

5. Diskussion

Die Herztransplantation ist auch heute noch die Therapie der Wahl bei terminaler Herzinsuffizienz.

Es gibt heute zwar die Möglichkeiten durch Unterstützungssysteme (BVAD – biventricular assist device, LVAD – left ventricular assist device, ICD – internal cardioverter defibrillators, u. s. w.) einen gewissen Zeitraum zu überbrücken, letztendlich ist dies aber keine dauerhafte Lösung.

Eine Annuloplastik der Mitralklappen setzt einen größtenteils intakten Herzmuskel voraus, um als erfolgreich gewertet zu werden. Die Resektion von vernarbten und hypertrophierten Muskelgewebes der linken Ventrikelwand, kann auch nur Erfolg haben, wenn große Teile des Herzmuskels noch voll funktionsfähig sind (BOLLING, 2001).

Es bleibt diesen Patienten daher auch heute nur die Transplantation als Erfolgsversprechende Therapie.

Seit der ersten Hals-Herztransplantation von CARREL (1905) und den Erfahrungen von MEDAWAR (1944) während des zweiten Weltkrieges auf dem Gebiet der Hauttransplantation wurde weltweit und mit großem Erfolg auf dem Transplantationssektor geforscht.

Zuerst war sicherlich die Operationstechnik am wichtigsten (MANN et al., 1933, BARNARD, 1968, HARDY und CHAVEZ, 1968, SEN, 1968, HARDY und CHAVEZ, 1969), doch durch die Erfahrungen auf dem Gebiet der Immunologie, rückten die Abstoßungsreaktionen immer mehr in den Vordergrund der Forschungsarbeiten.

Beim heutigen Stand der Forschung hat man eine genaue Vorstellung über den zeitlichen Ablauf der verschiedenen Abstoßungsperioden (hyperakut, akut und chronisch) (KNIERIEM, 1971) und auch die Art der Immunantwort (zellulär, humoral oder gemischt) (BILLINGHAM, 1987, HAMMOND, 1989, KNIERIEM, 1997) ist erforscht. Hierdurch hat man die Möglichkeit eine gezielte Therapie mit entsprechenden Immunsuppressiva anzusetzen (LURIE, 1981, GRAUHAN, 1998). Trotzdem gibt es auch auf diesem Gebiet noch genügend ungeklärte Fragen.

Ein weiteres größeres Problem der Transplantationsmedizin ist in Forschungsarbeiten in den Hintergrund gerückt : die Spenderfrage.

Wie die statistischen Ausführungen von HOSENPUD et al. zeigen (HOSENPUD, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001), stagniert die Zahl der Transplantationen trotz steigender Zahl der Transplantationszentren und ansteigender Zahl der Patienten auf den Wartelisten. Dies betrifft nicht nur die Herztransplantation, sondern gilt auch für alle anderen transplantablen Organe. Die Ursache ist der Mangel an kompatiblen Spendern.

Während Anfang der 80iger Jahre das durchschnittliche Spenderalter bei 20 Jahren lag, liegt es 1998 bei 28 Jahren (HOSENPUD, 1999), doch der Mangel an Organen wirft folgende Fragen auf: Wie groß ist die Chance, dass ein Patient mit terminalem Herzversagen erfolgreich ein Herz von einem älteren Spender (>45 Jahre) transplantiert bekommen kann? Ist sie kleiner oder gleich mit der Gefahr zu setzen, dass er verstirbt, während er auf einer Warteliste steht um auf ein Herz eines jungen Spenders zu warten? (BROCK, 2001)

Verschiedene Transplantationszentren haben ihre Daten in Bezug auf das Spenderalter ausgewertet (SCHULER, 1993, GAO, 1997, BENNETT, 1998, NOVICK, 1999, MEYER, 2000, DI STEFANO, 2001, REUTZEL-SELKE, 2001a, 2001b), aber trotz intensiven Literaturstudiums scheint es keine Forschungsarbeit zu geben, die sich ausschließlich mit dem Einfluss des Spender- und Empfängeralters auf die Art der Abstoßungsreaktionen befasst.

Dies nahmen wir zum Anlass für unsere Forschung.

5.1 Material und Methode

5.1.1 Versuchstiere und OP-Methode

Seit 1905 werden Herztransplantationen bei Tieren durchgeführt. In dieser Zeit haben sich verschiedene Wissenschaftler mit der Frage beschäftigt, welche Tierart und welche Operationsmethode die beste ist, um repräsentative Aussagen zu erhalten (ONO und LINDSEY, 1969, LIE et al., 1974, OESTERWITZ, 1985, 1988, CRAMER et al., 1989a, 1989b, 1990, ADAMS et al., 1992, 1993a, 1993b).

Es wurden erfolgreich Versuche mit Hunden, Kaninchen, Ratten, Affen, u. s. w. durchgeführt. Neben Hunden werden Ratten am häufigsten für diese Versuche eingesetzt. Doch auch hier gibt es innerhalb der Rassen Unterschiede. Laut ADAMS, KARNOWSKY, SHIN et al. (ADAMS et al., 1992, 1993a, 1993b, KARNOVSKY et al., 1994, SHIN et al., 1995) zeigen sich im Lewis-Fisher344-Modell die Ergebnisse, die sich am besten auf den Menschen übertragen lassen. Da die transplantierten Herzen auch einen Zeitraum von über 30 Tagen ohne Immunsuppressiva überleben, eignen sich diese Ratten gerade auch für die Erforschung von chroni-

schen Abstoßungsreaktionen (Langzeitüberleben bei den Empfängern) ohne Einfluss von Medikamenten.

Während bei Hunden die heterotope Transplantation im Zervikalbereich (CARREL, 1905, MANN, 1933, GRAUHAN, 1998) an erster Stelle steht, gibt man bei den Ratten der heterotopen Herztransplantation in der Bauchhöhle den Vorrang.

Die hier angewandte OP-Methode wurde von ONO und LINDSEY (1969) entwickelt. Der Unterschied zu der vorherigen Methode ist die End-to-Side-Anastomose der Aorta ascendens und der Pulmonalarterie mit den großen Bauchgefäßen (Arteria abdominalis und Vena cava caudalis).

OESTERWITZ (1985, 1988) modifizierte diese Methode geringfügig, indem er die Herzgefäße des Spenderherzens nach Entnahme der rechten Niere mit den Nierengefäßen verband. Der Vorteil ist eine geringfügig kürzere Operationszeit, die aber für unsere Auswertungen keine Rolle spielt.

Für die Erforschung der Abstoßungsreaktionen nach einer Herztransplantation ist die heterotope abdominale Herztransplantation nach ONO und LINDSEY (1969) mit Lewis- und Fisher344-Ratten ein sehr geeignetes Modell.

5.1.2 Histologische und immunhistologische Methoden

Die Tierversuche wurden im Universitätsklinikum Charite, Standort Mitte, Abteilung Experimentelle Herzchirurgie, durchgeführt, wodurch die Herzen erst ins DHZB transportiert werden mussten, und sie daher einer z. T. unterschiedlichen Fixierungszeit unterlagen. Diese kann sich auf die verschiedenen Färbungen auswirken und z.B. zu einer stärkeren Anfärbbarkeit führen.

Die histologischen Untersuchungen wurden im Arbeitsbereich der Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin, Deutsche Stiftung bürgerlichen Rechts durchgeführt. Die angewandten Färbungen werden routinemäßig zur pathohistologischen Diagnostik angewandt und haben sich auch in vorangegangenen Forschungsarbeiten bewährt (MUSCI, 1996, GRAUHAN, 1998, HIEMANN, 1998, 1999, 2001, GÖTZE, 2003).

