

Daniela Kracht

Dr. med.

Seneszenz-Veränderungen in einem Ratten-Transplantationsmodell - Rapamycin versus Kontrolle

Geboren am 22.09.1979 in La Paz / Bolivien

3. Staatsexamen am 27.11.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Kinderheilkunde

Doktormutter: Prof. Dr. med. Anette Melk, Ph. D.

Trotz unterschiedlicher Theorien zu Ursachen und Mechanismen, die zu Alterung führen und der großen Bedeutung des Spenderalters für das Langzeitüberleben transplantiertter Organe, sind die molekularen Vorgänge der Nierenalterung noch weitgehend unbekannt. Zelluläre Seneszenz als ein *in vitro* und *in vivo* beobachtetes Phänomen und insbesondere die Expression von p16^{INK4a}, als einem der besten Marker und auch Mediatoren für zelluläre Seneszenz, scheinen eine wichtige Rolle sowohl für die physiologische Nierenalterung als auch - im Sinne einer Akzeleration von Seneszenz - für das chronische Transplantationsversagen zu spielen. Als Zellzyklusinhibitor führt p16^{INK4a} zu einem irreversiblen Wachstumsstillstand mit typischen phänotypischen Veränderungen.

Rapamycin als weitläufig nach Nierentransplantation eingesetztes Immunsuppressivum hemmt die Aktivität des *mammalian target of rapamycin* (mTOR) und führt dadurch ebenfalls zu einem Wachstumsstillstand in Zellen. Es gibt Hinweise für Zusammenhänge zwischen mTOR, Proliferation und Seneszenzinduktion über spezifische Signaltransduktionswege, die unter- und oberhalb von mTOR liegen. Ob p16^{INK4a} in diesem Zusammenhang involviert ist und möglicherweise durch Rapamycin beeinflusst werden könnte, wurde bislang nicht untersucht.

Die vorliegende Arbeit untersuchte den Einfluss von Rapamycin auf die Entstehung von histopathologischen Veränderungen und die Induktion der p16^{INK4a}-Expression mit Hilfe von Histo- und Immunhistochemischen Färbungen. Betrachtet wurde die unmittelbar postoperative Phase in einem niedrig allogenen Ratten-Transplantationsmodells (Fischer-Ratten zu Lewis-Ratten) mit einer kalten Ischämiedauer von zwei Stunden unter Verwendung von jungen (10 Wochen) und alten (52 Wochen) Spendern. Die jeweilige Kontrollgruppe erhielt keine immunsuppressive Therapie.

Für die Transplantation von jungen Spendernieren ergaben sich folgende Beobachtungen: Funktionell bestand bis auf den ersten Tag nach Transplantation kein Unterschied zwischen den Gruppen. Am ersten Tag fanden sich in der Rapamycingruppe signifikant höhere Serum-Harnstoff-Werte. Die akuten histopathologischen Veränderungen waren entsprechend dem gewählten Modell insgesamt geringgradig. Signifikante Unterschiede für die akuten tubulären Veränderungen waren am 7. Tag und mit gleicher Tendenz am 10. Tag nachweisbar. Diese sind wahrscheinlich nicht auf Ischämie-/Reperfusionsschäden, sondern auf die in diesem Modell später einsetzende immunologische Reaktion zurückzuführen. Die akuten inflammatorischen Veränderungen, Infiltration und Tubulitis waren deutlich ab dem 5. Tag nachweisbar und signifikant seltener in der Rapamycin-behandelten Gruppe. Chronisch tubuläre Veränderungen im Sinne einer beginnenden Atrophie, als Hinweis für ein chronisches Transplantatversagen waren in beiden Gruppen, Kontrollgruppe und Rapamycingruppe, insgesamt selten und traten erst am 7. Tag und in der Regel mit gleicher Tendenz auch am 10. Tag auf. Die Behandlung mit Rapamycin führte zur Aufrechterhaltung des histologischen Bildes und damit insgesamt zu einer Verbesserung im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Expression des Seneszenzmarkers p16^{INK4a} war in allen Nierenkompartimenten nachweisbar und war in der Rapamycingruppe signifikant geringer als in der Kontrollgruppe. Die Zunahme der Expression im Verlauf wird als ein beschleunigtes Auftreten von Seneszenz durch die im vorliegenden Modell agierenden Stressfaktoren, Ischämie/Reperfusion und akute Abstoßung, gedeutet.

In der Gruppe der Transplantatempfänger alter Nieren fand sich eine sehr hohe Sterblichkeit, was die Interpretation der Daten deutlich einschränkte. Es zeigten sich aber ein tendenziell stärkerer akuter Schaden, mehr histopathologische Veränderungen im Sinne einer beginnenden tubulären Atrophie (TA) und mehr

p16^{INK4a}-Expression im Vergleich zu den jungen Nierentransplantaten. Lipofuszin war in den alten Nieren wahrscheinlich aufgrund des chronologischen Alters vermehrt nachzuweisen. Die Daten unterstützen die Hypothese, dass Nieren alter Spender aufgrund einer Mehrzahl an seneszenten Zellen nur stark eingeschränkt auf Stressfaktoren wie Ischämie/Reperfusion und akute Abstoßung reagieren können. Die Daten der vorliegenden Arbeit bestätigen zudem, dass zelluläre Seneszenz durch verschiedene Stressfaktoren induziert und beschleunigt werden kann. Die Therapie mit Rapamycin hielt das histopathologische Bild konstant und verhinderte die Induktion von Seneszenz. Inwieweit die Effekte von Rapamycin auf die mTOR-inhibierende Wirkung auf niereneigene Zellen oder auf die immunsuppressive Wirkung mit verminderter inflammatorischer Reaktion zurückzuführen sind, kann nicht eindeutig entschieden werden. Eine genaue Klärung der Mechanismen, die die Induktion von p16^{INK4a} verhindern und die Frage inwieweit die Therapie mit Rapamycin einen Einfluss auf das Langzeitüberleben haben könnte, muss Gegenstand weiterer Studien sein.