

Aus dem Lehrstuhl
für Herz-, Thorax- und herznahe Gefäßchirurgie
Direktor Prof. Dr. C. Schmid
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

Wirkung des Tyrosinkinase-Inhibitors Nilotinib auf die Ausbildung einer
chronischen Transplantatabstoßung nach experimenteller Lungentransplantation

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Aylin Büttner

2024

Aus dem Lehrstuhl
für Herz-, Thorax- und herznahe Gefäßchirurgie
Direktor Prof. Dr. C. Schmid
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

Wirkung des Tyrosinkinase-Inhibitors Nilotinib auf die Ausbildung einer
chronischen Transplantatabstoßung nach experimenteller Lungentransplantation

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Aylin Büttner

2024

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter: PD Dr. med. vet. Marietta von Süßkind-Schwendi

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Stephan Schreml

Tag der mündlichen Prüfung: 12.01.2024

Inhaltsverzeichnis

1 Einführung	10
1.1 Lungentransplantation	10
1.2 Stand der Forschung	11
1.3 Immunsuppression nach LTx	13
1.3.1 Etablierte Dreifach-Kombination.....	13
1.3.2 Nilotinib als RTK-Inhibitor.....	14
1.4 Pathogenese der CLAD	16
1.4.1 Wachstumsfaktoren.....	17
1.4.2 Oxidativer Stress	19
1.5 Studiendesign.....	22
2 Material und Methoden	25
2.1 Einsatz des Rattenmodells	25
2.2 Versuchsgruppen	26
2.3 Gewinnung des Untersuchungsmaterials.....	27
2.3.1 Narkose und Beatmung	27
2.3.2 Spenderoperation.....	28
2.3.3 Empfängeroperation	28
2.3.4 Postoperativer Verlauf.....	29
2.3.5 Kriterien des Versuchsabbruchs.....	31
2.4 Präparation des Untersuchungsmaterials	31
2.4.1 Paraffinschnitte.....	32
2.4.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	32
2.4.3 Sirius-Red-Elastica-Färbung	33
2.4.4 Antikörper-Färbung.....	33

2.4.5	Eisen-Färbung	35
2.4.6	Kollagen-Assay	35
2.5	Auswertung des Untersuchungsmaterials	37
2.5.1	Konventionelle Histologie.....	37
2.5.2	Wachstumsfaktoren	46
2.5.3	Oxidativer Stress	48
2.5.4	Kollagen-Assay	50
2.5.5	Statistische Auswertung	51
3	Ergebnisse	52
3.1	Postoperativer Gewichtsverlauf.....	52
3.2	Konventionelle Histologie	53
3.2.1	Native und rechte Lungen	53
3.2.2	Linke Lungen	54
3.3	Wachstumsfaktoren	61
3.3.1	CD117	62
3.3.2	PDGF-AA.....	65
3.3.3	PDGFR- α	69
3.3.4	VEGF-A	73
3.3.5	VEGFR-2	77
3.4	Oxidative Stress-Marker	81
3.4.1	MPO	81
3.4.2	TGM-2.....	83
3.4.3	HO-1	85
3.4.4	Eisen	87
3.5	Kollagen-Assay.....	89
3.6	Übersicht signifikante Ergebnisse	92

4 Diskussion.....	95
5 Zusammenfassung	113
6 Literaturverzeichnis	115
7 Anhang.....	124
7.1 Messwerte konventionelle Histologie.....	124
7.2 Messwerte Wachstumsfaktoren	127
7.2.1 CD117	127
7.2.2 PDGF.....	130
7.2.3 PDGFR	133
7.2.4 VEGF	136
7.2.5 VEGFR.....	139
7.2.6 Intensitäten	142
7.3 Messwerte oxidative Stressmarker	143
7.3.1 MPO	143
7.3.2 TGM-2.....	146
7.3.3 HO-1.....	149
7.3.4 Eisen	152
7.4 Messwerte Kollagen-Assay	155
8 Danksagung.....	157
9 Lebenslauf	158
10 Eidesstattliche Versicherung	159

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1	Struktureller Vergleich von Imatinib (a) und Nilotinib (b).....	15
Abbildung 1.2	Schematische Darstellung der Wirkung einer RTK.....	16
Abbildung 1.3	Peroxidase-Zyklus von MPO	20
Abbildung 2.1	Empfängeroperation.....	29
Abbildung 2.2	Entnahme der Lungen	30
Abbildung 2.3	Abschnitte des humanen Bronchialbaums	39
Abbildung 2.4	Wandschichten der Blutgefäße	41
Abbildung 2.5	Beispiele einer HE-Färbung.....	43
Abbildung 2.6	Beispiele einer SR/E-Färbung.....	44
Abbildung 2.7	Beispiel einer PDGF-AA-Färbung.....	48
Abbildung 2.8	Beispiel einer MPO-Färbung	49
Abbildung 2.9	Beispiel einer Eisen-Färbung	50
Abbildung 3.1	Gewichtsverlauf	52
Abbildung 3.2	Ausschnitte aus einer nativen Spender-Lunge	54
Abbildung 3.3	Ausschnitte aus linken Lungen, POD 20, HE-Färbung	55
Abbildung 3.4	Ausschnitte aus linken Lungen, POD 20, HE- und SR/E-Färbung	56
Abbildung 3.5	Konventionelle histologische Auswertung POD 20	58
Abbildung 3.6	Ausschnitte aus linken Lungen, POD 60, SR/E-Färbung	59
Abbildung 3.7	Konventionelle histologische Auswertung POD 60	61
Abbildung 3.8	Expression von CD117: Quantitative Auswertung.....	63
Abbildung 3.9	Expression von PDGF-AA: Quantitative Auswertung.....	67
Abbildung 3.10	Expression von PDGFR- α : Quantitative Auswertung	71
Abbildung 3.11	Expression von VEGF-A: Quantitative Auswertung.....	75
Abbildung 3.12	Expression von VEGFR-2: Quantitative Auswertung	79
Abbildung 3.13	Expression von MPO	83
Abbildung 3.14	Expression von TGM-2.....	85
Abbildung 3.15	Expression von HO-1	87
Abbildung 3.16	Expression von Eisen	89
Abbildung 3.17	Kollagengehalt	91

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1 Entitäten der CLAD: Merkmale von BOS und RAS.....	11
Tabelle 2.1 Einteilung der Versuchsgruppen	27
Tabelle 2.2 Primär- und Sekundärantikörper	35
Tabelle 2.3 Präparation der Standardreihe	36
Tabelle 2.4 Probenanordnung in der Mikrotiterplatte	37
Tabelle 2.5 ISHLT Grad A: akute Abstoßung der Gefäße	45
Tabelle 2.6 ISHLT Grad B: akute Abstoßung der Bronchiolen	45
Tabelle 2.7 ISHLT Grad C: chronische Abstoßung der Bronchiolen	45
Tabelle 2.8 ISHLT Grad D: chronische Abstoßung der Gefäße	45
Tabelle 2.9 Einteilung der Fibrosegrade nach Ashcroft	46
Tabelle 2.10 Intensitäten am Beispiel der Expression von CD117 zum POD 20	47
Tabelle 3.1 Expression von CD117: Intensitäten zum POD 20	64
Tabelle 3.2 Expression von CD117: Intensitäten zum POD 60	65
Tabelle 3.3 Expression von PDGF-AA: Intensitäten zum POD 20	68
Tabelle 3.4 Expression von PDGF-AA: Intensitäten zum POD 60	69
Tabelle 3.5 Expression von PDGFR- α : Intensitäten zum POD 20	72
Tabelle 3.6 Expression von PDGFR- α : Intensitäten zum POD 60	73
Tabelle 3.7 Expression von VEGF-A: Intensitäten zum POD 20	76
Tabelle 3.8 Expression von VEGF-A: Intensitäten zum POD 60	77
Tabelle 3.9 Expression von VEGFR-2: Intensitäten zum POD 20	80
Tabelle 3.10 Expression von VEGFR-2: Intensitäten zum POD 60	81
Tabelle 3.11 Signifikante Ergebnisse konventionelle Histologie.....	92
Tabelle 3.12 Signifikante Ergebnisse Wachstumsfaktoren	92
Tabelle 3.13 Signifikante Ergebnisse oxidativer Stress	93
Tabelle 3.14 Signifikante Ergebnisse Kollagengehalt.....	94
Tabelle 7.1 Auszählung gemäß ISHLT-Klassifikation zum POD 20	124
Tabelle 7.2 Auszählung gemäß ISHLT-Klassifikation zum POD 60	124
Tabelle 7.3 Konventionelle Histologie Nilotinibgruppe POD 20	125
Tabelle 7.4 Konventionelle Histologie Kontrollgruppe POD 20	125
Tabelle 7.5 Konventionelle Histologie Nilotinibgruppe POD 60	126
Tabelle 7.6 Konventionelle Histologie Kontrollgruppe POD 60	126

Tabelle 7.7 Auszählung CD117 Nilotinibgruppe POD 20	127
Tabelle 7.8 Auszählung CD117 Kontrollgruppe POD 20	127
Tabelle 7.9 Auszählung CD117 Nilotinibgruppe POD 60	128
Tabelle 7.10 Auszählung CD117 Kontrollgruppe POD 60	128
Tabelle 7.11 Auszählung CD117 rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60	129
Tabelle 7.12 Gesamtauswertung CD117	129
Tabelle 7.13 Auszählung PDGF Nilotinibgruppe POD 20	130
Tabelle 7.14 Auszählung PDGF Kontrollgruppe POD 20	130
Tabelle 7.15 Auszählung PDGF Nilotinibgruppe POD 60	131
Tabelle 7.16 Auszählung PDGF Kontrollgruppe POD 60	131
Tabelle 7.17 Auszählung PDGF rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60	132
Tabelle 7.18 Gesamtauswertung PDGF	132
Tabelle 7.19 Auszählung PDGFR Nilotinibgruppe POD 20	133
Tabelle 7.20 Auszählung PDGFR Kontrollgruppe POD 20	133
Tabelle 7.21 Auszählung PDGFR Nilotinibgruppe POD 60	134
Tabelle 7.22 Auszählung PDGFR Kontrollgruppe POD 60	134
Tabelle 7.23 Auszählung PDGFR rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60	135
Tabelle 7.24 Gesamtauswertung PDGFR	135
Tabelle 7.25 Auszählung VEGF Nilotinibgruppe POD 20	136
Tabelle 7.26 Auszählung VEGF Kontrollgruppe POD 20	136
Tabelle 7.27 Auszählung VEGF Nilotinibgruppe POD 60	137
Tabelle 7.28 Auszählung VEGF Kontrollgruppe POD 60	137
Tabelle 7.29 Auszählung VEGF rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60	138
Tabelle 7.30 Gesamtauswertung VEGF	138
Tabelle 7.31 Auszählung VEGFR Nilotinibgruppe POD 20	139
Tabelle 7.32 Auszählung VEGFR Kontrollgruppe POD 20	139
Tabelle 7.33 Auszählung VEGFR Nilotinibgruppe POD 60	140
Tabelle 7.34 Auszählung VEGFR Kontrollgruppe POD 60	140
Tabelle 7.35 Auszählung VEGFR rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60	141
Tabelle 7.36 Gesamtauswertung VEGFR	141
Tabelle 7.37 Intensitäten Wachstumsfaktoren POD 20	142
Tabelle 7.38 Intensitäten Wachstumsfaktoren POD 60	142

Tabelle 7.39	Auszählung MPO Nilotinibgruppe POD 20.....	143
Tabelle 7.40	Auszählung MPO Kontrollgruppe POD 20.....	143
Tabelle 7.41	Auszählung MPO Nilotinibgruppe POD 60.....	144
Tabelle 7.42	Auszählung MPO Kontrollgruppe POD 60.....	144
Tabelle 7.43	Auszählung MPO rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60.....	145
Tabelle 7.44	Gesamtauswertung MPO.....	145
Tabelle 7.45	Auszählung TGM-2 Nilotinibgruppe POD 20.....	146
Tabelle 7.46	Auszählung TGM-2 Kontrollgruppe POD 20.....	146
Tabelle 7.47	Auszählung TGM-2 Nilotinibgruppe POD 60.....	147
Tabelle 7.48	Auszählung TGM-2 Kontrollgruppe POD 60.....	147
Tabelle 7.49	Auszählung TGM-2 rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60.....	148
Tabelle 7.50	Gesamtauswertung TGM-2.....	148
Tabelle 7.51	Auszählung HO-1 Nilotinibgruppe POD 20.....	149
Tabelle 7.52	Auszählung HO-1 Kontrollgruppe POD 20.....	149
Tabelle 7.53	Auszählung HO-1 Nilotinibgruppe POD 60.....	150
Tabelle 7.54	Auszählung HO-1 Kontrollgruppe POD 60.....	150
Tabelle 7.55	Auszählung HO-1 rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60.....	151
Tabelle 7.56	Gesamtauswertung HO-1.....	151
Tabelle 7.57	Auszählung Eisen Nilotinibgruppe POD 20.....	152
Tabelle 7.58	Auszählung Eisen Kontrollgruppe POD 20.....	152
Tabelle 7.59	Auszählung Eisen Nilotinibgruppe POD 60.....	153
Tabelle 7.60	Auszählung Eisen Kontrollgruppe POD 60.....	153
Tabelle 7.61	Auszählung Eisen rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60.....	154
Tabelle 7.62	Gesamtauswertung Eisen.....	154
Tabelle 7.63	Messwerte Kollagenkonzentration.....	155
Tabelle 7.64	Gesamtauswertung Kollagen.....	156

1 Einführung

1.1 Lungentransplantation

Die Geschichte der humanen Lungentransplantation (LTx) reicht etwas mehr als 50 Jahre zurück. Dr. James D. Hardy führte 1963 nach vorangegangenen Tierversuchen an Hunden erstmals eine linksseitige LTx am Menschen durch [1, 2]. Es handelte sich um einen Patienten, der an einem Plattenepithelkarzinom der Lunge mit Infiltration des linken Hauptbronchus erkrankt war [2]. Der entsprechende Organspender war an den Folgen eines Myokardinfarkts verstorben [2]. Nach erfolgreicher Durchführung der Transplantation wurde zunächst eine Immunsuppression mit u.a. Azathioprin und Steroiden begonnen [2]. Jedoch verstarb der Patient bereits am 18. postoperativen Tag aufgrund eines Nierenversagens [2].

In den darauffolgenden 20 Jahren wurden über 40 LTx durchgeführt [2]. Von den Betroffenen konnte allerdings nur ein Patient nach erfolgreicher Transplantation aus der Klinik entlassen werden, welcher letztlich ein postoperatives Überleben von zehn Monaten aufwies [2]. Wegweisend war 1983 eine neue Operationstechnik der Toronto Lung Transplant Group, welche die Anlage der Bronchus-Anastomose mittels eines Omentum-Lappens entwickelte [2]. Diese führte zu einer verbesserten Blutversorgung des Bronchus mit einer reduzierten Anzahl an Anastomoseninsuffizienzen [1, 2]. Ein anhand dieser Technik rechtsseitig lungentransplantiertes Patient konnte sechs Wochen nach LTx aus der Klinik entlassen werden und wies erstmals ein postoperatives Überleben von mehr als sechs Jahren auf [2].

Seither wird die Expertise auf dem Gebiet der Lungentransplantation stetig erweitert, insbesondere bezüglich der Organkonservierung, immunsuppressiven Therapie und Prävention postoperativer Komplikationen [3]. Hierbei bietet die LTx eine Therapiemöglichkeit für all jene Patienten, die an einer irreversiblen und voranschreitenden Lungenerkrankung leiden, welche zudem eine eingeschränkte Lebenserwartung bedingt [2]. Die häufigsten Indikationen für eine LTx stellen das Lungenemphysem (durch COPD und alpha-1-Antitrypsinmangel), die zystische Fibrose sowie die Lungenfibrose dar [4]. Weitere Indikationen sind beispielsweise die pulmonale Hypertonie, eosinophile Granulomatose, Lymphangioliomyomatosis, Sarkoidose und die obliterative Bronchiolitis [2].