Die Auswertungen wurden zum Teil im Doppelblindversuch durchgeführt.

Die Ergebnisse nach dem ISHLT-Standard wurden nach den 1990 vom Komitee der Internationalen Herz- und Lungentransplantation (BILLINGHAM, 1990) erarbeiteten Kriterien erstellt.

Die Untersuchung des Anteils des Binde- und des Narbengewebes wurden mit Hilfe eines speziell entwickelten Mikroskopbildanalyseverfahrens durchgeführt. Dieses wird auf die Farbtintensität jedes Präparats vor der Messung kalibriert, so dass fixierungsbedingte Überfärbungen nicht ins Gewicht fallen. Diese Methode der Fibrosediagnostik wird routinemäßig bei der Auswertung der Herzbiopsien im DHZB eingesetzt.

Für die Vaskulitisauswertung wurden nur Gefäße mit einer Membrana elastica interna verwendet, um eventuelle Fehldiagnosen bei den veränderten und verschlossenen Gefäßen auszuschließen.

Die in der immunhistologischen Auswertung verwendeten Antikörper waren vorher an gesunden Rattenlymphknoten getestet worden, um sicherzustellen, dass sie für den entsprechenden Nachweis geeignet sind.

Die sinnvolle Anwendung der Immunhistologie zur detaillierteren Auswertung der pathologischen Veränderungen in Geweben, speziell des Myokards wurde von mehreren Wissenschaftlern nachgewiesen (GÜLICHER, 1992, TOUSSAINT, 1994, MUSCI, 1996, HIEMANN, 1998, 1999, 2001).

5.2 Ergebnisse

5.2.1 ISHLT-Standard

Die Tiere aller 4 Gruppen zeigen massive Abstoßungsreaktionen. Die Werte liegen zwischen 3A und 4 beim ISHLT-Standard.

Beim Tier 4 (Gruppe 1/Tier 4) fehlen beim Schnitt Anteile des LVOR, SO und RVOR und es sind noch Teile des Annulus fibrosus mit angeschnitten, da das restliche Herz nach ISHLT 4 einzustufen ist, kann man davon ausgehen, dass dies beim nicht vorhandenen Rest auch der Fall ist.

Die Gruppe 2 (alt auf jung) weist eine größere Streuung als die anderen Gruppen auf (s. Abb. 1). Da nur 8 Tiere den Versuch überlebt haben und somit nur deren heterotop transplantierten Herzen der Auswertung zur Verfügung standen, hätte sich der Mittelwert nach dem ISHLT-

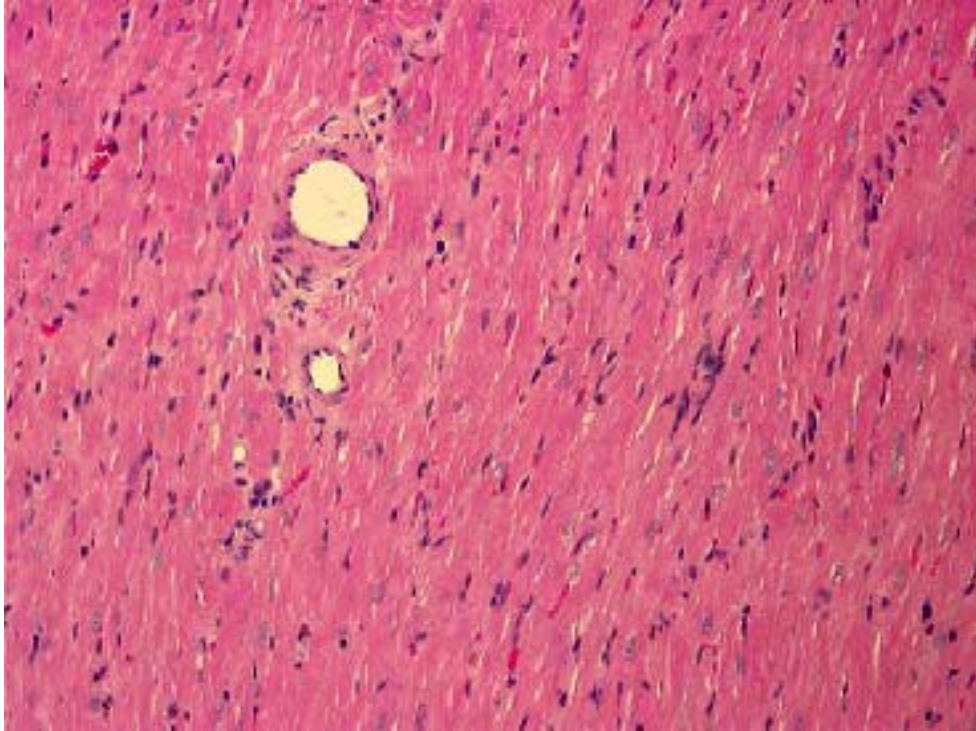


Abbildung 17: ISHLT 3a (Gruppe 1/ Tier 9) : zelluläre Infiltrate, keine Beteiligung der Gefäße (100er Vergr., HE-Färbung)

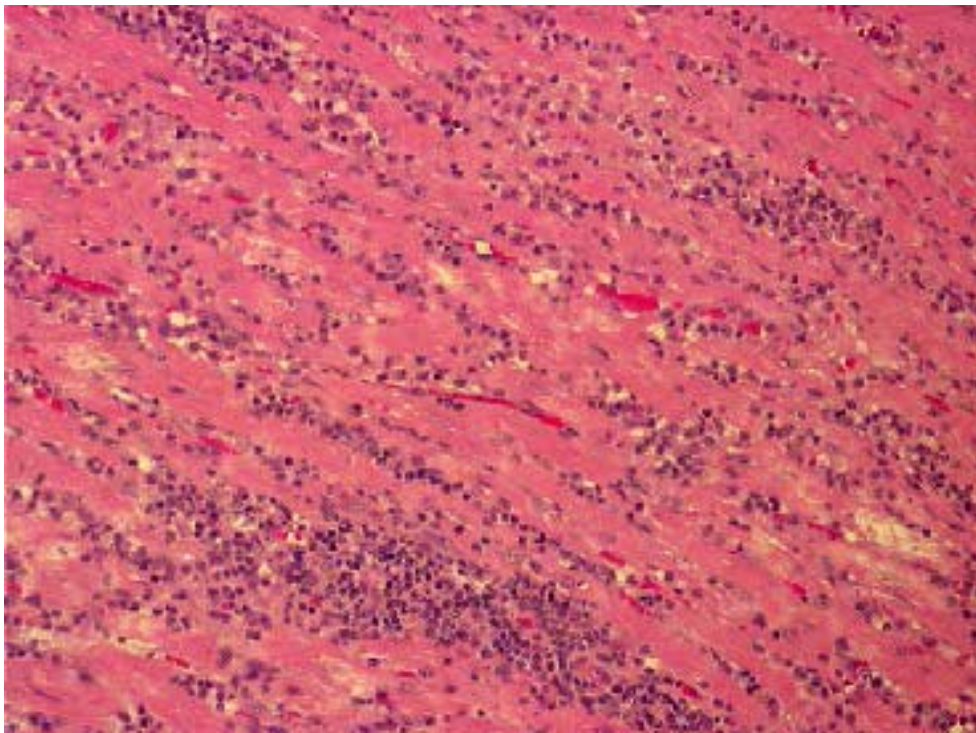


Abbildung 18: ISHLT 4 (Gruppe 1/ Tier 1) : massive, zelluläre Infiltrate, interstitielles Ödem, Hämorrhagien (100er Vergr., HE-Färbung)

Standard zu 3A ändern können. Dies hätte aber keine signifikanten Änderungen zur Folge gehabt.

