtsunterschied umkehrt (Bernin & Lotter, 2014). Zur besseren Übertragbarkeit auf den Menschen sind in unserer Arbeitsgruppe Färbungen humaner Lebergewebeschnitte geplant bzw. im Rahmen der Studie zur metabolischen Umprogrammierung durch *S. mansoni* bereits erfolgt (von Bülow et al., 2023).

In Bezug auf geschlechtsspezifische Unterschiede gilt es außerdem zu beachten, dass GAPDH als Ladekontrolle für die Western Blot Analysen in Lebern weiblicher Ratten im Vergleich zu männlichem Gewebe deutlich stärker exprimiert wird (Campesi et al., 2013). Auch alternative Ladekontrollen wie α -Actin oder β -Tubulin weisen dahingehend geschlechtsspezifische Unterschiede auf (Campesi et al., 2013). Die Aussagen der Western Blot Analysen lassen daher keinen absoluten direkten Vergleich zwischen männlichen und weiblichen Organismen zu. Es kann ausschließlich die Richtung der Regulation verglichen werden.

Bezüglich der untersuchten Gebiete Kohlenhydrat-, Lipidstoffwechsel, Autophagie und oxidativer Stress wurden jeweils nur eine begrenzte Auswahl an Proteinen und Markern bestimmt. Offen bleibt, ob außerhalb dieser untersuchten Faktoren Geschlechtsunterschiede in der Beeinflussung der Regulation des hepatischen Metabolismus durch *S. mansoni* bestehen. Außerdem wurden die Hamsterlebern ausschließlich mittels Western Blot analysiert, was Aufschluss über die jeweiligen Proteinmengen der gesamten Leber verschafft, wohingegen räumliche Zusammenhänge zu Eiern und Granulomen mit dieser Methode nicht aufgeklärt werden. In Folgestudien wurden daher immunhistochemische Färbungen mit räumlicher Zuordnung der metabolischen Veränderungen zu den Ei-Granulomen geplant. Eine Doppelfärbung von LC3B/LAMP würde den Autophagienachweis zusätzlich komplettieren.

Weiterhin wurde gezeigt, dass bei Geschlechtsunterschieden bezüglich der Autophagie auch das Alter der Tiere eine Rolle spielt (Oliván et al., 2014). Für diese Studie wurden jedoch nur Hamster einer Altersgruppe untersucht.

Die Autophagie und oxidativen Stress betreffenden Geschlechtsunterschiede wurden bislang nur *in vivo* untersucht. Die Analyse einer hormonellen Beteiligung der beobachteten Gender-assoziierten Unterschiede durch Zellkultur-Stimulationsversuche oder Zell-Organoiden könnte die zellulären und molekularen Ursachen der beobachteten Effekte aufklären.

Trotz der Limitationen konnten die Ergebnisse der Arbeit geschlechtsspezifische Unterschiede in der Expression der Autophagiemarker Beclin und ATG5 sowie der MDA-Konzentration zeigen. Die Inhibition der Autophagie in HepG2 Zellen mittels Chloroquins führte in HepG2 Zellen zu einer Verminderung des durch SEA tendenziell erhöhten MDA-Spiegels. In der Expression der untersuchten Enzyme aus Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel wurden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede festgestellt.

6 Zusammenfassung

Schistosomiasis betrifft über 250 Millionen Menschen und ist damit eine der häufigsten parasitären Infektionskrankheiten weltweit. Die Krankheit steht in engem Zusammenhang zu Armut und stellt auch sozioökonomisch eine große Herausforderung dar. Die Erkrankung kommt v.a. in tropischen und subtropischen Gebieten vor, doch das Risiko einer Ausbreitung in gemäßigten Breitengraden hat sich bereits manifestiert. Die intestinale Form, die u.a. von *S. mansoni* ausgelöst wird, führt nicht selten zu einer chronischen Erkrankung mit zunehmender fokaler Leberfibrose und portaler Hypertension, welche vor allem durch die Schistosomen-Eier initiiert wird. Derzeit ist kein Medikament verfügbar, das effektiv gegen diese Eier und die unreifen Vorstufen der Schistosomen wirkt. Durch Aufklärung mechanistischer Zusammenhänge könnten neue Ansätze für Chemotherapeutika im Sinne einer zielgerichteten und personalisierten Medizin identifiziert werden. Diese Dissertationsarbeit fokussiert sich dabei auf geschlechtsspezifische Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Beeinflussung des Leberstoffwechsels, des oxidativen Stresses und der Autophagie durch *S. mansoni*.

Im Rahmen von Vorarbeiten zu den hier vorgestellten Studien (Buß, 2021; Hehr, 2021; von Bülow et al., 2023) wurden in weiblichen Hamsterlebern Schlüsselenzyme des Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels, sowie Marker des oxidativen Stresses untersucht. Geschlechtsunterschiede im hepatischen Stoffwechsel sowie bei Infektion mit *S. mansoni* sind in der Literatur beschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher zunächst die betreffenden Schlüsselenzyme mittels Western Blot Analyse in männlichen mit *S. mansoni* infizierten Hamstern untersucht. Als Kontrollen dienten nicht-infizierte Hamster und Hamster, die nur mit Zerkarien eines Geschlechts (ohne Eiproduktion) infiziert wurden. Die Auswirkungen der Infektion auf die Regulation des Leberstoffwechsels in männlichen Wirten wurde mit den vorbekannten Werten bei weiblichem Wirt verglichen. In Hamstern beider Geschlechter sowie in HepG2 Zellen die mit löslichen Ei-Antigenen von *S. mansoni* (SEA) versetzt waren, wurden zudem Marker der Autophagie untersucht. Als Marker für oxidativen Stress wurde Malondialdehyd (MDA) mittels eines quantitativen Assays in männlichen Hamsterlebern und den mit SEA und dem Autophagieinhibitor Chloroquin stimulierten HepG2-Zellen bestimmt.

Die Regulation der Schlüsselenzyme des Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels im Lebergewebe zeigte keine Unterschiede zwischen den männlichen und weiblichen mit *S. mansoni* infizierten Hamstern. In der Expression der Autophagie-Marker Beclin und

ATG5 zeigten sich geschlechtsspezifische Unterschiede. Nach Infektion wiesen weibliche Tiere in der Leber eine Erhöhung von Beclin auf und der ATG5 Gehalt blieb stabil, wohingegen Beclin in männlichen Tieren unverändert blieb und ATG5 im Lebergewebe nach Infektion absank. In männlichen Tieren zeigte sich auch keine Erhöhung der MDA-Konzentration nach Infektion. In Zellkulturversuchen wiesen männliche HepG2-Zellen erhöhte Autophagiemarker auf. Nach SEA-Stimulation fand sich auch hier keine erhöhte MDA-Konzentration. Die Inhibition der Autophagie in HepG2 Zellen mittels Chloroquins führte allerdings in HepG2 Zellen zu einer Verminderung des durch SEA tendenziell erhöhten MDA-Spiegels.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen darauf schließen, dass die *S. mansoni*-Infektion zu einer wirtsgeschlechtsunabhängigen Umprogrammierung des hepatischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels führt. Die metabolischen Veränderungen scheinen nur in weiblichen Hamstern oxidativen Stress auszulösen, was auch mit einer Steigerung der Autophagiemarker vornehmlich in den weiblichen Tieren einhergeht. Weiterhin werfen die Ergebnisse dieser Arbeit ein neues Licht auf das Zusammenspiel von oxidativem Stress und Autophagie bzw. deren Hemmung durch Chloroquin. Die weitere Aufklärung der molekularbiologischen Zusammenhänge tragen zum weiteren Krankheitsverständnis bei und könnten in der Zukunft der Findung neuer therapeutischer Angriffsziele dienen.

