

6. Zusammenfassung

In der Pathogenese von Gefäßkrankheiten wie Arteriosklerose spielen Inflammation und Blutgerinnungssystem eine zentrale Rolle. Inflammatorische Prozesse können zu Veränderungen des hämostatischen Gleichgewichts des Endothels führen. TF, früher auch Gewebsthromboplastin genannt, nimmt dabei als Initiator des extrinsischen Blutgerinnungssystems eine bedeutende Funktion ein. In mehreren Studien ließ sich eine Induktion von TF in Endothelzellen nachweisen, die durch proinflammatorische Zytokine ausgelöst wurde, wodurch sich ihre Thrombogenität steigerte. Neuere Arbeiten beschreiben eine alternativ gespleißte TF-Isoform, die im Gegensatz zur „full-length“ Variante nicht membranständig, sondern löslich ist. Ob in Endothelzellen die Expression dieser TF-Isoform bzw. ihre Freisetzung durch spezifische Agonisten induziert werden kann, ist noch nicht untersucht worden. Bislang ebenfalls unbeantwortet ist die Frage, ob die lösliche TF-Isoform zur zellulären Thrombogenität beiträgt. Daher wurde in dieser Arbeit die Wirkung der proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-6 auf die Expression von TF und seiner alternativ gespleißten Isoform in Endothelzellen erforscht. Ferner wurde das prokoagulatorische Potential des löslichen TF mit dem von Mikropartikel-assoziiertem TF verglichen. Nach Stimulation mit den proinflammatorischen Zytokinen kam es zu einer raschen mRNA-Expression der Isoform, wohingegen die Induktion von „full-length“ TF zeitlich verzögert auftrat. Die Behandlung mit Zytokinen führte somit zu einer unterschiedlichen Expression von TF und seiner Isoform. Die lösliche TF-Isoform wurde nach Stimulation mit Zytokinen aus den Zellen in den Überstand sezerniert. Dort förderte sie die Bildung von F Xa in Gegenwart von Phospholipiden.

Die Ergebnisse aus Inhibitionsversuchen dieser Arbeit geben Anlass zur Vermutung, dass das alternative Spleißen von TF auf eine durch CDC2-ähnliche-Kinasen (CLK)-vermittelte Phosphorylierung von SR-Proteinen zurückzuführen ist.

Antiproliferative Therapien wie beispielsweise die Strahlentherapie sind mit dem klinisch bedeutsamen Auftreten von Gewebsthrombosen und –fibrosen assoziiert. Daher wurde im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit die Wirkung ionisierender Strahlung auf die endotheliale TF-Expression untersucht. Es zeigte sich, dass ionisierende Strahlung im zeitlichen Verlauf zu einem gleichmäßigen Anstieg der mRNA-Expression beider TF-Isoformen führte und somit keine differentielle Expression induzierte. Die Stimulation bereits bestrahlter Zellen mit TNF- α führte zu einer verstärkten Freisetzung thrombogener Mikropartikel. Ihre Freisetzung korrelierte positiv mit der Apoptoserate stimulierter Zellen sowie mit der Bildung reaktiver Sauerstoff-Spezies. Beim Vergleich des prokoagulatorischen Potentials von löslichem TF und Mikropartikel-assoziiertem TF erwies sich asTF trotz seiner Fähigkeit zur Umsetzung von F X zu Xa als weniger bedeutsam. Allerdings könnte die alternativ gespleißte TF-Isoform auf Grund ihrer frühen Freisetzung als prognostischer Marker für ein hämostatisches Ungleichgewicht des Endothels bei entzündungsbedingten Erkrankungen dienen.

Zusätzlich wurde in dieser Arbeit der Einfluss der Antioxidantien Pyrrolidindithiocarbamat (PDTC) und N-Acetylcystein (NAC) auf die strahlungs- und TNF- α -induzierte Expression der TF-Isoformen untersucht. Die Vorbehandlung mit dem Antioxidans PDTC führte zu einer deutlicheren Reduktion von ROS als mit NAC und verminderte die Apoptoserate stimulierter Zellen, wodurch die Freisetzung thrombogener Mikropartikel reduziert wurde. Antioxidantien könnten sich daher als

nützliche Begleitmedikation erweisen, um nach Bestrahlung bzw. bei entzündlichen Erkrankungen vor thrombotischen Ereignissen zu schützen.

Weiterführende Untersuchungen, aufbauend auf den Ergebnissen dieser Arbeit, sind notwendig, um die (patho-)physiologische Bedeutung der alternativ gespleißten TF-Isoform, sowie ihre Tauglichkeit als klinischer Marker zu validieren.