1.2 Stand der Forschung

Die LTx ist heutzutage ein etabliertes Verfahren zur Behandlung von Patienten mit Lungenerkrankungen im Endstadium [5]. Bei einer stetig steigenden Anzahl an Lungentransplantationen in den letzten Jahren ist dennoch die Langzeitprognose nach LTx mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 54% unter Erwachsenen nach wie vor unbefriedigend [6]. Ursächlich für diese schlechte Prognose ist die Entstehung eines chronischen Transplantatversagens (chronic lung allograft dysfunction, kurz CLAD) [7], dessen Unterformen das häufigere Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom (BOS) sowie das seltenere Restrictive Allograft Syndrome (RAS) umfassen [8]. Die spezifischen Merkmale von BOS und RAS werden in Tabelle 1.1 stichpunktartig gegenübergestellt. Beide Entitäten führen histologisch gesehen zu narbigen Veränderungen der kleinen Atemwege (Bronchiolitis obliterans, kurz BO), der Gefäße (Vaskulopathie) und des interstitiellen Gewebes [9], woraus eine enorme Einschränkung der Lungenfunktion resultiert. Die Pathogenese der CLAD ist bis heute noch nicht abschließend geklärt ist [7]. Jedoch scheint eine gesteigerte Stimulation von Wachstumsfaktoren wie Platelet-Derived-Growth-Factor (PDGF) und Vascular-Endothelial-Growth-Factor (VEGF), die über sogenannte Rezeptortyrosinkinasen (RTKs) wirken, eine Schlüsselrolle im Pathomechanismus der CLAD einzunehmen [10].

	BOS	RAS
Häufigkeit	65 – 75 %	25 – 35 %
Pulmonale Funktionsstörung	obstruktiv	restriktiv
CT-graphische Merkmale	„air trapping“	parenchymale Infiltrate, subpleurale Verdickungen
Medianes Überleben nach Erstdiagnose	3 – 5 Jahre	6 – 18 Monate
Risikofaktoren	akute Abstoßung, lymphozytäre Bronchiolitis, Infektion, primäres Transplantatversagen, HLA-Mismatch	akute Abstoßung, lymphozytäre Bronchiolitis, Infektion

Tabelle 1.1 Entitäten der CLAD: Merkmale von BOS und RAS [7, 8]

Die gegenwärtig eingesetzten Maßnahmen zur Therapie der CLAD, z. B. eine Erhöhung der Corticosteroid-Dosis oder eine Veränderung der Immunsuppression, bringen klinisch kaum

eine Verbesserung des Langzeitüberlebens [11], weshalb dringend neue Therapieoptionen gefunden werden müssen. Ein vielversprechender Ansatz ist daher der Einsatz von Rezeptortyrosinkinase-Inhibitoren (RTK-Inhibitoren), von denen bereits eine breite Basis im klinischen Alltag in den verschiedensten Fachdisziplinen Einzug gefunden hat.

In unterschiedlichen Tiermodellen zur Simulation der CLAD wurde die Auswirkung des RTK-Inhibitors Imatinib auf die chronische Abstoßungsreaktion nach LTx untersucht. Diese Monotherapie, die ursprünglich für die chronische myeloische Leukämie (CML) entwickelt wurde [12], führte zu einer leichten, jedoch nicht signifikanten Reduktion der CLAD. Dies konnte in Studien der finnischen Arbeitsgruppe unter Tikkanen et al. [10] sowie der eigenen Arbeitsgruppe unter Süsskind et al. [13] dargelegt werden. In vielen Untersuchungen an CML-Patienten wurde jedoch eine zunehmende Resistenzbildung unter der Therapie mit Imatinib beobachtet, weshalb RTK-Inhibitoren der zweiten Generation wie Nilotinib entwickelt wurden, die bei Imatinib-Resistenz bzw. Unverträglichkeit eingesetzt werden. In einer Studie der Arbeitsgruppe unter Saglio et al. [12] wurde das Ansprechen von CML-Patienten auf eine Therapie mit Nilotinib gegenüber des Vorgängers Imatinib untersucht. Im Rahmen der Studie konnten bei der Anwendung von Nilotinib signifikant höhere Raten zytogenetischen Ansprechens sowie eine verminderte Progression der Erkrankung nachgewiesen werden [12].

In dieser Arbeit soll daher anhand eines etablierten Ratten-LTx-Modells untersucht werden, ob mithilfe des RTK-Inhibitors Nilotinib die unkontrollierte Proliferation von Wachstumsfaktoren im Langzeitverlauf reduziert und damit das Transplantatüberleben verbessert werden kann.

Das folgende Kapitel beschreibt zunächst die bislang etablierte immunsuppressive Therapie sowie nachfolgend die Eigenschaften von Nilotinib im Vergleich zum Vorgänger Imatinib und skizziert den Wirkmechanismus des RTK-Inhibitors.

1.3 Immunsuppression nach LTx

1.3.1 Etablierte Dreifach-Kombination

Nach erfolgreich durchgeführter LTx kommt der anschließenden medikamentösen Immunsuppression eine entscheidende Bedeutung bezüglich des weiteren Outcomes für den Organempfänger zu [4]. Zu den häufigsten Todesursachen nach LTx gehören frühe postoperative Komplikationen durch die Operation selbst, Infektionen sowie die akute und chronische Transplantatabstoßung [4, 14]. Bislang hat sich zur Prävention einer Abstoßungsreaktion die Kombinationstherapie bestehend aus Corticosteroiden, einem Calcineurininhibitor (Cyclosporin A oder Tacrolimus) und einem Zellzyklusinhibitor (Azathioprin oder Mycophenolat-Mofetil) etabliert [4, 14].

Corticosteroide wie Methylprednisolon finden sowohl Einsatz in der Therapie der akuten Abstoßung in Form von hochdosierten intravenösen Boli als auch in der langfristigen oralen Immunsuppression nach LTx [15]. Obwohl im Langzeitverlauf ein Ausschleichen der Corticosteroid-Dosis angestrebt wird, gelingt nur selten die gänzliche Absetzung des Medikaments [14, 15]. Dennoch ist die Gabe von Corticosteroiden fester Bestandteil der etablierten medikamentösen Dreifach-Kombination, um eine adäquate Immunsuppression nach LTx zu erzielen [15].

Cyclosporin A und Tacrolimus entfalten ihre immunsuppressive Wirkung durch die Inhibition von Calcineurin, welches die Aktivierung von T-Lymphozyten sowie die Produktion von Interleukin-2 fördert [14]. Cyclosporin kann initial nach LTx in intravenöser Form verabreicht werden, sodass gegenüber der oralen Gabe eine deutlich verbesserte Bioverfügbarkeit erzielt wird [14]. Bei Umstellung auf eine orale Therapie muss folglich eine Dosiserhöhung zum Erhalt des Wirkspiegels vorgenommen werden. Zugleich entfaltet jedoch Cyclosporin Wechselwirkungen mit einer Vielzahl weiterer Medikamente, sodass gegebenenfalls eine engmaschige Kontrolle der Cyclosporin-Konzentration nötig ist [14]. Aufgrund dessen ist eine zunehmende Bevorzugung von Tacrolimus gegenüber Cyclosporin in der immunsuppressiven Therapie zu beobachten [14, 15]. Tacrolimus wird in aller Regel oral verabreicht [14]. In vitro zeigt Tacrolimus zudem eine 10-100fach potentere Wirkung als Cyclosporin [14, 15].

Die Zellzyklusinhibitoren Azathioprin und Mycophenolat-Mofetil hemmen die Proliferation von sowohl B- als auch T-Lymphozyten [14]. In mehreren Studien mit geringer Patientenzahl kam es unter immunsuppressiver Kombinationstherapie mit Mycophenolat-Mofetil gegenüber Azathioprin nach LTx signifikant seltener zu einer akuten Abstoßungsreaktion, wenn auch kein Benefit bezüglich des chronischen Transplantatversagens zu beobachten war [15]. Die Infektionsraten nach LTx fielen in beiden Gruppen vergleichbar aus [15]. Daher scheint sich Mycophenolat-Mofetil gegenüber Azathioprin zum Mittel der Wahl durchgesetzt zu haben [15].

Kommt es unter dieser bestehenden Dreifach-Therapie nach LTx zum Transplantatversagen, steigt aufgrund der Organdysfunktion zugleich das Infektionsrisiko für den Patienten [16]. Während zur Therapie des Transplantatversagens eine Eskalation der etablierten Immunsuppression in Frage käme, würde diese wiederum das Infektionsrisiko weiter erhöhen [16]. Daher sollten neue Therapieoptionen in Erwägung gezogen werden [16].

1.3.2 Nilotinib als RTK-Inhibitor

Nilotinib (AMN107, Tasisign®) ist ein RTK-Inhibitor der zweiten Generation, welcher als Nachfolger des RTK-Inhibitors Imatinib (STI571, Gleevec®) konzipiert wurde [17]. Die Substanzen Nilotinib und Imatinib weisen daher deutliche strukturelle Ähnlichkeiten auf (vgl. Abbildung 1.1) [17, 18]. Imatinib wurde ursprünglich zur Therapie der Philadelphia-Chromosom-positiven CML entwickelt [17, 18]. Das Philadelphia-Chromosom, welches durch die reziproke Translokation der Chromosomen 9 und 22 entsteht, enthält das BCR-ABL-Fusionsgen (BCR: breakpoint cluster region, ABL: Abelson) [17, 18]. Das korrelierende BCR-ABL-Protein weist durch die Autophosphorylierung seiner ATP-Bindungsstelle eine konstant aktivierte Tyrosinkinase-Domäne auf, welche über eine nachfolgende Signalkaskade zur Entwicklung der CML beiträgt [17, 19]. Imatinib inhibiert die Tyrosinkinase-Aktivität des BCR-ABL-Proteins und stellt so eine effektive Behandlungsmöglichkeit der CML dar [17, 18]. Vor allem in den späten Phasen der CML treten jedoch zunehmend Imatinib-Resistenzen auf, weshalb Nilotinib als RTK-Inhibitor der zweiten Generation entwickelt wurde [12].

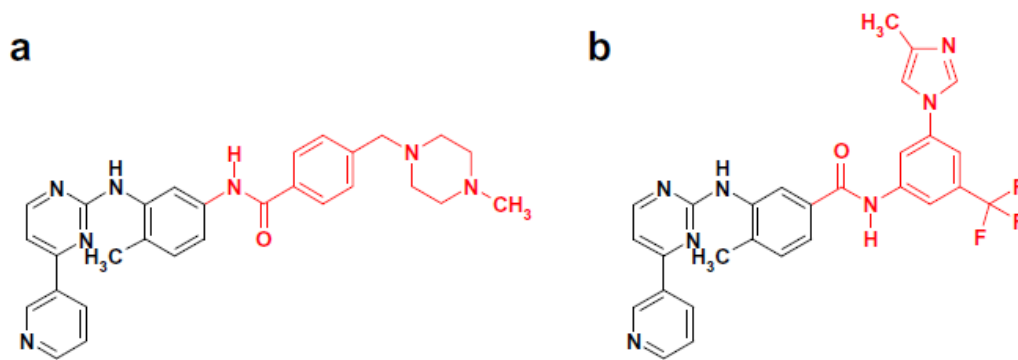


Abbildung 1.1 Struktureller Vergleich von Imatinib (a) und Nilotinib (b)

Gemeinsame Anteile sind schwarz, unterschiedliche Anteile rot dargestellt. [17]

Nilotinib weist lipophile und schwach basische Eigenschaften auf, sein Transport in die Zelle erfolgt hauptsächlich durch passive Diffusion [17]. In der Zelle wirkt Nilotinib als kompetitiver Inhibitor an der ATP-Bindungsstelle der RTK, wodurch die Kinase-Aktivität gehemmt und die Signalweiterleitung unterbrochen wird (vgl. Abbildung 1.2) [19]. Somit kann Nilotinib die durch RTKs angeregte Stimulation von Angiogenese, Zellproliferation sowie Zellmigration vermindern [20]. Verglichen mit seinem Vorgänger Imatinib zeigt Nilotinib eine deutlich bessere Wirksamkeit bezüglich der Kinase-Aktivität des BCR-ABL-Proteins [18] und inhibiert zudem die Aktivitäten von c-Kit [18], PDGF/PDGFR [18, 20] und VEGF/VEGFR [20]. Um den Einsatz der Substanz Nilotinib im Rahmen einer Abstoßung nach LTx besser zu verstehen, soll im folgenden Abschnitt die Pathogenese der CLAD näher erläutert werden.

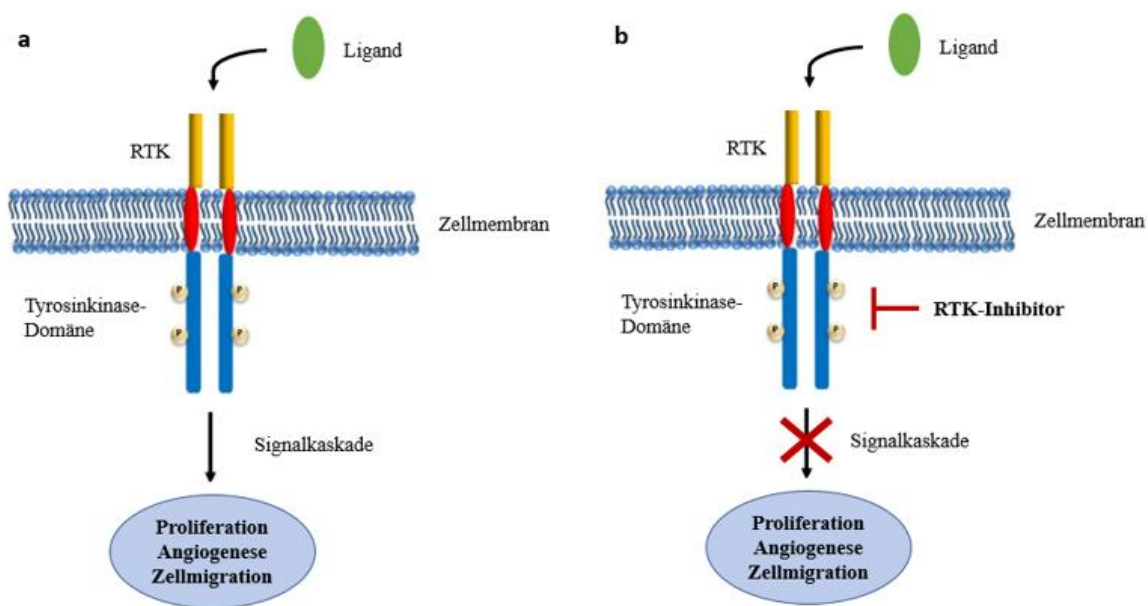


Abbildung 1.2 Schematische Darstellung der Wirkung einer RTK [20]

- a) ohne RTK-Inhibitor
- b) mit RTK-Inhibitor

1.4 Pathogenese der CLAD

Die Entstehung der CLAD basiert zunächst auf einer Kombination alloimmun-abhängiger sowie -unabhängiger Risikofaktoren [21, 22]. Im Sinne einer allospezifischen Immunreaktion werden hierzu die Bildung von anti-HLA-Antikörpern und die Entwicklung einer akuten Abstoßungsreaktion gezählt [21]. Zu den nicht immunologischen Faktoren gehören beispielsweise das Vorliegen einer viralen Infektion (CMV, RSV, Influenza), gastroösophagealer Reflux oder ein primäres Transplantatversagen [21, 22]. All diese Mechanismen bedingen initial eine Schädigung des respiratorischen Epithels in den transplantierten Lungen mit Induktion einer massiven Lymphozyteninfiltration [5, 21, 22]. Im Rahmen der nachfolgenden Inflammationsreaktion wird eine vermehrte Ausschüttung von Wachstumsfaktoren ausgelöst, welche über RTKs wirken [5, 10, 22]. Durch Stimulation von Zellmigration und -proliferation, Angiogenese und Inhibition apoptotischer Prozesse werden so unkontrollierte Reparaturmechanismen angestoßen [5, 22]. Des Weiteren wird im Rahmen

dieser inflammatorischen Abläufe vermehrt oxidativer Stress induziert, welcher die gesteigerte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies mit pro-fibrotischem Effekt zur Folge hat [22, 23]. Letztlich werden durch die beschriebene Signalkaskade histopathologische Veränderungen im Sinne einer massiven Fibroproliferation mit Obstruktion der kleinen Atemwege sowie narbigem Umbau von Gefäßen und interstitiellem Lungenparenchym ausgelöst [5, 9, 21].