7 Summary

Schistosomiasis affects over 250 million people, making it one of the most common parasitic infectious diseases worldwide. The disease is closely connected to poverty and represents a major socio-economic challenge. The disease occurs mainly in tropical and subtropical regions, but the risk of spreading to moderate climate zones has already manifested itself. The intestinal form, which is caused by *S. mansoni* among others, often leads to chronic disease with increasing focal liver fibrosis and portal hypertension, which is mainly initiated by the schistosome eggs. There is currently no drug available that is effective against these eggs and immature forms of schistosomes. By investigating mechanistic connections, new approaches for chemotherapeutics could be identified in the sense of targeted and personalized medicine. This dissertation focuses on gender-specific similarities and differences in the influence of *S. mansoni* on liver metabolism, oxidative stress and autophagy.

As part of the preliminary work for studies presented here (Buß, 2021; Hehr, 2021; von Bülow et al., 2023), key enzymes of carbohydrate and lipid metabolism as well as markers of oxidative stress have been investigated in female hamster livers. Sex differences in hepatic metabolism and in *S. mansoni* infection have been described in the literature. In this study, therefore, the relevant key enzymes were first analyzed by Western blot analysis in male hamsters infected with *S. mansoni*. Uninfected hamsters and hamsters infected only with cercariae of one sex without egg production served as controls. The effects of the infection on the regulation of liver metabolism in male hosts were compared with the previously known values in female hosts. In hamsters of both sexes and in HepG2 cells spiked with soluble egg antigens of *S. mansoni* (SEA), markers of autophagy were also investigated. As a marker for oxidative stress, malondialdehyde (MDA) was determined by a quantitative assay in male hamster livers and HepG2 cells stimulated with SEA and the autophagy inhibitor chloroquine.

The regulation of key enzymes of carbohydrate and lipid metabolism in liver tissue showed no differences between male and female hamsters infected with *S. mansoni*. There were sex-specific differences in the expression of the autophagy markers Beclin and ATG5. After infection, female animals showed an increase in Beclin in the liver and ATG5 levels remained stable, whereas Beclin remained unchanged in male animals and ATG5 decreased in liver tissue after infection. In male animals, there was also no increase in MDA concentration after infection. In cell culture experiments, male HepG2 cells showed increased autophagy markers. After SEA stimulation, no increased MDA concentration was found here either. However, the inhibition of autophagy in HepG2 cells using chloroquine led to a reduction in the MDA level in HepG2 cells, which tended to be increased by SEA. The results of the present study suggest that *S. mansoni* infection leads to a host-sex-independent reprogramming of hepatic carbohydrate and lipid metabolism. The metabolic changes appear to induce oxidative stress only in female hamsters, which is also associated with an increase in autophagy markers mainly in the female animals. Furthermore, the results of this study shed new light on the interplay between oxidative stress and autophagy and its inhibition by chloroquine. This further clarification of the molecular-biological relationships contributes to a better understanding of the disease and could help to find new therapeutic targets in the future.

8 Abkürzungsverzeichnis

6PG	6-Phosphoglukunolakton
ACC	Acetyl-CoA-Carboxylase
ACS	Acetyl-CoA-Synthetase
AMP	Adenosinmonophosphat
AMPK	AMP-abhängige Kinase
APS	Ammoniumperoxodisulfat
Art.Nr.	Artikelnummer
ATG5	Autophagy related 5
ATGL	Adipozyten-Triglycerid-Lipase
BHT	Butylhydroxytoluol
bs	bisex-infiziert
BSA	Bovines Serumalbumin
CMA	Chaperon-vermittelte Autophagie
CQ	Chloroquin
DAG	Diacylglycerid
dH ₂ O	destilliertes Wasser
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
ECL	Enhanced chemiluminescent
FAS	Fettsäuresynthase
FS	Fettsäure
FZB	Forschungszentrum Borstel
G6P	Glucose-6-Phosphat
G6PD	Glucose-6-Phosphatdehydrogenase
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase
GS	Glykogensynthase
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HCl	Salzsäure
IL	Interleukin
JLU	Justus-Liebig-Universität

LAMP2	Lysosomen-assoziiertes Membranprotein 2
LC3A/B	Mikrotubuli-assoziierte Proteine 1A/1B Leichtkette 3A/B
LD	Lipidtröpfchen
LOT	Chargennummer
MASLD	steatotische Lebererkrankung bei metabolischer Dysfunktion
MDA	Malondialdehyd
ms	monosex-infiziert
mTOR	Mechanistisches Zielmolekül von Rapamycin
NaCl	Natriumchlorid
ni	nicht-infiziert
NTD	Neglected tropical disease
OD	Optische Dichte
p62	Ubiquitin-bindendes Protein p62
pAMPK	Phosphorylierte AMP-aktivierte Proteinkinase
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCK	Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase
PEP	Phosphoenolpyruvat
PKM	Pyruvatkinase
PLIN2	Perilipin-2
pmTOR	Phosphoryliertes Mechanistisches Zielmolekül von Rapamycin
R5P	Ribose-5-Phosphat
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
<i>S. spp</i>	<i>Schistosoma Spezies</i>
SDS	Natriumdodecylsulfat
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese
SEA	Lösliche Ei-Antigene
TAG	Triacylglycerid
TBA	Thiobarbitursäure
TBS	Tris-gepufferte Salzlösung
TEMED	Tetramethylethylendiamin
WHO	Weltgesundheitsorganisation
β -Ox	β -Oxidation

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Lebenszyklus der Schistosomen	3
Abbildung 2: Schematische Darstellung des hepatischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels	5
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Autophagie	8
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Fragestellung der Arbeit	14
Abbildung 5: Dysregulation des Kohlenhydratstoffwechsels im Lebergewebe männlicher Hamster durch <i>S. mansoni</i> -Infektion.....	37
Abbildung 6: Dysregulation des Lipidstoffwechsels in männlichen Hamsterlebern durch <i>S. mansoni</i> -Infektion	39
Abbildung 7: Reduktion der (p)AMPK-Expression in männlichen Hamsterlebern durch <i>S. mansoni</i> -Infektion	41
Abbildung 8: Reduktion der Expression von (p)mTOR in Hamsterlebern bei <i>S. mansoni</i> -Infektion ohne geschlechtsspezifische Unterschiede	44
Abbildung 9: Steigerung der p62-Expression in männlichen Hamsterlebern durch <i>S. mansoni</i> -Infektion	45
Abbildung 10: Geschlechtsspezifische Dysregulation der Beclin-Expression in Hamsterlebern bei <i>S. mansoni</i> -Infektion.....	46
Abbildung 11: Geschlechtsspezifische Dysregulation der ATG5-Expression in Hamsterlebern bei <i>S. mansoni</i> -Infektion.....	47
Abbildung 12: Geschlechtsspezifische Dysregulation der LAMP2-Expression in Hamsterlebern bei <i>S. mansoni</i> -Infektion.....	48
Abbildung 13: SEA-induzierte Veränderung von Autophagieparametern	50
Abbildung 14: Geschlechtsspezifische Unterschiede der MDA-Spiegel in Hamsterlebern bei <i>S. mansoni</i> -Infektion	51
Abbildung 15: Chloroquin reduziert SEA-induzierte, erhöhte MDA-Spiegel in HepG2-Zellen.....	52

