

Sylvie Lorenzen  
Dr. med.

## **Der Einfluss intermittierender Cholesterinfütterung auf Immunzellen im myokardialen Interstitium von Kaninchen**

Geboren am 21.08.1973 in Heilbronn  
Reifeprüfung am 11.05.1993 in Heilbronn  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1994 bis WS 1999/2000  
Physikum am 21.03.1996 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in München  
Praktisches Jahr in München und Südafrika  
Staatsexamen am 10.05.2000 an der Technischen Universität München

Promotionsfach: Anatomie und Zellbiologie  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. sc. hum. R. Kinscherf

In Weißen Neuseeland (WNZ) Kaninchen wurde der Einfluss eines intermittierenden Cholesterinzusatzes zum Futter auf die Serumlipidspiegel und den Phänotyp von Immunzellen im myokardialen Interstitium untersucht.

Die Kaninchen wurden in 9 Gruppen I bis VIII und Re-Induktionsgruppe unterteilt. Gruppe I diente als Kontrolle und erhielt Standardfutter (SF). Den Tieren der übrigen Gruppen wurde 2%iges Cholesterinfutter (CHF) über einen Zeitraum von 6 Wochen verabreicht. Gruppe II wurde nach diesem Zeitpunkt, die übrigen Gruppen erst nach Gabe von SF für 8 (Gruppe III), 15 (Gruppe IV), 23 (Gruppe V), 34 (Gruppe VI), 68 (Gruppe VII und Re-Induktionsgruppe) und 78 Wochen (Gruppe VIII) untersucht. Nur die Tiere der Re-Induktionsgruppe erhielten nach der SF-Periode für 4 Wochen 0,5% CHF gefolgt von 6 Wochen SF.

In den verschiedenen Tiergruppen wurden die Serumspiegel für Triglyceride, Phospholipide und Cholesterin sowie die Cholesterinexposition (AUC) bestimmt. Zusätzlich wurde nach immunhistochemischer Anfärbung die Dichte von dendritischen Zellen (LN3) und Makrophagen (LN3, RAM-11) sowie ihre Expression von Mangansuperoxiddismutase Aktivität (MnSOD), Ras, *p53*, Makrophagen Migrations inhibierendem Faktor (MIF) und Apoptose (TUNEL) im myokardialen Interstitium mittels Computer unterstützter Morphometrie quantifiziert.

Nach Gabe von 6 Wochen CHF stieg der Serumcholesterinspiegel auf ca. 3000 mg/dl an. Zwischen dem Anstieg der Serumlipidspiegel, der Cholesterinexposition und der Dichte LN3-, RAM-11- und MnSOD-immunreaktiver (ir) Zellen zeigte sich eine signifikant positive Korrelation. Nach Absetzen von CHF, fiel die Zelldichte der Makrophagen unter SF innerhalb von 8 Wochen, trotz weiterhin signifikant erhöhter Serumcholesterinspiegel (ca. 1600 mg/dl), auf die Werte des Kontrollmyokards ab. Ab der 23. Woche nach CHF, in der wieder die Cholesterinwerte der Kontrolltiere erreicht wurden, sank die Anzahl der dendritischen Zellen signifikant unter die des Kontrollmyokards ab, während die Makrophagen konstant auf diesem Niveau blieben. Praktisch alle Immunzellen blieben MnSOD immunreaktiv. In der Gruppe III wurde ein massiver Anstieg von Ras- und *p53*-, in der Gruppe VI von MIF-ir Zellen nachgewiesen. Zu keiner Phase wurden apoptotische Zellen im myokardialen Interstitium gefunden.

In der Re-Induktionsgruppe kam es zu einem geringeren (ca. 600 mg/dl) Anstieg des Serumcholesterinspiegels. Es wurde zwar erneut ein signifikanter Anstieg der Immunzellen im myokardialen Interstitium gefunden, allerdings wurde die Zelldichte des Kontrollmyokards nur

knapp erreicht. Im Unterschied zur ersten CHF-Phase stieg jetzt auch die Dichte der dendritischen Zellen im Myokard signifikant an. Auch in dieser Phase kam es zu einer signifikanten Erhöhung von *p53*- und MIF-ir Zellen.

Wir schließen aus unseren Ergebnissen, dass nach 6 Wochen CHF fast ausschließlich aktivierte Makrophagen im myokardialen Interstitium vermehrt vorkommen, die zum größten Teil aus der Blutzirkulation eingewandert sein dürften. Da bekannt ist, dass Aufnahme und intrazellulärer Abbau von modifizierten Lipoproteinen mit proinflammatorischen Prozessen assoziiert ist, ist auch eine erhöhte Abgabe von Chemokinen und Cytokinen sehr wahrscheinlich, die nicht nur die Homöostase des myokardialen Interstitiums, z. B. die Aktivität von Fibroblasten, die Regulation der Blutgefäße, und die Funktion der Cardiomyozyten, sondern auch, nach dem sie in die Blutzirkulation gelangt sind, anderer Organe beeinflussen dürften. In der noch hyperlipidämischen Phase nach Absetzen des CHF, also bei Serumcholesterinspiegeln von im Mittel über 1600 mg/dl, fiel die Zelldichte der Makrophagen im myokardialen Interstitium bereits auf Werte des Kontrollmyokards ab. Praktisch alle Makrophagen und dendritischen Zellen wiesen eine verstärkte  $O_2^-$  Entgiftung mit den Konsequenzen einer erhöhten  $H_2O_2$  Produktion und damit einem erhöhten oxidativen Stress auf, die zu einer Hochregulierung stressabhängiger Faktoren, z. B. *p53* und Ras führten. In der normolipidämischen Phase blieben die Makrophagen auf dem Niveau des Kontrollmyokards, während die Dichte der dendritischen Zellen signifikant darunter absank. Obwohl es in der Reinduktionsphase zu einer signifikanten Erhöhung der Immunzellen im myokardialen Interstitium kam, erreichte ihre Anzahl gerade das Niveau des Kontrollmyokards. Neben Makrophagen nahen jetzt auch dendritische Zellen signifikant zu. Auf Grund der unterschiedlichen Zunahme vor allem der dendritischen Zellen nach Re-Induktion der Hypercholesterinämie schließen wir auf eine veränderte Immunantwort gegenüber der ersten CHF-Phase. Einerseits spiegeln sich bestimmte Vorgänge auf zellulärer Ebene, wie sie aus Untersuchungen an den atherosklerotischen Plaques bekannt sind, auch in den Immunzellen des myokardialen Interstitiums wider. Andererseits ließen sich Umbauvorgänge im Sinne einer bindegewebigen Umstrukturierung, die offensichtlich durch stärkere Entzündungsreaktionen im atherosklerotischen Plaque bedingt sind, nicht auf das myokardiale Interstitium übertragen.