Der Einsatz von Nilotinib als RTK-Inhibitor soll hierbei eine Blockade der aufgezeigten Signalkaskade bewirken: durch Hemmung der Kinase-Aktivität wird die Signalweiterleitung an den Rezeptoren der Wachstumsfaktoren unterbrochen und die hierdurch angeregte Stimulation von Angiogenese, Zellproliferation sowie Zellmigration vermindert [20]. Zudem wird eine signifikante Reduktion von oxidativen Stress-Reaktionen erwartet, welche mit der Entstehung einer chronischen Transplantatabstoßung einhergehen [23, 24]. Die im einzelnen relevanten Wachstumsfaktoren und oxidativen Stress Marker werden in den folgenden Kapiteln näher erläutert.

1.4.1 Wachstumsfaktoren

CD117

CD117, auch bekannt als c-Kit oder Stammzellfaktor-Rezeptor, gehört zur Gruppe der RTKs und wird vor allem von hämatopoetischen Zellen exprimiert [20, 25, 26]. Der Rezeptor besteht aus einem extrazellulären Anteil mit fünf Immunglobulin-Domänen, einer transmembranären Region sowie einem intrazellulären Anteil mit einer gesplitteten Tyrosinkinase-Domäne [25]. Die Bindung seines Liganden, dem Stammzellfaktor (SCF, engl. stem-cell-factor), an den extrazellulären Anteil des Rezeptors induziert dessen Dimerisierung und nachfolgend die Autophosphorylierung der intrazellulären Tyrosinkinase-Domäne [25]. Die hierdurch ausgelöste Signalkaskade bewirkt eine Stimulation von Zellproliferation und -migration, Hämatopoese, Angiogenese, Melanogenese sowie Gametogenese [20, 25].

PDGF und PDGFR

Die PDGF-Familie umfasst eine Gruppe von Wachstumsfaktoren, welche in Form von Dimeren aus Polypeptidketten von mesenchymalen Zellen synthetisiert und in Thrombozyten gespeichert werden [27–29]. Es sind fünf verschiedene PDGF-Dimere bekannt, die

Homodimere PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-CC, PDGF-DD und das Heterodimer PDGF-AB [27, 28]. Diese werden durch die Kombination der vier Polypeptidketten PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C und PDGF-D gebildet, welche durch die Ausprägung von Disulfidbrücken aneinander binden [27, 28]. Seine mitogene Wirkung entfaltet PDGF über die Aktivierung seiner Rezeptoren PDGFR- α und PDGFR- β , welche zur Gruppe der RTKs gehören und von Zellen mesenchymalen Ursprungs, wie z.B. Fibroblasten, exprimiert werden [27–29]. Der Aufbau des PDGFRs besteht aus einem extrazellulären Anteil mit fünf Immunglobulin-Domänen, einer transmembranären Region sowie einem intrazellulären Anteil mit einer gesplitteten Tyrosinkinase-Domäne [27, 28]. Die extrazelluläre Bindung des Liganden an seinen Rezeptor induziert dessen Dimerisierung, wodurch die Autophosphorylierung der intrazellulären Tyrosinkinase-Domäne ausgelöst wird [27, 28]. Die nachfolgende Signalkaskade führt zur Stimulation von Zellmigration und Zellwachstum sowie der Inhibition von apoptotischen Prozessen [27].

Ein pathologischer Anstieg der PDGF-Sekretion ist unter Anderem assoziiert mit der Entstehung von Malignomen, Vaskulopathien und fibrotischem Gewebeumbau [28]. Insbesondere PDGF-AA und PDGFR- α spielen eine zentrale regulatorische Rolle in der Entwicklung von fibroproliferativen Prozessen im Rahmen einer chronischen Transplantatabstoßung [30], so reagieren z.B. Fibroblasten der Lunge auf steigende PDGF-Levels mit einer massiven Zunahme von Proliferation und Zellmigration [27].

VEGF und VEGFR

Die VEGF-Familie beschreibt eine Gruppe von fünf Wachstumsfaktoren, welche von Zellen mesenchymalen Ursprungs produziert werden [31]. Es sind die fünf Isoformen VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D und der Plazenta-Wachstumsfaktor (PlGF, engl. placenta-growth-factor) bekannt, welche in Form von homodimeren Polypeptiden vorliegen [31]. VEGF wirkt über die Bindung an seine Rezeptoren VEGFR-1, VEGFR-2 und VEGFR-3, welche zur Gruppe der RTKs gehören [31]. VEGFR-1 wird vor allem von Monozyten und Makrophagen exprimiert, während VEGFR-2 vorwiegend in Gefäßendothelzellen und VEGFR-3 in lymphatischen Endothelzellen vorliegt [31]. Die Struktur der VEGFRs setzt sich aus drei Anteilen zusammen: extrazellulär finden sich sieben Immunglobulin-Domänen, welche über eine transmembranäre Region mit der intrazellulären Tyrosinkinase-Domäne verbunden sind [32]. Durch Bindung des Liganden an den extrazellulären Rezeptoranteil erfolgt dessen Dimerisierung und nachfolgend die Autophosphorylierung der intrazellulären Tyrosinkinase-

Domäne [31]. Die hierdurch induzierte Signalkaskade bewirkt eine Stimulation von Zellproliferation, Zellmigration, Angiogenese und Vaskulogenese sowie die Regulation von Monozyten-Migration und Inhibierung apoptotischer Prozesse [20, 31].

1.4.2 Oxidativer Stress

Myeloperoxidase

MPO ist eine Häm-Peroxidase, welche in Monozyten und neutrophilen Granulozyten synthetisiert und in deren azurophiler Granula gespeichert wird [33–35]. Mittels Degranulation wird MPO in Phagosomen sowie in den Extrazellulärraum ausgeschüttet [36]. Das Enzym zeigt immunregulatorische Wirkung und wird während inflammatorischer Prozesse vermehrt exprimiert [36, 37]. Der im Folgenden beschriebene Peroxidase-Zyklus wird in Abbildung 1.3 graphisch dargestellt.

In Anwesenheit von Wasserstoffperoxid (H_2O_2), dem physiologischen Substrat der Häm-Peroxidase, wird MPO zu seinem Intermediat MPO-1 oxidiert [33, 35, 37]. MPO-1 wird über zwei verschiedene Reaktionswege reduziert, das Intermediat kann direkt oder über die Bildung eines Intermediats MPO-2 wieder in seine native Form überführt werden [33, 37]. Die direkte Reduktion von MPO-1 zu MPO erfolgt durch die Oxidation von Chlorid, hierbei fällt hypochlorige Säure (HOCl) an [33, 35, 37]. HOCl spielt eine wesentliche Rolle in der mikrobiellen und viralen Abwehr, zeigt Wirkung auf intrazelluläre Signalproteine sowie die Regulation von Zellproliferation und fördert den fibrotischen Gewebeumbau [35, 37]. Außerdem kann MPO-1 durch die Reaktion mit oxidierbaren Substraten zunächst zu dem Intermediat MPO-2 reduziert werden, welches wiederum auf selbe Weise zum ursprünglichen MPO reduziert wird [33, 35, 37]. Während dieser beiden Reaktionsschritte werden die Substrate zu Radikalen oxidiert, welche pro-fibrotischen Effekt zeigen [35].

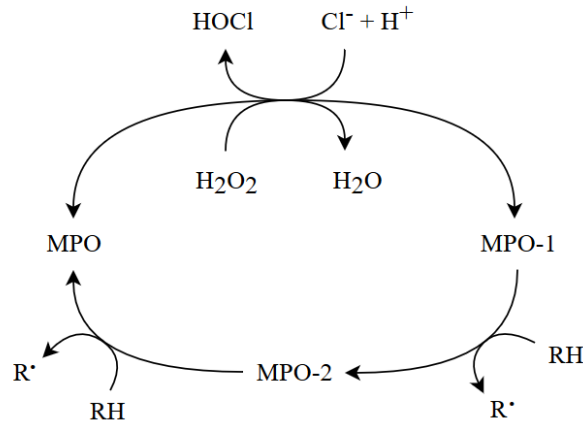


Abbildung 1.3 Peroxidase-Zyklus von MPO [33, 35]

Transglutaminase-2

Die TGM-Familie besteht aus neun Mitgliedern, welche sich aus acht enzymatisch aktiven Proteinen sowie einem inaktiven Membranprotein zusammensetzen [38, 39]. TGM-2, der häufigste Vertreter der Familie, ist ein multifunktionales profibrotisches Protein, das unter anderem von Fibroblasten, Makrophagen und Erythrozyten in Form eines Zymogens ausgeschüttet und nachfolgend proteolytisch aktiviert wird [38–40].

Seine Funktionen umfassen die Vernetzung und Stabilisierung der extrazellulären Matrixproteine Kollagen, Fibronectin und Elastin sowie die Unterstützung von Zelladhäsion und Zell-Zyklus-Progression [38–40]. Stimuli wie Inflammation, oxidativer Stress und virale Infektion regen eine vermehrte Expression von TGM-2 an, welche mit zunehmender Zelldifferenzierung, Fibrosierung sowie Immunabwehr assoziiert ist [39].

Hämoxygenase-1

Das HO-System des Menschen setzt sich aus der induzierbaren Isoform HO-1, welche als ubiquitäres Stressprotein zytoprotektive Wirkung zeigt, und der konstitutiven Isoform HO-2 zusammen [41–43]. In der Ratte wurde zudem eine dritte Isoform HO-3 beschrieben, deren Eigenschaften bislang nicht ausreichend geklärt sind [41]. Pulmonal wird HO-1 in respiratorischen Epithelzellen, Fibroblasten, Endothelzellen und Alveolarmakrophagen exprimiert [42]. Seine Induktion erfolgt durch das physiologische Substrat Häm sowie durch

Stimuli assoziiert mit oxidativem Stress wie Hypoxie, Hyperoxie, Zytokine, Stickstoffmonoxid und Wasserstoffperoxid [42].

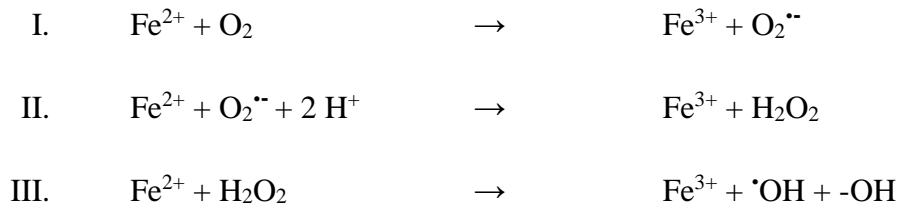
Die Funktion des Enzyms HO-1 liegt im Abbau von Häm zu Biliverdin, Kohlenstoffmonoxid und Eisen [41–43] nach folgender Reaktionsgleichung [41]:



Die Reaktionsprodukte Biliverdin, Kohlenstoffmonoxid und Eisen beeinflussen die Ausprägung von oxidativem Stress, inflammatorischen sowie apoptotischen Prozessen und zeigen zytoprotektive Wirkung [41–43]. Biliverdin wird durch die Biliverdin-Reduktase zu Bilirubin konvertiert, welches anti-oxidative Eigenschaften besitzt [41–43]. Kohlenstoffmonoxid bewirkt in niedrigen Konzentrationen unter anderem eine Vaso- und Bronchodilatation sowie die Inhibierung von Thrombozytenaggregation, Zellproliferation und pro-inflammatorischer Zytokinausschüttung [41–43]. Eisen als potentielles Pro-Oxidant wird durch die Sequestrierung in Ferritin detoxifiziert [41, 42]; eine nähere Beschreibung des Eisenstoffwechsels wird im nachfolgenden Abschnitt gegeben.

Eisen

Eisen ist ein essentielles Spurenelement, welches über den Gasaustausch pulmonal aufgenommen wird und für viele Aspekte der normalen Zellfunktion notwendig ist [44, 45]. Im biologischen System liegt Eisen vor allem in seiner reduzierten Fe^{2+} und oxidierten Fe^{3+} Form vor und kann durch seine Beteiligung an Redox-Reaktionen die Bildung freier Radikale fördern [44–46]. Als potentielles Pro-Oxidant wird Eisen zunächst mittels Transferrin in die Epithelzellen der Lunge transportiert, wo es darauffolgend in das Speichermolekül Ferritin sequestriert wird, das in den Epithelzellen in hohen Konzentrationen vorhanden ist [44]. Eine Schädigung des Lungenepithels durch inflammatorische Prozesse führt zu einer verminderten Aufnahme und Sequestrierung des Eisens und bedingt dessen Akkumulation, welche eine vermehrte Generierung von Radikalen nach folgenden Reaktionsgleichungen bewirkt [44, 46, 47]:



Nach Reaktion I wird Fe^{2+} zu Fe^{3+} oxidiert, wobei durch Reduktion von Dioxygen (O_2) Superoxidanionen ($\text{O}_2^{\bullet -}$) produziert werden [46]. Mittels der Dismutase-Reaktion II reagieren die generierten Superoxidanionen mit Wasserstoffionen (H^+) unter Oxidation von Fe^{2+} zu Wasserstoffperoxid (H_2O_2) [46]. Die Fenton-Reaktion (Reaktion III) beschreibt den Abbau von Wasserstoffperoxid unter Oxidation von Fe^{2+} zu Hydroxylradikalen ($\cdot\text{OH} + \text{-OH}$) [46]. Die exzessive Produktion von freien Radikalen führt zur Schädigung von Proteinen, Nukleinsäuren sowie Phospholipiden und fördert die Freisetzung von Cytochrom c, welches apoptotische Prozesse begünstigt [45, 46]. Final kann die verstärkte Radikalbildung durch pulmonalen oxidativen Stress die Schädigung intrazellulärer Organellen und die Aktivierung von Fibroblasten bedingen, welche sich in der Fibrosierung des Lungenparenchyms manifestieren [47].

1.5 Studiendesign

Die vorliegende Studie wurde anhand eines bereits in unserer Arbeitsgruppe etablierten Modells der unilateralen, linksseitigen, orthotopen Lungentransplantation der Ratte durchgeführt. Daneben sind weitere verschiedenste Tiermodelle zur Untersuchung der BO bekannt, hierunter beispielsweise die heterotope Trachealspangentransplantation, die orthotope Tracheatransplantation oder auch die orthotope Lungentransplantation bei großen Säugetieren [48]. Auf die jeweiligen Vor- und Nachteile sowie die Auswahl eines Modells für das vorliegende Projekt soll im Diskussionsteil dieser Arbeit näher eingegangen werden.

Bei den verwendeten Tieren handelte es sich um eigens für Tierversuche gezüchtete Ratten, welche von der Firma Charles River bezogen wurden. Als Spendertiere wurden männliche Ratten des Stamms Fischer 344 (F344) ausgewählt, als Empfängertiere dienten männliche Ratten des Wistar Kyoto (WKY) Stamms. Die Wahl der Rattenstämme basierte auf

der schwach allogenen Differenz ihrer MHC-1-Komplexe, welche mit der immungenetischen Situation bei humanen Organtransplantationen vergleichbar ist. Analog der klinischen Situation entwickeln zudem die in WKY-Ratten transplantierten Lungen der F344-Spendertiere zunächst eine akute, sowie in den folgenden Wochen eine chronische Transplantatabstoßung [49].