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Geräte mit Herstellerangaben.....	15
Tabelle 2: Verbrauchsmaterialien mit Herstellerangaben	17
Tabelle 3: Chemikalien und Reagenzien mit Herstellerangaben	18
Tabelle 4: Puffer, Lösungen und deren Zusammensetzung	21
Tabelle 5: Primärantikörper	23
Tabelle 6: Sekundärantikörper	24
Tabelle 7: Kommerzielles Kit	24
Tabelle 8: Zelllinie	25
Tabelle 9: Medien und Zusatzstoffe.....	26
Tabelle 10: Software	26

11 Literaturverzeichnis

- Abou-El-Naga, I. F. (2020). Heat shock protein 70 (Hsp70) in *Schistosoma mansoni* and its role in decreased adult worm sensitivity to praziquantel. *Parasitology*, *147*(6), 634–642. <https://doi.org/10.1017/S0031182020000347>
- Agius, L. (2008). Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. *Biochemical Journal*, *414*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1042/BJ20080595>
- Almeer, R. S., El-Khadragy, M. F., Abdelhabib, S., & Abdel Moneim, A. E. (2018). *Zi-ziphus spina-christi* leaf extract ameliorates schistosomiasis liver granuloma, fibrosis, and oxidative stress through downregulation of fibrinogenic signaling in mice. *PLOS ONE*, *13*(10), e0204923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204923>
- Amaral, M. S., Santos, D. W., Pereira, A. S. A., Tahira, A. C., Malvezzi, J. V. M., Miyasato, P. A., Freitas, R. de P., Kalil, J., Tjon Kon Fat, E. M., de Dood, C. J., Corstjens, P. L. A. M., van Dam, G. J., Nakano, E., Castro, S. de O., Mattaraia, V. G. de M., Augusto, R. de C., Grunau, C., Wilson, R. A., & Verjovski-Almeida, S. (2021). Rhesus macaques self-curing from a schistosome infection can display complete immunity to challenge. *Nature Communications*, *12*(1), 6181. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26497-0>
- Amer, A. S., Othman, A. A., Dawood, L. M., El-Nouby, K. A., Gobert, G. N., & Abou Rayia, D. M. (2023). The interaction of *Schistosoma mansoni* infection with diabetes mellitus and obesity in mice. *Scientific Reports*, *13*(1), 9417. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36112-5>
- Ayabina, D. V., Clark, J., Bayley, H., Lamberton, P. H. L., Toor, J., & Hollingsworth, T. D. (2021). Gender-related differences in prevalence, intensity and associated risk factors of *Schistosoma* infections in Africa: A systematic review and meta-analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *15*(11), e0009083. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009083>
- Bai, Y., Guan, F., Zhu, F., Jiang, C., Xu, X., Zheng, F., Liu, W., & Lei, J. (2021). IL-33/ST2 Axis Deficiency Exacerbates Hepatic Pathology by Regulating Treg and Th17 Cells in Murine Schistosomiasis Japonica. *Journal of Inflammation Research*, *Volume 14*, 5981–5998. <https://doi.org/10.2147/JIR.S336404>

- Barban do Patrocínio, A., Cabral, F. J., de Paiva, T. H., Magalhães, L. G., Paula, L. A. de L., Brigato, O. M., Guerra-Sá, R., & Rodrigues, V. (2021). Deubiquitinating enzymes as possible drug targets for schistosomiasis. *Acta Tropica*, *217*, 105856. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105856>
- Bernin, H., & Lotter, H. (2014). Sex Bias in the Outcome of Human Tropical Infectious Diseases: Influence of Steroid Hormones. *Journal of Infectious Diseases*, *209*(suppl 3), S107–S113. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit610>
- Bertels, L.-K., Fernández Murillo, L., & Heinisch, J. J. (2021). The Pentose Phosphate Pathway in Yeasts—More Than a Poor Cousin of Glycolysis. *Biomolecules*, *11*(5), 725. <https://doi.org/10.3390/biom11050725>
- Blanton, R. E., Reis, M. G., King, C. H., Prado, M. S., Barreto, M. L., Parraga, I. M., & Assis, A. M. O. (1996). Gender Differences in Growth of School-Aged Children with Schistosomiasis and Geohelminth Infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *55*(2), 150–156. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1996.55.150>
- Boissier, J., Chlichlia, K., Digon, Y., Ruppel, A., & Moné, H. (2003). Preliminary study on sex-related inflammatory reactions in mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, *91*(2), 144–150. <https://doi.org/10.1007/s00436-003-0943-1>
- Booth, M. (2018). Climate Change and the Neglected Tropical Diseases. *Advances in Parasitology*, *100*, 39–126. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2018.02.001>
- Botelho, M. C., Crespo, M., Almeida, A., Vieira, P., Delgado, M. L., Araujo, L., Machado, J. C., & Correia da Costa, J. M. (2009). *Schistosoma haematobium* and *Schistosomiasis mansoni*: Production of an estradiol-related compound detected by elisa. *Experimental Parasitology*, *122*(3), 250–253. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.04.001>
- Brkić, B. M., Rovčanin, B., Stojanović, M., Srebro, D., Vučković, S., & Savić Vujović, K. (2022). Chloroquine Attenuates Oxidative Stress in Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Dose-Response*, *20*(3), 155932582211198. <https://doi.org/10.1177/15593258221119871>
- Buß, N. (2021). *Replikationsstress, oxidativer Stress und DNA-Reparaturmechanismen bei Schistosoma mansoni Infektion*. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.

- C. Botelho, M., Alves, H., & Richter, J. (2016). Estrogen Catechols Detection as Biomarkers in Schistosomiasis Induced Cancer and Infertility. *Letters in Drug Design & Discovery*, *14*(2), 135–138. <https://doi.org/10.2174/1570180813666160720165057>
- Campesi, I., Straface, E., Occhioni, S., Montella, A., & Franconi, F. (2013). Protein oxidation seems to be linked to constitutive autophagy: A sex study. *Life Sciences*, *93*(4), 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.06.001>
- Chavez-Dominguez, R., Perez-Medina, M., Lopez-Gonzalez, J. S., Galicia-Velasco, M., & Aguilar-Cazares, D. (2020). The Double-Edge Sword of Autophagy in Cancer: From Tumor Suppression to Pro-tumor Activity. *Frontiers in Oncology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.578418>
- Chen, Z., Sheng, L., Shen, H., Zhao, Y., Wang, S., Brink, R., & Rui, L. (2012). Hepatic TRAF2 Regulates Glucose Metabolism Through Enhancing Glucagon Responses. *Diabetes*, *61*(3), 566–573. <https://doi.org/10.2337/db11-0474>
- Choi, Y., Bowman, J. W., & Jung, J. U. (2018). Autophagy during viral infection — a double-edged sword. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(6), 341–354. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0003-6>
- Contreras, C. J., Segvich, D. M., Mahalingan, K., Chikwana, V. M., Kirley, T. L., Hurley, T. D., DePaoli-Roach, A. A., & Roach, P. J. (2016). Incorporation of phosphate into glycogen by glycogen synthase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *597*, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.03.020>
- Cortes-Selva, D., Gibbs, L., Maschek, J. A., Nascimento, M., Van Ry, T., Cox, J. E., Amiel, E., & Fairfax, K. C. (2021). Metabolic reprogramming of the myeloid lineage by *Schistosoma mansoni* infection persists independently of antigen exposure. *PLOS Pathogens*, *17*(1), e1009198. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009198>
- de Oliveira, R. B., Senger, M. R., Vasques, L. M., Gasparotto, J., dos Santos, J. P. A., de Bittencourt Pasquali, M. A., Moreira, J. C. F., Silva, F. P., & Gelain, D. P. (2013). *Schistosoma mansoni* infection causes oxidative stress and alters receptor for advanced glycation endproduct (RAGE) and tau levels in multiple organs in mice. *International Journal for Parasitology*, *43*(5), 371–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.12.006>

