

Achim Koch

Dr. med.

## **Ultrastruktur des Kapillarendothels während Ischämie und Reperfusion bei der klinischen Herztransplantation**

Geboren am 13.11.1969 in Duisburg

Reifeprüfung am 12.05.1989 in Duisburg

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1990/ 91 bis WS 1996/ 97

Physikum am 24.08.1992 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen am 14.04.1997 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Ph. A. Schnabel

Mit der klinischen Herztransplantation steht heute ein etabliertes Verfahren zur Behandlung der terminalen Herzinsuffizienz zur Verfügung. Trotz aller Fortschritte in der Beherrschung der akuten und chronischen Abstoßungsreaktionen bleibt immer noch eine ernstzunehmende perioperative Mortalität. Die Aufklärung der Zusammenhänge zwischen feinstrukturellen ischämiebedingten Veränderungen und ihren Auswirkungen auf die Funktion des Gesamtorgans kann dazu beitragen, durch eine optimierte Organprotektion die Überlebensraten nach Herztransplantation weiter zu verbessern. Für das Kapillarendothel des Menschen liegen hier noch kaum Daten vor.

Die ultrastrukturellen ischämischen Schäden wurden daher an humanen rechtsventrikulären Endomyokard-Biopsien qualitativ und quantitativ morphometrisch untersucht. Von dem jeweiligen Transplantat lagen üblicherweise Biopsien unmittelbar nach Explantation, vor Implantation und nach 30 und/ oder 60 min postischämischer Reperfusion vor. Die im Zeitverlauf erhobenen qualitativen und quantitativen Daten wurden anschließend mit klinischen Werten verglichen.

Die mittlere Barrierendicke des Kapillarendothels wurde elektronenmikroskopisch mit dem Punkt- und Schnittpunktzählverfahren nach Weibel stereologisch ermittelt. Der prozentuale Anteil kardioplegisch nicht vollständig perfundierter Kapillaren wurde erfaßt. Semiquantitativ wurden der Erhaltungsgrad der Endothelmitochondrien und der Zellkerne, sowie Zellödem, Protoplasmaprotrusionen und Veränderungen an der endothelialen Basalmembran bewertet.

Aus den 29 untersuchten Herzen wurden zwei Kollektive gebildet: 11 Herzen waren einer kurzen Ischämie (< 165 min), die anderen 18 Herzen einer langen Ischämie (> 190 min) ausgesetzt. Für die Dauer der Ischämie war der Zeitraum zwischen Aortenabklemmung beim

Spender bis zur erneuten Freigabe der Perfusion beim Empfänger maßgeblich. Zur statistischen Aufarbeitung wurden verschiedene etablierte Testverfahren angewendet.

Im zeitlichen Verlauf während kalter Ischämie entwickelte sich eine signifikante Zunahme der mittleren Endothelzelldicke, die auch während der Reperfusion signifikant gegenüber den Ausgangswerten erhöht blieb. Parallel dazu verlief das qualitativ bewertete Endothelzellödem. Auch hier war eine beginnende postischämische Erholung auf noch statistisch erhöhtem Niveau erkennbar. Weitere Veränderungen waren eine moderate Kapillarlumeneinengung sowie die Ausbildung von luminalen Protoplasmaprotrusionen, die besonders im Kollektiv mit langer Ischämiezeit ausgeprägter waren. Die Dicke der kapillären Basalmembran nahm während der Ischämie zu.

Die Mitochondrien sowie die Endothelzellkerne zeigen im Verlauf der Ischämie eine gering alterierte Ultrastruktur, während der postischämischen Reperfusion war eine beginnende Rückbildung absehbar.

Der Prozentsatz von erythrozytenhaltigen Kapillaranschnitten als Maß für die Äquilibration des Myokards mit der kardioplegischen Lösung war im Ischämieverlauf gering. In den Reperusionsbiopsien wurde in annähernd jedem dritten Kapillaranschnitt ein Erythrozyt angetroffen, so daß von einer postischämisch guten Perfusion auszugehen ist.

Im Vergleich zwischen den beiden Kollektiven zeigte sich für das Kollektiv mit langer Ischämiezeit insgesamt eine deutlichere Ausprägung von Veränderungen, sowohl eines Zellödems (stereologisch anhand der mittlere Endothelzelldicke ermittelt), als auch der semiquantitativen Parameter der Lumeneinengung, des Auftretens von Protoplasmaprotrusionen sowie des Erhaltungsgrades von Endothelzellkernen und Mitochondrien.

Die Ausmaß der mittleren Barrierendicke vor Implantation korrelierte statistisch signifikant mit der Dauer der kalten Gesamtischämie. Keine Korrelationen konnten für die mittlere Barrierendicke, die Mitochondrien- und Kernveränderungen sowie für das semiquantitativ ermittelte Endothelzellödem in Bezug auf das Auftreten postoperativer Komplikationen und die Anzahl und Schwere von Abstoßungsepisoden gefunden werden.

Verantwortlich für die Ausbildung eines Endothelzellödems ist ein Verlust der zellulären Volumenkontrolle aufgrund eines im Verlauf der Ischämie stetig zunehmenden Energiedefizites. In der Maximalausprägung kann es zur Entstehung eines "no-reflow"-Phänomens beitragen. Dadurch kann es zu einer weiteren Verstärkung der ischämischen Schäden im Sinne eines „circulus vitiosus“ kommen, welche zu einer beeinträchtigten postischämischen Funktion des Herzens beitragen.

Die beobachteten Mitochondrienschwellungen entstehen durch einen vermehrten Kalziumeinstrom, der nach Sistieren der aeroben Energiebereitstellung auftritt. Diese

Veränderungen sind aber in der vorliegenden Untersuchung noch vollständig reversibel. Ebenso wie die Mitochondrienveränderungen sind die Zellkernveränderungen reversibel. Eine schlechte Strukturhaltung des Endothels ermöglicht eine vermehrte Antigenität und kurzfristige Produktion antiendothelialer Antikörper gegen das Transplantat. Dadurch kann langfristig der Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie Vorschub geleistet werden. Aus diesen Ergebnissen folgt, daß dem Kapillarendothel wie auch dem Arbeitsmyokard eine spezifische Ischämieempfindlichkeit zukommt. Unter Protektion mit HTK-Lösung nach Bretschneider bleiben die Ausprägung eines Endothelzellödems, wie auch die Strukturhaltung von Endothelmitochondrien und Zellkernen, bei Ischämiezeiten bis zu 300 Minuten im Rahmen der klinischen Herztransplantation auf einem als vollständig reversibel anzusehenden Niveau.