Zur Durchführung der Studie wurden die Versuchstiere in eine Medikamentengruppe und eine Kontrollgruppe eingeteilt. Die Medikamentengruppe erhielt die Substanz Nilotinib, während die Kontrollgruppe ohne jegliche postoperative Immunsuppression blieb. Den Tieren der Medikamentengruppe wurde ab dem Tag der Transplantation (Tag 0) täglich Nilotinib in einer Dosis von 20mg pro Kilogramm Körpergewicht (20mg/kg KG) verabreicht. Die Dosierung orientierte sich an der vorangegangenen Arbeit von Shaker et al. mit Nilotinib in einem Leberfibrose-Modell der Ratte [50].

Zur Beurteilung der akuten Abstoßungsreaktion der Lunge erfolgte die Tötung eines Anteils der Tiere aus Kontroll- und Medikamentengruppe jeweils am 20. postoperativen Tag (POD 20), wohingegen der andere Teil der Tiere am 60. postoperativen Tag (POD 60) zur Untersuchung der chronischen Abstoßung getötet wurde. Diese beiden Untersuchungszeitpunkte basieren auf den ersten Studien der eigenen Arbeitsgruppe, welche in vorangegangenen Tierexperimenten Auswertungen zum POD 20, 30, 60 und 100 durchführten. Hier konnte zum POD 20 das Vorliegen einer ausgeprägten akuten Abstoßungsreaktion festgestellt werden, welche zum POD 30 beginnend in eine chronische Abstoßung übergeht. Zum POD 60 zeigte sich eine deutliche chronische Abstoßung, letztlich war das Lungengewebe zum POD 100 gänzlich fibrosiert [1, 51, 52]. In nachfolgenden Arbeiten konnte das Auftreten einer akuten Abstoßung innerhalb von 20 Tagen nach LTx sowie einer chronischen Abstoßung nach 60 Tagen bestätigt werden [24, 53]. Aufgründessen und um eine Vergleichbarkeit der Studien zu gewährleisten wurden auch für diese Arbeit der POD 20 und POD 60 als Versuchszeitpunkte festgelegt. Des Weiteren ist unter dem Aspekt des Tierwohls eine möglichst kurze Versuchsdauer zu befürworten, sodass keine Auswertung zum POD 100 stattfand.

Von den linken und rechten Lungen der Empfängertiere sowie den rechten Lungen der Spendertiere wurden histologische Präparate angefertigt und Routinefärbungen (Hämatoxylin-Eosin (HE), Sirius-Red-Elastica (SR/E)) sowie immunhistologische Färbemethoden erstellt. Anhand der konventionellen Histologie (HE, SR/E) erfolgte anschließend die Auswertung der

akuten und chronischen Transplantatabstoßung nach modifizierten Kriterien der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) [49] sowie die Beurteilung der Fibrosierung des interstitiellen Lungenparenchyms gemäß der modifizierten Ashcroft-Skala [54, 55]. Zusätzlich erfolgte die Beurteilung der Immunhistochemie, bei der die Ausprägung der Wachstumsfaktoren PDGF-AA/PDGFR- α [28], VEGF-A/VEGFR-2 [20] sowie c-Kit [18] bezüglich Zellzahl und Intensität untersucht wurde. Außerdem wurde die Ausprägung der oxidativen Stress-Marker Myeloperoxidase (MPO) [56], Transglutaminase (TGM-2) [38], Hämoxygenase (HO-1) [43] und Eisen (Fe) [57] anhand ihrer Zellzahl beurteilt.

Um den Grad der Fibrosierung in den transplantierten Lungen zu bestimmen, wurde neben der histologischen Beurteilung eine quantitative durchgeführt. Hierfür erfolgte die photometrische Bestimmung des Kollagengehalts in den transplantierten Lungen [58].

2 Material und Methoden

2.1 Einsatz des Rattenmodells

Die Studie wurde anhand eines LTx-Modells der Ratte durchgeführt. Bei den Tieren handelte es sich um eigens für Tierversuche gezüchtete Ratten, welche von der Firma Charles River bezogen wurden. Als Spendertiere wurden männliche Ratten des Stamms F344 (F344[RT11v1]) ausgewählt, als Empfängertiere dienten männliche Ratten des WKY-Stamms (WKY[RT11]). Es wurden bewusst lediglich männliche Tiere in das Projekt eingeschlossen, um eventuelle Schwankungen der Ergebnisse aufgrund des weiblichen Hormonzyklus auszuschließen. Mehrere Rattenversuche konnten diesbezüglich aufzeigen, dass das weibliche Geschlechtshormon Östrogen antioxidative Wirkung aufweist, wobei diese in Abhängigkeit des hormonellen Zyklus unterschiedlich stark auftritt [59–61]. Zudem wurde ein antiinflammatorischer Effekt von Östrogen auf Endothelzellen bei ischämischen Schäden sowie die Begünstigung einer Vasodilatation durch die gesteigerte Synthese von Stickstoffmonoxid beschrieben [59, 61]. Des Weiteren scheint Östrogen bereits in der fetalen Entwicklung Einfluss auf die Lungenreife und insbesondere die Bildung von Pneumozyten zu nehmen [62]. Daher wurde zur Reduktion dieser Störvariablen auf eine Untersuchung weiblicher Ratten verzichtet, um so anhand einer geringeren Tierzahl dennoch valide Ergebnisse zu generieren. Alle Tiere wiesen zu Beginn der Studie ein Körpergewicht von 290-350g im Alter von ca. acht Wochen auf. Für das Projekt liegen zwei genehmigte Anträge von der Regierung der Oberpfalz für einen Tierversuch mit den Aktenzeichen 54-2532.1-16/12 und 54-2532.1-24/12 vor. Die Haltung der Tiere erfolgte gemäß den von der Europäischen Union vorgegebenen Grundsätzen zur Labortierhaltung (Principles of Laboratory Animal Care, European Union Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Publikationsnummer 86/609/EWG).

Die Ratten wurden im Tierlaboratorium des Forschungsbaus H4 des Universitätsklinikums Regensburg unter standardisierten Bedingungen (Temperatur $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, Luftfeuchtigkeit $50\% \pm 5\%$) gehalten. Die Unterbringung erfolgte in speziellen Filterdeckelkäfigen (Euro-Typ-IV Polycarbonat-Käfige) in einer Gruppengröße von maximal fünf Tieren pro Käfig. Die Ratten wurden ad libitum mit Standard-Diäten für Labornager gefüttert und hatten unbegrenzt

Leitungswasser aus Tränkeflaschen zur Verfügung. Vor Beginn der Versuche wurden die Tiere zunächst für ca. zwei Wochen an die Haltungsbedingungen adaptiert.

Nach erfolgreicher Transplantation erholten sich die Tiere innerhalb von wenigen Tagen vollständig. Durch den Verbleib der funktionsfähigen rechten Lunge ergaben sich keine sichtbaren Einschränkungen für die Tiere. Sie zeigten keine Verhaltensauffälligkeiten oder Störungen der Atmung. Die Notwendigkeit der Organentnahme zur Analyse des Gewebes bedingte die Tötung der Tiere am Versuchsende.

2.2 Versuchsgruppen

Im Rahmen der Studie erfolgte die Untersuchung sowohl einer Medikamentengruppe als auch einer Kontrollgruppe. Die Versuchstiere beider Gruppen wurden allogot linksseitig lungentransplantiert und zum Versuchsende zu definierten Zeitpunkten getötet. Allen getöteten Tieren wurden die linken und rechten Lungen zur weiteren Analyse entnommen. Tabelle 2.1 gibt eine Übersicht über die Anzahl der Tiere in den oben genannten Versuchsgruppen. Zudem wurden den zugehörigen F344-Spendertieren die gesunden rechten Lungen entnommen, welche als Referenzgruppe für physiologische Rattenlungen ohne Transplantationsschäden fungierten.

Nilotinib-Gruppe

Es erfolgte die linksseitige LTx (F344 > WKY) von 13 Versuchstieren. Ab dem Tag der Transplantation erhielten die Tiere täglich Nilotinib in einer Dosis von 20mg/kg KG. Sechs Tiere wurden am POD 20 sowie sieben Tiere am POD 60 getötet.

Kontroll-Gruppe

Bei 15 Tieren wurde eine linksseitige LTx (F344 > WKY) durchgeführt. Die Tiere der Kontrollgruppe blieben ohne jegliche postoperative Immunsuppression. Sechs Tiere wurden am POD 20 sowie die verbleibenden neun Tiere am POD 60 getötet.

	Nilotinib	Kontrolle
Therapie	Nilotinib 20mg/kg KG	keine
n POD 20	6	6
n POD 60	7	9
n Summe	13	15

Tabelle 2.1 Einteilung der Versuchsgruppen

n = Anzahl der Tiere, kg KG = Kilogramm Körpergewicht

2.3 Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Im Folgenden wird die Gewinnung der Rattenlungen detailliert beschrieben. Es erfolgte zunächst die LTx unter Narkose und Beatmung sowie die Kontrolle des postoperativen Verlaufs, bis die Tiere zu definierten Zeitpunkten zur Organentnahme getötet wurden.

2.3.1 Narkose und Beatmung

Die Operation wurde am narkotisierten Tier durchgeführt. Die Spendertiere erhielten subkutan (s.c.) eine Dreifach-Narkose aus Medetomidin (150µg/kg KG), Midazolam (2mg/kg KG) und Fentanyl (5µg/kg KG), die Empfängertiere bekamen unter einer kurzen Isofluran-Rauschnarkose eine intraperitoneale Injektion Chloralhydrat (300mg/kg KG) sowie Buprenorphin (0,05 – 0,1mg/kg KG) als zentral wirksames Opiat zur Schmerzprävention. Anschließend wurden die Tiere endotracheal intubiert und an die Isofluran-Inhalationsnarkose mit einem Gasfluss von 1,5l/min angeschlossen. Die Beatmung erfolgte mit 100% Sauerstoff in einer Frequenz von 40-50 Atemzügen pro Minute sowie einem Atemzugvolumen von 2,5ml. Zur Reduktion der bronchialen Sekretion sowie dem Schutz der vagalen Inhibition erfolgte die intramuskuläre Prämedikation mit Atropinsulfat (0,2mg/kg KG). Gegebenenfalls wurde Pancuronium (2mg/kg KG) als Muskelrelaxans eingesetzt.

2.3.2 Spenderoperation

Die Spendertiere wurden zunächst im thorakalen und abdominalen Bereich rasiert und desinfiziert. Es erfolgte eine Laparotomie sowie die Gabe von 1500 Einheiten Heparin über die Vena Cava, welche anschließend durchtrennt wurde. Nach Eröffnung des Thorax wurde über den rechten Ventrikel eine Perfusionskanüle in die Arteria Pulmonalis eingebracht, über welche die Perfusion der Lunge mit Euro-Collins-Lösung unter Zugabe von 1,25µg Prostaglandin (Ilomedin 20µg/ml) erfolgte. Anschließend wurden beide Lungen entnommen und die linke Lunge bis zur Implantation bei 4°C in modifizierter Euro-Collins-Lösung gelagert. Die rechten Lungen gelangten als Kontrollgewebe zur histologischen Aufarbeitung. Die Spendertiere kamen mit Beginn der Lungenperfusion ad Exitum, die Dauer des Eingriffs betrug ca. fünf Minuten.

2.3.3 Empfängeroperation

Unter oben beschriebener Isofluran-Narkose fand die erste Applikation der Substanz Nilotinib per Magen-Schlundsonde statt. In tiefer Narkose wurde anschließend eine linksseitige laterale Thorakotomie im dritten oder vierten Interkostalraum durchgeführt. Es erfolgte die Präparation von A. Pulmonalis, V. Pulmonalis und linksseitigem Bronchus mit darauffolgender linksseitiger Pneumektomie. Unmittelbar nach Explantation der linken Lunge wurde die zuvor präparierte linke Spenderlunge implantiert. Die Anastomosen der Gefäße sowie des Bronchus wurden mit Prolene 10/0 Fäden End-zu-End angelegt, anschließend wurde der Thorax verschlossen. Im letzten Schritt konnten die Tiere bei ausreichender Spontanatmung sowie vorhandenem Kornealreflex von der Beatmung getrennt und extubiert werden. Die Dauer des Eingriffs betrug ca. 60 Minuten.

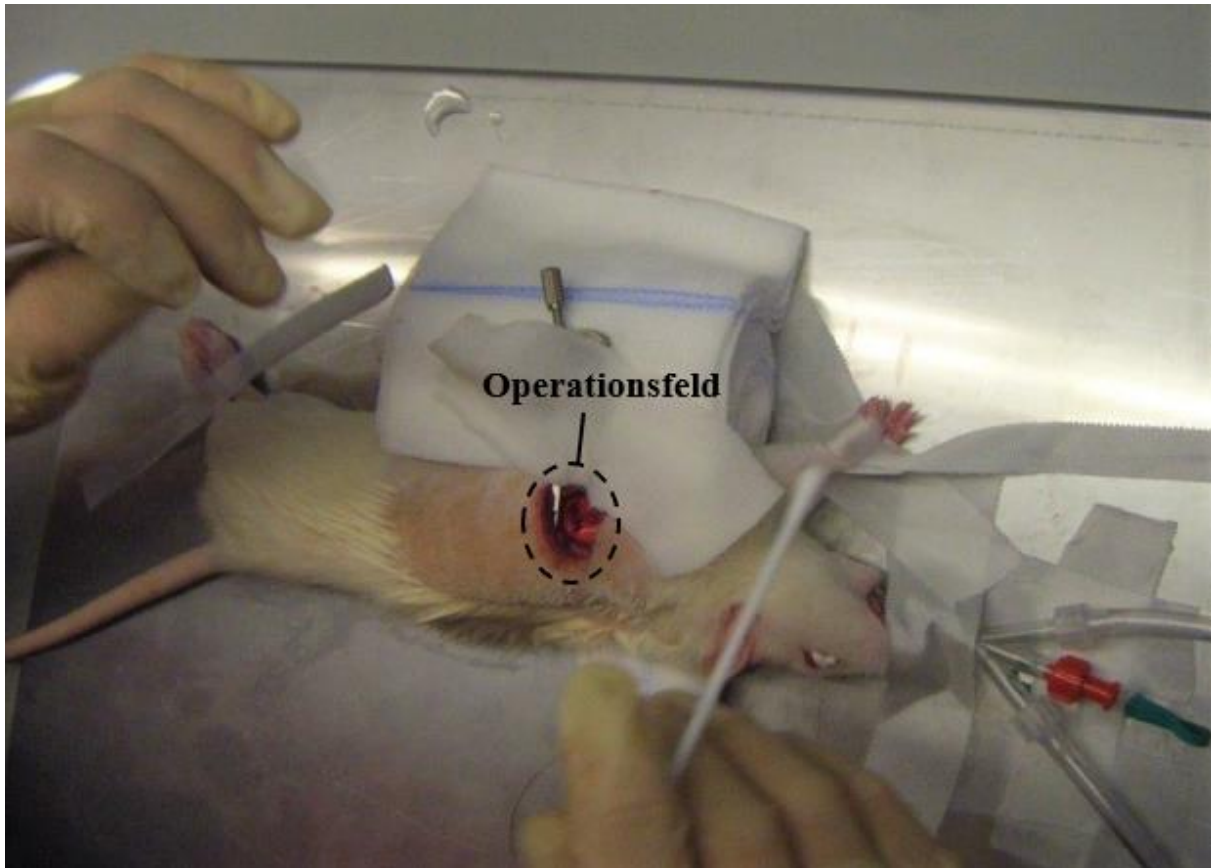


Abbildung 2.1 Empfängeroperation

Das Versuchstier ist narkotisiert, intubiert und in Rechtsseitenlage fixiert. Nach erfolgter linksseitiger lateraler Thorakotomie wird die linksseitige Pneumektomie mit nachfolgender Implantation der Spenderlung durchgeführt.

2.3.4 Postoperativer Verlauf

Nach erfolgreichem Eingriff verblieben die Empfängertiere für einige Stunden unter Beobachtung und wurden zunächst einzeln in den Käfigen untergebracht. Zur Schmerzprophylaxe erfolgte die Analgesie mit Buprenorphin (0,05-0,1mg/kg KG s.c.) zweimal täglich über drei bis sechs Tage. Ab dem dritten postoperativen Tag wurden die Tiere in Kleingruppen von maximal fünf Tieren pro Käfig gehalten. Unter täglicher Prüfung des Gesundheitszustandes wurden die Hautklammern bei per Primam erfolgreicher Wundheilung am siebten postoperativen Tag entfernt.

