

Gwendolyn Kimmer
Dr. med.

Einfluss der HIF-Prolylhydroxylasen auf die Heilung intestinaler Anastomosen im Modell der abdominalen Sepsis

Fach/Einrichtung: Chirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Martin A. Schneider

Darmteilresektionen sind häufige Eingriffe in der Viszeralchirurgie und werden aufgrund unterschiedlicher Indikationen, wie beispielsweise dem kolorektalen Karzinom oder einer entzündlichen Darmerkrankung durchgeführt. Insbesondere bei elektiven Eingriffen wie der primären Tumorsektion wird die anschließende Wiederherstellung der Darmkontinuität mittels Darmanastomose, auch im Sinne des Patienten, stets angestrebt. Das Auftreten einer Insuffizienz der angelegten Anastomose stellt dabei eine der schwersten postoperativen Komplikationen dar und kann limitierend für den Krankheitsverlauf und das Überleben des Patienten sein.

Durch Verletzung der lokalen Gefäßversorgung des behandelten Darmabschnittes sowie vor dem Hintergrund eines einzigartigen bakteriellen Mikrobioms im Darm findet die intestinale Anastomosenheilung oft unter lokal hypoxischen Bedingungen statt. Die Hypoxie-induzierbaren Faktoren sowie die Prolylhydroxylasen 1, 2 und 3 sind als molekulare Sauerstoffsensoren Gegenstand aktueller Forschung zum Thema Wundheilung. Durch genetische oder pharmakologische Inhibition der Prolylhydroxylasen wird die dermale Wundheilung verbessert. Da eine abdominale Sepsis die Anastomosenheilung signifikant verschlechtert, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersucht, welchen Einfluss die Prolylhydroxylasen auf die Heilung intestinaler Anastomosen bei lokal septischen Bedingungen haben.

Mithilfe eines neu etablierten Mausmodells mit anschließender histologischer und molekulargenetischer Auswertung, durch zusätzliche Zellkulturversuche sowie die Analyse humaner Darmbiopsien wurden drei zentrale Fragestellungen und Ziele verfolgt:

- 1) Zunächst wurde der Einfluss der Prolylhydroxylasen auf die Heilung intestinaler Anastomosen untersucht. Hierfür wurde anhand eines Mausmodells die Anastomosenheilung auf makroskopischer und mikroskopischer Ebene beurteilt.
- 2) Es sollte die Auswirkung der genetischen Modifizierung der Prolylhydroxylasen (PHD1^{-/-} und PHD2^{+/-}) auf das Ausmaß einer induzierten Entzündungsreaktion beurteilt werden. Hierfür wurde das Anastomosengewebe auf mikroskopischer Ebene untersucht und das Expressionsmuster verschiedener Entzündungsmediatoren bestimmt.
- 3) Zusätzlich wurde der Zusammenhang zwischen den Prolylhydroxylasen und der Makrophagen-Polarisierung betrachtet. Sowohl *in vivo* als auch *in vitro* wurden die Makrophagen mithilfe anerkannter Marker für die M1- und M2-Polarisierung entsprechend charakterisiert.
- 4) Abschließend wurde anhand der Expression der Prolylhydroxylasen in humaner Kolonschleimhaut der Einfluss dieser auf die Anastomosenheilung im menschlichen Organismus beurteilt.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die genetische Defizienz der Prolylhydroxylasen 1 und 2 die Anastomosenheilung bei zuvor induzierter Peritonitis signifikant verbesserte. Dies wurde makroskopisch durch geringere Abszess- und Insuffizienzraten, mikroskopisch durch eine dickere Kollagenschicht sowie anhand eines gesteigerten „Bursting pressure“ der Anastomosen objektiviert. Die genetische Inhibierung der Prolylhydroxylase 2, in geringerem Ausmaß auch 1, führte durch eine effektive Reduzierung der Inflammation zu einer früheren Terminierung der Entzündungsreaktion. Dies zeigte sich einerseits in einer geringeren Krankheitsaktivität sowie einem gesteigerten Überleben der Versuchstiere, andererseits durch eine geringere Leukozyteninfiltration im Gewebe um die Anastomose. Analysen des Anastomosengewebes sowie die isolierte Untersuchung der Makrophagen *in vitro* zeigten eine geringere Expression verschiedener M1-Marker und gleichzeitige Überexpression des M2-Markers Arginase 1 bei genetischer Haplodefizienz der Prolylhydroxylase 2. Folglich induzierte die genetische Haplodefizienz der Prolylhydroxylase 2 die M2-Polarisierung der Makrophagen. Durch den Einfluss der von M2-Makrophagen sezernierten Zytokine wurde außerdem die Fibroblastenvermittelte Wundheilung signifikant gefördert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Inhibierung der Prolylhydroxylase 2, in geringerem Ausmaß auch 1, über eine Reduktion pro-inflammatorischer Zellen sowie die Förderung des M2-Phänotyps der Makrophagen, ein Mikromilieu schafft, das die Anastomosenheilung fördert. So kann eine primär erfolgreiche Heilung der Anastomose ermöglicht und eine frühe Anastomoseninsuffizienz effektiv verhindert werden.

Insgesamt deuten die Ergebnisse auf einen positiven Effekt der genetischen Inhibierung der Prolylhydroxylasen auf die Heilung intestinaler Anastomosen hin. Aufgrund der Tatsache, dass sich die Prolylhydroxylasen nicht nur genetisch, sondern auch pharmakologisch hemmen lassen, stellen sie einen potentiellen Ansatzpunkt in der Therapie viszeralkirurgischer Patienten dar. Durch Screening der lokalen Expression innerhalb der Kolonschleimhaut könnten Risikopatienten für eine Anastomoseninsuffizienz erkannt und effektiv behandelt werden. Somit bietet die vorliegende Arbeit einen diagnostischen sowie therapeutischen Ansatz zur Verringerung der Insuffizienzrate intestinaler Anastomosen.