Das fehlende Tier in der Gruppe 4 (Gruppe 4/Tier 10) hätte kaum Einfluss auf die statistischen Daten gehabt, da sich bis auf 2 Tiere alle nach ISHLT 4 einteilen lassen.

Bei der statistischen Auswertung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (s. Tabelle 41: $p > 0,0083$ – Korrektur nach BONFERRONI), was zu der Schlussfolgerung führt, dass das Alter von Spender und Empfänger keinen Einfluss auf den Stärkegrad der Abstoßungsreaktion, gemessen an dem ISHLT-Standard hat.

5.2.2 Fibroseauswertung

Der Mensch hat im Durchschnitt Physiologischerweise einen Bindegewebsanteil von 7,0 Vol%, bei der Ratte liegen die Angaben zwischen 9 bis 15 Vol%. In unseren Studien sind wir davon ausgegangen, dass ein Bindegewebsanteil von bis zu 10 Vol% als physiologisch anzusehen ist. Als hochgradig pathologisch werden Befunde mit einem Anteil von über 20 Vol% bezeichnet.

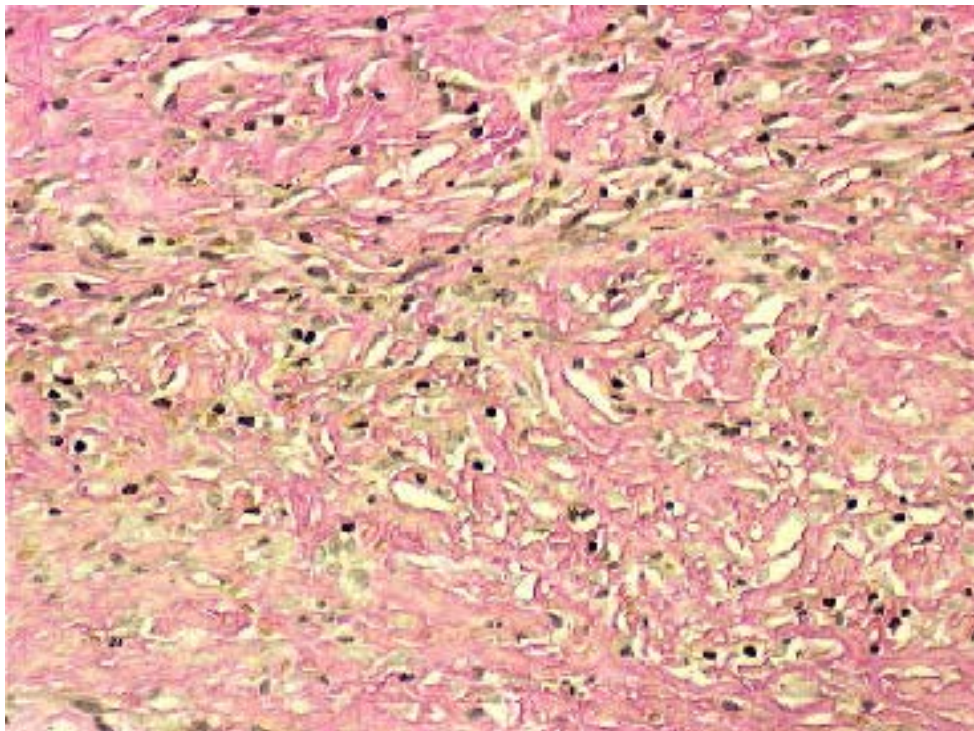


Abbildung 19: extreme Fibrose (Gruppe 3/ Tier 2), kein intaktes Myokard sichtbar (100er Vergr., DOWMAGK-Färbung)

Da der Schnitt des Tieres 4 (Gruppe 1/Tier 4) unvollständig ist und auf der Höhe des Annulus fibrosus gemacht wurde, ist es verständlich, dass der Fibrosegehalt höher ausfallen würde. Es sind aber nur Messungen im Myokard aussagekräftig, und daher wurde dieses Tier aus der Wertung genommen.

Der Median der Gruppe 1 liegt bei 8,5 Vol% (s. Tab. 2) im physiologischen Bereich. Der Mittelwert mit 12,54 Vol% ist aber schon als pathologisch zu werten. Durch die Unterteilung der Gruppen in Untergruppen nach der Einteilung physiologisch, pathologisch und hochgradig pathologisch (s. Tab. 3) sieht man deutlich, dass der Anteil der Ratten der Untergruppe 1 ohne pathologische Bindegewebszunahme überwiegt.

Die Gruppe 2 weist wiederum die größte Streuung in der Auswertung auf. Der Median (s. Tab. 2) ist mit 18,19 Vol% als pathologisch, der Mittelwert mit 23,82 Vol% als hochgradig pathologisch einzustufen. In der Untergruppenaufteilung sieht man, dass die Anwesenheit der zwei fehlenden Tiere das Gleichgewicht in eine Richtung hätten verschieben könnten. Ob dies aber wirklich wichtig für die Hauptaussage dieser Arbeit ist, bleibt zu bezweifeln.

In der Gruppe 3 zeigen sich fibrotische Veränderungen im Myokard. Leider mussten drei Tiere aus der statistischen Bewertung genommen werden (Tier 19, 20 und 23). Es handelt sich in dieser Gruppe um die Herzen von jungen Ratten, die schon eine deutlich kleinere Querschnittsfläche zum Vermessen haben (s. Kap. 3 Abschn. 3.2.). Die Schnitte waren aufgrund ihrer massiven fibrotischen Veränderungen z. T. überfärbt. Da auch kein reguläres Myokard sichtbar war, gibt es bei diesen Schnitten keinen Kalibrationspunkt für das Mikroskopbildanalyseverfahren. Ohne diesen ist eine objektive Messung durch den Computer nicht möglich. Man sieht bei den Schnitten aber deutlich, dass auch diese Tiere in die Untergruppe 3 passen.

Der Median und der Mittelwert der Gruppe 4 sind fast identisch. Bei der Einteilung in die Untergruppen bestätigt sich dies: 75 % der Tiere zeigen pathologische Veränderungen. Da die Streuung in dieser Gruppe sehr gering ist (s. Tab. 2), würden die zwei fehlenden Tiere die Auswertung nicht wesentlich beeinträchtigen, zumal nur ein Tier wirklich fehlt. Tier 34 (Gruppe 4/Tier 6) zeigt die gleiche Problematik wie oben schon erwähnt, es ist kein intaktes Myokard sichtbar, und die bindegewebigen Veränderungen stehen im Vordergrund.

Bei der statistischen Auswertung zeigt sich kein signifikanter Unterschied bei dem Vergleich der Gruppe 1 mit den Gruppen 2 und 4 (s. Tabelle 41: $p = 0,036$, bzw. $0,370$), und dem Vergleich der Gruppe 2 mit der Gruppe 3 ($p = 0,009$). Die anderen Vergleiche der Gruppen zeigen signifikante Unterschiede (p zwischen $< 0,001$ und $0,005$).

