

Karen Riedmüller  
Dr. med.

## **Induktion, Regression und Re-Induktion von Plaqueparametern bei Cholesterin-gefütterten Kaninchen**

Geboren am 29.09.1974 in Crailsheim  
Reifeprüfung am 14.06.1994 in Crailsheim  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1994/1995 bis WS 2001/2002  
Physikum am 12.09.1996 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Schwäbisch Hall  
Staatsexamen am 15.05.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anatomie  
Doktorvater: Priv. Doz. Dr. sc. hum. Ralf Kinscherf

In dieser Arbeit wurden bei Kaninchen die Effekte eines kurzfristig (6 Wochen) verabreichten hochdosierten (2%igen) Cholesterinfutters (CHF), einer langfristigen Regression (78 Wochen; „Langzeit-Regressionsstudie“) der Blut-Cholesterinspiegel sowie einer erneuten Verabreichung eines niedrigdosierten (0.5%igen) CHF („Re-Induktionsstudie“) auf die Serum-Lipidspiegel, die Cholesterinkonzentration in der thorakalen Aortenwand, die Plaqueausprägung und die zelluläre Zusammensetzung der atherosklerotischen Plaques untersucht. Ebenso wurde der Einfluss des Cholesterinsynthesehemmers Atorvastatin bei Tieren der Re-Induktionsstudie auf diese Parameter gemessen.

84 Weiße Neuseeland-Kaninchen wurden dazu in 11 Gruppen unterteilt. Gruppe I diente als Kontrollgruppe und erhielt Standard-Kaninchenfutter (SF); die Gruppen II bis X erhielten zu Versuchsbeginn ein 2%iges CHF über eine Dauer von 6 Wochen und im Anschluss daran SF für 0 (Gruppe II), 8 (Gruppe III), 15 (Gruppe IV), 23 (Gruppe V), 34 (Gruppe VI), 68 (Gruppe VII) und 78 Wochen (Gruppe VIII). Tiere der Tiergruppe IX erhielten nach dem sechswöchigen CHF für 68 Wochen SF, wobei anschließend eine vierwöchige Re-Induktion mit 0,5%igem CHF erfolgte und im Anschluss daran nochmals 6 Wochen SF bis zum Versuchsende (84. Versuchswoche) verabreicht wurde. Nach demselben Schema wurden auch die Tiere der Gruppe X gefüttert, die zusätzlich noch den HMG-CoA-Reduktasehemmer Atorvastatin (2,5 mg/kg Körpergewicht) während des Re-Induktionszeitraums erhielten. Tiere der Gruppe XI (ohne Vorbehandlung) erhielten ein vierwöchiges 0,5%iges CHF und anschließend für 6 Wochen SF.

In allen Tiergruppen wurden die Serumspiegel für Triglyceride, Phospholipide und Cholesterin sowie der Cholesteringehalt in der Gefäßwand der thorakalen Aorta gemessen. Desweiteren wurden in den Plaques der thorakalen Aorta die Parameter Plaquefläche, Lumenstenose, Gesamtzellzahl und Zelldichte morphometrisch bestimmt. Schließlich wurde die Zelldichte immunreaktiver (ir) Zellen für Oberflächenadhäsionsmoleküle (CD44), Makrophagen (Mac-1), Antigen-präsentierende Zellen (Klone LN3 und CR3/43), oxidativen Stress (MnSOD, *p53*, Ras), Apoptose (TUNEL) und glatte Muskelzellen ( $\alpha$ -Aktin) morphometrisch quantifiziert.

Tiere der Induktions-/Regressions-Gruppen II bis VIII zeigten trotz ca. 80-fach erhöhter Serum-Cholesterinspiegel direkt nach Absetzen des CHF nur geringfügig ausgeprägte atherosklerotische Läsionen und erst 8 Wochen später einhergehend mit Höchstwerten der Cholesterinkonzentration in der Gefäßwand ein starkes Plaquewachstum. Eine Verringerung

der Plaquefläche blieb selbst nach langfristigem Absetzen (78 Wochen) des CHF aus. Zelldichte, Gesamtzellzahl sowie die Dichte Antigen-präsentierender (MHC II-ir), oxidativ-gestresster (MnSOD-ir) Makrophagen (Mac-1-ir) nahmen in der Regressionsphase bis zum Versuchsende nahezu kontinuierlich ab, während umgekehrt die Anzahl der Glattmuskelzellen kontinuierlich zunahm. Durch oxidativen Stress induzierte Apoptose wurde nahezu ausschließlich in Makrophagen und nicht in Glattmuskelzellen gefunden. Signifikant positive Korrelationen zwischen der Cholesterinkonzentration in der Gefäßwand und der Plaquefläche/Lumenstenose, der Gesamtzellzahl, der Dichte Antigen-präsentierender Zellen und der Dichte apoptotischer Zellen können als Hinweis für einen Kausalzusammenhang gewertet werden und bieten die Möglichkeit einer pharmakologischen/therapeutischen Intervention.

Eine kurzfristige (vierwöchige) Verabreichung eines 0.5%igen CHF führte zu einem ca. 30-fachen Anstieg der Serum-Cholesterinspiegel, der bei Tieren mit atherosklerotischer Vorschädigung mit einer signifikanten Erhöhung der Cholesterinkonzentration in der Gefäßwand einherging, allerdings ohne Zunahme der Plaquefläche/Lumenstenose. Tiere ohne Vorbehandlung (Gruppe XI) wiesen gegenüber den Re-Induktionsgruppen 10-fach niedrigere Cholesterinkonzentrationen in der Gefäßwand auf, ohne dass messbare atherosklerotische Läsionen auftraten. Atorvastatin hatte keine Effekte auf Serum-Lipidkonzentrationen, Cholesterinkonzentration in der atherosklerotischen Gefäßwand sowie die Plaqueausprägung. Gesamtzellzahl und Zelldichte waren in den Re-Induktionsgruppen bei Tieren mit bzw. ohne Atorvastatinbehandlung erhöht. Die Re-Induktion führte zudem zu einer erhöhten Zelldichte oxidativ gestresster, *p53*-ir, apoptotischer Makrophagen, wobei Atorvastatin die Zunahme der apoptotischen Zellen in atherosklerotischen Plaques hemmen konnte, aber die Dichte der Glattmuskelzellen nicht beeinflusste.

Die tierexperimentelle Studie zeigt erstmals, dass eine Re-Induktion mit CHF einen Anstieg der Zelldichte oxidativ gestresster Makrophagen im Plaque bedingt, ohne dass Veränderungen der Plaquefläche/Lumenstenose messbar sind. Gleichzeitig wird über den oxidativen Stress in diesen Zellen Apoptose induziert. Als Grundlage einer gezielten medikamentösen Therapie könnten unsere Befunde somit helfen, stabile und instabile Plaques differentialdiagnostisch zu unterscheiden.