- Demirbag-Sarikaya, S., Akkoc, Y., Turgut, S., Erbil-Bilir, S., Kocaturk, N. M., Dengjel, J., & Gozuacik, D. (2022). A novel ATG5 interaction with Ku70 potentiates DNA repair upon genotoxic stress. *Scientific Reports*, *12*(1), 8134. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11704-9>
- Deter, R. L., Baudhuin, P., & de Duve, C. (1967). Participation of lysosomes in cellular autophagy induced in rat liver by glucagon. *The Journal of Cell Biology*, *35*(2), C11–C16. <https://doi.org/10.1083/jcb.35.2.C11>
- Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit. (2017). *Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Schistosomiasis (Bilharziose) Ziele und Kontext*. www.who.int/schistosomiasis/epidemiology/global_atlas_maps/en/index.html
- El-Saadi, E., Saad, M., Ali, D. A., & Eid, M. (2021). A comparative study of the effects of chloroquine and praziquantel on splenomegaly in experimental Schistosomiasis mansoni. *Tanta Medical Journal*, *49*, 109. <https://link.gale.com/apps/doc/A694074804/AONE?u=anon~667d15dc&sid=googleScholar&xid=c46b96b5>
- Fallon, P. G., Richardson, E. J., Jones, F. M., & Dunne, D. W. (1998). Dehydroepiandrosterone Sulfate Treatment of Mice Modulates Infection with *Schistosoma mansoni*. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, *5*(2), 251–253. <https://doi.org/10.1128/CDLI.5.2.251-253.1998>
- Fhu, C. W., & Ali, A. (2020). Fatty Acid Synthase: An Emerging Target in Cancer. *Molecules*, *25*(17), 3935. <https://doi.org/10.3390/molecules25173935>
- Filomeni, G., De Zio, D., & Cecconi, F. (2015). Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs. *Cell Death & Differentiation*, *22*(3), 377–388. <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.150>
- Gabaake, K. P., Lucero-Prisno, D. E., Thakadu, O. T., & Phaladze, N. A. (2023). A mixed method analysis of the Botswana schistosomiasis control policy and plans using the policy triangle framework. *Global Health Research and Policy*, *8*(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s41256-023-00321-2>
- Gasparotto, J., Senger, M. R., Telles de Sá Moreira, E., Brum, P. O., Carazza Kessler, F. G., Peixoto, D. O., Panzenhagen, A. C., Ong, L. K., Campos Soares, M., Reis, P. A., Schirato, G. V., Góes Valente, W. C., Araújo Montoya, B. O., Silva, F. P., Fonseca

- Moreira, J. C., Dal-Pizzol, F., Castro-Faria-Neto, H. C., & Gelain, D. P. (2021). Neurological impairment caused by *Schistosoma mansoni* systemic infection exhibits early features of idiopathic neurodegenerative disease. *Journal of Biological Chemistry*, 297(2), 100979. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100979>
- Giovanella, F., Ferreira, G. K., Pra, S. D. T. de, Carvalho-Silva, M., Gomes, L. M., Scaini, G., Goncalves, R. C., Michels, M., Galant, L. S., Longaretti, L. M., Dajori, A. L., Andrade, V. M., Dal-Pizzol, F., Streck, E. L., & Souza, R. P. de. (2015). Effects of primaquine and chloroquine on oxidative stress parameters in rats. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2 suppl), 1487–1496. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140637>
- González-Granillo, M., Helguero, L. A., Alves, E., Archer, A., Savva, C., Pedrelli, M., Ahmed, O., Li, X., Domingues, M. R., Parini, P., Gustafsson, J.-Å., & Korach-André, M. (2019). Sex-specific lipid molecular signatures in obesity-associated metabolic dysfunctions revealed by lipidomic characterization in ob/ob mouse. *Biology of Sex Differences*, 10(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s13293-019-0225-y>
- Grego, S., Pasotti, E., Moccetti, T., & Maggioni, A. P. (2020). Sex and gender medicine: the foundation of gender medicine. *Giornale Italiano Di Cardiologia (2006)*, 21(8), 602–606. <https://doi.org/10.1714/3405.33894>
- Gregório, Paulo C., da Cunha, R. S., Biagini, G., Bosquetti, B., Budag, J., Ortiz, A., Sánchez-Niño, M. D., Barreto, F. C., & Stinghen, A. E. M. (2021). Chloroquine may induce endothelial injury through lysosomal dysfunction and oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 414, 115412. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2021.115412>
- Grevelding, C. G. (1999). Genomic instability in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 101(1–2), 207–216. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(99\)00078-X](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(99)00078-X)
- Gutteridge, J. M. C., & Halliwell, B. (1990). The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in Biochemical Sciences*, 15(4), 129–135. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(90\)90206-Q](https://doi.org/10.1016/0968-0004(90)90206-Q)
- Hehr, L. (2021). *Schistosoma mansoni*-Eier modulieren den hepatischen Lipidmetabolismus. Masterthesis, Hochschule Fresenius Idstein.

- Hiltunen, J. K., Autio, K. J., Schonauer, M. S., Kursu, V. A. S., Dieckmann, C. L., & Kastaniotis, A. J. (2010). Mitochondrial fatty acid synthesis and respiration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1797(6–7), 1195–1202. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.03.006>
- Huang, X., Yao, J., Liu, L., Chen, J., Mei, L., Huangfu, J., Luo, D., Wang, X., Lin, C., Chen, X., Yang, Y., Ouyang, S., Wei, F., Wang, Z., Zhang, S., Xiang, T., Neculai, D., Sun, Q., Kong, E., ... Yang, A. (2023). S-acylation of p62 promotes p62 droplet recruitment into autophagosomes in mammalian autophagy. *Molecular Cell*, 83(19), 3485-3501.e11. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.09.004>
- Hussaarts, L., García-Tardón, N., Beek, L., Heemskerk, M. M., Haerberlein, S., Zon, G. C., Ozir-Fazalalikhani, A., Berbée, J. F. P., Dijk, K. W., Harmelen, V., Yazdanbakhsh, M., & Guigas, B. (2015). Chronic helminth infection and helminth-derived egg antigens promote adipose tissue M2 macrophages and improve insulin sensitivity in obese mice. *The FASEB Journal*, 29(7), 3027–3039. <https://doi.org/10.1096/fj.14-266239>
- Israelsen, W. J., & Vander Heiden, M. G. (2015). Pyruvate kinase: Function, regulation and role in cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 43, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.004>
- Javaid, H. M. A., Lim, H., Shin, S., & Huh, J. Y. (2022). Inhibition of autophagy with chloroquine dysregulates mitochondrial quality control and energetics in adipocytes. *Archives of Pharmacal Research*, 45(10), 731–742. <https://doi.org/10.1007/s12272-022-01412-3>
- Kaushik, V. K., Kavana, M., Volz, J. M., Weldon, S. C., Hanrahan, S., Xu, J., Caplan, S. L., & Hubbard, B. K. (2009). Characterization of recombinant human acetyl-CoA carboxylase-2 steady-state kinetics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1794(6), 961–967. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.02.004>
- Klein, S. L. (2004). Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunology*, 26(6–7), 247–264. <https://doi.org/10.1111/j.0141-9838.2004.00710.x>
- Klohe, K., Koudou, B. G., Fenwick, A., Fleming, F., Garba, A., Gouvras, A., Harding-Esch, E. M., Knopp, S., Molyneux, D., D'Souza, S., Utzinger, J., Vounatsou, P., Waltz, J., Zhang, Y., & Rollinson, D. (2021). A systematic literature review of