Dies lässt die Aussage zu, dass das Alter von Spender und Empfänger einen signifikanten Einfluss auf die fibrotischen Veränderungen im Transplantat hat.

5.2.3 Narbenanteil

Für den Anteil des vernarbten Gewebes an der Fibrose findet man bei den einzelnen Gruppen die gleichen Tendenzen wie oben (s. 5.2.2.) dargestellt:

Der Narbenanteil der Gruppe 1 liegt im Durchschnitt bei 31,03 % (s. Tab. 4), und damit deutlich niedriger als bei den Gruppen 2 (54,87 %) und Gruppe 3 (75,66 %). Soweit ist dies mit der Fibroseauswertung zu vergleichen. Ein Unterschied zeigt sich beim Vergleich der Gruppe 1 mit der Gruppe 4: Trotz - wenn auch nur geringfügig - höheren Fibroseanteils im Vergleich zu Gruppe 1, ist weniger davon vernarbt (25,18 %) (s.Tab.4).

Bei den Auswertungen der Untergruppen erkennt man, dass nur in der Gruppe 2 die fehlenden Tiere eine Auswirkung auf die statistischen Werte hätten haben können. Es ist aber wiederum anzuzweifeln, ob dies bei der Gesamteinschätzung der Abstoßungsreaktionen eine Rolle spielt (s. Abb. 8 und Tab. 5).

Auch die statistischen Berechnungen ergaben eine ähnliche Tendenz, wie bei der Fibroseauswertung: Nur beim Vergleich der Gruppe 1 und 2 zeigten sich auch signifikanten Unterschiede ($p = 0,006$).

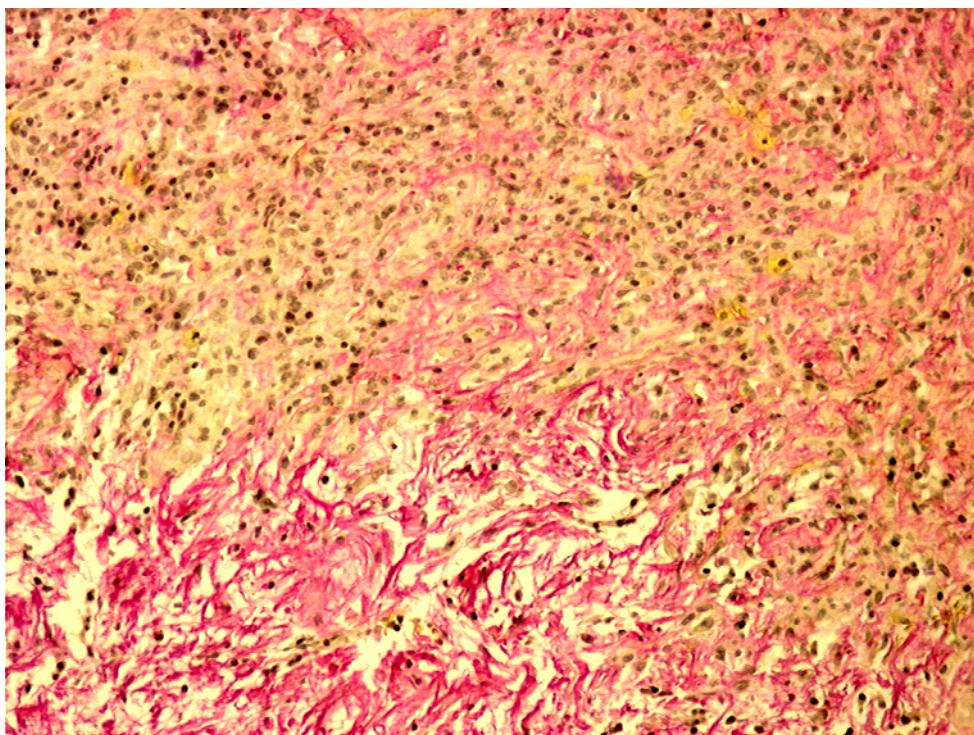


Abbildung 20: Vernarbung des Myokards (Gruppe 4/ Tier 6) (100er Vergr., DOMAGK-Färbung)

Das Alter von Spender und Empfänger hat auch auf die Narbenbildung innerhalb des Myokards nach Transplantation einen z. T. signifikanten Einfluss.

5.2.4 Vaskulitisauswertung

Die Auswertung der Gefäße/16 mm² und deren Veränderungen ergeben keine großen Unterschiede, weder beim Mittelwert noch beim Median (s. Tab. 6-8). Die Werte liegen zwischen 12 und 16 Gefäßen/16 mm². Einzig die Gruppe 4 zeigt bei den verschlossenen Gefäßen deutliche Unterschiede: Nur ca. ein Gefäß/16 mm² ist komplett verschlossen im Gegensatz zu drei bis fünf bei den anderen Gruppen (s. Tab.8). Bei dem Median (0 bzw. 3-4/16 mm²) wird dies noch deutlicher, hat aber bei der Signifikanzberechnung kaum eine Bedeutung (s. Tabelle 41: p = 0,14 bis 0,46).

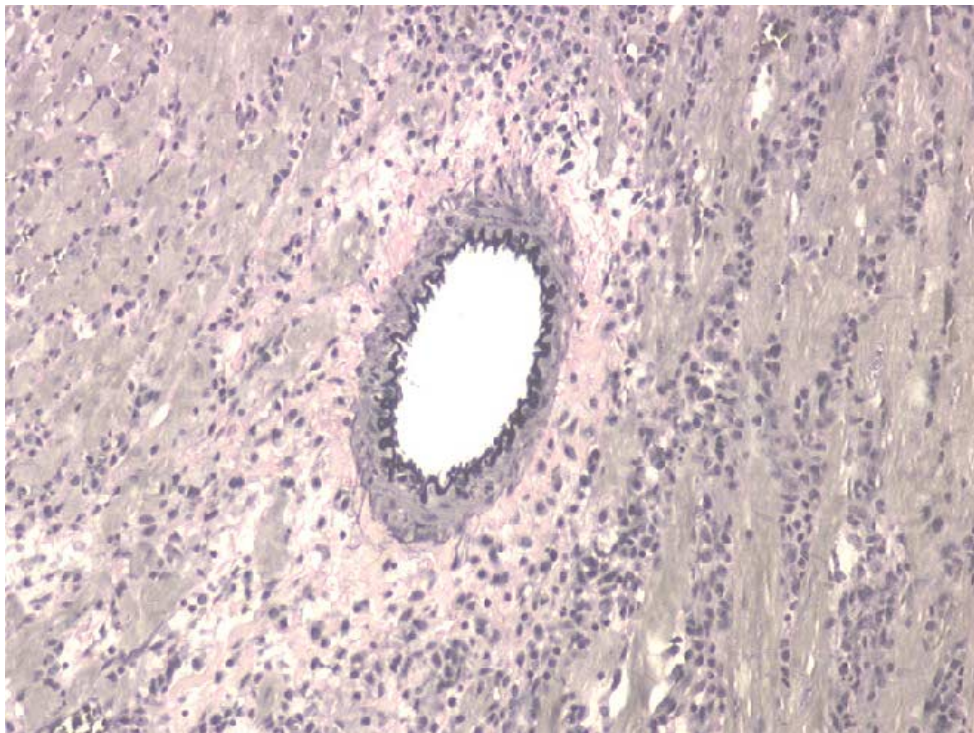


Abbildung 21: Arterie mit deutlich sichtbarer Membrana elastica interna (Gruppe 1/ Tier 1) (100er Vergr., ELASTICA-VAN-GIESON-Färbung)

Es darf jedoch nicht außer acht gelassen werden, dass nur Gefäße mit einer deutlichen Membrana elastica interna in die Auswertung kamen. LEMSTRÖM et al. (1995) konnten bei ihren Arbeiten nachweisen, dass der Beginn der vaskulären Veränderungen in den postkapillaren Venulen liegt. Diese wurden bei uns nicht weiter beachtet. Es wäre also möglich, dass die Ergebnisse bezogen auf die Vaskulitis-Auswertung höher ausfallen würden, wenn man die Kapillaren und das venöse System mit in die Auswertung nehmen würde.

