

Alexander Karl Josef Wolpert
Dr. med.

Zeitlicher Verlauf der Stressreaktion des endoplasmatischen Retikulums nach hämorrhagischem Schock und deren Modulation mittels Tauroursodeoxycholsäure

Fach: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Gerhard Schmidmaier

Zu den gravierendsten Komplikationen bei schweren Traumata zählt der hämorrhagische Schock, der mit einer hohen Mortalität vergesellschaftet ist. Die Ursachen des Versterbens liegen einerseits in den Ischämie-bedingten Organschäden begründet, andererseits in der bei der therapeutischen Intervention auftretenden Reperfusion, welche den Organschaden verstärken und eine systemische Inflammationsreaktion auslösen kann. Trotz intensiver Forschung gelang es noch nicht, die zugrundeliegenden Pathomechanismen dieses Ischämie-Reperfusionsschadens vollständig zu entschlüsseln. Dementsprechend ist die Entwicklung neuer kausaler Therapien enorm erschwert.

Experimentelle Studien zum Ischämie-Reperfusionsschaden im Rahmen verschiedener ischämischer Krankheitsbilder offenbarten Zusammenhänge zwischen Zelluntergang und einer gestörten Funktion des endoplasmatischen Retikulums. Letztere wird durch Hypoxie und oxidativen Stress ausgelöst. Sie präsentiert sich in einer eingeschränkten Faltungskapazität mit resultierender Akkumulation ungefalteter Proteine im Lumen des endoplasmatischen Retikulums. Dieser Zustand wird als ER-Stress bezeichnet und kann in einer systemischen Inflammationsreaktion resultieren. Zur Wiederherstellung der zellulären Homöostase werden während ER-Stress verschiedene Signalwege aktiviert, die man ihrer Gesamtheit als *unfolded protein response* bezeichnet. Kann die *unfolded protein response* jedoch den ER-Stress nicht kompensieren, leitet sie den Zelluntergang ein.

Basierend auf diesem Sachverhalt zielte die hier vorgelegte Forschungsarbeit auf eine nähere Untersuchung der Zusammenhänge zwischen hämorrhagischem Schock und der Stressreaktion des endoplasmatischen Retikulums ab. Hierzu kam ein Mausmodell mit einem druckkontrollierten hämorrhagischen Schock zum Einsatz, wobei der mittlere arterielle Blutdruck der Versuchstiere durch eine Blutentnahme für 90 min auf 30 ± 5 mmHg abgesenkt und anschließend mittels Ringer-Lösung wieder stabilisiert wurde. Mit acht verschiedenen Euthanasiezeitpunkten (2, 4, 6, 8, 10, 14, 18 und 24 Stunden nach Schockinduktion) gelang es, den in dieser Ausführlichkeit noch nicht vorhandenen zeitlichen Verlauf der posthämorrhagischen Leberschädigung sowie der systemischen Inflammations- und der ER-Stressreaktion darzustellen.

Dabei zeigte der immunhistochemische Nachweis des ER-Stress-Markers *binding immunoglobulin protein* (BiP) zeitabhängige topographische Veränderungen im Lebergewebe. Auch die Aktivierungsmuster der drei Hauptsignalwege der *unfolded protein response* – nachgewiesen durch immunhistochemische Färbungen der phosphorylier-

ten *protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase* (PERK), des *activating transcription factor 6* (ATF6) sowie der gespleißten Variante des *X-box binding protein 1* (XBP1) – unterschieden sich untereinander in Bezug auf die Zonierung innerhalb der Leberazini. Während die beiden letztgenannten Proteine vorwiegend in der perizentralen Zone exprimiert wurden, war die phosphorylierte *protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase* hauptsächlich in der periportalen Zone lokalisiert. Demzufolge könnten alleinige Western Blot-Analysen von Lebergewebe – wie häufig praktiziert – unangemessen für die Erforschung von ER-Stress bei einem Ischämie-Reperfusionssyndrom sein.

Weiterhin war die Expression des pro-apoptotischen Transkriptionsfaktors *CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein* (CHOP) sowohl im immunhistochemischen als auch im proteinbiochemischen Nachweis 14 Stunden nach Schockinduktion im Lebergewebe am höchsten. Damit korrelierte der zeitliche Verlauf dieses bei anhaltendem ER-Stress hochregulierten Transkriptionsfaktors mit dem Zeitpunkt des maximalen Leberzellschadens. Dessen Bestimmung erfolgte mittels Transaminasen im Blutplasma sowie der Auswertung von Hämatoxylin-Eosin-gefärbten Leberschnitten.

Der zweite Teil des Projektes diente zur Ermittlung von Auswirkungen einer medikamentösen Modulation mit dem ER-Stress-Inhibitor Tauroursodeoxycholsäure auf den Leberzellschaden und die systemische Inflamationsreaktion. Hierzu erhielt eine Gruppe der Versuchstiere 500 mg Tauroursodeoxycholsäure pro kg Körpergewicht mit dem Reperfusionsvolumen und wurde zum Zeitpunkt des maximalen Leberzellschadens – 14 Stunden nach Schockinduktion – euthanasiert.

Während die Modulation des zellulären ER-Stresses die systemische Inflamationsreaktion nur geringfügig beeinflusste, hatte sie relevante Auswirkungen auf den Organschaden. Im Vergleich zur 14-Stunden-Gruppe ohne Tauroursodeoxycholsäure verringerte sich der Flächenanteil des histologisch gemessenen Leberzellschadens signifikant von $25,8 \pm 1,4 \%$ auf $9,3 \pm 0,9 \%$ ($p < 0,001$).

Das Auftreten von ER-Stress und der assoziierten *unfolded protein response* könnte daher ein wichtiger Faktor für die Regulierung des Ischämie-Reperfusionsschadens nach hämorrhagischem Schock und dementsprechend ein potentielles Ziel zukünftiger therapeutischer Strategien sein.