- schistosomiasis in urban and peri-urban settings. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 15(2), e0008995. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008995>
- Klouda, C. B., & Stone, W. L. (2020). Oxidative Stress, Proton Fluxes, and Chloroquine/Hydroxychloroquine Treatment for COVID-19. *Antioxidants*, 9(9), 894. <https://doi.org/10.3390/antiox9090894>
- Kocaturk, N. M., Akkoc, Y., Kig, C., Bayraktar, O., Gozuacik, D., & Kutlu, O. (2019). Autophagy as a molecular target for cancer treatment. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 134, 116–137. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.04.011>
- Kon, M., Kiffin, R., Koga, H., Chapochnik, J., Macian, F., Varticovski, L., & Cuervo, A. M. (2011). Chaperone-Mediated Autophagy Is Required for Tumor Growth. *Science Translational Medicine*, 3(109). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003182>
- Kouroumalis, E., Voumvouraki, A., Augoustaki, A., & Samonakis, D. N. (2021). Autophagy in liver diseases. *World Journal of Hepatology*, 13(1), 6–65. <https://doi.org/10.4254/wjh.v13.i1.6>
- Kroemer, G., Mariño, G., & Levine, B. (2010). Autophagy and the Integrated Stress Response. *Molecular Cell*, 40(2), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.023>
- Kumar Mishra, S., Singh, P., & Rath, S. K. (2013). Protective Effect of Quercetin on Chloroquine-Induced Oxidative Stress and Hepatotoxicity in Mice. *Malaria Research and Treatment*, 2013, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/141734>
- Lo, N. C., Bezerra, F. S. M., Colley, D. G., Fleming, F. M., Homeida, M., Kabatereine, N., Kabole, F. M., King, C. H., Mafe, M. A., Midzi, N., Mutapi, F., Mwanga, J. R., Ramzy, R. M. R., Satrija, F., Stothard, J. R., Traoré, M. S., Webster, J. P., Utzinger, J., Zhou, X.-N., ... Garba, A. (2022). Review of 2022 WHO guidelines on the control and elimination of schistosomiasis. *The Lancet Infectious Diseases*, 22(11), e327–e335. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00221-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00221-3)
- Luo, J. T., Qian, S. N., Wu, K. Y., Zhu, S. C., Huang, Y. L., Ye, J. P., & Shen, S. (2022). Exploring the effects of artesunate and fuzheng huayu decoction on mitochondria in the treatment of schistosomiasis liver fibrosis. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi = Zhonghua Ganzangbing Zazhi = Chinese Journal of Hepatology*, 30(1), 45–51. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn501113-20201024-00577>

- Maciel, P. S., Gonçalves, R., Antonelli, L. R. do V., & Fonseca, C. T. (2021). Schistosoma mansoni Infection Is Impacted by Malnutrition. *Frontiers in Microbiology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.635843>
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, *32*(8), 595–603. [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(99)00075-2)
- Mauthe, M., Orhon, I., Rocchi, C., Zhou, X., Luhr, M., Hijlkema, K.-J., Coppes, R. P., Engedal, N., Mari, M., & Reggiori, F. (2018). Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*, *14*(8), 1435–1455. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1474314>
- Mauvais-Jarvis, F. (2018). Gender differences in glucose homeostasis and diabetes. *Physiology & Behavior*, *187*, 20–23. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.08.016>
- Morán-Costoya, A., Proenza, A. M., Gianotti, M., Lladó, I., & Valle, A. (2021). Sex Differences in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Estrogen Influence on the Liver–Adipose Tissue Crosstalk. *Antioxidants & Redox Signaling*, *35*(9), 753–774. <https://doi.org/10.1089/ars.2021.0044>
- Nakazawa, M., Fantappie, M. R., Freeman, G. L., Eloi-Santos, S., Olsen, N. J., Kovacs, W. J., Secor, W. E., & Colley, D. G. (1997). Schistosoma mansoni: Susceptibility Differences between Male and Female Mice Can Be Mediated by Testosterone during Early Infection. *Experimental Parasitology*, *85*(3), 233–240. <https://doi.org/10.1006/expr.1997.4148>
- Oliván, S., Calvo, A. C., Manzano, R., Zaragoza, P., & Osta, R. (2014). Sex Differences in Constitutive Autophagy. *BioMed Research International*, *2014*, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2014/652817>
- Olveda, D. U., Olveda, R. M., McManus, D. P., Cai, P., Chau, T. N. P., Lam, A. K., Li, Y., Harn, D. A., Vinluan, M. L., & Ross, A. G. P. (2014). The chronic enteropathogenic disease schistosomiasis. *International Journal of Infectious Diseases*, *28*, 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.07.009>
- Omar, A., Abou-Alfa, G. K., Khairy, A., & Omar, H. (2013). Risk factors for developing hepatocellular carcinoma in Egypt. *Chinese Clinical Oncology*, *2*(4), 43. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2304-3865.2013.11.07>

- Ouyang, Q., Huang, Z., Wang, Z., Chen, X., Ni, J., & Lin, L. (2014). Effects of Pristane Alone or Combined with Chloroquine on Macrophage Activation, Oxidative Stress, and Th1/Th2 Skewness. *Journal of Immunology Research*, 2014, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/613136>
- Ovens, A. J., Scott, J. W., Langendorf, C. G., Kemp, B. E., Oakhill, J. S., & Smiles, W. J. (2021). Post-Translational Modifications of the Energy Guardian AMP-Activated Protein Kinase. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1229. <https://doi.org/10.3390/ijms22031229>
- Palmisano, B. T., Zhu, L., & Stafford, J. M. (2017). *Role of Estrogens in the Regulation of Liver Lipid Metabolism* (pp. 227–256). https://doi.org/10.1007/978-3-319-70178-3_12
- Pasquier, B. (2016). Autophagy inhibitors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(5), 985–1001. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2104-y>
- Pickering, A. M., Staab, T. A., Tower, J., Sieburth, D. S., & Davies, K. J. A. (2012). A conserved role for the 20S proteasome and Nrf2 transcription factor in oxidative-stress adaptation in mammals, *C. elegans* and *D. melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*. <https://doi.org/10.1242/jeb.074757>
- Qian, H., Chao, X., Williams, J., Fulte, S., Li, T., Yang, L., & Ding, W.-X. (2021). Autophagy in liver diseases: A review. *Molecular Aspects of Medicine*, 82, 100973. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2021.100973>
- Reale, C., Invernizzi, F., Panteghini, C., & Garavaglia, B. (2023). Genetics, sex, and gender. *Journal of Neuroscience Research*, 101(5), 553–562. <https://doi.org/10.1002/jnr.24945>
- Regitz-Zagrosek, V., & Seeland, U. (2013). *Sex and Gender Differences in Clinical Medicine* (pp. 3–22). https://doi.org/10.1007/978-3-642-30726-3_1
- Ren, M., Li, J., Xue, R., Wang, Z., Coll, S. L., & Meng, Q. (2019). Liver function and energy metabolism in hepatocellular carcinoma developed in patients with hepatitis B-related cirrhosis. *Medicine*, 98(19), e15528. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015528>