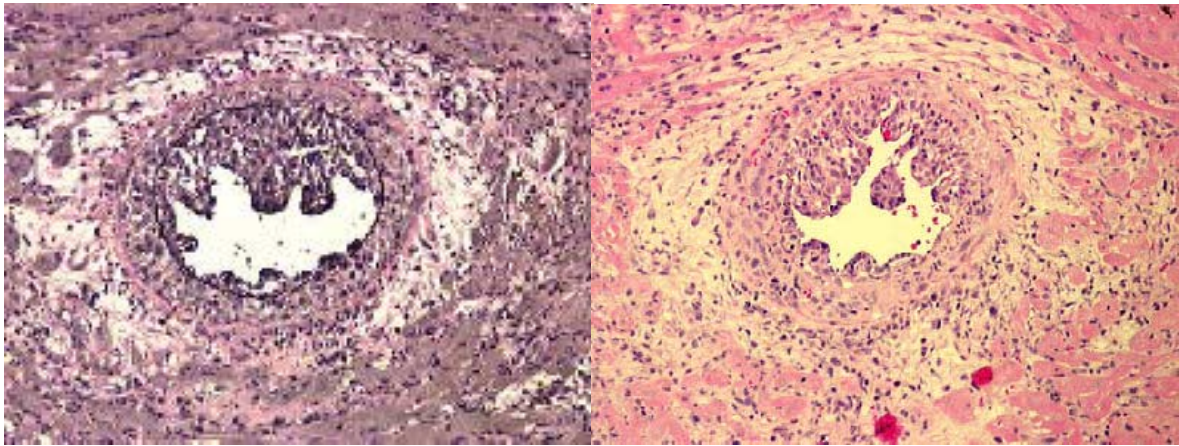


Abbildung 22: Schwellung und Proliferation der Endothelzellen einer Arteriole (Gruppe 1/ Tier 1) (200er Vergr., links: EVG-Färbung, rechts: HE-Färbung)

SCHÜLER et al. (1993) kommen bei den Auswertung ihrer Daten zu dem Ergebnis, dass die fokalen Gefäßveränderungen signifikant häufiger bei älteren Spendern vorkamen, während es bei den konzentrischen Veränderungen keine Unterschiede gab. Sie schlossen daraus, dass die fokalen Veränderungen, die sie mit einer Arteriosklerose gleichsetzen, durch den Spender übertragen werden.

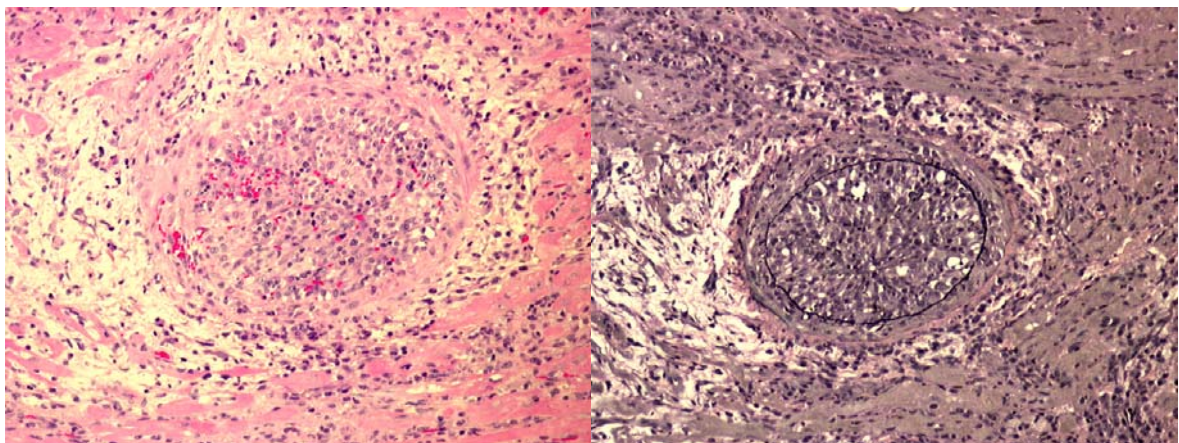


Abbildung 23: komplett verschlossene Arteriole (Gruppe 1/ Tier 1) (200er Vergr., links: HE-Färbung, rechts: EVG-Färbung)

Auch GAO et al. (1997) schoben die Ursache der Entstehung einer TVP auf die koronaren Vorerkrankungen des Spenders, d.h. die Herzen von Spendern, die vorher an keiner Gefäßkrankung litten, bildeten auch nach Transplantation keine TVP aus, unabhängig vom Spender- oder Empfängeralter.

In dieser Forschungsarbeit zeigen sämtliche Tiere konzentrische und keine fokalen Gefäßveränderungen - unabhängig vom Alter der Tiere, was uns zu der Schlussfolgerung führt, dass das Alter keinen Einfluss bei unseren Auswertungen hat.

5.2.5 T-Lymphozyten (Clone UCHL-1)

Die Gruppen 1, 3 und 4 zeigen im Mittel eine positive Aktivität der T-Zellen (s. Tab. 9), was auf eine akute zelluläre Abstoßungsreaktion schließen lässt. Die Gruppe 2 hingegen zeigt nur eine diskrete Aktivität. Die Ursache hierfür kann ein noch wenig ausgeprägtes Immunsystem und eine damit verbundene verlangsamte Immunantwort sein. Hier bestätigen sich die Ausführungen von IZUTANI et al.(1995) und TORI et al. (2000). Sie beschrieben, dass 1. T-Zellen schon nach kurzer Zeit (5 Tagen) im Transplantat zu finden sind und dass 2. ohne sie, sich eine TVP wesentlich später erst ausbilden würde.

