

Björn Patrick Huck
Dr. med.

Die Apoptoserate und die Expression apoptoseregulierender Faktoren vor Implantation, früh- und spät-postoperativ nach klinischer Herztransplantation

Geboren am 04.07.1976 in Baden-Baden

Staatsexamen am 24. Oktober 2003 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Philipp A. Schnabel

Nach der ersten Herztransplantation 1967 durch Christiaan Barnard entwickelte sich dieses Verfahren mittlerweile zu einem etablierten Verfahren zur Therapie der terminalen Herzinsuffizienz. Bis in das Jahr 2000 wurden bereits weltweit mehr als 50.000 Herztransplantationen durchgeführt. Bei der Apoptose handelt es sich um einen programmierten Zelltod, der sich über aktive, feststehende intrazelluläre Signalwege vollzieht. Die Apoptose einer Zelle kann sowohl durch physikalische oder chemische äußere Einflüsse als auch über die Expression sogenannter Todesliganden, die an bestimmte Rezeptoren binden können, ausgelöst werden. Nach einer solchen Aktivierung obliegt es verschiedener pro- beziehungsweise antiapoptotischer Regelkreise, ob nun tatsächlich der Tod der Zielzelle eintritt. Einer besonderen Rolle kommt dem programmierten Zelltod im Rahmen der Homöostase vitaler Gewebe und immunregulatorischer Prozesse zu.

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, inwiefern verschiedene Zeitpunkte im Verlauf einer klinischen Herztransplantation mit der auftretenden Apoptoserate und der Expression apoptoseregulierender Faktoren im Myokard in Zusammenhang stehen. Bei den explorierten pro- und antiapoptotisch wirkenden Faktoren handelte es sich um die Liganden TNF- α , Fas Ligand, TRAIL, deren korrespondierende Rezeptoren Fas, TRAIL-Rezeptor1 (TRAIL-R1), TRAIL-R2, TRAIL-R3 und TRAIL-R4 und die Mitglieder Bcl-2, Bcl-X_L und Bax der Bcl-2-Familie. Dabei wurden immunhistologische Färbungen und der TUNEL-Test an rechtsventrikulären Myokardbiopsien vorgenommen. Diese wurden unmittelbar vor Implantation, eine und zwei Wochen nach Herztransplantation und nach dem ersten, zweiten und dritten postoperativen Jahr entnommen. Die Proben der verschiedenen Untersuchungszeitpunkte stammten von demselben Patientenkollektiv. Ein intraindividueller Längsvergleich war daher möglich. Weiterhin sollte die Frage beantwortet werden, ob die Dauer der Ischämiezeit, die auf das Spenderorgan einwirkt, Einfluss auf die Apoptoserate und die Ausprägung der apoptoseregulierenden Faktoren nimmt. Für diese Unterscheidung wurde das Gesamtkollektiv der 29 Patienten in zwei Gruppen unterteilt, eine Gruppe, bei der die Ischämiezeiten kleiner oder gleich 180 Minuten betragen, und eine, bei der diese Zeitspanne 180 Minuten überschritt. Die Auswertung der histologischen Proben erfolgte lichtmikroskopisch. Dabei ließen sich die untersuchten Faktoren sowohl in interstitiellen Zellen als auch für Fas, Fas Ligand, TNF- α , Bcl-2, Bcl-X_L und Bax in vaskulären Zellen nachweisen. Statistisch wurden die Zahl markierter interstitieller Zellen pro Fläche und der Expressionsgrad der Faktoren in vaskulären Zellen anhand eines Scoringssystems ausgewertet. Beim Vergleich der paarigen Daten wurde der „Wilcoxon matched pairs signed rank“-Test und für die beiden Untergruppen der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test angewendet. Für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ wurden signifikante Unterschiede angenommen.

Es konnte in dieser Arbeit eindeutig gezeigt werden, dass es im Verlauf einer klinischen Herztransplantation zum Auftreten eines apoptotischen Zelltodes sowie zu einer Aktivierung sowohl pro- als auch antiapoptotischer Faktoren kommt. Im Vergleich zum Zeitpunkt vor Implantation zeigten sich eine und zwei Wochen nach Transplantation deutlich erhöhte Apoptoseraten in interstitiellen Zellen des Myokards. Es kam also erst nach Implantation und nach der Ischämie-Reperfusionphase zu einem gesteigerten Auftreten des programmierten Zelltodes, der hier mit Hilfe des TUNEL-Tests nachgewiesen wurde. In den Proben der Jahresbiopsien fand sich dann wiederum keine apoptotische Zelle mehr. Der immunregulatorische Prozess im Rahmen einer Herztransplantation, bei dem der Apoptose eine bedeutende Rolle zukommt, scheint somit hier bereits abgeschlossen zu sein. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass ein apoptotischer Zelltod in Kardiomyozyten nach HTx ein nur sehr seltenes Ereignis darstellt, es zeigte sich in allen Herzschnitten überhaupt nur eine Herzmuskelzelle, deren Zellkern TUNEL-positiv war.

Auch für die Zahl der interstitiellen Zellen, die pro- und antiapoptotischen Faktoren bilden, und das Expressionsmaß dieser Substanzen in Gefäßen, ergaben sich die höchsten Werte in der ersten und zweiten postoperativen Woche. In den Jahren nach HTx ging dieser initiale Expressionsanstieg der apoptoseregulierenden Faktoren wieder signifikant zurück. Für die Einleitung der Aktivierung der Mehrexpressionen ergaben sich jedoch unterschiedliche Zeitpunkte. Während es für die Expression der Todesliganden Fas und TRAIL erst nach Implantation in den ersten beiden Wochen nach HTx zu einem signifikanten Anstieg kam, waren die antiapoptotisch wirkenden Substanzen Bcl-2 und Bcl-X_L hingegen bereits vor Implantation, also während der Intensivtherapie der Spender und der Ischämiephase, erhöht nachweisbar. Deren Ausprägung steigerte sich in den darauffolgenden beiden Wochen auch nicht weiter. Die Überexpression dieser antiapoptotischen Faktoren ging somit einer Aktivierung eines Teils des proapoptotischen Systems voraus. Weiterhin ließ sich ein Zusammenhang zwischen der Ischämiezeit, die auf das Herz einwirkt, und der Apoptoserate in interstitiellen Zellen des Myokards feststellen. Während die Dauer der Ischämiezeit keinen Einfluss auf das Expressionsausmaß der untersuchten pro- und antiapoptotischen Faktoren zu haben schien, war die Zahl apoptotischer Zellen in Spenderorganen, deren Ischämiezeit über 180 Minuten lag, zwei Wochen nach HTx signifikant höher.