

Jasper Max Gebhardt

Dr. med.

Therapeutische Effekte der Pan-Prolyl-Hydroxylasen-Inhibition bei Pouchitis – experimentelle Untersuchungen an humanen Biopsiepräparaten und im präklinischen Rattenmodell

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Martin Schneider

Die Pouchitis tritt bei ca. 23 – 46 % der Patienten mit totaler Proktokolektomie mit ileo-pouch-analer Anastomose auf und ist die am häufigsten auftretende Langzeitkomplikation nach Anlage eines ileo-analen Pouches. Die Pouchitis beeinträchtigt die Lebensqualität der meist jungen Patienten stark. Mit einer Inzidenz von bis zu 80 % tritt die Erkrankung insbesondere bei Patienten auf, die sich einer totalen Proktokolektomie mit ileo-pouch-analer Anastomose in kurativer Intention zur Therapie einer Colitis ulcerosa unterzogen haben. Im Gegensatz dazu erkranken nur ca. 10 – 19 % der Patienten, die sich dem Eingriff zur Behandlung einer zugrundeliegenden familiären adenomatösen Polyposis unterzogen haben. Die Ätiopathogenese der Pouchitis ist multifaktoriell und basiert auf genetischen, mikrobiellen, immunologischen und ischämischen Faktoren. Gemeinsam führen diese zu einer unkontrollierten Entzündung der Pouchmukosa und schädigen die Integrität der intestinalen Barriere. Die meisten Patienten leiden unter einer idiopathischen Pouchitis. Diese spricht gut auf eine antibiotische Therapie an. Circa 5 – 19 % der Betroffenen entwickeln jedoch eine chronische antibiotika-refraktäre Pouchitis. Diese ist einer der Hauptgründe für das Pouchversagen und führt bei ca. 5 % der Patienten zu einer Pouchrevision bzw. Pouchexzision. Die medikamentösen Therapien der Pouchitis wirken meist symptomatisch, indem sie die Entzündungsreaktion inhibieren, jedoch nicht kausal, d.h. sie behandelt nicht die molekularen Ursachen der Pouchitis. Die Erforschung und Entwicklung von Therapeutika, die speziell die Integrität der intestinalen Barriere fördern und das hypoxische Milieu des Pouches stabilisieren, sind daher notwendig.

Die Colitis ulcerosa und die Pouchitis ähneln sich hinsichtlich ihrer Symptomatik und ihrer Ätiopathogenese. Beide Erkrankungen gehen mit einer Schädigung der intestinalen Barriere einher. Es ist davon auszugehen, dass die Pouchitis, ebenso wie die Colitis ulcerosa, mit einer inflammatorischen Hypoxie der intestinalen Mukosa assoziiert ist. Die HIF-Prolyl-Hydroxylasen fungieren als molekulare Sauerstoffsensoren und regulieren den Hypoxie-induzierten Transkriptionsfaktor. In der Hypoxie wird der Hypoxie-induzierte Transkriptionsfaktor (HIF) nicht durch die HIF-Prolyl-Hydroxylasen hydroxyliert und stabilisiert

sich im Zytoplasma. In der entzündeten Dickdarmmukosa konnte eine erhöhte HIF-1 α -, HIF-2 α - und Prolyl-Hydroxylase-1-Expression nachgewiesen werden. Diese Enzyme werden daher in der Behandlung der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen als interessante Zielstrukturen pharmakologischer Therapien gesehen. Obwohl in verschiedenen präklinischen Maus-Colitis Modellen bereits gezeigt werden konnte, dass die genetische Prolyl-Hydroxylase-1-Defizienz bzw. eine pharmakologische Pan-Prolyl-Hydroxylase-Inhibition die Integrität der intestinalen Barriere fördern, wurde bisher nicht untersucht, welchen Einfluss die pharmakologische Pan-Prolyl-Hydroxylase-Inhibition auf die Pouchitis hat.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die Rolle der HIF-Prolyl-Hydroxylase in der humanen Pouchitis zu untersuchen und den Effekt der systemischen Behandlung mit dem pharmakologischen Pan-Prolyl-Hydroxylase-Inhibitor Dimethyloxalyglycin auf die Dextransulfat-Natriumsalz-induzierte Pouchitis in einem präklinischen Pouchitis-Modell in der Ratte zu analysieren.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Prolyl-Hydroxylase-1 messenger Ribonucleic Acid Expression in der entzündeten Pouchmukosa signifikant erhöht ist und mit der Krankheitsaktivität der Patienten korreliert. Dies galt selektiv für Prolyl-Hydroxylase-1 und ließ sich nicht für Prolyl-Hydroxylase-2 und Prolyl-Hydroxylase-3 nachweisen. Auch konnte eine signifikant erhöhte Prolyl-Hydroxylase-1 messenger Ribonucleic Acid Expression der gesunden und entzündeten Pouchmukosa von Colitis ulcerosa Patienten gegenüber der Prolyl-Hydroxylase-1 messenger Ribonucleic Acid Expression der Pouchmukosa familiärer adenomatöser Polyposis Patienten nachgewiesen werden. Die erhöhte Prolyl-Hydroxylase-1 Expression der entzündeten Pouchmukosa konnte außerdem auf Protein-Ebene, durch immunhistochemische Färbungen bestätigt werden. Daraus lässt sich schließen, dass der Expression von Prolyl-Hydroxylase-1 in der Progression der Pouchitis gegebenenfalls eine wichtige Rolle zukommt.

Nach Kolektomie und Anlage einer ileo-pouch-analen Anastomose zeigten alle operierten Tiere die Klinik und die histopathologischen Merkmale wie sie nach selbiger Operation auch im Menschen auftreten. Die pharmakologische Pan-Prolyl-Hydroxylase-Inhibition mittels Dimethyloxalyglycin linderte die Dextransulfat-Natriumsalz-induzierte Pouchitis der Tiere, indem sie die Expression der Tight-Junction Proteine Zonula-Occludens-1 und Claudin-1 induzierte und einen anti-apoptischen Effekt auf die Enterozyten der Pouchmukosa ausübte. Auf diesem Weg förderte die Dimethyloxalyglycin-Behandlung die Integrität der intestinalen Barriere und linderte die Krankheitsaktivität der Tiere. Dies zeigte sich bei den mit Dimethyloxalyglycin behandelten Tieren anhand eines reduzierten Gewichtsverlusts, einer erhöhten Stuhlkonsistenz und einer geminderten Hämatochezie. Die präventive Dimethyloxalyglycin-Behandlung war der akuten Therapie hierbei nicht überlegen. Der

Barriere-protective Effekt basierte auf einer HIF-1 α -Stabilisierung und der Induktion HIF-abhängiger Zielgene.

Zusammenfassend zeigte sich, dass die Prolyl-Hydroxylase-1 auch in der Pouchitis eine interessante Zielstruktur pharmakologischer Therapien darstellen könnte. Die vorliegende Arbeit legt eine Grundlage für den möglichen Einsatz pharmakologischer Pan-HIF-Prolyl-Hydroxylasen-Inhibitoren in der Behandlung der Pouchitis.

