

Zusammenfassung der Arbeit

Die normale physiologische Funktion der Organe und der Gewebe ist von einer adäquaten Blutversorgung abhängig. Stenosierende Prozesse der Magistralarterien, wie z.B. infolge der Atherosklerose, können akut oder langfristig die Vitalität einzelner Organe und damit des gesamten Organismus gefährden. Der Körper verfügt über einen Mechanismus, der eine akute oder chronische Reduktion der Durchblutung effektiv kompensieren kann. Durch Weiterentwicklung präexistenter arteriöler Shunts zu Kollateralarterien kann eine betroffene Region unter bestimmten Umständen versorgt werden. Dieser Mechanismus wird als Arteriogenese bezeichnet.

Die Arteriogenese (Kollateralarterienwachstum) ist mit der Akkumulation von Makrophagen assoziiert. Einer der stärksten Stimulatoren der Arteriogenese ist das monozytenaktivierende- und anlockende Chemokin MCP-1. Seine Wirkung auf die Kollateralarterienentwicklung wurde von Ito et al. beschrieben. Der genaue Mechanismus, über den MCP-1 zu einer Steigerung der Kollateralkonduktanz führt, blieb jedoch bisher unbekannt. Es lag zuerst nahe, dass MCP-1 über eine vermehrte Rekrutierung zirkulierender Monozyten indirekt das Kollateralarterienwachstum fördert. Eine kürzlich veröffentlichte Studie (Salzedo et al.) zeigt jedoch, dass MCP-1 auch eine direkte Wirkung auf Endothelzellen hat. Zudem war die Rolle, die Monozyten/Makrophagen beim Kollateralarterienwachstum spielen, unbekannt. Die Herkunft der Makrophagen um das wachsende Kollateralgefäß war ebenfalls nicht gesichert. Es wurde angenommen, dass diese aus einwandernden Monozyten entstehen. Gezeigt wurde dies für das Kollateralarterienwachstum jedoch nicht.

Ziel der Arbeit war es die Akkumulation von exsudativen und Gewebsmakrophagen während des Kollateralarterienwachstums zu quantifizieren und die Kinetik der Makrophagenakkumulation und Kollateralarterienproliferation in Beziehung zu setzen. Weiterhin sollte die Auswirkung einer Behandlung mit MCP-1 auf die Proliferation der Kollateralarterien und die Akkumulation exsudativer und gewebsständiger Makrophagen um die Kollateralarterie untersucht werden. Zudem sollte die Rolle monozytärer Zellen für die Akkumulation von perivaskulärer Makrophagen während des Kollateralwachstums und die Proliferation von Kollateralarterien nach Reduktion dieser Zellen durch Zyklophosphamid bestimmt werden.

Nach Ligatur der Femoralarterie wurde PBS bzw. MCP-1 über eine osmotische Minipumpe für 7 Tage in die Kollateralarterienzirkulation infundiert. Die Gefäßproliferation wurde nach kontinuierlicher Gabe von BRDU (Bromdesoxyuridin), das sich in teilende Zellen einbaut, bestimmt. Die Anzahl der Kollateralarterien wurde nach Anfertigung von post mortem Angiographien in zwei Ebenen dreidimensional unter stereoskopischer Sicht ermittelt. Zur Bestimmung der Anzahl der exsudativen und residenten Makrophagen wurde 4-5 Schnitte mit entsprechendem Marker (ED2 und KI-M2R für residente Makrophagen; ED 3 und TRPM-3 für exsudative Makrophagen) gefärbt und die um das Gefäß akkumulierende Makrophagen ausgezählt.

Zusammenfassung der Arbeit

Die Proliferation der Kollateralarterien unterliegt einer zeitlichen Kinetik. 7 Tage nach Ligatur der Femoralarterie bei Ratten kommt es zu einem Anstieg der Proliferationsgeschwindigkeit in den Kollateralarterien (80% des sieben Tagewertes). Dabei konnten wir zeigen, dass die parallel dazu ablaufende Akkumulation verschiedener Makrophagenimmunphänotypen um die Kollateralarterie ihr Maximum (ca. 120%) zum gleichen Zeitpunkt erreicht. Nach MCP-1 Gabe konnten wir eine Steigerung der Anzahl der rekrutierten Kollateralarterien um 25% zeigen. Während in der PBS Gruppe (Kontrollgruppe) im Durchschnitt 59% der Gefäßwandzellen proliferierten, steigerte MCP-1 die Proliferation in der Gefäßwand der Kollateralarterien um weitere 15 %. Die in früheren Arbeiten beschriebene Assoziation zwischen Arteriogenese und perivaskulärer Akkumulation von Monozyten/Makrophagen wurde erstmalig immunphänotypisiert und außerdem für einzelne Makrophagensubpopulationen quantifiziert. MCP-1 steigerte im Vergleich zur PBS- Kontrollgruppe die Akkumulation perivaskulärer Makrophagen aller Immunphänotypen um die Kollateralarterie um weitere 24-33% für alle Subpopulationen (exsudative und residente Makrophagen).

Die strenge Assoziation der Arteriogenese mit der perivaskulären Makrophagenakkumulation hat die Frage nach ihrer Herkunft aufgeworfen. In diesem Zusammenhang wurde die Rolle von Blutzellen und speziell von Monozyten während der Arteriogenese kontrovers diskutiert. Wir haben 7 Ratten einer chemischen Knochenmarkdepletion mit Zyklophosphamid (120 mg/KgKG) vor der Induktion der Arteriogenese unterzogen, um die Rolle blutzirkulierender Zellen auf die Schlüsselprozesse der Arteriogenese (Gefäßwandproliferation und perivaskuläre Makrophagenakkumulation) zu untersuchen. 5 Tage vor Femoralarterienverschluß behandelten wir Ratten mit Zyklophosphamid und erreichten dadurch eine Absenkung der zirkulierenden weißen Blutzellen auf unter 1% der ursprünglichen Population. Überraschenderweise konnten wir weder einen Einfluss auf die Proliferation von Kollateralarterien noch auf die parallel dazu verlaufende Makrophagenakkumulation 3 Tage nach Femoralarterienligatur feststellen. Die fehlende Minderung in der Proliferationsrate der Intima/Media der Kollateralarterien trotz maximaler Reduktion der zirkulierenden Monozyten, zeigt, dass die Monozytenmigration keinen limitierenden Schritt in der Proliferation der Kollateralarterien darstellt.

Die Funktionen, die den Monozyten zugesprochen wurden, wie Produktion der Zytokinen und proteolytische Fähigkeiten können von perivaskulären Makrophagen, die in großen Quantitäten auch vor der Arteriogeneseinduktion vorhanden sind und deren Akkumulation unabhängig von zirkulierenden Monozyten ist, übernommen werden. Diese Arbeit weist erstmalig die dominierende Rolle residenter Makrophagen während des Kollateralwachstums nach und relativiert die Bedeutung zirkulierender Zellen für die Arteriogenese.