

Stephanie Klein  
Dr. med.

## **Die pharmakologische Modulierung des Hypoxie-induzierten Faktors am Modell der kalten Ischämie mit warmer Reperfusion an Gefäßen Untersuchungen am Kleintiermodell**

Fach/Einrichtung: Abteilung für Chirurgie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Gábor B. Szabó, Ph.D.

Das Ziel dieser Arbeit war die Rolle der HIF (Hypoxie-induzierter Faktor)-Stabilisation am Modell der kalten Ischämie mit warmer Reperfusion im ex vivo Rattenmodell zu untersuchen.

Hypoxie ruft durch Veränderungen der Aktivität von vielen Signalwegen verschiedene, komplexe zelluläre Antworten hervor. Einer dieser Signalwege ist unter anderem ein Enzym mit der sauerstoffabhängigen Prolyl-Hydroxylase-Domäne (PHD), welches unter hypoxischen Bedingungen gehemmt wird.

Indem vor den Hypoxiephasen die PHD-Aktivität medikamentös reduziert wurde, wollte man erreichen, dass der HIF 1- $\alpha$  stabilisiert und akkumuliert wird. Als Medikament wurde in diesem Projekt der PHD-Inhibitor Dimethyloxalglycin (DMOG) verwendet.

Es wurden die Effekte von DMOG auf die vasomotorische Antwort von isolierten Rattenaorten und isolierten vaskulären glatten Muskelzellen (VSMC) untersucht.

Des Weiteren wurden in diesem Experiment Rattenaorten untersucht, die zuvor explantiert und in 4 mm große Segmente geschnitten wurden. Diese Ringe wurden dann für 24 Stunden in einem kalten Medium inkubiert. Dadurch kam es zur kalten Ischämie der vaskulären Segmente. Die Ringe wurden in drei verschiedenen Lösungen aufbewahrt. Zum einen in einer physiologischen Kochsalzlösung, welche später mit Natriumhypochlorit ergänzt wurde, zum anderen in DMOG-ergänzter Kochsalzlösung und als letztes zur Kontrolle in einer Krebs-Henseleit-Lösung. Nach 24 Stunden wurden die Aortenringe im Organbad auf ihre Funktion untersucht. Dabei konzentrierte man sich auf drei Schwerpunkte: die maximale Kontraktion, die endothelabhängige Relaxation und die endothelunabhängige Relaxation.

Die endothelabhängige Relaxation wurde mit Hilfe von Acetylcholin ausgelöst.

Mit Hilfe von Natriumnitroprussid wurde die endothelunabhängige Relaxation bewirkt.

Hypochlorid wurde während dem Organbad, also der warmen Reperfusionsphase hinzugefügt, um die Ischämie-Reperfusions-Verletzung der Gefäße zu simulieren.

Um die Apoptose der Zellen in den Aortenringen zu beurteilen, wählte man die DNA-

Strangbrüche als indirekten Nachweis. Dafür wurden die Aortenringe mit Hilfe der TUNEL-Färbung untersucht.

Mit Hilfe der real-time PCR wurde überprüft inwieweit die HIF-Zielgene in den Aortenringen und den vaskulären glatten Muskelzellen unter oxydativem Stress exprimiert wurden.

Es zeigte sich eine signifikante Verbesserung der endothelabhängigen Relaxation unter der Behandlung mit DMOG als auch eine verminderte Apoptose der Zellen in der DMOG Gruppe.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die HIF-Zielgene unter der PHD-Inhibition vermehrt exprimiert wurden.

Dies zeigt, dass die pharmakologische Inhibition von PHD ein neuer Ansatz zur Verlängerung der Ischämiezeiten von Geweben ist und in verschiedenen Krankheitsmodellen eingesetzt werden kann.

Vor allem in der Transplantationschirurgie könnte dies in Zukunft ein besseres Outcome bedeuten.