

Manuel Schwarz
Dr. med.

Etablierung eines *ex vivo*-Perfusionsmodells zur Untersuchung der CD40/CD40-Liganden-vermittelten von Willebrand-Faktor-Freisetzung und Thrombozyten-Adhäsion

Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Markus Hecker

Das CD40/CD40-Liganden-System spielt eine entscheidende Rolle bei zentralen Funktionen des Immunsystems. Darüber hinaus trägt es wesentlich zu akuten und subakuten Entzündungsprozessen wie der Transplantatabstoßung und der Arteriosklerose bei, indem es die Aktivierung der Endothelzellen und die Rekrutierung von Entzündungszellen an die Gefäßwand vermittelt. Die Arteriosklerose zeichnet als systemische Grunderkrankung von Herzinfarkt, Schlaganfall, Thrombosen, peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK), plötzlichem Herztod und Herzinsuffizienz für über 40% der Todesfälle in westlichen Industrienationen verantwortlich. Im Verständnis der Arterioskleroseentwicklung gewinnen hämostatische Prozesse zunehmend an Bedeutung. Eines der wichtigsten Elemente der Hämostase stellt der von Willebrand-Faktor (VWF) dar.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Verifikation des bereits arbeitsgruppenintern vorliegenden *in vitro*-Befundes einer CD40-Liganden-vermittelten Freisetzung von VWF aus kultivierten Endothelzellen in einem *in situ*-Gefäßperfusionsmodell der A. carotis der Maus. Darüber hinaus sollte das entwickelte *ex vivo*-Modell in der Folge die Untersuchung der Interaktion von Thrombozyten, von Willebrand-Faktor, Endothelzellen und Monozyten mit besonderem Fokus auf die Rolle des CD40/CD40-Liganden-Paares für die Prozesse in der Frühphase der Arterioskleroseentstehung ermöglichen.

Durch die Entwicklung eines geeigneten Perfusionsmodells konnten Gefäßsegmente isolierter Mauskarotiden unter Darstellung des intakten Endothels über Zeiträume bis zu neun Stunden perfundiert werden. Die Stimulation des intakten Gefäßendothels der isolierten Gefäßabschnitte mit rekombinantem, trimerem CD40-Liganden unter Flussbedingungen führte zu einer Steigerung der (UL)VWF-Faden-Bildung auf der luminalen Endothelzelloberfläche. Die analoge Durchführung des Versuches mit Gefäßen aus CD40-Rezeptor-defizienten Tieren zeigte hingegen eine im Vergleich ausbleibende Steigerung der Bildung der (UL)VWF-Fäden. Des Weiteren wurde eine Methode zur Isolation ruhender muriner Thrombozyten etabliert. Mit diesen konnten Perfusionsversuche durchgeführt und die Wechselwirkung zwischen Endothel, VWF und Thrombozyten *in situ* mittels klassischer Konfokalmikroskopie dargestellt werden. Zudem gelang es in einem parallelen Ansatz, die (UL)VWF-Strukturen dreidimensional im Gefäßlumen mittels Multiphotonenmikroskopie darzustellen.

Zusammenfassend belegen die Befunde der vorliegenden Dissertation mit Hilfe des etablierten Perfusionsmodells, welches physiologische Parameter wie z.B. den Blutfluss artifiziell erzeugt, dass die Freisetzung von VWF aus intakten nativen Endothelzellen CD40/CD40-Liganden-vermittelt ist und unterstreichen diese Interaktion als möglichen initialen Schritt in der Entstehung früher arteriosklerotischer Läsionen. Zudem könnte eine CD40-Liganden-vermittelte VWF-Freisetzung ein kritisches Bindeglied zwischen den Systemen Hämostase und Entzündung/Arterioskleroseentstehung darstellen. Diese Befunde könnten einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Entstehung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen in der Grundlagenforschung leisten.