

Julian Sebastian Wehrmann

Dr. med.

Die pharmakologische Inhibierung der Prolylhydroxylaseenzyme reduziert Anastomoseninsuffizienzen unter Hochrisikobedingungen

Fach/Institution: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Martin Schneider

Nach darmchirurgischen Operationen sind Anastomoseninsuffizienzen eine gefürchtete Komplikation, die bei bis zu 11% der Patienten auftritt. Bei circa 760.000 Operationen am Darm im Jahr 2017 in Deutschland ergibt sich eine absolute jährliche Inzidenz von knapp 80.000 Betroffenen. Komplikationen, die aus einer Insuffizienz einer Darmanastomose entstehen können, sind unter anderem Bauchfellentzündungen oder eine Sepsis. Beides ist mit einer deutlich erhöhten postoperativen Morbidität und Mortalität verbunden.

Anastomoseninsuffizienzen entstehen aufgrund verschiedener pathophysiologischer Vorgänge: Dabei spielt eine Minderdurchblutung beziehungsweise Durchblutungsstörung der anastomosierten Darmenden und eine zu hohe Spannung der Anastomose bei ungenügender chirurgischer Mobilisation eine tragende Rolle. Daraus resultieren eine gestörte intestinale Wundheilung und eine Sauerstoffunterversorgung der Anastomosen. Weiterhin führt die Entzündungsreaktion selbst zu einem erhöhten Verbrauch an Sauerstoff, da einwandernde Entzündungszellen, wie beispielsweise Makrophagen oder Leukozyten, aufgrund ihres erhöhten Grundumsatzes mehr Sauerstoff benötigen.

Dieser Sauerstoffmangel im Gewebe führt zu einer Veränderung des Zellstoffwechsels mit einer erhöhten Stabilisierung der Hypoxie-Induzierbaren Faktoren (HIFs), einer Gruppe heterodimerer Transkriptionsfaktoren die Anpassungsvorgänge an Hypoxie auf molekularer Ebene vermitteln. Unter Normoxie wird die Verfügbarkeit von HIF durch die HIF-Prolyl-Hydroxylasen (PHD1-3) reguliert, die Sauerstoff als Kofaktor verwenden. Unter Hypoxie indes können sie HIF- α nicht mehr zur Degradierung markieren und HIF kann als Heterodimer an die Hypoxie-responsiven Elemente (HRE) der DNA binden. Als Folge dessen werden verschiedene Zielgene wie *VEGF*, *EPO*, *TNF-alpha*, *TGF-beta* und *PAI-1* vermehrt transkribiert, welche dann unter anderem die Invasion und Migration von Entzündungszellen und Fibroblasten, die Epitheliale-Mesenchymale-Transition von Mesothelzellen und die Angiogenese fördern. Diese Effekte sind auch bei der physiologischen Wundheilung von Bedeutung.

Das Hauptziel dieses Projektes war es, zu untersuchen, welche Rolle HIF und die HIF-Prolyl-Hydroxylasen 1-3 bei der Entstehung der Anastomoseninsuffizienz spielen. Hierzu wurde ein Mausmodell mit Wildtyp, sowie PHD-1^{-/-}, -2^{+/-} und -3^{-/-} Mäusen verwendet. Initial wurde bei den Versuchstieren eine Darmteilresektion im Dickdarm durchgeführt und eine End-zu-End Anastomose hergestellt. Nach einer Wundheilungszeit von drei Tagen wurde das Tier erneut eröffnet und der anastomosierte Darmabschnitt entnommen. Als Surrogat-Parameter für Stabilität beziehungsweise Heilungsqualität wurde der so genannte "Anastomotic Burst

Pressure“, der intraluminale Druck, bei dem die Anastomose undicht wird, bestimmt. Anschließend wurde das Gewebe histologisch aufgearbeitet: Mit histologischen und immunhistochemischen Färbungen wurde die Invasion und Migration von Entzündungszellen, sowie des Bindegewebsanteils untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass unter Hochrisikobedingungen, welche durch Ligatur der versorgenden Blutgefäßarkaden simuliert wurden, eine PHD2^{+/-} Heterodefizienz zu signifikant besserer Anastomosenheilung, gemessen am Burst Pressure und einem etablierten histologischen Score, führte. Des Weiteren konnte beobachtet werden, dass die genetische Heterodefizienz von PHD2 in einer signifikant verringerten Abszessbildung resultierte. In den immunhistochemischen Färbungen zeigte sich eine signifikant verringerte Infiltration von CD45⁺-Leukozyten sowie F4/80⁺-Makrophagen im Entzündungsgewebe. Gleichwohl führte die Heterodefizienz zu einer signifikant verstärkten Bindegewebsformation im perianastomotischen Bindegewebe. Eine verstärkte Vaskularisation beziehungsweise Angiogenese hingegen konnte nicht festgestellt werden.

Weiterführendes Ziel war es, einen Unterschied der Anastomosenheilung und das Auftreten der Anastomoseninsuffizienz als postoperative Komplikation bei den Heterodefizienz- und mit Dimethyloxaloylglycine (DMOG) pharmakologisch PHD-inhibierten Versuchsgruppen im Vergleich zu Wildtyp beziehungsweise Vehikeltieren herauszufinden.

Es konnte herausgefunden werden, dass eine PHD-Inhibierung unter Hochrisikobedingungen analog der genetischen Defizienz zu signifikant besserer Anastomosenheilung führt. Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass die pharmakologische PHD-Inhibierung in einer signifikant verringerten Abszessbildung sowie verminderten Infiltration von CD45⁺-Leukozyten sowie F4/80⁺-Makrophagen im Anastomosenbereich resultiert. Bei der perianastomotischen Bindegewebsformation zeigte sich ein ähnliches Bild. Hierbei konnte ebenfalls eine signifikant verstärkte Ausbildung gemessen werden. Auch unter PHD-Inhibierung konnte kein Effekt auf die Vaskularisation festgestellt werden. Unter unkomplizierten Bedingungen zeigten sich diese Beobachtungen jedoch nicht.

Im Sinne eines translationalen Ansatzes könnte DMOG nach Zulassung als Medikament als therapeutisches Agens zur Reduzierung von Anastomoseninsuffizienzen in der klinischen Praxis beitragen. Negative Mortalitäts- oder Morbiditätseinflüsse, sowie schwere Nebenwirkungen zeigten sich im Mausmodell nicht. Im Zuge weiterer Studien müsste geklärt werden, ob ein standardmäßiger Einsatz von DMOG beispielsweise als Lavage nach darmchirurgischen Operationen oder als intraperitoneales Depot denkbar ist.