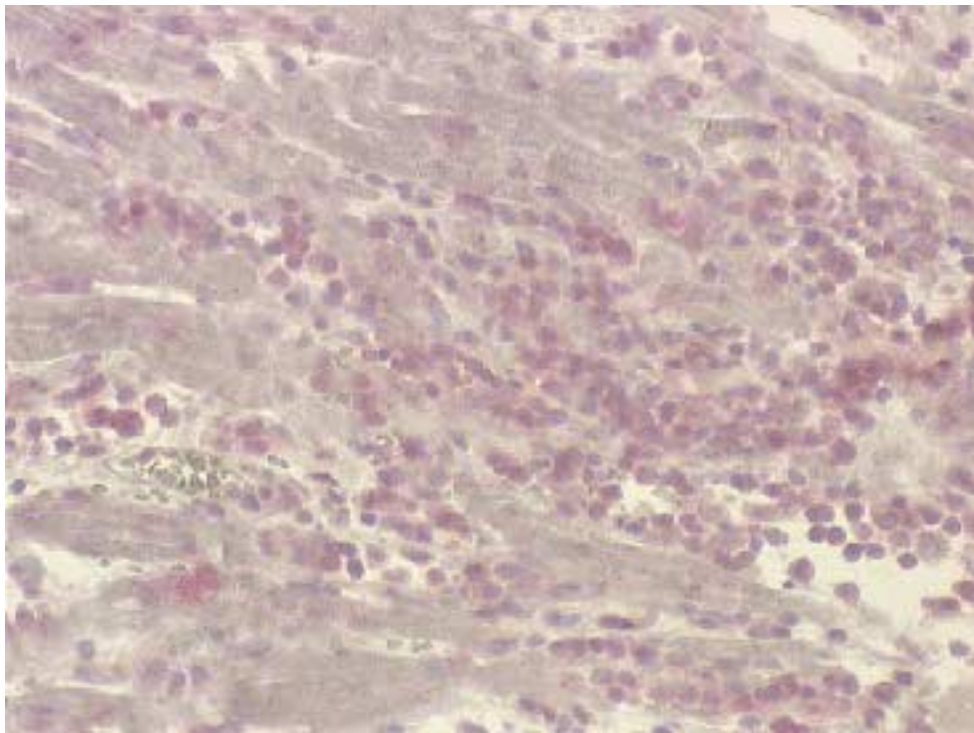


Abbildung 24: T-Lymphozyten, Aktivität 0,25 (Gruppe 2/ Tier 5), CloneUCHL-1 (400er Vergr.)

5.2.6 B-Lymphozyten (Clone MB 1)

Die Gruppe 1 zeigt eine positive, mit Trend zu stark positiver Reaktion (s. Tab. 10). Diese lässt auf eine humorale Immunantwort mit Ausbildung von Immunglobulinen schließen. In den Gruppen 2 und 3 kann man nur eine diskrete Aktivität von B-Zellen nachweisen. Die Gruppe 4 zeigt eine positive Aktivität der B-Zellen mit geringer Streuung, was wiederum auf eine humorale Immunantwort schließen lässt. Die Vermehrung der B-Zellen setzt erst später im Zuge der klonalen Selektion ein. Diese ist bei den Gruppen verzögert, in denen verschiedenen ausgebildete Immunsysteme aufeinander treffen.

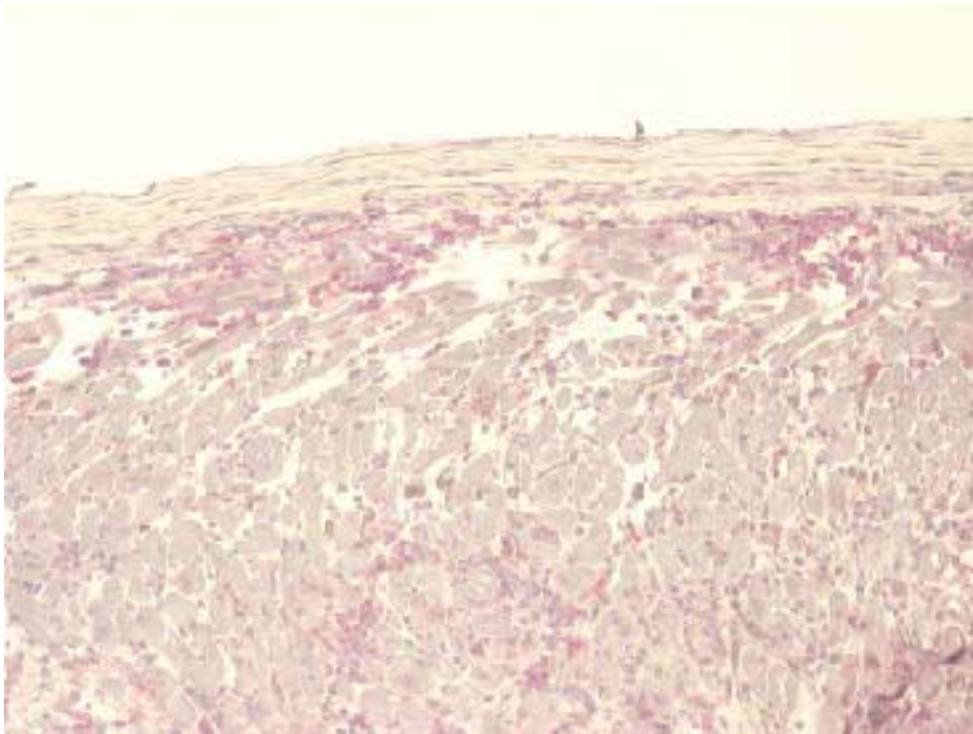


Abbildung 25: B-Lymphozyten, Aktivität 1,5 (Gruppe 1/ Tier 2), Clone MB 1 (100er Vergr.)

5.2.7 Makrophagen (Clone D11)

Makrophagen sind zum einen die Zellen der Primärantwort und zum anderen opsonieren sie nach Phagozytose den T-Zellen die Pathogene, um diese dadurch zu aktivieren. Es ist daher zu erwarten, sie in unterschiedlichen Ausmaß bei allen Abstoßungsreaktionen zu finden (MACPHERSON, 1984).

Die positiven Werte der Gruppe 1 sind auf das voll ausgebildete Immunsystem der alten Tiere zurückzuführen (s. Tab. 11). Die sehr geringe Ausprägung in der Gruppe 3 würde ich auf den Zeitfaktor schieben. Nach 4 Wochen ist die Primärantwort schon beendet, aber die Ausbildung der adaptiven Immunantwort ist noch nicht weit fortgeschritten.

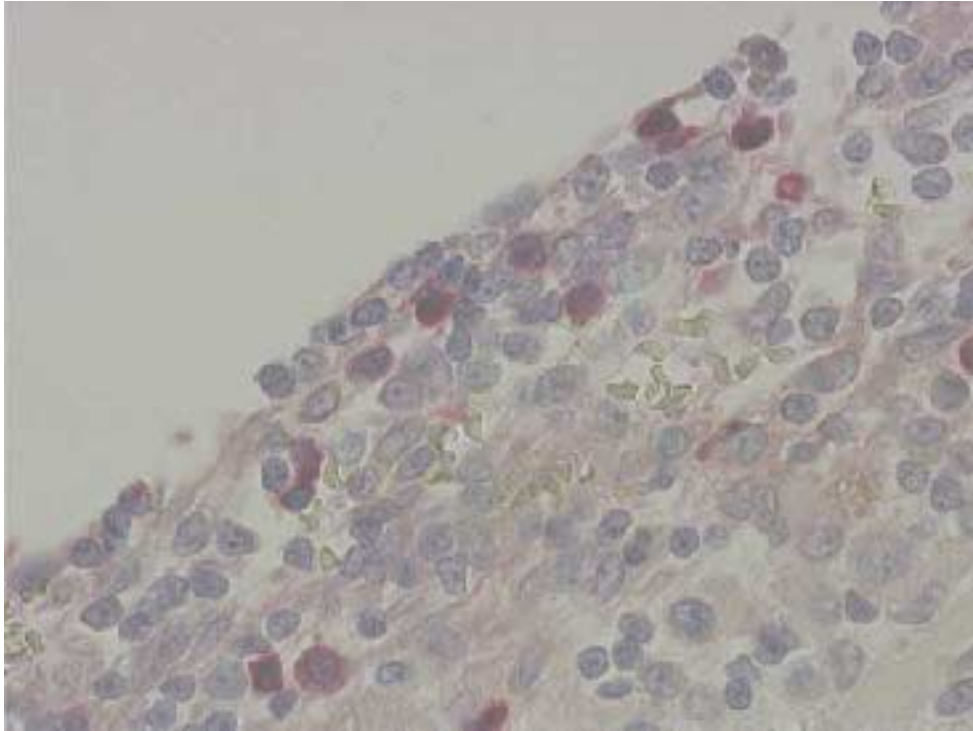


Abbildung 26: Makrophagen, Aktivität 1,0 (Gruppe 4/ Tier 1), Clone D11 (400er Vergr.)