Für die Tiere der Nilotinib-Gruppe erfolgte ab dem Tag der LTx die tägliche Applikation von Nilotinib in einer Dosis von 20mg/kg KG per Magensonde unter einer kurzen

Isofluran-Rauschnarkose. Einmal wöchentlich wurde die Plasmakonzentration von Nilotinib mittels einer Blutentnahme durch Punktion der Schwanzvene bestimmt. Die Tiere der Kontroll-Gruppe blieben ohne jegliche postoperative Immunsuppression.

Zur histologischen Beurteilung des Lungengewebes war die Tötung der Ratten beider Gruppen zu definierten Zeitpunkten (POD 20 und POD 60) notwendig. Die Tiere wurden unter Isofluran-Narkose zunächst laparotomiert, anschließend wurde die V. Cava eröffnet und die Tiere wurden ausgeblutet. Die getöteten Ratten wurden unmittelbar seziiert und beide Lungen entnommen.

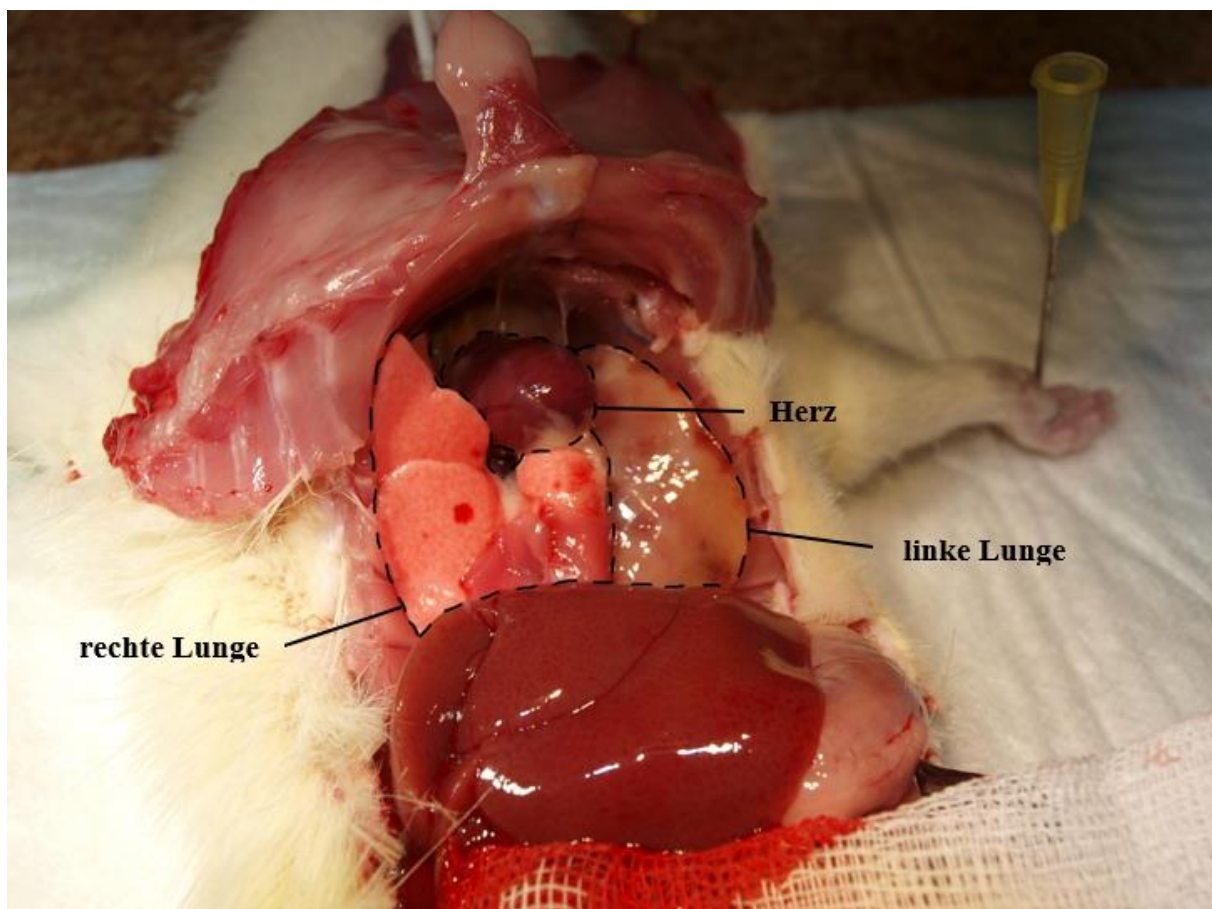


Abbildung 2.2 Entnahme der Lungen

Das Versuchstier ist narkotisiert und in Rückenlagen fixiert. Im eröffneten Thorax sind die linke und rechte Lunge sowie das Herz gut sichtbar. Bereits makroskopisch lässt sich eine livide Verfärbung der transplantierten linken Lunge gegenüber der nicht transplantierten rechten Lunge erkennen.

2.3.5 Kriterien des Versuchsabbruchs

Die Bedingungen für einen Versuchsabbruch gliedern sich in zwei Kategorien. Die Kriterien konnten noch während bzw. unmittelbar nach der Operation auftreten oder sich erst postoperativ im weiteren Versuchsablauf entwickeln.

Der Abbruch der Operation war indiziert, wenn eine Adaption der Gefäße oder des Bronchus nicht möglich war oder sich nach dem Öffnen der Gefäßklemme eine Stauungslunge bildete. Hierbei wurde das Tier unter noch bestehender Narkose durch sofortiges Ausbluten getötet. Traten kurz nach der Operation Komplikationen bezüglich der Atmung auf, wie z.B. auffälliger Ausfluss aus Nase und Rachen, oder zeigte das Tier Krämpfe, war das Tier ebenfalls zu töten.

Nach zwei bis drei Tagen sollten sich die Tiere vollständig erholt haben. Traten Störungen im Allgemeinbefinden oder Verhaltensänderungen auf, war das Tier gesondert zu beobachten. Wurde innerhalb weniger Tage eine Verschlechterung des Zustandes festgestellt, wurde das Tier getötet. Bei schweren Störungen bezüglich der Atmung wurde ebenfalls der Versuch abgebrochen.

Im Rahmen der durchgeführten Studie trat keines der beschriebenen Abbruchkriterien auf, sodass alle ausgewählten Tiere in das Projekt eingeschlossen werden konnten.

2.4 Präparation des Untersuchungsmaterials

Die entnommenen Lungen wurden zunächst zur Konservierung in Paraffinblöcke gegossen. Im weiteren Verlauf erfolgte die Anfertigung von Paraffinschnitten, welche für die Analyse des Gewebes nach unterschiedlichen Methoden präpariert wurden. Im Folgenden werden die einzelnen Arbeitsschritte detailliert erläutert.

2.4.1 Paraffinschnitte

Unmittelbar nach der Organentnahme wurden die Lungen mit Kochsalzlösung gespült und über 24 Stunden in vierprozentiges Formalin eingelegt. Über Nacht erfolgte die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe mittels eines Entwässerungsautomaten und anschließend das Ausgießen in Paraffinblöcke. Zur Erstellung der Gewebsschnitte wurden die Paraffinblöcke zunächst kurz gekühlt. Mittels eines Rotationsmikrotoms erfolgte die Anfertigung von 5µm dicken Paraffinschnitten. Die Schnitte wurden im Wasserbad bei 42°C gestreckt, danach auf Objektträger aufgezogen und über Nacht zum Trocknen bei 50°C in den Brutschrank gegeben. Im nächsten Schritt konnte die Färbung der Gewebsschnitte begonnen werden.

2.4.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Paraffinschnitte wurden zunächst für je 10 Minuten in zwei Portionen Xylol entparaffiniert und in einer absteigenden Alkoholreihe (jeweils 2 x 5 Minuten in 100% Ethanol (EtOH), 96% EtOH, 70% EtOH) rehydriert. Daraufhin erfolgte das Waschen mittels vollentsalztem Wasser (VE-Wasser) und die Färbung mit filtriertem Haemalaun nach Mayer über fünf Minuten. Anschließend wurden die Gewebsschnitte erneut mit VE-Wasser gewaschen, bis keine Farbwolken mehr sichtbar waren. Zum Differenzieren wurden die Schnitte kurz in 0,1% Salzsäure-Alkohol (3ml Salzsäure (HCl) in 1l 70% EtOH) getaucht und danach erneut in VE-Wasser gewaschen. Darauffolgend wurden die Gewebsschnitte für zwei bis drei Minuten in lauwarmem Leitungswasser gebläut und mit VE-Wasser ab gespült. Im nächsten Schritt erfolgte die Gabe in eine aufsteigende Alkoholreihe (je 2 Minuten in 70% EtOH und 96% EtOH), die Gegenfärbung mit Eosin (1% Eosin in 96% EtOH) für 10 Minuten und das Differenzieren in mehreren 96% EtOH Portionen. Danach wurden die Gewebsschnitte zuerst für je drei Minuten in zwei Portionen 100% EtOH, danach für je 10 Minuten in zwei Portionen Xylol gegeben und abschließend mit Entellan eingedeckt.

2.4.3 Sirius-Red-Elastica-Färbung

Die Paraffinschnitte wurden zunächst für je 10 Minuten in zwei Portionen Xylol entparaffiniert und in einer absteigenden Alkoholreihe (jeweils 2 x 5 Minuten in 100% EtOH, 96% EtOH, 70% EtOH) rehydriert. Zur Färbung der elastischen Fasern wurden die Schnitte zweimal in 96% EtOH und anschließend für 20 Minuten in 60°C warme Resorcin-Fuchsin-Lösung gegeben. Nach dem Abkühlen wurden die Gewebsschnitte in 96% EtOH differenziert. Um die Zellkerne anzufärben, wurde eine Hämatoxylin-Lösung aus Weigerts Hämatoxylin A und B im Verhältnis 1:1 hergestellt. Die Schnitte wurden für drei Minuten in beschriebener Lösung gefärbt, darauffolgend in warmem Leitungswasser gebläut und abschließend mit VE-Wasser gespült. Zur Anfärbung des Kollagens wurde zunächst eine Lösung aus 0,5g Direct Red und 500ml gesättigter wässriger Pikrinsäure hergestellt. Die Gewebsschnitte wurden für 45 Minuten in die Färbelösung gegeben und anschließend in gesäuertem Wasser (1% Essigsäure in Wasser) gewaschen. Danach wurden die Gewebsschnitte zuerst für je drei Minuten in zwei Portionen 100% EtOH, danach je 10 Minuten in zwei Portionen Xylol gegeben und abschließend mit Entellan eingedeckt.

2.4.4 Antikörper-Färbung

Die Paraffinschnitte wurden zunächst für je 10 Minuten in zwei Portionen Xylol entparaffiniert, in einer absteigenden Alkoholreihe (jeweils 2 x 5 Minuten in 100% EtOH, 96% EtOH, 70% EtOH) rehydriert und mit VE-Wasser gewaschen. Es erfolgte die Blockierung der endogenen Peroxidase mittels einer dreiprozentigen Wasserstoffperoxid-Lösung (20ml 30% H₂O₂ in 180ml VE-Wasser für 2 x 5min) und anschließend das erneute Waschen mit VE-Wasser. Zum Gewebeaufschluss wurden die Schnitte für 20 Minuten in Zitratpuffer (Target Retrieval Solution Citrate pH6, Verdünnung 1:10 mit Aqua destillata) gekocht. Nach 20-minütigem Abkühlen wurde nochmals mit VE-Wasser gewaschen, anschließend das Gewebe mit Fettstift umrandet und wieder in VE-Wasser gegeben. Die Gewebsschnitte wurden dreimal für fünf Minuten mit Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS, engl. phosphate-buffered saline) gewaschen.

Anschließend erfolgte zur Blockade von unspezifischen Bindungsstellen des Zweitantikörpers die Inkubation mit 10% Ziegen Serum (NGS, engl. normal goat serum) in PBS für 30 Minuten bei Raumtemperatur (RT) in einer feuchten Kammer. Im nächsten Schritt wurde der Erstantikörper pipettiert, die Schnitte über Nacht bei 4°C in einer feuchten Kammer inkubiert und diese anschließend mit PBS gewaschen. Darauffolgend wurde der Zweitantikörper auf die Gewebsschnitte gegeben und diese für eine Stunde bei RT in einer feuchten Kammer inkubiert. Die jeweiligen Erst- und Zweitantikörper sind Tabelle 2.2 zu entnehmen.

Während der Inkubationszeit wurde parallel ein Avidin-Biotin-Komplex (ABC, engl. Avidin-Biotin-Complex) aus 10µl Avidin, 1000µl PBS und 10µl biotinylierter Meerrettich-Peroxidase angesetzt; die Lösung wurde gevortext und für 30 Minuten ruhen gelassen. Nach der Inkubation wurden die Gewebsschnitte mit PBS gewaschen, mit ABC behandelt und für eine Stunde bei RT in einer feuchten Kammer inkubiert. Die Schnitte wurden erneut mit PBS gewaschen, danach erfolgte die Präinkubation mit zwei Tropfen des Substrats HistoGreen und 1ml Puffer für 10 Minuten bei RT sowie anschließend die Inkubation mit zwei Tropfen HistoGreen, 1ml Puffer und zwei Tropfen Wasserstoffperoxid. Darauffolgend wurden die Gewebsschnitte zum Abstoppen der Reaktion mit VE-Wasser gewaschen.

Im nächsten Schritt erfolgte die Gegenfärbung mit filtriertem Haemalaun nach Mayer. Anschließend wurden die Gewebsschnitte mit VE-Wasser gewaschen, zum Differenzieren kurz in 0,1% HCl-Alkohol (3ml HCl in 1l 70% EtOH) getaucht und danach erneut in VE-Wasser gewaschen. Darauffolgend wurden die Gewebsschnitte für zwei bis drei Minuten in lauwarmem Leitungswasser gebläut und mit VE-Wasser abgespült. Abschließend wurden die Gewebsschnitte zuerst für je 30 Sekunden in zwei Portionen 100% EtOH, danach in zwei Portionen Xylol gegeben und mit Entellan eingedeckt.

Zum Ausschluss von falsch negativen sowie falsch positiven Ergebnissen wurden zu jeder Antikörper-Färbung eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle durchgeführt.

Ligand	Primär-AK	Verdünnung	Sekundär-AK	Verdünnung
CD117	Kaninchen-anti-Ratte	1:150	Ziege-anti-Kaninchen	1:300
VEGF	Kaninchen-anti-Ratte	1:80	Ziege-anti-Kaninchen	1:300
VEGFR	Kaninchen-anti-Ratte	1:200	Ziege-anti-Kaninchen	1:300
PDGF	Kaninchen-anti-Ratte	1:300	Ziege-anti-Kaninchen	1:300
PDGFR	Kaninchen-anti-Ratte	1:1000	Ziege-anti-Kaninchen	1:300
MPO	Kaninchen-anti-Ratte	1:3000	Ziege-anti-Kaninchen	1:300
HO-1	Kaninchen-anti-Ratte	1:1200	Ziege-anti-Kaninchen	1:300
TGM-2	Maus-anti-Ratte	1:50	Ziege-anti-Maus	1:300

Tabelle 2.2 Primär- und Sekundärantikörper

AK = Antikörper, Angabe der Verdünnungen in PBS + 5% NGS

2.4.5 Eisen-Färbung

Die Paraffinschnitte wurden zunächst für je 10 Minuten in zwei Portionen Xylol entparaffiniert und in einer absteigenden Alkoholreihe (jeweils 2 x 5 Minuten in 100% EtOH, 96% EtOH, 70% EtOH) rehydriert. Daraufhin erfolgte das Waschen mittels VE-Wasser und die Färbung in einer Lösung aus Kalium-Ferrocyanid-Lösung und HCl im Verhältnis 2:1 für 10 Minuten. Danach wurden die Schnitte erneut mit VE-Wasser gewaschen und zur Gegenfärbung für eine Minute in verdünnte Pararosanilin-Lösung (1,6ml Pararosanilin in 80ml Aqua destillata) gegeben. Anschließend wurden die Gewebsschnitte mit VE-Wasser gespült, in eine aufsteigende Alkoholreihe (je zweimal Dippen in 70% EtOH, 96% EtOH, 100% EtOH) und danach in Xylol gegeben und abschließend mit Entellan eingedeckt.