- Roche, C. M., Blanch, H. W., Clark, D. S., & Glass, N. L. (2013). Physiological Role of Acyl Coenzyme A Synthetase Homologs in Lipid Metabolism in *Neurospora crassa*. *Eukaryotic Cell*, *12*(9), 1244–1257. <https://doi.org/10.1128/EC.00079-13>
- Roderfeld, M., Padem, S., Lichtenberger, J., Quack, T., Weiskirchen, R., Longerich, T., Schramm, G., Churin, Y., Irunbam, K., Tschuschner, A., Windhorst, A., Greveling, C. G., & Roeb, E. (2020). Schistosoma mansoni Egg-Secreted Antigens Activate Hepatocellular Carcinoma-Associated Transcription Factors c-Jun and STAT3 in Hamster and Human Hepatocytes. *Hepatology*, *72*(2), 626–641. <https://doi.org/10.1002/hep.30192>
- Rui, L. (2014). Energy Metabolism in the Liver. In *Comprehensive Physiology* (pp. 177–197). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024>
- Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell*, *168*(6), 960–976. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>
- Schneider, J. L., & Cuervo, A. M. (2014). Liver autophagy: Much more than just taking out the trash. In *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 11, Issue 3, pp. 187–200). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.211>
- Schreiber, R., Xie, H., & Schweiger, M. (2019). Of mice and men: The physiological role of adipose triglyceride lipase (ATGL). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1864*(6), 880–899. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.10.008>
- Schwartz, C., & Fallon, P. G. (2018). Schistosoma “Eggs-Itting” the Host: Granuloma Formation and Egg Excretion. *Frontiers in Immunology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02492>
- Shang, D., Wang, L., Klionsky, D. J., Cheng, H., & Zhou, R. (2021). Sex differences in autophagy-mediated diseases: toward precision medicine. *Autophagy*, *17*(5), 1065–1076. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1752511>
- Shen, M., & Shi, H. (2015). Sex Hormones and Their Receptors Regulate Liver Energy Homeostasis. *International Journal of Endocrinology*, *2015*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/294278>

- Singh, R., Kaushik, S., Wang, Y., Xiang, Y., Novak, I., Komatsu, M., Tanaka, K., Cuervo, A. M., & Czaja, M. J. (2009). Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*, *458*(7242), 1131–1135. <https://doi.org/10.1038/nature07976>
- Snowden, J. S., Alzahrani, J., Sherry, L., Stacey, M., Rowlands, D. J., Ranson, N. A., & Stonehouse, N. J. (2021). Structural insight into *Pichia pastoris* fatty acid synthase. *Scientific Reports*, *11*(1), 9773. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89196-2>
- Stanley, R. G., Jackson, C. L., Griffiths, K., & Doenhoff, M. J. (2009). Effects of *Schistosoma mansoni* worms and eggs on circulating cholesterol and liver lipids in mice. *Atherosclerosis*, *207*(1), 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.04.037>
- Sternisha, S. M., & Miller, B. G. (2019). Molecular and cellular regulation of human glucokinase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *663*, 199–213. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.01.011>
- The Lancet. (2022). Neglected tropical diseases: ending the neglect of populations. *The Lancet*, *399*(10323), 411. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00161-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00161-1)
- Tokatli, M. R., Sisti, L. G., Marziali, E., Nachira, L., Rossi, M. F., Amantea, C., Moscato, U., & Malorni, W. (2022). Hormones and Sex-Specific Medicine in Human Physiopathology. *Biomolecules*, *12*(3), 413. <https://doi.org/10.3390/biom12030413>
- Tower, J., Pomatto, L. C. D., & Davies, K. J. A. (2020). Sex differences in the response to oxidative and proteolytic stress. *Redox Biology*, *31*, 101488. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101488>
- Tramunt, B., Smati, S., Grandgeorge, N., Lenfant, F., Arnal, J.-F., Montagner, A., & Gourdy, P. (2020). Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. *Diabetologia*, *63*(3), 453–461. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-05040-3>
- Valentim, L., Laurence, K. M., Townsend, P. A., Carroll, C. J., Soond, S., Scarabelli, T. M., Knight, R. A., Latchman, D. S., & Stephanou, A. (2006). Urocortin inhibits Beclin1-mediated autophagic cell death in cardiac myocytes exposed to ischaemia/reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *40*(6), 846–852. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.03.428>

- Verjee, M. A. (2020). Schistosomiasis: Still a Cause of Significant Morbidity and Mortality. *Research and Reports in Tropical Medicine, Volume 10*, 153–163. <https://doi.org/10.2147/RRTM.S204345>
- von Bülow, V., Gindner, S., Baier, A., Hehr, L., Buss, N., Russ, L., Wrobel, S., Wirth, V., Tabatabai, K., Quack, T., Haerberlein, S., Kadesch, P., Gerbig, S., Wiedemann, K. R., Spengler, B., Mehl, A., Morlock, G., Schramm, G., Pons-Kühnemann, J., ... Roderfeld, M. (2023). Metabolic reprogramming of hepatocytes by *Schistosoma mansoni* eggs. *JHEP Reports*, 5(2), 100625. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2022.100625>
- von Bülow, V., Lichtenberger, J., Grevelding, C. G., Falcone, F. H., Roeb, E., & Roderfeld, M. (2021). Does *Schistosoma Mansoni* Facilitate Carcinogenesis? *Cells*, 10(8), 1982. <https://doi.org/10.3390/cells10081982>
- von Bülow, V., Schneider, M., Dreizler, D., Russ, L., Baier, A., Buss, N., Lichtenberger, J., Härle, L., Müller, H., Tschuschner, A., Schramm, G., Pons-Kühnemann, J., Grevelding, C. G., Roeb, E., & Roderfeld, M. (2024). *Schistosoma mansoni*-Induced Oxidative Stress Triggers Hepatocellular Proliferation. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 17(1), 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2023.08.014>
- Wang, Y., Utzinger, J., Xiao, S.-H., Xue, J., Nicholson, J. K., Tanner, M., Singer, B. H., & Holmes, E. (2006). System level metabolic effects of a *Schistosoma japonicum* infection in the Syrian hamster. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 146(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2005.10.010>
- Wang, Y., Weiss, L. M., & Orlofsky, A. (2009). Host Cell Autophagy Is Induced by *Toxoplasma gondii* and Contributes to Parasite Growth. *Journal of Biological Chemistry*, 284(3), 1694–1701. <https://doi.org/10.1074/jbc.M807890200>
- Weglage, J., Wolters, F., Hehr, L., Lichtenberger, J., Wulz, C., Hempel, F., Baier, A., Quack, T., Köhler, K., Longerich, T., Schramm, G., Irungbam, K., Mueller, H., von Bülow, V., Tschuschner, A., Odenthal, M., Drebber, U., Arousy, M. El, Ramalho, L. N. Z., ... Roderfeld, M. (2020a). *Schistosoma mansoni* eggs induce Wnt/ β -catenin signaling and activate the protooncogene c-Jun in human and hamster colon. *Scientific Reports*, 10(1), 22373. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79450-4>