5.2.8 Muskelaktin (Clone 1A4)

Sämtliche Tiere zeigen eine stark positive Aktivität des Muskelaktin-Antikörpers (s. Tab. 12).

Da die Abstoßungsreaktion nach der Endothelzellschwellung in den Gefäßen mit einer Proliferation der glatten Muskelzellen weitergeht, ist dieser Befund bei allen Gruppen zu erwarten. Statistische Berechnungen erübrigen sich bei einer Standardabweichung von 0,00 und komplett identischen Ergebnissen.

Vergessen darf man nicht, dass die Arterien mit einer Membrana elastica interna auch unter physiologischen Bedingungen glatte Muskelzellen in ihrer Wand haben, so dass man immer mit einer positiven Reaktion rechnen muss. Da keine Vermessungen der Wandstärke vorgenommen wurden, kann man die Ergebnisse nicht nur auf eine Transplantatvaskulopathie zurückführen.



Abbildung 27: Muskelaktin, Aktivität 2,0 (Gruppe 2/ Tier 3), Clone 1A4 (100er Vergr.)

AMANO et al. (1997) beschreiben ähnliche Ergebnisse in ihrer Arbeit. Zwar benutzten sie Kaninchen für ihre Forschung, aber sie gaben ihnen keine Immunsuppressiva, so dass die Ergebnisse einzig auf die immunologischen Einwirkungen des Empfängers zurückzuführen sind. Sie kommen zu dem Resultat, dass die Verletzung der Endothelschicht durch Immunkomplexe und die Infiltration von T-Zellen, die Ausbildung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren zur Folge hat, die eine Proliferation der glatten Muskelzellen bewirken.

AZIZ et al. (1995) kam bei seiner Forschung mit männlichen Ratten zu folgenden Ergebnissen: 1. Eine Verdickung der Intima ist zeitabhängig und nur bei allogenen Transplantaten zu finden und nicht bei syngenem. 2. Eine Endothelschädigung und die Infiltration von mononuklearen Zellen sind notwendig für die Entstehung einer Transplantatvaskulopathie. 3. Die Entwicklung einer Hyperplasie der Intima ist ursprünglich auf die Infiltration von Makrophagen und weniger auf die Lymphozyten zurückzuführen. Diese werden dann später durch die glatten Muskelzellen ersetzt. Nach 30 Tagen waren die am häufigsten nachgewiesenen Zellen glatte Muskelzellen (in der Media und der Intima), was auch bei unseren Versuchen nachzuweisen war.

5.2.9 Rattenspezifische Makrophagen (Clone ED1)

Auch dieser Antikörper ist vorher an gesunden Rattenlymphknoten getestet worden.

Wie die Ergebnisse von Clone D11 im Vergleich mit dem rattenspezifischen Clone ED1 zeigen (s. Tab. 11 und 13), sind hier Makrophagen in unterschiedlichen Aktivitätszuständen nachweisbar.

Es zeigt sich deutlich, dass es zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede gibt, und dass diese Makrophagen im Mittel keine bis zu einer diskreten Aktivität zeigen.

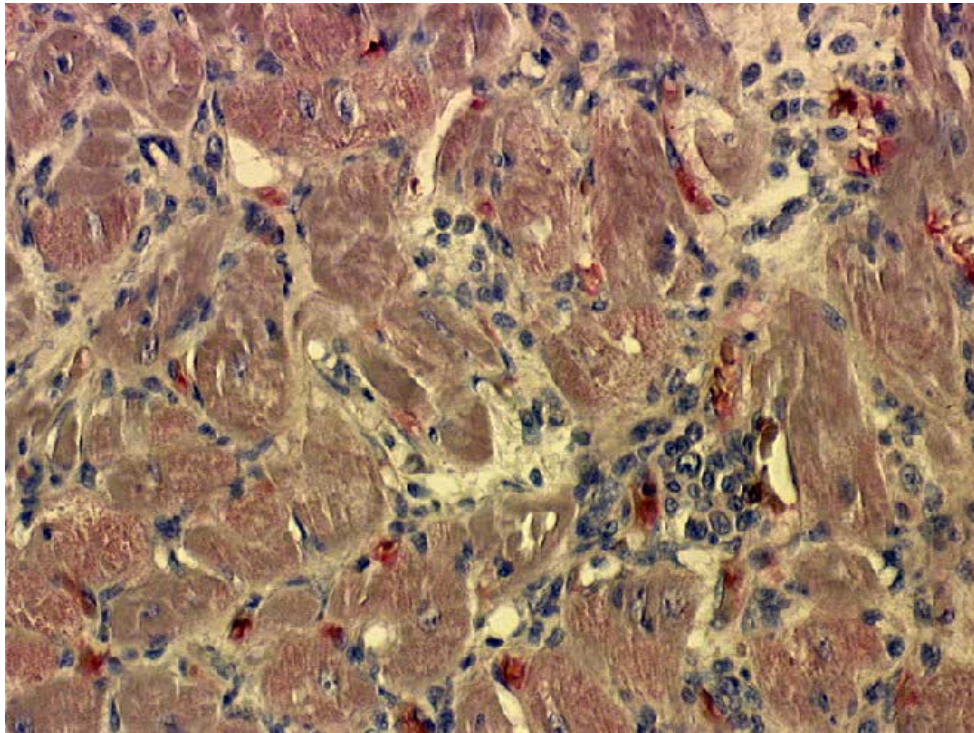


Abbildung 28: rattenspezifische Makrophagen, Aktivität 0,5 (Gruppe 3/ Tier 1), Clone ED1 (200er Vergr.)

Fasst man diese Resultate zusammen, so kommt man zu dem Ergebnis, dass das Alter zwar keinen Einfluss auf den Schweregrad der Abstoßungsreaktion, gemessen nach dem ISHLT-Standard hat, dass sich die Art der Abstoßungsreaktion jedoch deutlich unterscheidet.

Die Tiere der Gruppe 1 haben größtenteils Anzeichen einer schweren zellulären Abstoßung mit z. T. stark ausgebildeter Transplantatvaskulopathie. Die mononukleären Zellinfiltrate sind relativ gleichmäßig in beiden Ventrikelwänden sowohl interstitiell als auch perivaskulär zu finden. Die transplantierten Herzen zeigen Myozytolysen mit ausgedehnten Massenzellnekrosen bei gleichzeitigem interstitiellen Ödem in den Bereichen, in denen noch intaktes Myokard

vorhanden ist. Die meisten Tiere dieser Gruppe zeigen beginnende Reparationsvorgänge mit Zunahme des Granulations- und Narbengewebes.