2.4.6 Kollagen-Assay

Die quantitative Bestimmung des Kollagengehalts der einzelnen Lungen erfolgte anhand des QuickZyme Total Collagen Assays. Die Gewebeproben der jeweiligen Lungen wurden zunächst in Specialcups überführt und gewogen, anschließend erfolgte die Hydrolyse der Proben mit 300µl sechsmolarer HCl. Parallel wurde ein Standard aus 125µl Stammlösung und

125µl zehnmolarer HCl vorbereitet und ebenfalls in einen Specialcup überführt. Alle Gewebeproben sowie der Standard wurden über 20 Stunden bei 95°C im Thermoblock inkubiert und darauffolgend für 10 Minuten bei 13000g zentrifugiert. Der Überstand der Standardprobe (= Standard 8) wurde abgenommen und wie folgt für die Standardreihe eingesetzt:

Std. Nr.	Standard	4M HCl	Konzentration
7	125µl Std. 8	125 µl	300 µg/ml
6	120µl Std. 7	60 µl	200 µg/ml
5	90µl Std. 6	90 µl	100 µg/ml
4	90µl Std. 5	90 µl	50 µg/ml
3	90µl Std. 4	90 µl	25 µg/ml
2	90µl Std. 3	90 µl	12,5 µg/ml
1	90µl Std. 2	90 µl	6,25 µg/ml
0	0	90 µl	0 µg/ml

Tabelle 2.3 Präparation der Standardreihe

Std. = Standard, Nr. = Nummer

Die Überstände der Gewebeproben wurden jeweils mit viermolarer HCl im Verhältnis 1:25 verdünnt. Anschließend wurden je 35µl der Standardreihe sowie der vorbereiteten Gewebeproben in eine 96-Well Mikrotiterplatte überführt; die Anordnung der Proben ist Tabelle 2.4 zu entnehmen.

Std. 0	P1	P1	P9	P9	P17	P17	P25	P25	P33	P33	P41
Std. 1	P2	P2	P10	P10	P18	P18	P26	P26	P34	P34	P41
Std. 2	P3	P3	P11	P11	P19	P19	P27	P27	P35	P35	P42
Std. 3	P4	P4	P12	P12	P20	P20	P28	P28	P36	P36	P42
Std. 4	P5	P5	P13	P13	P21	P21	P29	P29	P37	P37	P43
Std. 5	P6	P6	P14	P14	P22	P22	P30	P30	P38	P38	P43
Std. 6	P7	P7	P15	P15	P23	P23	P31	P31	P39	P39	Std. 8
Std. 7	P8	P8	P16	P16	P24	P24	P32	P32	P40	P40	Std. 8

Tabelle 2.4 Probenanordnung in der Mikrotiterplatte

Std. = Standard, P=Probe

Die Messung der Standardreihe erfolgte in Einfachbestimmung, die Messung der Gewebeproben in Doppelbestimmung. Ausnahme: Std. 8 wurde ebenfalls in Doppelbestimmung gemessen, um die Wells der Mikrotiterplatte komplett auszunutzen

Jedem Well wurde 75µl Analysenpuffer (Chloramin T in 1-Propanol) hinzugefügt, darauffolgend wurde die Mikrotiterplatte für 20 Minuten bei RT inkubiert. Im nächsten Schritt wurde ein Detektionsreagenz aus Reagenz A (Dimethylbenzoanthracen in Dimethylsulfoxid) und Reagenz B (1-Propanol/Perchlorsäure) im Verhältnis 2:3 erstellt, von welchem je 75µl in jedes Well pipettiert wurden. Anschließend wurde die Mikrotiterplatte für 60 Minuten bei 60°C im Ofen inkubiert. Nach dem Abkühlen der Platte auf RT konnte die Auswertung der Proben mittels ELISA-Reader bei 540nm erfolgen.

2.5 Auswertung des Untersuchungsmaterials

Nach der Präparation des Lungengewebes erfolgte dessen Analyse anhand von konventioneller Histologie, Wachstumsfaktoren, oxidativen Stress-Markern sowie einer quantitativen Kollagenbestimmung. Nachfolgend werden die Auswertungskriterien der verschiedenen Methoden und deren Anwendung beschrieben.

2.5.1 Konventionelle Histologie

Anhand der histologischen Färbungen der Gewebeschnitte erfolgte die Beurteilung von akuter und chronischer Abstoßung sowie der Ausprägung interstitieller Parenchymschäden. Um die histopathologischen Veränderungen des Lungengewebes nach LTx beurteilen zu können, ist

die Kenntnis der physiologischen Lungenstruktur notwendig. Daher wird im nächsten Abschnitt zunächst der physiologische Aufbau der Lunge beschrieben, bevor die Kriterien der Transplantatabstoßung erläutert werden.

2.5.1.1 Histologischer Aufbau der Lunge

Das Lungengewebe setzt sich größtenteils aus den Verzweigungen des Bronchialbaums bis hin zu den Alveolen, den Blutgefäßen sowie dem dazwischenliegenden Bindegewebe zusammen. Im Folgenden wird der Aufbau dieser Strukturen anhand der menschlichen Lunge näher beschrieben.

Bronchialbaum

Ausgehend von der Trachea bis hin zu den Alveolen weist der Bronchialbaum ein dichotomes Verzweigungsmuster auf [63]. Die Trachea teilt sich initial in die beiden Hauptbronchien, welche sich nach Eintritt in die Lunge in die Segmentbronchien aufspalten [63]. Diese werden zunächst durch die Subsegmentbronchien, dann durch die Bronchiolen fortgesetzt [63]. Die rein konduktiven Atemwege enden mit den Bronchioli terminales, welche in die Bronchioli respiratorii und darauffolgend in die Ductus alveolares übergehen, die in den Sacculi alveolares enden (vgl. Abbildung 2.3) [63].

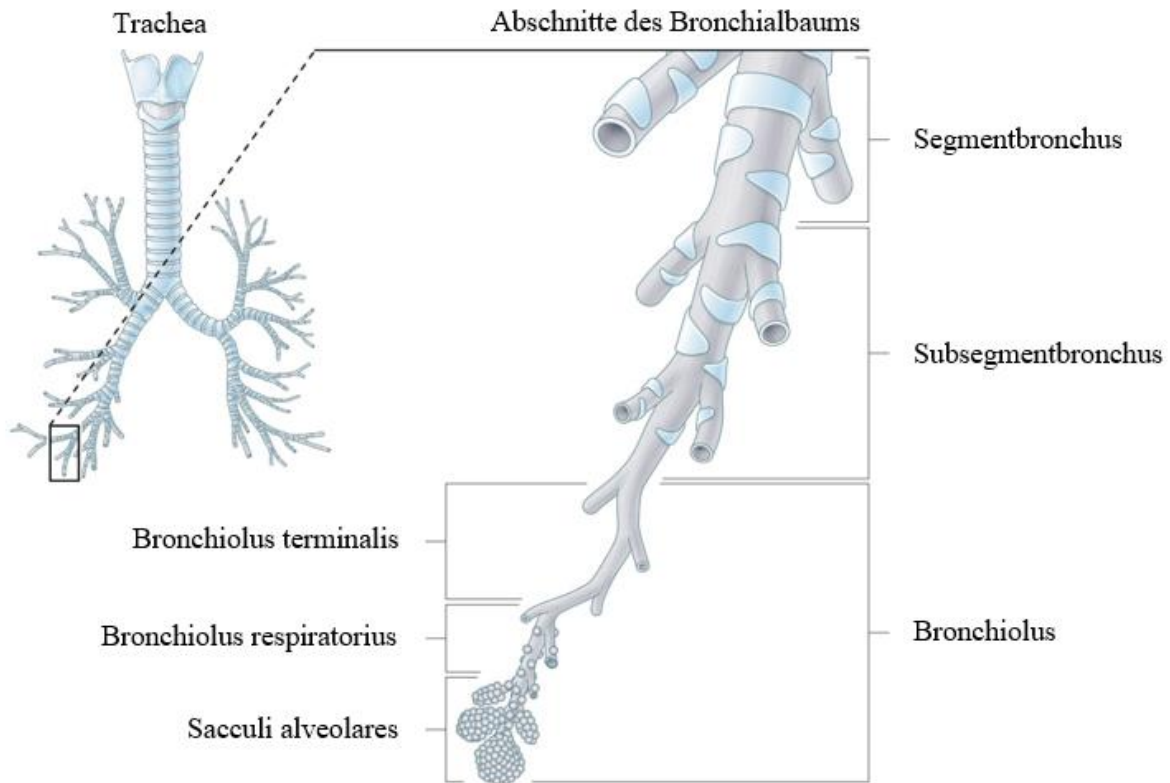


Abbildung 2.3 Abschnitte des humanen Bronchialbaums

Dargestellt sind die Verzweigungen des Bronchialbaums beginnend bei der Trachea bis hin zu den Sacculi alveolares. Das blau markierte knorpelige Stützgerüst nimmt nach distal hin ab, bis in den Bronchiolen keinerlei Knorpel mehr vorhanden ist [64].

Der Wandaufbau der Bronchien besteht von innen nach außen betrachtet aus folgenden Schichten: Tunica Mucosa, Tunica Fibromusculocartilaginea und Tunica Adventitia [64]. Die Tunica Mucosa ergibt sich aus zwei Lagen, einer Lamina Epithelialis und einer Lamina Propria [64]. Die Lamina Epithelialis weist ein respiratorisches Flimmerepithel auf, welches durch mehrreihiges hochprismatisches Epithel mit Kinozilien und eingestreuten Becherzellen gekennzeichnet ist [64]. Die Lamina Propria besteht größtenteils aus elastischen Fasern, seromukösen Drüsen und Zellen der Immunabwehr [64]. Im Anschluss an die Tunica Mucosa folgt die Tunica Fibromusculocartilaginea mit einer Schicht aus gitterartig angeordneter glatter Muskulatur, der Tunica Fibromuscularis, und einem Stützgerüst aus hyalinem Knorpel in der Tunica Cartilaginea [64]. Abschließend sind die Bronchien über die bindegewebige Tunica Adventitia in das umliegende Lungengewebe eingebettet [64].

Der Aufbau der Bronchiolen orientiert sich grob an der Struktur der Bronchien, weist allerdings einige Besonderheiten auf [64]. Die Lamina Epithelialis der Bronchiolen besteht aus einem einschichtigen zylindrischen Flimmerepithel mit zunehmend seltener vorkommenden Becherzellen, in der Lamina Propria finden sich keine seromukösen Drüsen [64]. Zudem enthalten die Wände der Bronchiolen kein Stützgerüst aus hyalinem Knorpel [63]. Letztendlich findet sich in den Bronchioli terminales und respiratorii lediglich ein einschichtiges kubisches Flimmerepithel ganz ohne Becherzellen [64], stattdessen kommen hier die Surfactant produzierenden Clara-Zellen vor [63].

Alveolen

Die Gesamtheit der Alveolen bildet den Ort des Gasaustausches. Die Alveolarwände sind mit Alveolarepithel ausgekleidet, welches sich aus Pneumozyten Typ I und Pneumozyten Typ II zusammensetzt [63]. Die Typ I Pneumozyten bedecken mit ihren großflächigen, dünnen Zelleibern den größten Teil der Alveolaroberfläche und bilden damit die Blut-Luft-Schranke [63]. Zwischen den Typ I Pneumozyten finden sich die kubischen Typ II Pneumozyten, welche zur Herabsetzung der Oberflächenspannung Surfactant produzieren [63]. Zudem finden sich in den Alveolen als Teil der Immunabwehr des Lungengewebes Alveolarmakrophagen, welche zur Phagozytose von Fremdpartikeln dienen [63].

Blutgefäße

Die zur Lunge ziehenden Blutgefäße werden eingeteilt in die Vasa Privata, die über Rr. und Vv. Bronchiales die Blutversorgung des Lungengewebes sicherstellen, und in die Vasa Publica, die dem Gasaustausch dienen [65]. Zu den Vasa Publica zählen die Aa. und Vv. Pulmonales [65]. Während die Aa. Pulmonales zusammen mit den Aufzweigungen des Bronchialbaumes im Zentrum des jeweiligen Lungenabschnittes verlaufen, ziehen die Vv. Pulmonales zwischen den einzelnen Lungenabschnitten entlang [65].

Die Gefäßwände aller größeren Gefäße sind ähnlich aufgebaut und bestehen von innen nach außen aus einer Tunica Intima, Tunica Media und Tunica Adventitia (vgl. Abbildung 2.4) [66]. Die innere Tunica Intima setzt sich aus dem Endothel, einer subendothelialen Schicht und einer Membrana Elastica Interna zusammen [63]. Das Endothel besteht aus einer Schicht von platten Zellen, welcher einer Basallamina aufsitzen [63]; das Stratum Subendotheliale enthält kaum

Zellen und besteht größtenteils aus Extrazellulärmatrix [66]. An der Grenze zur Tunica Media kann eine elastische Lamelle vorliegen, die Membrana Elastica Interna, welche ein Flechtwerk aus elastischen Fasern darstellt [63]. Die Tunica Media setzt sich aus glatten Muskelzellen und Extrazellulärmatrix zusammen, hier kann analog zur Membrana Elastica Interna eine Membrana Elastica Externa vorhanden sein. Über die äußere Tunica Adventitia werden die Gefäße im umliegenden Bindegewebe verankert [63]. Die kleineren Kapillaren weichen von oben beschriebenem Aufbau ab und bestehen nur aus Endothelzellen und Perizyten, welche der Basalmembran aufsitzen [63].

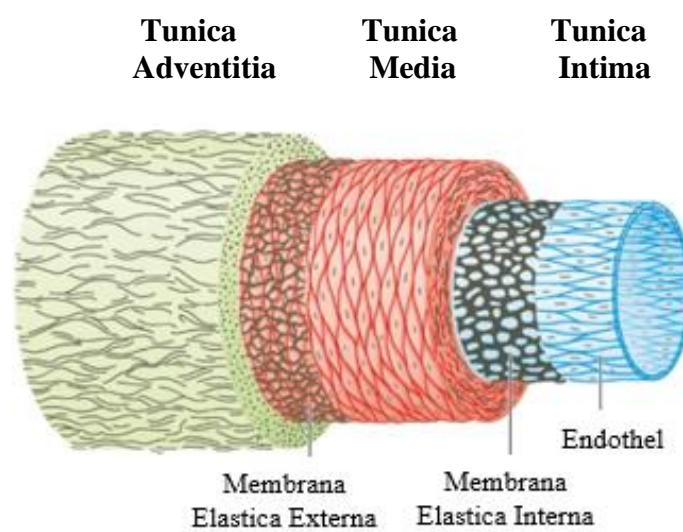


Abbildung 2.4 Wandschichten der Blutgefäße

Intima blau, Media rot, Adventitia grün, elastische Membranen schwarz [63]

Entwicklung der Rattenlunge

Die Lunge der neugeborenen Ratte ist initial nicht vollständig ausgereift, die Atemwege bestehen zunächst lediglich aus Trachea, Bronchien, Subbronchien, dünnwandigen konduktiven Ductus und Sacculi. Die Entwicklung von Alveolen mit Alveolarsepten beginnt ab dem vierten postnatalen Tag und ist innerhalb von drei Wochen abgeschlossen [67, 68]. Dies geht zudem mit einer deutlichen Vergrößerung der pulmonalen Oberfläche zum Zweck des Gasaustausches sowie einer Vermehrung des Lungenparenchyms einher [68]. Letztlich

präsentiert sich nach abgeschlossener Entwicklung der Rattenlunge in Abgrenzung zum Menschen eine ungeteilte linke Lunge und eine aus drei Lappen bestehende rechte Lunge [69] mit einem jeweils monopodial verlaufenden Hauptbronchus und rechtwinklig abzweigenden Subbronchien [70].

