

Xiaowei Zha

Dr. med.

Transplantation of LPS, IL-4 and TGF- β -induced macrophages promotes recovery of motor function after spinal cord injury in rats

Fach/Einrichtung: Neurochirurgie

Doktorvater: PD Dr. med. Alexander Younsi

Die traumatische Rückenmarksverletzung (SCI) ist eine schwerwiegende Erkrankung, die das Leben der Betroffenen erheblich beeinträchtigt und zu gravierenden Folgen wie Lähmungen und sensorischen Funktionsstörungen führt. In den letzten Jahrzehnten wurden verschiedene therapeutische Ansätze zur Behandlung von SCI in präklinischen und klinischen Studien untersucht. Dazu gehören Therapien mit bioaktiven Materialien, Exosomen, Zelltransplantation, Mikroglia-Regeneration oder die Erforschung der Darm-ZNS-Achse. Erst kürzlich wurde auch die Transplantation von Makrophagen/Mikroglia als potenzielle Behandlungsmethode zur Förderung der Regeneration nach SCI erkannt.

Makrophagen gelten als hochplastische Zellen und stehen in enger Verbindung mit regenerativen Prozessen. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Transplantation pro-regenerativer Makrophagen die Genesung nach SCI fördern kann.

Unsere hier vorgelegten in vitro-Untersuchungen ergaben, dass durch eine Mischung aus LPS, IL-4 und TGF- β Makrophagen induziert werden können (Mi), welche verstärkt pro-reparative Marker exprimieren und die Regeneration fördern. In einer darauffolgenden in vivo-Studie randomisierten wir 48 weibliche Wistar-Ratten in vier Behandlungsgruppen: Gruppe 1 unterzogen wir einer Scheinoperation, Gruppe 2 erhielt eine experimentelle SCI mit anschließender Verabreichung eines Vehikels, Gruppe 3 erhielt nach SCI die Induktoren LPS, IL-4 und TGF- β , und Gruppe 4 erhielt nach SCI eine Mi-Transplantation. Die SCI wurde dabei durch einen 28 g Aneurysma-Clip auf Höhe von T9 im Sinne eines thorakalen Kompressions-/Kontusionsmodells erzeugt. Die intramedulläre Transplantation von 1×10^6 Makrophagen, Induktoren oder Vehikel erfolgte unmittelbar nach der Verletzung mithilfe eines stereotaktischen Systems. In den darauffolgenden zwei Wochen wurden die Catwalk-Ganganalyse, der BBB openfield Test und der Gridwalk-Test durchgeführt, um die funktionelle Erholung zu bewerten. Zwei Wochen nach der Verletzung wurden die verbleibenden Tiere euthanasiert, ihre Körper mit PBS perfundiert, um Blutreste zu entfernen, und die Rückenmarkgewebe entnommen und in 30 μ m dicke Querschnitte kryosektioniert. Anschließend wurde eine Immunfluoreszenzfärbung durchgeführt, und die gefärbten Schnitte wurden mit einem Konfokalmikroskop analysiert. Die resultierenden Daten wurden statistisch verglichen, um die histologische und funktionelle Erholung zu bewerten.

Unsere in vivo-Ergebnisse zeigten, dass Tiere der Mi-Transplantationsgruppe eine signifikant geringere proinflammatorische M1-Makrophagenaktivierung im Vergleich zu den unbehandelten Vehikel-Tieren aufwiesen. Darüber hinaus zeigte sich eine deutliche Zunahme der antiinflammatorischen M2-Makrophagenaktivierung in der Mi-Gruppe. Zusätzlich wurde zwei Wochen nach SCI ein erhöhtes Überleben von Neuronen und Oligodendrozyten, eine deutliche Reduktion apoptotischer Zellen sowie signifikant kleinere posttraumatische zystische Kavitäten in der Mi-Gruppe festgestellt. Auch der Myelinisierungsprozess im geschädigten Rückenmark war in

der Mi-Gruppe im Vergleich zur Vehikel-Gruppe deutlich stärker ausgeprägt. Die Verhaltensanalysen ergaben zudem signifikant höhere BBB open field Ergebnisse unmittelbar nach der Verletzung sowie eine deutliche Reduktion von Fehlritten im Gridwalk-Test am Ende des Versuchszeitraums in der Mi-Gruppe im Vergleich zu Tieren, die nur einen Vehikel erhalten hatten. Erwartungsgemäß zeigte die objektivere Catwalk-Ganganalyse eine signifikante Verbesserung in der Mi-Gruppe. Die Induktor-gruppe zeigte in einer begrenzten Anzahl von Catwalk Parametern ebenfalls eine gewisse Verbesserung.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Mi-Transplantationsmethode verschiedene sekundäre Schadensprozesse signifikant beeinflusst. Insbesondere die funktionelle Erholung zeigte innerhalb von zwei Wochen nach SCI eine rasche Verbesserung. Unsere Arbeit legt nahe, dass die Kombination aus LPS, IL-4 und TGF- β das Reparaturpotenzial von Makrophagen verstärken kann. Darüber hinaus bestätigen wir, dass die Transplantation solcher induzierter Makrophagen in das verletzte Rückenmark nach SCI einen therapeutischen Nutzen haben könnte.