

Zusammenfassung

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde untersucht, inwieweit die Lysosomen an der kälteinduzierten Zellschädigung beteiligt sind. Da der Hauptmechanismus der kälteinduzierten Zellschädigung eisenabhängig verläuft, wurde zunächst geprüft, ob es in der Kälte zu einem Anstieg des intralysosomalen chelatisierbaren Eisenpools kommt. Hierzu wurden primäre Rattenhepatozyten in Zellkulturmedium einer Kaltinkubation ausgesetzt und mit Hilfe der eisenabhängigen lysosomalen Fluoreszenzsonde BDA die intralysosomale Konzentration an chelatisierbaren Eisen gemessen. Unter diesen Bedingungen konnte ein kälteinduzierter Anstieg des lysosomalen chelatisierbaren Eisens gezeigt werden, welcher aber zu gering ausfiel, um wesentlich am zuvor gezeigten Anstieg des cytosolischen chelatisierbaren Eisens in der Kälte beteiligt zu sein.

Weiterführende Untersuchungen zum Verlust der Lysosomen-Integrität in der Kälte konnten hier zwei voneinander unabhängige Mechanismen einer kälteinduzierten Lysosomenschädigung zeigen. Eine Kaltinkubation primärer Rattenhepatozyten in physiologischen Medien führte zu einer partiell eisenabhängigen Permeabilisierung der Lysosomen, welche durch die Zugabe des Eisenchelators Desferal verringert werden konnte. Als eine zweite Schädigungskomponente konnte eine Cathepsin B-abhängige Permeabilisierung der Lysosomen identifiziert werden. Diese Komponente konnte durch eine Inkubation in chloridfreiem Medium deutlich verringert werden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden die Mechanismen eines kälteinduzierten Verlustes der endothelialen Schrankenfunktion untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass es bei einer Kaltinkubation primärer Schweineaortenendothelzellen neben einer eisenabhängigen Zellschädigung zu massiven von einer Zellschädigung unabhängigen morphologischen Veränderungen der Endothelzellen und einem Verlust der endothelialen Schrankenfunktion kommt. Diese Veränderungen waren zwar wenn die Zellen mit dem Eisenchelator Desferal geschützt wurden vollständig reversibel, würden aber bei der einer Organverpflanzung folgenden Reperfusion zu einer Undichtigkeit der Gefäße und einer erhöhten Thrombosegefahr führen. Für diese eisenunabhängigen Veränderungen konnte ein komplexer p38-MAPK-, Mikrotubuli und (untergeordnet) HSP90-abhängiger Mechanismus gezeigt werden. Während der Kaltinkubation der Endothelzellen war ein massiver Abbau von F-Aktin zu G-Aktin zu beobachten. Daneben kam es zu einer vollständigen Desintegration der Mikrotubuli. Ein partieller Schutzeffekt konnte durch HSP90-Inhibitoren erzielt werden. Ein Teil der Aktinfasern konnte in der Kälte erhalten werden. Auf den Verlust der endothelialen Schrankenfunktion in der Kälte hatten HSP90-Inhibitoren jedoch keinen Einfluss. Der Mikrotubuli-Stabilisator Taxol verhinderte nicht nur die Desintegration der Mikrotubuli in der Kälte, sondern überraschenderweise auch den kälteinduzierten Aktinabbau

und die Lückenbildung im endothelialen Monolayer. Weiterhin wurde eine Phosphorylierung der p38-MAPK in der Kälte beobachtet. Eine Inhibition dieser hemmte den kälteinduzierten Abbau des peripheren Aktinrings und die Lückenbildung, ohne jedoch die Desintegration der Mikrotubuli zu beeinflussen. Sowohl Taxol als auch p38-Inhibitoren verhinderten zudem eine Umverteilung der junctionalen Proteine ZO-1 und VE-Cadherin in der Kälte.

Außerdem konnte gezeigt werden, dass die im Zellkultur-Modell erzielten Ergebnisse auch in intakten Gefäßen eine Rolle spielen. Der p38-Inhibitor SB202190 war in der Lage die endotheliale Schrankenfunktion in kaltgelagerten Aortensegmenten zu stärken. Diese Ergebnisse zeigen somit viel versprechende neue Ansatzpunkte für einen Erhalt der endothelialen Schrankenfunktion bei der Organkonservierung auf.