2.5.1.2 Beurteilung der Transplantatabstoßung nach ISHLT

Zur Beurteilung der akuten und chronischen Abstoßungsreaktion der transplantierten Lungen wurden von den linken und rechten Lungen der Empfängertiere sowie den rechten Lungen der Spendertiere histologische Präparate angefertigt und Routinefärbungen (HE und SR/E) erstellt. Anhand der konventionellen Histologie erfolgte anschließend die Auswertung der akuten und chronischen Abstoßung von Gefäßen und Bronchiolen nach den modifizierten Kriterien der ISHLT [49] für die linken Lungen der Empfängertiere. Zum Ausschluss einer möglichen Infektion, welche ähnliche histologische Veränderungen bedingen könnte, wurden die rechten Lungen der Empfängertiere herangezogen; die rechten Spenderlungen dienten als Referenzgruppe für physiologische Lungen ohne Transplantatschäden.

Für die linken Lungen der Kontroll- und Nilotinibtieren, welche am POD 20 getötet wurden, erfolgte die Beurteilung von vaskulären sowie bronchialen Strukturen sowohl nach den Kriterien der akuten als auch der chronischen Transplantatabstoßung. Die akute Abstoßung der Gefäße wurde anhand der Infiltration durch mononukleäre Zellen in fünf Schweregrade (Grad 0-4), die der Bronchiolen in drei Schweregrade (Grad 0-2) eingeteilt. Zur Klassifikation der chronischen Abstoßung von Gefäßen und Bronchiolen erfolgte die Einteilung anhand ihrer Fibrosierung in je drei Schweregrade (Grad 0-2).

Die Auswertung der Lungen am POD 20 erfolgte primär anhand der Gewebeschnitte, welche mittels HE-Färbung (vgl. Abbildung 2.5) gefärbt wurden. Diese Färbung ermöglicht die Beurteilung von sowohl akuter als auch chronischer Abstoßung: Zellkerne werden blau und Kollagenfasern werden rötlich dargestellt. Korrelierend hierzu wurden SR/E-Schnitte herangezogen, welche die perivaskuläre sowie peribronchioläre Fibrosierung noch weitaus deutlicher als die HE-gefärbten Präparate zeigen. Hier werden Kollagenfasern kräftig rot und elastische Fasern werden schwarz dargestellt, wie in Abbildung 2.6 zu sehen.

Für jedes Präparat erfolgte zunächst die Klassifikation der einzelnen Gefäße und Bronchiolen, aus den erhobenen Daten wurden nachfolgend die Mittelwerte für das entsprechende Tier gebildet.

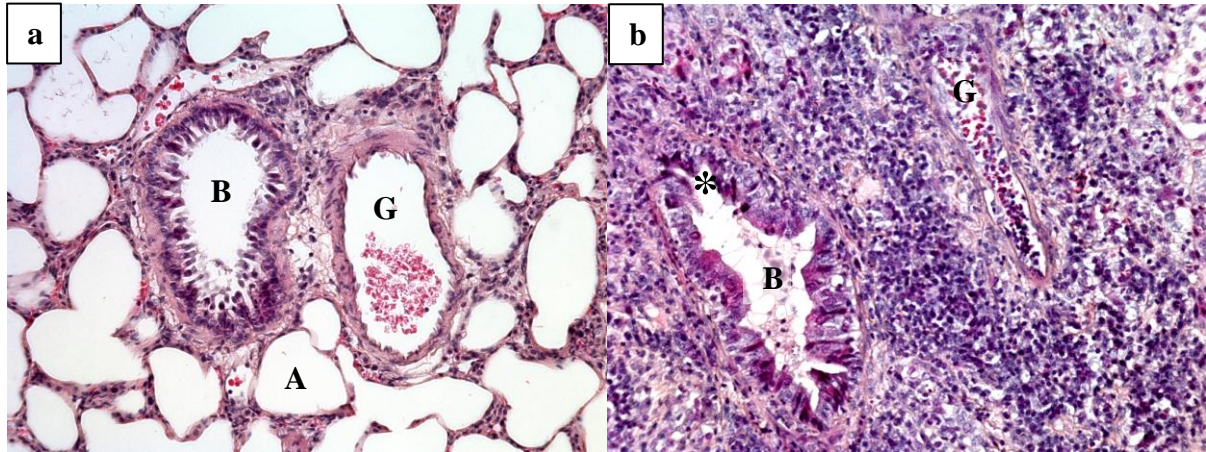


Abbildung 2.5 Beispiele einer HE-Färbung

- a) Ausschnitt aus einer **rechten Lunge der Nilotinibgruppe, POD 20**, 20x Vergrößerung
Bronchiolus (B) und Gefäß (G) entsprechen dem physiologischen Aufbau, es sind keinerlei Anzeichen für eine akute oder chronische Abstoßung zu erkennen. Es sind keine peribronchiolären oder perivaskulären Zellinfiltrate sichtbar, die Lumina beider Strukturen sind frei. Das umliegende Parenchym weist eine normale Lungenarchitektur auf, die Alveolen (A) sind nicht vergrößert und die Alveolarsepten zeigen keine fibrotischen Verdickungen.
- b) Ausschnitt aus einer **linken Lunge der Nilotinibgruppe, POD 20**, 20x Vergrößerung
Der Bronchiolus (B) weist eine maximale akute (Grad 2) sowie beginnende chronische (Grad 1) Abstoßung auf. Es zeigt sich ein teilweise abgeflachtes, beschädigtes respiratorisches Epithel (Sternchen); peribronchiolär ist eine massive Zellinfiltration und beginnende Fibrosierung (schwach rötliche Kollagenfasern) zu erkennen. Das rechts neben dem Bronchiolus liegende Gefäß (G) weist eine maximale akute Abstoßung (Grad 4) auf, es zeigt sich eine massive perivaskuläre Zellinfiltration. Eine chronische Abstoßung ist nicht sichtbar (Grad 0). Im umliegenden Parenchym ist keine normale Lungenstruktur zu erkennen, Alveolen und Alveolarsepten sind nicht abgrenzbar.

Für die linken Lungen der Tiere, die am POD 60 getötet wurden, wurden die vaskulären und bronchialen Strukturen nur nach dem Grad ihrer chronischen Abstoßung (Grad 0-2) ausgewertet, die akute Abstoßung wurde zu diesem Zeitpunkt nicht mehr berücksichtigt.

Die chronische Abstoßung der Lungen am POD 60 wurde mittels der HE und SR/E-Färbung (vgl. Abbildung 2.6) beurteilt. Analog zum POD 20 erfolgte zunächst die Klassifikation der einzelnen Gefäße und Bronchiolen für jedes Präparat, aus den erhobenen Daten wurden wiederum die Mittelwerte für das entsprechende Tier gebildet.

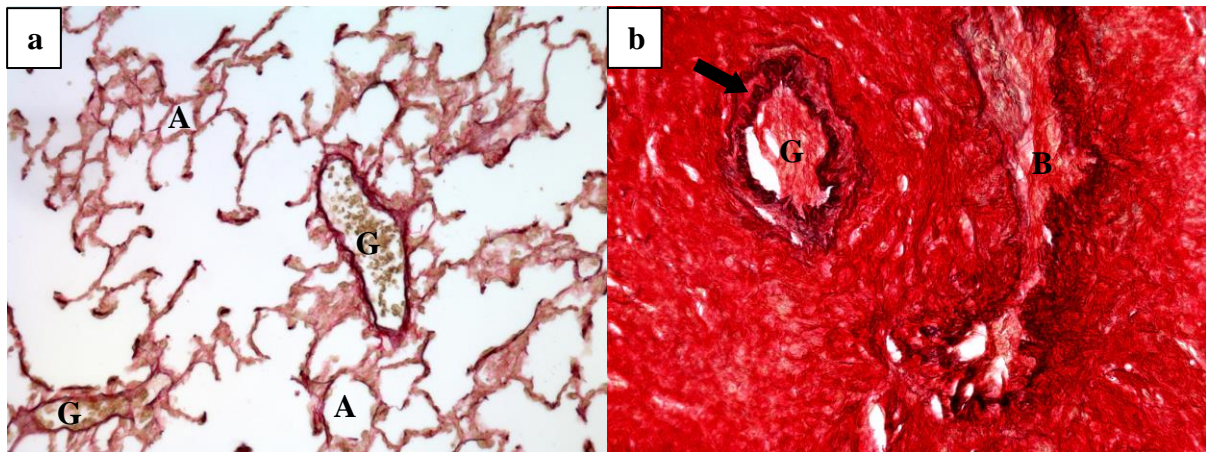


Abbildung 2.6 Beispiele einer SR/E-Färbung

- a) Ausschnitt aus einer **rechten Spenderlunge**, 20x Vergrößerung
 Abgebildet sind zwei Gefäße (G), welche keinerlei Anzeichen für eine chronische Abstoßung zeigen. Perivaskulär zeigt sich keine Fibrosierung, die Lumina beider Strukturen sind frei. Das umliegende Parenchym weist eine normale Lungenarchitektur auf, die Alveolen (A) sind nicht vergrößert und die Alveolarsepten zeigen keine fibrotischen Verdickungen.
- b) Ausschnitt aus einer **linken Lunge der Nilotinibgruppe, POD 60**, 20x Vergrößerung
 Das Gefäß (G) weist eine maximale chronische Abstoßung (Grad 2) auf. Das Gefäßlumen ist beinahe komplett okkludiert, das perivaskuläre Gewebe besteht aus stark rot gefärbten Kollagenfasern. Gut sichtbar ist die schwarze Färbung der geschlängelten Membrana Elastica Interna (Pfeil), welche die Identifizierung des Gefäßes als solches erleichtert. Der rechts neben dem Gefäß liegende Bronchiolus (B) weist ebenso eine maximale chronische Abstoßung (Grad 2) auf. Es ist die komplette Okklusion des bronchialen Lumens zu erkennen, peribronchiolär zeigt sich eine massive Fibrosierung des Gewebes. Im umliegenden Parenchym ist keine normale Lungenstruktur zu erkennen, Alveolen und Alveolarsepten sind nicht abgrenzbar.

Zusammenfassend ergibt sich gemäß der nach S. Stewart [9] und M. von Süßkind-Schwendi [49] modifizierten ISHLT-Kriterien die Einteilung der akuten Abstoßung in die Grade **A0-4** (akute Abstoßung der Gefäße) und **B0-2** (akute Abstoßung der Bronchiolen), sowie der chronischen Abstoßung in die Grade **C0-2** (chronische Abstoßung der Bronchiolen) und **D0-2** (chronische Abstoßung der Gefäße). Die Charakteristika der einzelnen Schweregrade sind den nachfolgenden Tabellen zu entnehmen.

A Charakteristika

0	Keine akute vaskuläre Abstoßung
1	Vereinzelte perivaskuläre mononukleäre Infiltrate, ≤ 3 Zellschichten
2	Regelmäßige perivaskuläre mononukleäre Infiltrate, > 3 Zellschichten
3	Moderate perivaskuläre mononukleäre Infiltrate mit Ausstrahlung in die Alveolarsepten
4	Massive perivaskuläre und interstitielle mononukleäre Infiltrate

Tabelle 2.5 ISHLT Grad A: akute Abstoßung der Gefäße [9, 49]

B Charakteristika

0	Keine akute bronchioläre Abstoßung
1R	Vereinzelte mononukleäre Infiltrate der Mukosa, gelegentlich epitheliale Hyperplasien
2R	Massive mononukleäre Infiltrate der Mukosa, Epithelzellschäden

Tabelle 2.6 ISHLT Grad B: akute Abstoßung der Bronchiolen [9, 49]

R kennzeichnet überarbeitete Grade (engl. revised), um Verwechslungen mit der alten Klassifikation von 1996 zu vermeiden

C Charakteristika

0	Keine chronische bronchioläre Abstoßung
1R	Beginnende Okklusion durch Granulationsgewebe
2R	Massive Okklusion durch Granulationsgewebe, peribronchioläre Fibrosierung

Tabelle 2.7 ISHLT Grad C: chronische Abstoßung der Bronchiolen [9, 49]

R kennzeichnet überarbeitete Grade (engl. revised), um Verwechslungen mit der alten Klassifikation von 1996 zu vermeiden

D Charakteristika

0	Keine chronische vaskuläre Abstoßung
1R	Beginnende Okklusion durch Leukozyten
2R	Verdickung der Tunica Intima, perivaskuläre Fibrosierung

Tabelle 2.8 ISHLT Grad D: chronische Abstoßung der Gefäße [9, 49]

R kennzeichnet überarbeitete Grade (engl. revised), um Verwechslungen mit der alten Klassifikation von 1996 zu vermeiden

2.5.1.3 Beurteilung der Fibrosierung nach Ashcroft

Neben der Auswertung von akuter und chronischer Abstoßung nach den Kriterien der ISHLT erfolgte anhand der konventionellen Histologie zudem die Beurteilung der Fibrosierung des interstitiellen Lungenparenchyms gemäß der nach R. Hübner [55] modifizierten Ashcroft-Skala [54]. Die Bestimmung des Fibrosegrades wurde für alle linken Lungen der Kontroll- und Nilotinibtiere sowohl des POD 20 als auch des POD 60 gleichermaßen durchgeführt. Anhand der Ausprägung von fibrotischen Veränderungen der Alveolen und Alveolarsepten wurde die Fibrosierung des Lungenparenchyms in neun Schweregrade (Grad 0-8) eingeteilt. Jedes Präparat wurde im Gesamten beurteilt und einem Schweregrad zugeordnet. Die Charakteristika der einzelnen Grade sind Tabelle 2.9 zu entnehmen.

Grad	Alveolarsepten	Lungenstruktur
0	Keine Auffälligkeiten	Normale Lungenstruktur
1	Vereinzelt fibrotische Verdickungen	Teilweise vergrößerte Alveolen, kein fibrotisches Gewebe
2	Vermehrt fibrotische Verdickungen	Teilweise vergrößerte Alveolen, kein fibrotisches Gewebe
3	Größtenteils fibrotische Septen	Teilweise vergrößerte Alveolen, kein fibrotisches Gewebe
4	Variabel	Fibrotisches Gewebe $\leq 10\%$
5	Variabel	Fibrotisches Gewebe $> 10\%$ und $\leq 50\%$
6	Variabel bis nicht vorhanden	Fibrotisches Gewebe $> 50\%$
7	Nicht vorhanden	Obliteration der Alveolen, bis zu 5 Alveolen pro GF
8	Nicht vorhanden	totale Obliteration, Alveolen nicht vorhanden

Tabelle 2.9 Einteilung der Fibrosegrade nach Ashcroft [54, 55]

GF = Gesichtsfeld

2.5.2 Wachstumsfaktoren

Anhand der immunhistochemisch gefärbten Rattenlungen wurde die Ausprägung der Wachstumsfaktoren sowie deren Rezeptoren CD117, PDGF-AA/PDGFR- α und VEGF-

A/VEGFR-2 beurteilt. Die Lungenschnitte wurden anhand der spezifischen Färbungen bei 20-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop ausgewertet. Hierfür erfolgte pro Marker die Auszählung der positiv gefärbten Zellen in jeweils fünf Gesichtsfeldern für jede linke und rechte Empfängerlunge sowie alle rechten Spenderlungen. Aus den erfassten Daten der einzelnen Gesichtsfelder wurde jeweils der entsprechende Mittelwert pro Marker und Lunge berechnet.