Die Tiere dieser Gruppe sind 4 Monate alt. In diesem Alter ist ihr Immunsystem schon vollständig ausgeprägt, d. h. sie verfügen nicht nur über eine angeborene Immunität, sondern auch die erworbene Immunität ist schon ausgebildet. Dies bedeutet, dass sie das transplantierte Herz nicht nur als „fremd“ erkennen können und über unspezifische Mechanismen (Gewebsmakrophagen, neutrophile Granulozyten, Komplementsystem) angreifen können, sondern sie sind auch in der Lage spezifische Antikörper zu produzieren und durch klonale Selektion der antigenspezifischen Lymphozyten die Rejektion zu forcieren. Nicht außer acht lassen darf man die Gewebemakrophagen sog. „Passenger-Zellen“, die sich physiologischer Weise in jedem transplantierten Herz befinden, und die einerseits als Fremdartigen wirken und andererseits die mononuklearen, infiltrierenden Zellen des Empfängers attackieren können (siehe auch HAMMER, 1983).

Eine hyperakute Abstoßungsreaktion ist aufgrund der MHC-kompatiblen Rattenstämme (Lewis und Fisher³⁴⁴) nicht zu erwarten. Immunhistologisch lassen sich B-, T-Zellen und Makrophagen nachweisen, wobei letztere eher auf die beginnenden Umbauarbeiten zurückzuführen sind als auf die Rejektion. Der hohe Anteil an B-Zellen und die Transplantatvaskulopathie lassen auf eine humorale, der Anteil der T-Zellen auf eine zelluläre Komponente schließen.

Diese Tiere zeigen aufgrund ihres vollständig ausgebildeten Immunsystems eine gemischte Abstoßungsreaktion, die sich meist schon im chronischen Stadium befindet.

In der Gruppe 2 findet man Areale von mononukleären Infiltraten, die interstitiell und perivaskulär zu finden sind. Unterschiedliche starke Myozytolysen, geringe bis mäßig starke Schwellung der Endothelzellen und geringe bis starke Reparationsvorgänge prägen das histologische Bild dieser Gruppe, die in ihrer Immunantwort ziemlichen Schwankungen unterliegt.

Hier wurden 4 Monate alte Herzen in 4 Wochen alte Ratten transplantiert. Die jungen Ratten haben ein voll ausgebildetes, angeborenes Immunsystem und beginnen erst ein adaptiertes (erworbenes) Immunsystem zu bilden. Trotz Inzuchtstämmen und identischer Haltung unterliegt dieser Vorgang aber individuellen Schwankungen, auf die – meiner Meinung nach – die hohe Streuung in dieser Gruppe zurückzuführen ist. Die Antigenität der Herzmuskel- und Endothelzellen des Spenders hingegen ist voll ausgeprägt. Auch hier findet man „Passenger-

Zellen“, die in der Lage sind, eine entsprechende Immunantwort beim Empfänger hervorzurufen und dessen infiltrierende Zellen zu attackieren.

Die Empfängertiere sind 4 Wochen alt und haben ein noch nicht voll funktionsfähiges Immunsystem. Es zeigt sich hier eine akute Rejektion mit durchschnittlich geringer vaskulärer Beteiligung, die schon mit den Reparaturvorgängen der Myozytolysen mit Hilfe von Granulationsgewebe beginnt. Die Immunantwort auf das transplantierte Herz ist insgesamt verlangsamt und schwächer ausgebildet, da der Empfänger noch nicht in der Lage ist, eine adaptierte Immunantwort zu produzieren.

Die transplantierten Herzen der Gruppe 3 zeigen massive zelluläre Rejektionen. Die Gefäßbeteiligung variiert etwas von gering bis deutlich. Im Mittel sind beginnende Reparaturvorgänge sichtbar. In dieser Gruppe wurde ein junges Herz (4 Wochen) in die Bauchhöhle einer alten (4 Monate) Ratte transplantiert.

Das junge Herz hat ein nicht vollständig ausgeprägtes Immunsystem, das noch nicht in der Lage ist, eine komplette Immunantwort hervorzurufen.

Der alte Empfänger reagiert mit einer akuten, zellulären Abstoßung. Myozyten werden massiv attackiert und zerstört, die Passenger-Zellen des Spenders können keine Eigenabwehr leisten, die Reparaturvorgänge sind aber auch noch nicht voll in Arbeit. Die Immunantwort ist insgesamt verzögert im Vergleich mit der Gruppe 1. T-Zellen sind positiv bis stark positiv vorhanden, B-Zellen sind dagegen etwas schwächer und Makrophagen noch weniger vertreten, d. h. die Erstantwort der unspezifischen Abwehr ist fast vorbei und die zweite Phase der Immunantwort mit der Ausbildung antigenspezifischer Zellen und Antikörperproduktion (B-Zellen) hat begonnen, wie auch die Proliferation der Endothelzellen.

Massive zelluläre Abstoßungsreaktionen mit geringer vaskulärer Beteiligung trotz Vermehrung der Gefäßzahl und weite Nekroseareale mit Granulationsgewebe bestimmen das histologische Bild der Gruppe 4. Hier treffen ähnlich wie in Gruppe 1 Individuen mit gleichweit ausgeprägten Immunsystem aufeinander. Die 4 Wochen alten Ratten haben aber im Gegensatz dazu ein noch nicht vollständig ausgebildetes Immunsystem. Man sieht daher das Bild einer zellulären Rejektion, die humorale Komponente ist nur geringgradig ausgebildet, was man an den nicht bis kaum veränderten Gefäßen erkennt. Auffallend sind die Gefäßeinsprossungen in das Granulationsgewebe als weiteres Merkmal der fortgeschrittenen Reparaturvorgänge.

Diese Auswertungen zeigen, dass das Alter schon eine Rolle bei den Abstoßungsreaktionen spielt. Die hier verwendeten Ratten unterscheiden sich in dem Ausbildungsgrad ihres Immunsystems. Die Folge ist eine forcierte b. z. w. eine verlangsamte Immunantwort. Dies bietet auch sicherlich die Möglichkeit durch gezielten Einsatz der Medikamente, eine Transplantat-abstoßung aufzuhalten. Ich möchte aber zu bedenken geben, dass für die Humanmedizin und die Frage „Sollte man routinemäßig ältere Spender (> 45 Jahre) zulassen?“ diese Daten nicht den Stellenwert erreichen, da in der Transplantationsmedizin keinem Erwachsenen ein Kinderherz - oder umgekehrt – transplantiert wird. Das Immunsystem von Spender und Empfänger ist in der Regel bei beiden komplett ausgebildet und die Gabe von Immunsuppressiva wirkt sowohl auf den Empfänger, wie auch auf die Zellen des Spenderherzens (Passenger-Zellen). Weitere Forschungsarbeiten sind nötig, um hier eine eindeutige Aussage machen zu können. Da sich dieses Tiermodell sehr bewährt hat, sollte man für weitere Arbeiten z. B. mit unterschiedlichen Altersgruppen (4 Monate – 14 Monate) wieder darauf zurückgreifen. Die weitere Differenzierung der T-Zellen (CD4 oder CD8) erachte ich auch für sinnvoll in Bezug auf das Alter. Bisher wurde immer der Clone CD45RO / BioGenex benutzt, der sowohl bei CD4, als auch bei CD8, Granulozyten und Makrophagen reagiert. Da die T-Helfer-Zelle (CD4) mit als erstes aktiviert wird, und im Zuge dessen, Lymphokine bildet und freisetzt, die wiederum die Proliferation von T-Killerzellen (CD8) verantworten, könnte man den Beginn der Abstoßungsreaktionen vielleicht noch genauer differenzieren.

Die Forschung auf diesem Gebiet ist noch lange nicht abgeschlossen und wirft auch heute noch viele Fragen auf.