

Evgeniy Palchyk

Dr. med.

Immunhistologische Untersuchungen zur myokardialen Expression von Wachstumsfaktoren bis 3 Jahre nach klinischer Herztransplantation

Geboren am 21.02.1975 in Cherson (Ukraine)

Staatsexamen am 05.05.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie

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

Die orthotope Herztransplantation (HTx) hat sich zu einem Routine-Verfahren entwickelt. Die Rolle der Wachstumsfaktoren (WF) für die feinstrukturellen Veränderungen und Anpassungsprozesse des Arbeitsmyokards in der frühen Phase nach HTx ist vergleichsweise gut dokumentiert. Unklarheit besteht jedoch darüber, ob im Langzeitverlauf nach HTx die Präsenz von WF genau so stark ist oder ob dies im Rahmen der Adaptationsprozesse jenseits der Frühphase nach HTx abgeschlossen ist. Außerdem war bis jetzt kaum untersucht, ob die Ischämiedauer die Expression der WF beeinflussen kann.

Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit an Kryostatschnitten der rechtsventrikulären Endomyokardbiopsien eines Patientenkollektivs mit stabiler Transplantatfunktion die **myokardiale Expression** von WF der **Platelet Derived Growth Factor-Familie (PDGF A, PDGF B, PDGFR α und PDGFR β)** und der **Fibroblast Growth Factor-Familie (aFGF und bFGF)** **immunhistochemisch** untersucht. Biopsien der ersten zwei Wochen nach HTx und Biopsien bis drei Jahre postoperativ (in einjährigen Abständen) wurden qualitativ und semiquantitativ (mit einem Score von null bis drei) miteinander und mit Proben verglichen, die denselben Herzen vor Implantation entnommen worden waren. Für die Probengewinnung, Weiterverarbeitung, immunhistologische Serien-Färbung und Auswertung wurden etablierte und standardisierte Verfahren eingesetzt.

Um den Einfluss der Ischämie zu kontrollieren wurden die 29 untersuchten Herzen zusätzlich zwei Gruppen zugeteilt: 13 Herzen waren einer kurzen (<170 min), 16 Herzen einer langen Ischämie (>180 min) ausgesetzt. Dabei wurde die Gesamtschämie zwischen der

Aortenabklemmung beim Spender und der Wiedereröffnung der Aorta beim Empfänger zugrunde gelegt.

Statistisch signifikante Unterschiede bzw. Trends in den Befunden wurden mit drei Testverfahren ermittelt: dem Vorzeichentest nach Dixon und Mood für die Veränderungen in den einzelnen Herzen im Zeitverlauf; dem Mann-Whitney-U-Test für unpaare Stichproben zum Vergleich zwischen den zwei Gruppen mit kurzer und langer Ischämiezeit; dem Verfahren zur Berechnung von Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman für die Zusammenhänge zwischen den WF der PDGF-Familie.

Die Untersuchungen ergaben, dass **PDGFs** hauptsächlich in vaskulären Strukturen und weniger in Kardiomyozyten exprimiert wurden. Bereits eine Woche nach HTx wurde ein hoch signifikanter Anstieg der Expression von allen vier Proteinen (besonders von PDGF A) im Vergleich mit den vor Implantation entnommenen Biopsien registriert. Im Vergleich mit Referenzproben waren alle PDGFs auch in der zweiten postoperativen Woche signifikant stärker exprimiert, verglichen mit Biopsien der ersten Woche jedoch signifikant schwächer. Außerdem korrelierten signifikant bzw. tendenziell zu diesen Zeitpunkten alle PDGFs (mit wenigen Ausnahmen) miteinander. In allen drei Jahresbiopsien dagegen war kaum noch eine Präsenz von PDGF zu erkennen. Dieser starke Abfall der Expression war beim Vergleich mit den Wochenbiopsien und teilweise mit den Ausgangswerten statistisch signifikant oder zeigte zumindest einen Trend zu unterschiedlichen Werten.

Die WF der **FGF-Reihe** waren ebenfalls deutlich stärker vaskulär präsentiert. Anders als bei PDGFs blieben bFGF und weniger aFGF in den ersten zwei postoperativen Wochen auf dem gleichen niedrigen Expressionsniveau wie die Referenzproben. In den ersten drei Jahren nach HTx war bei bFGF nur noch eine sehr schwache Expression, bei aFGF dagegen gar keine Reaktion mehr erkennbar. Im Vergleich mit den vor Implantation gewonnenen Proben und Wochenbiopsien war bei bFGF in den ersten zwei Jahresbiopsien eine signifikante bzw. tendenzielle Abnahme der Expression feststellbar. Dies war bei aFGF nur beim Vergleich: 1.Woche vs. 1.Jahr der Fall.

Der intraindividuelle Vergleich zwischen Gruppen mit langer und kurzer Ischämiezeit zeigte minimale, statistisch nicht signifikante Unterschiede der Expressionsintensität.

Die Ergebnisse dieser Arbeit legen folgende Schlussfolgerungen nahe: Eine gesteigerte Expression von PDGFs und FGFs in rechtsventrikulären Endomyokardbiopsien entsteht als Reaktion auf unterschiedliche Noxen in den ersten Wochen nach HTx. Sie hängt mit wichtigen reparativen, angioprotektiven und wundheilenden Prozessen vor allem in vaskulären Herzstrukturen kurz nach HTx zusammen; Die Korrelation von PDGFs

untereinander kurz nach HTx weist darauf hin, dass alle vier Proteine dieser Familie für die genannten Ereignisse in der früh-postoperativen Phase von großer Relevanz sind und über ähnliche Regulationsmechanismen aktiviert werden; Eine fehlende Expression im spät-postoperativen Verlauf scheint in Verbindung mit einer stabilen Transplantatfunktion und einem direkten Einfluss immunsuppressiver Therapie zu stehen; Unterschiedliche Ischämiezeiten spielen eine untergeordnete Rolle für das Ausmaß der postoperativen WF-Expression.

Es erscheint sinnvoll, weitere Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven mit unkompliziertem und kompliziertem Langzeitverlauf vorzunehmen. Sie könnten aufzeigen, ob z.B. eine gesteigerte Expression von WF mit einer frühen bzw. stärker ausgeprägten Transplantatvaskulopathie oder Abstoßungsreaktionen einhergeht. Der inhibierende Effekt von Cyclosporin auf die WF sollte ebenfalls analysiert werden.