



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Prokoagulatorische Wirkungen freier Nukleinsäuren

Autor: Viola Götz
Institut / Klinik: I. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. C.-E. Dempfle

Bei komplexen Krankheitsbildern wie der Sepsis, schweren Verbrennungen, malignen Erkrankungen oder dem Polytrauma treten häufig Störungen der Hämostase auf. Im Extremfall kommt es zur Ausbildung einer disseminierten intravasalen Gerinnung mit Multiorganversagen und diffusen Blutungen. Nach bisherigen Erkenntnissen wird die Gerinnungskaskade durch bakterielle Endotoxine, Endothelzellschädigung und Freisetzung gerinnungsaktivierender Zytokine und hierdurch vermehrt gebildeten Tissue Faktor in Gang gesetzt. In dieser Arbeit wird gezeigt, dass das Gerinnungssystem auch durch freigesetzte Zellkernbestandteile aktiviert wird.

Getestet wurde der Einfluss freier humaner RNA, künstlich produzierter RNA (Poly(IC)) sowie von humaner DNA auf die Gerinnungszeit von menschlichem Blutplasma. Hierfür wurde das Plasma gesunder Blutspender, sowie Faktor VII- und Faktor XII-Mangelplasma verwendet. Die Isolation von Ribonukleinsäuren erfolgte aus humanen embryonalen Nierenzellen (HEK-293). Die DNA wurde aus Vollblut gesunder Probanden separiert. Als Aktivatoren wurden unterschiedliche Konzentrationen von rekombinantem Gewebsthromboplastin, sowie aPTT- und NAPTT-Reagenz eingesetzt.

Zusätzlich wurde die Menge des während der Koagulation gebildeten Thrombins gemessen. Zuletzt wurde versucht, freie RNA im menschlichen Blutplasma nachzuweisen. Hierfür wurde die RNA mittels Säulenprinzip isoliert, im Anschluss per reverser Transkriptase Kettenreaktion in cDNA umgeschrieben und anschließend durch eine realtime quantitative Polymerase Kettenreaktion amplifiziert und quantifiziert.

Unter dem Einfluss sowohl humaner als auch artifizierlicher RNA zeigten sich deutlich verkürzte Gerinnungszeiten. Die Prothrombin-, die Thromboplastin- und auch die nicht aktivierten Thromboplastinzeiten verkürzten sich teilweise durchschnittlich um über 25% unter RNA-Einfluss. Im Faktor VII- und XII-Mangelplasma zeigten sich nahezu deckungsgleiche Effekte. Durch DNA-Zugabe änderten sich die Gerinnungszeiten nicht.

Während der Messung der PT ergaben sich leicht erhöhte Maximalkonzentrationen an Thrombin durch Zugabe von DNA. Auffällig war weiterhin, dass die Thrombinkonzentration durch RNA-Zugabe auf ihren Ausgangswert zurückfiel, während sie im Leeransatz und unter DNA auf einem erhöhten Level konstant blieb. Bei der aPTT zeigten sich keine Unterschiede in den Maximalkonzentrationen des Thrombins, jedoch wurden diese durch die RNA deutlich früher erreicht. Die Thrombinverläufe bei der NAPTT ergaben variierende Ergebnisse in Bezug auf Maximalkonzentration und Laufzeit bis zum Erreichen dieser.

Freie RNA war in den Plasmaproben unterschiedlicher Patienten mit den verwendeten Methoden nicht nachweisbar.

Die gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass RNA in der Lage ist, sowohl über den Weg des Gewebsthromboplastins und Gerinnungsfaktors VII, als auch über die Kontaktphasenproteine die Blutgerinnung zu beschleunigen. Dieser Effekt zeigte sich auch ohne zusätzliche Kontaktaktivatoren, so dass anzunehmen ist, dass RNA teilweise direkt mit den Gerinnungsfaktoren interagiert. Auch wird deutlich, dass die Nukleinsäuren nicht nur die Menge des gebildeten Thrombins beeinflussen, sondern insbesondere Effekte auf den zeitlichen Verlauf der Produktion aufweisen.

Zahlreiche bereits durchgeführte Studien belegen, dass im Rahmen komplexer Krankheitsbilder eindeutig erhöhte RNA-Konzentrationen im Patientenplasma nachweisbar sind und diese durch verstärkten Zellzerfall erklärt werden können. RNA wird jedoch durch im Blut vorhandene Enzyme (RNasen) rasch zersetzt, so dass in der Regel keine messbaren systemischen Spiegel freier RNA erreicht werden. Eine potentielle RNA-induzierte Gerinnungsaktivierung ist daher am ehesten als lokales Phänomen in der Mikrozirkulation aufzufassen. Eine pathophysiologische Bedeutung bei Sepsis oder anderen Krankheitsbildern mit mikrovaskulärer Beteiligung ist daher denkbar.