- Weglage, J., Wolters, F., Hehr, L., Lichtenberger, J., Wulz, C., Hempel, F., Baier, A., Quack, T., Köhler, K., Longerich, T., Schramm, G., Irungbam, K., Mueller, H., von Buelow, V., Tschuschner, A., Odenthal, M., Drebber, U., Arousy, M. El, Ramalho, L. N. Z., ... Roderfeld, M. (2020b). Schistosoma mansoni eggs induce Wnt/ β -catenin signaling and activate the protooncogene c-Jun in human and hamster colon. *Scientific Reports*, *10*(1), 22373. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79450-4>
- Wiedemann, K. R., Peter Ventura, A., Gerbig, S., Roderfeld, M., Quack, T., Grevelding, C. G., Roeb, E., & Spengler, B. (2022). Changes in the lipid profile of hamster liver after Schistosoma mansoni infection, characterized by mass spectrometry imaging and LC–MS/MS analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *414*(12), 3653–3665. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04006-6>
- Witzenrath, M., Bouchaud, O., Kern, P., Saraiva da Cunha, J., Beltrame, A., Zammarchi, L., Paul, M., Kosina, P., Marocco, S., Schunk, M., Just-Nübling, G., Clerinx, J., Mørch, K., Trevino, B., Ramos, J. M., Fry, G., Schmid, M. L., Develoux, M., Jänisch, T., ... Björkman, A. (2017). Schistosomiasis in European Travelers and Migrants: Analysis of 14 Years TropNet Surveillance Data. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *97*(2), 567–574. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0034>
- Wolde, M., Berhe, N., Medhin, G., Chala, F., van Die, I., & Tsegaye, A. (2019). Inverse Associations of Schistosoma mansoni Infection and Metabolic Syndromes in Humans: A Cross-Sectional Study in Northeast Ethiopia. *Microbiology Insights*, *12*, 117863611984993. <https://doi.org/10.1177/1178636119849934>
- Xie, S., Zhang, Y., Li, J., Zhou, J., Li, J., Zhang, P., Liu, Y., Luo, Y., & Ming, Y. (2023). IgG persistence showed weak clinical aspects in chronic schistosomiasis patients. *Scientific Reports*, *13*(1), 13222. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40082-z>
- Xu, B., Peng, Z., An, Y., Yan, G., Yao, X., Guan, L., & Sun, M. (2022). Identification of Energy Metabolism-Related Gene Signatures From scRNA-Seq Data to Predict the Prognosis of Liver Cancer Patients. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.858336>
- Xu, Z.-P., Chang, H., Ni, Y.-Y., Li, C., Chen, L., Hou, M., & Ji, M.-J. (2019). Schistosoma japonicum infection causes a reprogramming of glycolipid metabolism in the liver. *Parasites & Vectors*, *12*(1), 388. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3621-6>

- Ye, J., Zhang, J., Zhu, Y., Wang, L., Jiang, X., Liu, B., & He, G. (2023). Targeting autophagy and beyond: Deconvoluting the complexity of Beclin-1 from biological function to cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *13*(12), 4688–4714. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.08.008>
- Yu, S., Meng, S., Xiang, M., & Ma, H. (2021). Phosphoenolpyruvate carboxykinase in cell metabolism: Roles and mechanisms beyond gluconeogenesis. *Molecular Metabolism*, *53*, 101257. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101257>
- Yun, H. R., Jo, Y. H., Kim, J., Shin, Y., Kim, S. S., & Choi, T. G. (2020). Roles of Autophagy in Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(9), 3289. <https://doi.org/10.3390/ijms21093289>
- Zhang, B., Li, J., Zong, X., Wang, J., Xin, L., Song, H., Zhang, W., Koda, S., Hua, H., Zhang, B., Yu, Q., Zheng, K.-Y., & Yan, C. (2022). FXR deficiency in hepatocytes disrupts the bile acid homeostasis and inhibits autophagy to promote liver injury in *Schistosoma japonicum*-infected mice. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *16*(8), e0010651. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010651>
- Zheng, Q., Duan, L., Zhang, Y., Li, J., Zhang, S., & Wang, H. (2022). A dynamically evolving war between autophagy and pathogenic microorganisms. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, *23*(1), 19–41. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2100285>
- Zhu, H., Tannous, P., Johnstone, J. L., Kong, Y., Shelton, J. M., Richardson, J. A., Le, V., Levine, B., Rothermel, B. A., & Hill, J. A. (2007). Cardiac autophagy is a maladaptive response to hemodynamic stress. *Journal of Clinical Investigation*, *117*(7), 1782–1793. <https://doi.org/10.1172/JCI27523>
- Zhu, J., Zhang, W., Zhang, L., Xu, L., Chen, X., Zhou, S., Xu, Z., Xiao, M., Bai, H., Liu, F., & Su, C. (2018). IL-7 suppresses macrophage autophagy and promotes liver pathology in *Schistosoma japonicum* -infected mice. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *22*(7), 3353–3363. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13610>

12 Anhang

	Protein	Funktion	♂	♀	ZK
Kohlenhydratstoffwechsel	PKM1	Glykolyse	↑	↑	↑
	GS	Glykogensynthese	↓	↓	↓
	G6PD	Pentosephosphatweg	↑	↑	↑
	PCK2	Glukoneogenese	↔	↔	
Lipidstoffwechsel	FAS	Fettsäuresynthese	↓	↓	↓
	ACC1		↓	↓	↓
	ACS	TAG-Synthese	↓	↓	↓
	ATGL	TAG-Abbau	↔	↔	
	(p)AMPK	Regulator	↓	↓	↓
Autophagie	(p)mTOR	Regulator	↓	↓	↓
	p62	Frachtprotein	↑	↑	↑
	Beclin	Initiation	↔	↑	↑
	ATG5	Autophagosombildung	↓	↔	↑
	LAMP2	CMA	↔	↔	
Oxidativer Stress	MDA	Oxidativer Stress	↔	↑	↑

Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse. Dargestellt ist jeweils die Richtung der Regulierung des Proteins der bisex-infizierten (bzw. SEA-stimulierten) Gruppe im Vergleich zu mindestens einer Kontrollgruppe. ↑ Hochregulation, ↓ Herabregulation, ↔ keine signifikante Regulation, ♂ männliche Hamsterleberlysate, ♀ weibliche Hamsterleberlysate, ZK männliche HepG2-Zellen, hellgrau hinterlegt: Ergebnisse aus Vorstudien der Arbeitsgruppe Prof. Roeb.

13 Publikationsverzeichnis

13.1 Originalarbeiten

Hahn, L., Helmrich, N., Herebian, D., Mayatepek, E., Drebber, U., Domann, E., Olejniczak, S., Weigel, M., Hain, T., Rath, T., Wirtz, S., Mollenkopf, H.-J., Schmidt, N., Ewers, C., **Baier, A.**, Churin, Y., Windhorst, A., Weiskirchen, R., Steinhoff, U., Roeb, E. & Roderfeld, M. (2020). IL-13 as Target to Reduce Cholestasis and Dysbiosis in Abcb4 Knockout Mice. *Cells*, 9(9), 1949. <https://doi.org/10.3390/cells9091949>

Helmrich, N., Roderfeld, M., **Baier, A.**, Windhorst, A., Herebian, D., Mayatepek, E., Dierkes, C., Ocker, M., Glebe, D., Christ, B., Churin, Y., Irungbam, K., & Roeb, E. (2022). Pharmacologic Antagonization of Cannabinoid Receptor 1 Improves Cholestasis in Abcb4 Mice. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 13(4), 1041–1055. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2021.12.013>

