

Georg Karpel-Massler
Dr. med.

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF C1 ESTERASE INHIBITOR IN A MURINE MODEL OF INTESTINAL ISCHEMIA/REPERFUSION INDUCED INJURY

Geboren am 20.12.1977 in Düsseldorf
Staatsexamen am 25.05.05 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. vet. Michael Kirschfink, George C. Tsokos, MD, PhD

Das Komplementsystem ist Teil der angeborenen Immunität und beinhaltet mehr als 30 Proteine, die miteinander in einer proteolytischen Kaskade reagieren. Es sind drei Wege der Komplementaktivierung beschrieben worden: der klassische Weg, der alternative Weg und der Lectin-Weg. Die Hauptfunktion von Komplement besteht darin, den Wirt vor bakteriellen Infektionen zu schützen, indem es sich einer Vielzahl von Mechanismen bedient. Einer dieser Mechanismen ist die C3b-vermittelte Erleichterung der Phagozytose von Mikroorganismen (Opsonisierung). Hinzu kommt die Freisetzung kleiner Spaltprodukte, wie C3a und C5a, die bei der Aktivierung von Komplement anfallen. Darüber hinaus hat Komplement ein direktes cytopathogenes Potential durch die Bildung des lytischen Membranangriffskomplexes. Neben seiner anti-bakteriellen Wirkung ist Komplement aber auch für die Beseitigung von Immunkomplexen notwendig. Trotz aller vorteilhaften Effekte von Komplement gibt es Hinweise darauf, dass die Aktivierung von Komplement in bestimmten Situationen zu unangemessenen gegen das Selbst gerichtete Gewebeschäden führt.

Ischämie/ Reperfusion (IR)-induzierte Schäden gehören zu diesen Situationen für die angenommen wird, dass eine übermäßige Komplementaktivierung zu den potentiell schädlichen Komplikationen bei chirurgischer Revaskularisierung, temporären intraoperativen cerebrovaskulären Verschlüssen, Thrombolysetherapie bei akutem Apoplex oder bei Organtransplantation beiträgt. Vorhergehende Studien, die sich Modellen des IR-induzierten Schadens bedienten, zeigten dass eine Komplementaktivierung stattfindet und dass die Verabreichung von Komplementinhibitoren den IR-induzierten Schaden reduzierte.

C1 Inhibitor (C1 Inh) ist ein stark glykosyliertes Plasmaprotein, das zu der Familie der Serinprotease-Inhibitoren gehört und von dem bekannt ist, dass es die Aktivierung des klassischen und Lectin-Wegs hemmt. Zusätzlich sind hemmende Einflüsse auf den intrinsischen Weg der Blutgerinnung (FXIa, FXIIa) und das Kallikrein-Kinin System bekannt. Als Konsequenz dessen verfügt C1 Inh über ein starkes anti-inflammatorisches Potential.

Um die bereits bestehenden Studien zur IR-induzierten Schädigung des Dünndarms zu erweitern, untersuchten wir den Effekt von humanem C1 Inh in einem Mausmodell der Dünndarm IR. Dabei lag das Hauptziel dieser Studie darin, festzustellen, ob eine Behandlung mit humanem C1 Inh IR-induzierte lokale Schäden des Dünndarms in zwei Mäusestämmen von denen bekannt ist, dass sie über unterschiedliche immunologische Antwortmuster verfügen, verhindern kann. Diese Studie sollte auch dazu dienen, die Pathomechanismen, die den IR-induzierten Schäden zu Grunde liegen, weiter aufzuklären. Hierfür evaluierten wir den Einfluss der C1 Inh-Behandlung auf die Bildung von Eicosanoiden (LTB₄ und PGE₂), die örtliche Infiltration mit Neutrophilen und die intestinale cNOS-Aktivität in IR-behandelten Versuchstieren.

Im Verlauf unserer Experimente wurden C57BL/6 und Balb/c Mäuse durch Abklemmen der Arteria mesenterica superior einer 30-minütigen Ischämie des Dünndarms unterzogen, welche wiederum von einer zweistündigen Reperfusionphase gefolgt war. Anschließend wurden Gewebeprobe des Dünndarmes entnommen und einer Weiterverarbeitung zwecks histologischer Untersuchung auf Mucosaschäden, C3-Ablagerung, cNOS-Aktivität sowie zur quantitativen Bestimmung der Eicosanoidproduktion und Peroxidaseaktivität unterzogen.

Unsere Daten zeigten, dass, obwohl C57BL/6 und Balb/c Mäuse eine unterschiedliche hämolytische Aktivität des klassischen Wegs aufwiesen, dennoch ein vergleichbarer IR-induzierter lokaler Schaden vorlag. Die Verabreichung von C1 Inh resultierte in beiden Mäusestämmen in einem ähnlichen dosis-abhängigen Ausmaß der Minderung der Gewebeschädigung. Unsere Daten zeigten auch, dass durch die Behandlung mit C1 Inh die LTB₄ und PGE₂ Konzentration in beiden Stämmen signifikant gesenkt werden konnte. Jedoch korrelierte die gesenkte PGE₂-Bildung nicht notwendigerweise mit der vollen Protektion in Balb/c. Zusätzlich war die PMN-Infiltration und die unspezifische Peroxidaseaktivität in beiden Mäusestämmen nach Behandlung mit C1 Inh reduziert. Schließlich zeigten wir, dass die Verabreichung von C1 Inh die cNOS-Aktivität in intestinalen Nerven aufrecht erhielt.

Schlussfolgernd haben wir gezeigt, dass die Aktivierung des Komplementsystems ein wichtiger pathogener Faktor in der IR-induzierten Schädigung des Dünndarms im Maussystem ist. Unsere Daten zeigen, dass die IR-induzierte Schädigung des Dünndarms, trotz des *in vitro* festgestellten Unterschieds der hämolytischen Aktivität, in beiden Mäusen durch C1 Inh hemmbar ist. Darüberhinaus weisen unsere Daten darauf hin, dass anders als in den C57BL/6 Mäusen, sowohl die Bewahrung der cNOS-Aktivität als auch die Inhibition der PGE₂-Bildung in Balb/c Mäusen nicht für den lokalen Schutz vor IR-induzierten Schäden vonnöten sind. Diese Studie weist darauf hin, dass C1 Inh ein wertvolles Therapeutikum sein könnte, um IR-induzierte Dünndarm Schäden zu verhindern oder zu vermindern, wohlwissend jedoch, dass das breite Einflusspektrum des C1 Inh nicht nur Vorteile beinhaltet, sondern durchaus auch mit risikoreichen Nebenwirkungen verbunden sein kann.