

Baoer Liu

Dr. med.

Does pharmacological inhibition of the cysteine protease cathepsin C improve graft function after heart transplantation in rats?

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. Sevil Korkmaz-Icöz

Die Herztransplantation (HTX) stellt die ultimative Therapie der terminalen Herzinsuffizienz und einer schweren Herzerkrankung dar. Der myokardiale Ischämie-/Reperfusionsschaden (IR) ist während einer Herzoperation ein Verursacher für ein frühes Transplantatversagen. Wenn ein Spenderherz nach einer Zeitspanne kalter Lagerung reperfundiert wird, wird das ischämische Myokard einer Vielzahl abrupter biochemischer und metabolischer Veränderungen im Empfänger ausgesetzt, wie oxidativem Stress, entzündungsfördernden Zytokinen (Interleukin-6, Interleukin-8) und die Aktivierung von Entzündungszellen (Makrophagen, Neutrophile, neutrophile Elastase) und dem Zelltod, die insgesamt zu einer Organdysfunktion führen können. Proinflammatorische neutrophile serine Proteasen (NSPs) werden anfänglich als inaktive Zymogene synthetisiert und werden dann durch Cathepsin C (CatC) in ihre voll entwickelte aktive Form im Knochenmark konvertiert. Unter physiologischen Bedingungen sind diese voll entwickelten NSPs intrazellulär und extrazellulär bei der Beseitigung von Bakterien und der Regulation des entzündlichen Prozesses beteiligt. Unter pathologischen Bedingungen jedoch, werden sie mit zahlreichen Entzündungskrankheiten in Verbindung gebracht. Man erhält durch die direkte Inhibition der NSPs unerwartet viele ungelöste Probleme, was die Notwendigkeit unterstreicht neue, spezifischere therapeutische Strategien zu entwickeln. CatC spielt eine Rolle sowohl bei der Aktivierung als auch bei der Freisetzung von NSPs. Es wurden schon etliche Inhibitoren von CatC entwickelt. Davon werden zurzeit einige in präklinischen und klinischen Studien an Patienten, die an Bronchiektase und an Lungenmetastasen leiden, getestet.

Vor diesem Hintergrund stellen wir die Hypothese auf, dass in einem heterotopen HTX-Rattenmodell eine orale Gabe des CatC-Inhibitors BI-9740 über den Zeitraum von 12 Tagen vor Transplantation an den Empfänger des Herzens einen positiven Effekt auf die Herzfunktion nach Transplantation gewähren wird.

Wir teilten die Empfänger (männliche Lewisratten) in 2 Gruppen: eine Placebogruppe (n=12) und eine BI-9740-Gruppe (n=11; 20 mg/kg KG-Gabe). Die BI-9740-Gruppe erhielt 12 Tage lang täglich eine Dosis von BI-9740. Die Spenderherzen unbehandelter männlicher Lewisratten wurden explantiert und in 4°C kalter Custodiol 1h lang vor der heterotopen Implantation gelagert. Wir bewerteten nach einer Stunde Reperfusion die linksventrikuläre (LV) Transplantatfunktion mittels Millar-Katheter bei Nutzung verschiedener LV-Volumina.

Nach Explantation führten wir eine neutrophile Elastase-Färbung von Zell-Lysaten des Knochenmarks beider Gruppen durch. Zusätzlich wurde eine immunhistochemische Untersuchung durchgeführt, um CatC, MPO (Myeloperoxidase), Nitrotyrosin und Poly-ADP-Ribose-Polimerase (PARP)-1-Levels nach der heterotopen HTX in der BI-9740-Gruppe, der Placebogruppe und der Kontrollgruppe (Herzen ohne Transplantation) zu detektieren. Der Nachweis über die Neutrophile Elastase-Färbung des Zell-Lysates aus dem Knochenmark zeigte deutlich eine Verminderung der Aktivität in der BI-9740-Gruppe gegenüber der Placebogruppe. MPO-positive Zellinfiltration, die Immunaktivität bezüglich CatC und Nitrotyrosin und die Anzahl der PARP-1-positiven Zellen waren in der Placebogruppe signifikant erhöht verglichen mit der Kontrollgruppe, aber deutlich erniedrigt in der BI-9740-Gruppe.

Im implantierten Herzen konnte in der BI-9740-Gruppe gegenüber der Placebogruppe Folgendes beobachtet werden: Verbesserung der systolischen Funktion: LV systolischer Druck 110 ± 6 vs 74 ± 6 mmHg; maximaler Anstieg des LV-Drucks dP/dt_{max} 2782 ± 149 vs 2076 ± 167 mmHg/s, LV entwickelter Druck 105 ± 6 vs 71 ± 6 mmHg, bei einem intraventrikulären Volumen von 200 μ l, $p < 0.05$ und Verbesserung der diastolischen Funktion: maximaler linksventrikulärer Druckabfall dP/dt_{min} 2096 ± 252 vs 1505 ± 143 mmHg/s, bei einem intraventrikulären Volumen von 170 μ l, $p < 0.05$.

Die pharmakologische Inhibition des CatC reduziert signifikant die Aktivitäten der neutrophilen Elastase und von Cathepsin G im Knochenmark, was zu einer Verbesserung sowohl der systolischen als auch diastolischen Funktion des transplantierten Herzens führt und somit vor IR-Schäden schützt. Dieser vorteilhafte Effekt beruht auf der verringerten Infiltration von Neutrophilen, einem reduzierten nitrosativen Stress im Myokard und einer Inhibition der entzündlichen Prozesse. Diese Faktoren zusammengenommen reduzieren die Apoptose des Myokards nach einem IR-Schaden. Zudem fördert die Behandlung mit BI-9740 eine schnellere Erholung des Transplantats, was durch die signifikant verkürzte Zeitspanne gezeigt werden konnte bis das Herz wieder zu schlagen beginnt.