Müller, H.; Straßmann, J., **Baier, A.**, von Bülow, V., Stettler, F., Hagen, M., Schmidt, F., Tschuschner, A., Schmid, A., Zahner, D., Köhler, K., Pons-Kühnemann, J., Leufkens, D., Glebe, D., Kaur, S., Möscheid, M., Haerberlein, S., Grevelding, C., Weiskirchen, R., El-Kassas, M., Zalata, K., Roeb, E., Roderfeld, M. (2024). Liver Fibrosis Is Enhanced by a Higher Egg Burden in Younger Mice Infected with *S. mansoni*. *Cells* 2024, 13, 1643. <https://doi.org/10.3390/cells13191643>

von Bülow, V., Gindner, S., **Baier, A.**, Hehr, L., Buss, N., Russ, L., Wrobel, S., Wirth, V., Tabatabai, K., Quack, T., Haerberlein, S., Kadesch, P., Gerbig, S., Wiedemann, K. R., Spengler, B., Mehl, A., Morlock, G., Schramm, G., Pons-Kühnemann, J., Falcone, F., Wilson, A., Bankov, K., Wild, P., Grevelding, C., Roeb, E. & Roderfeld, M. (2023). Metabolic reprogramming of hepatocytes by *Schistosoma mansoni* eggs. *JHEP Reports*, 5(2), 100625. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2022.100625>

von Bülow, V., Schneider, M., Dreizler, D., Russ, L., **Baier, A.**, Buss, N., Lichtenberger, J., Härle, L., Müller, H., Tschuschner, A., Schramm, G., Pons-Kühnemann, J., Grevelding, C. G., Roeb, E., & Roderfeld, M. (2024). *Schistosoma mansoni*–Induced Oxidative Stress Triggers Hepatocellular Proliferation. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 17(1), 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2023.08.014>

Weglage, J., Wolters, F., Hehr, L., Lichtenberger, J., Wulz, C., Hempel, F., **Baier, A.**, Quack, T., Köhler, K., Longerich, T., Schramm, G., Irungbam, K., Mueller, H., von Buelow, V.,

Tschuschner, A., Odenthal, M., Drebber, U., Arousy, M. El, Ramalho, L., Bankov, K., Wild, P., Pons-Kühnemann, J., Tschammer, J., Grevelding, C., Roeb, E. & Roderfeld, M. (2020). *Schistosoma mansoni* eggs induce Wnt/ β -catenin signaling and activate the protooncogene c-Jun in human and hamster colon. *Scientific Reports*, *10*(1), 22373. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79450-4>

13.2 Abstracts

Baier, A., Hehr, L., Buß, N., Gindner, S., von Bülow, V., Wirth, V., Tabatabai, K., Schramm, G., Quack, T., Grevelding, C. G., Roderfeld, M., & Elke, R. (2021). *Geschlechtsspezifische Dysregulation der hepatozellulären Autophagie durch Infektion mit Schistosoma mansoni*. Abstracts zum 127. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V.; Vortrag für den Young Investigator Award *Der Internist*, *62*, 194. <https://doi.org/10.1007/s00108-021-01036-7>

Baier, A., Hehr, L., von Bülow, V., Buß, N., Gindner, S., Tabatabai, K., Wirth, V., Schramm, G., Quack, T., Grevelding, C., Roderfeld, M., & Roeb, E. (2021, September 7). *Gender-spezifische Regulation hepatozellulärer Autophagie durch S. mansoni-Eier*. Vortrag im Rahmen des Kongresses der DGVS 2021 <https://doi.org/10.1055/s-0041-1733622>

Buß, N., von Bülow, V., Hehr, L., **Baier, A.**, Gindner, S., Schramm, G., Quack, T., Grevelding, C., Roderfeld, M., & Roeb, E. (2021, January 4). *Schistosoma mansoni* infection induces DNA damage in hamster liver. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721962>

Gindner, S., von Bülow, V., Hehr, L., Buß, N., **Baier, A.**, Schramm, G., Quack, T., Grevelding, C., Roderfeld, M., & Roeb, E. (2021, January 4). *Parasite eggs induce metabolic stress in Schistosoma mansoni-infected hamster livers*. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721963>

Hehr, L., von Bülow, V., Gindner, S., Buß, N., **Baier, A.**, Schramm, G., Quack, T., Grevelding, C., Gerbig, S., Kadesch, P., Peter, V. A., Wiedemann, K., Spengler, B., Roderfeld, M., & Roeb, E. (2021, January 4). *Schistosoma mansoni* eggs modulate the host's hepatic lipid metabolism. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721971>

von Bülow, V., **Baier, A.**, Hehr, L., Gindner, S., Buss, N., Quack, T., Grevelding, C., Roderfeld, M., & Roeb, E. (2021, January 4). *Sex-specific differences of hepatic metabolism in Schistosoma mansoni* infection. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721976>

Wirth, V., von Bülow, V., Hehr, L., Russ, L., **Baier, A.**, Schramm, G., Quack, T., Grevelding, Christoph G., Roderfeld, M., & Roeb, E. (2022, January 26). *Insulin-like growth factor 1*

receptor and insulin receptor mediate AP-1-activation in enterocytes stimulated with parasite antigens. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1740727>

Wirth, V., von Bülow, V., Hehr, L., Russ, L., Tabatabai, K., **Baier, A.**, Strassmann, J., Schramm, G., Quack, T., Grevelding, C., Roderfeld, M., & Roeb, E. (2021, September 7). *Antigene von Schistosoma mansoni Eiern induzieren eine AP-1-Aktivierung in Enterozyten über den Insulin-like growth factor 1-Rezeptor.* <https://doi.org/10.1055/s-0041-1733543>

14 Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort/Datum

Unterschrift

15 Danksagung

Zunächst bedanke ich mich herzlich bei meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Elke Roeb für das Ermöglichen dieser Doktorarbeit, die engagierte Betreuung und die wertvollen Anregungen. Ein besonderer Dank gilt auch Herrn PD Dr. Martin Roderfeld, der meine wissenschaftliche Arbeit im Labor betreut hat. Danke für die vielen hilfreichen Hinweise, deine Geduld, dein stets offenes Ohr und deine ansteckende Begeisterung für die Wissenschaft! Danke Laura Hehr, ich werde dich und unsere gemeinsame Zeit nie vergessen! Danke an die gesamte Arbeitsgruppe mit Dr. Verena von Bülow, Annette Tschuschner, Heike Müller, Nicola Buß, Sarah Gindner, Karuna Irungbam, Victoria Wirth, Lena Ruß, Kuscha Tabatabai und Dorothee Dreizler für die großartige Unterstützung.

Weiterhin möchte ich mich bei meinen statistischen Beratern Jonas Tschammer und Daniel Leufkens aus dem Institut der Medizinischen Informatik bedanken für die fachkundige Beratung und die hilfreichen Anregungen zur statistischen Aufarbeitung der Daten.

Ich bedanke mich beim JLU-Trainee Programm des Fachbereichs Medizin für die finanzielle Unterstützung und die interessanten Vorträge.

Ich danke herzlich Julia Walz, Sophia Springer, Sophie Haun und Jacob Brill für die liebe Freundschaft und das sorgfältige Korrekturlesen dieser Arbeit.

Vielen lieben Dank an meine Eltern Sabine Baier, Thomas Baier und meinen Bruder Tim Baier, die mich all die Jahre über das gesamte Studium und die Zeit der Entstehung der Dissertation liebevoll unterstützt und motiviert haben. Danke, dass ihr immer an mich glaubt.

Zuletzt danke ich Benjamin Schichtholz. Danke für deine Geduld, deine Liebe und deine Unterstützung bei dieser Arbeit und in allen Lebenslagen. Vielen Dank für alles!

Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen Version der Arbeit entfernt.

The curriculum vitae was removed from the electronic version of the paper.