Neben der quantitativen Auswertung erfolgte zudem die Bestimmung von Intensitäten pro Marker für die linken Lungen jeweils eines exemplarischen Tiers aus Nilotinib- und Kontrollgruppe sowie der rechten Lunge eines exemplarischen Tieres aus der Spendergruppe. Es wurde jeweils die Intensität für folgende Zellarten bestimmt: Bronchialepithel, Pneumozyten Typ I, Pneumozyten Typ II, interstitielle Zellen, Gefäßendothel, Alveolarmakrophagen, andere mononukleäre Zellen und metaplastische Zellen. Je nach Intensität der Färbung fand die Einteilung in vier Grade von – (keine Färbung) bis +++ (starke Färbung) statt, die Ergebnisse wurden einzeln je Marker und POD 20 bzw. POD 60 tabellarisch dargestellt (vgl. Tabelle 2.10).

POD 20	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	+++	-	+	-	+	-	-	-
Nilotinib	+++	+	++	++	+++	++	+	-
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-

Tabelle 2.10 Intensitäten am Beispiel der Expression von CD117 zum POD 20

Gegenüberstellung der Farbtintensität für CD117 in den verschiedenen Zelltypen (Zeile oben) für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe (Spalte links). Einteilung der Intensität in vier Grade: – (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

Abbildung 2.7 zeigt einen exemplarischen Ausschnitt der immunhistochemischen Färbung, anhand derer die Auszählung der Wachstumsfaktoren sowie die Bestimmung ihrer Intensitäten durchgeführt wurde. Da die Anfärbung aller Präparate mit dem Substrat HistoGreen erfolgte, zeigen sich für sämtliche Marker die jeweils positiven Zellen in gleicher Weise grünlich angefärbt.

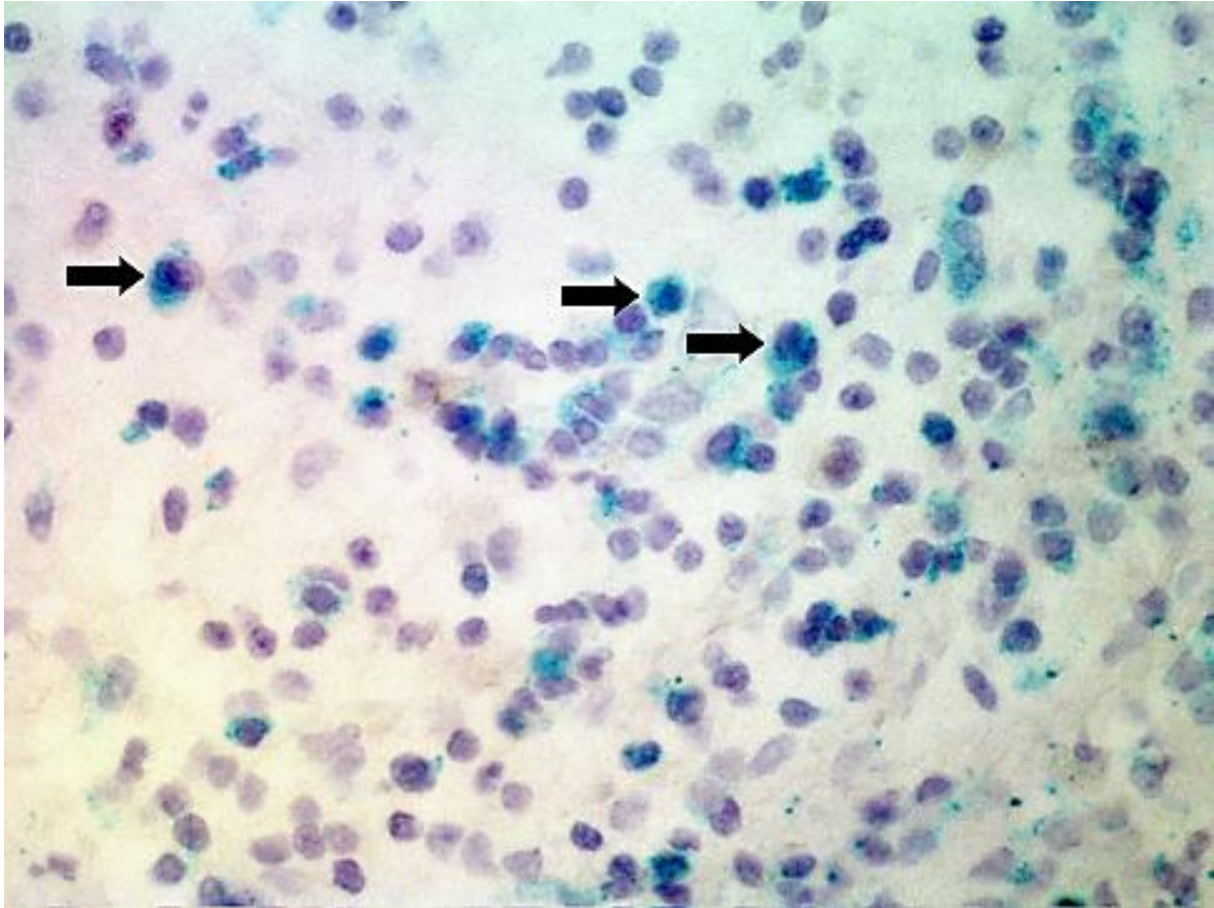


Abbildung 2.7 Beispiel einer PDGF-AA-Färbung

Ausschnitt einer linken Lunge, Kontrollgruppe POD 20, 20x Vergrößerung

Die PDGF-AA-positiven Zellen (Pfeile) heben sich durch ihre grünliche Färbung von den umliegenden Zellen ab.

2.5.3 Oxidativer Stress

Neben der Auswertung der Wachstumsfaktoren wurde anhand der gefärbten Rattenlungen die Ausprägung der Stress-Marker MPO, TGM-2, HO-1 und Eisen beurteilt. Die Lungenschnitte wurden mittels der spezifischen Färbungen bei 10-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop ausgewertet. Hierfür erfolgte pro Marker die Auszählung der positiv gefärbten Zellen in jeweils fünf Gesichtsfeldern für jede linke und rechte Empfängerlunge sowie alle rechten Spenderlungen. Aus den erfassten Daten der einzelnen Gesichtsfelder wurde jeweils der entsprechende Mittelwert pro Marker und Lunge berechnet.

Abbildung 2.8 zeigt einen exemplarischen Ausschnitt der Färbung, anhand derer die Auszählung der Marker MPO, TGM-2 und HO-1 durchgeführt wurde. Die Anfärbung dieser drei Marker erfolgte jeweils mit dem Substrat HistoGreen, daher zeigen sich alle positiven Zellen in gleicher Weise grünlich angefärbt. In Abbildung 2.9 ist Beispiel für die verwendete Eisen-Färbung dargestellt.

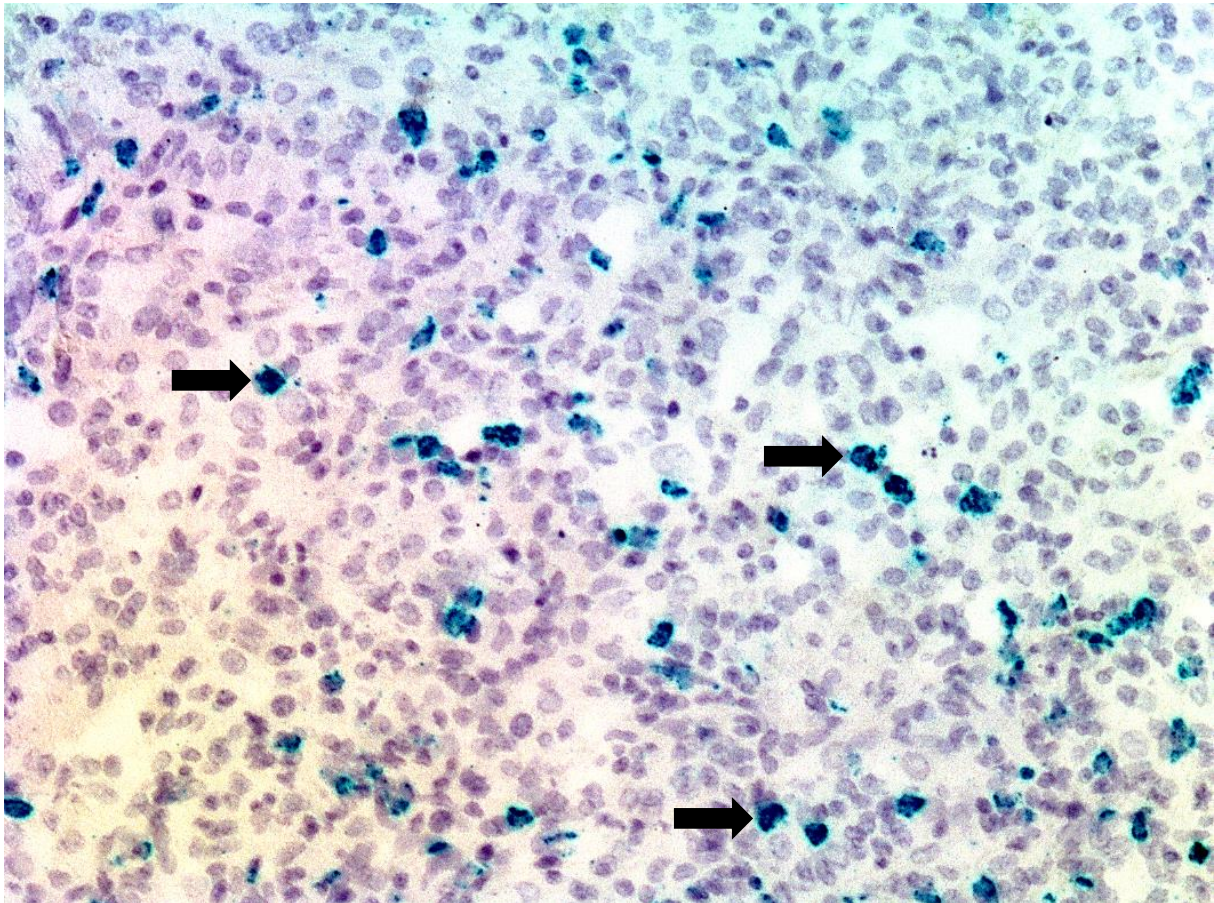


Abbildung 2.8 Beispiel einer MPO-Färbung

Ausschnitt einer linken Lunge, Kontrollgruppe POD 20, 10x Vergrößerung

Die MPO-positiven Zellen (Pfeile) heben sich durch ihre grünliche Färbung von den umliegenden Zellen ab.

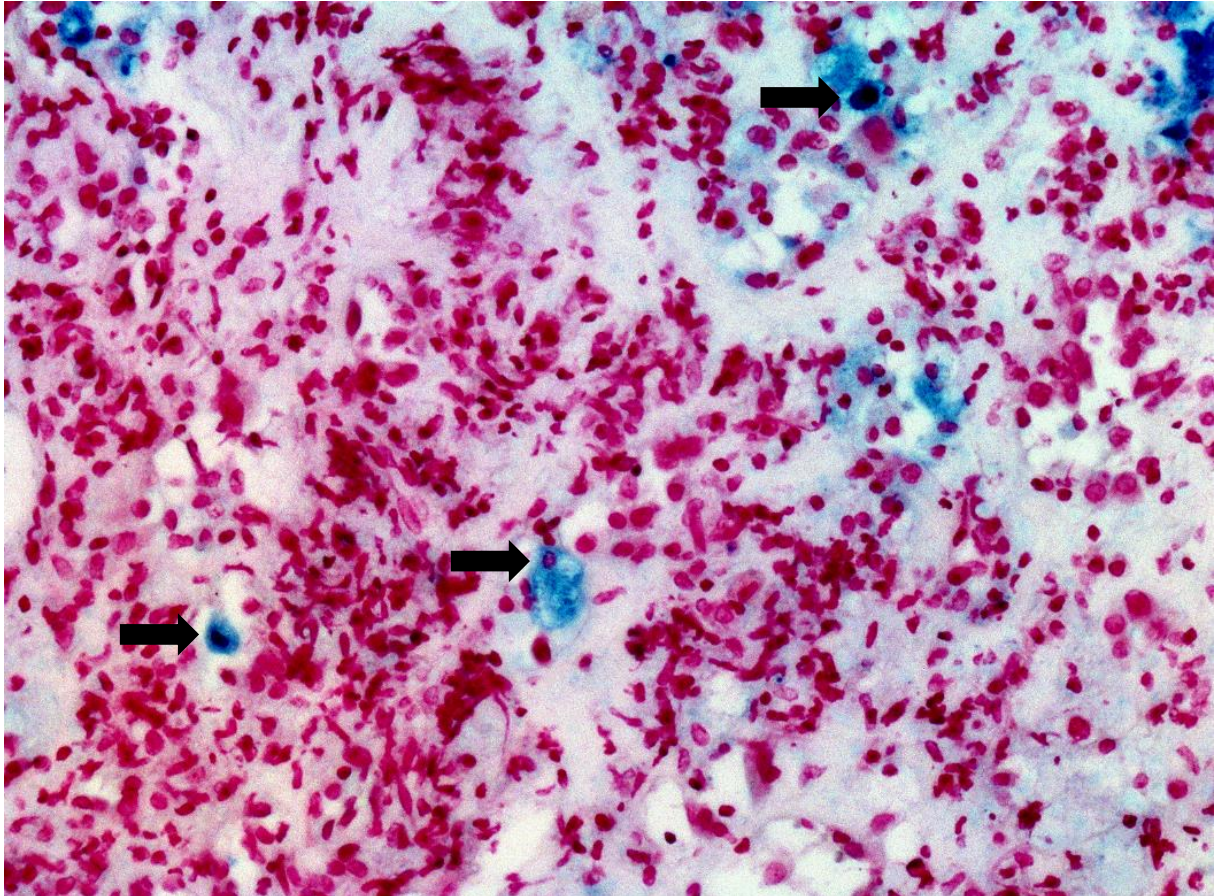


Abbildung 2.9 Beispiel einer Eisen-Färbung

Ausschnitt einer linken Lunge, Nilotinibgruppe POD 60, 10x Vergrößerung
Die Eisen-positiven Zellen (Pfeile) heben sich durch ihre blaue Färbung von den umliegenden Zellen ab.

2.5.4 Kollagen-Assay

Die Auswertung der Proben in der Mikrotiterplatte erfolgte nach Angaben des Herstellers mittels ELISA-Reader bei 540nm. Anhand der gewonnenen Rohdaten wurde unter Berücksichtigung der Verdünnung sowie des Gewebegewichts der einzelnen Proben die Konzentration an Kollagen in μg pro mg Gewebe für jede Lunge berechnet. Als Grundlage hierfür diente die Annahme, dass Kollagen einen Massenanteil von 12,2% Hydroxyprolin aufweist [71].

2.5.5 Statistische Auswertung

Die Auswertung der verschiedenen Methoden basierte mit Ausnahme der Intensitätsbestimmung der Wachstumsfaktoren jeweils auf folgendem Schema:

Aus den gewonnenen Werten der einzelnen Lungen wurde zunächst der Median mit dem ersten und dritten Quartil für jede Gruppe berechnet. Anhand der Mediane erfolgte die Signifikanzprüfung mittels des Mann-Whitney-U-Tests für zwei unabhängige Stichproben. Die statistische Auswertung aller erhobenen Daten wurde mit der Software IBM SPSS Statistics 25.0 durchgeführt, als signifikant galt ein p-Wert unter 0,05.

Für die Ergebnisse der Intensitätsbestimmung der Wachstumsfaktoren wurde keine statistische Analyse durchgeführt, es fand der direkte Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen in tabellarischer Darstellung statt.

3 Ergebnisse

3.1 Postoperativer Gewichtsverlauf

Nach erfolgreicher LTx am POD 0 zeigten die Tiere aller Versuchsgruppen postoperativ zunächst einen deutlichen Gewichtsverlust. Zur Beurteilung wurde hierfür das Körpergewicht als Median je Gruppe zum POD 0 für den Basiswert (= Nulllinie) herangezogen und nachfolgend die Gewichtsentwicklung prozentual betrachtet, wie in Abbildung 3.1 graphisch dargestellt.

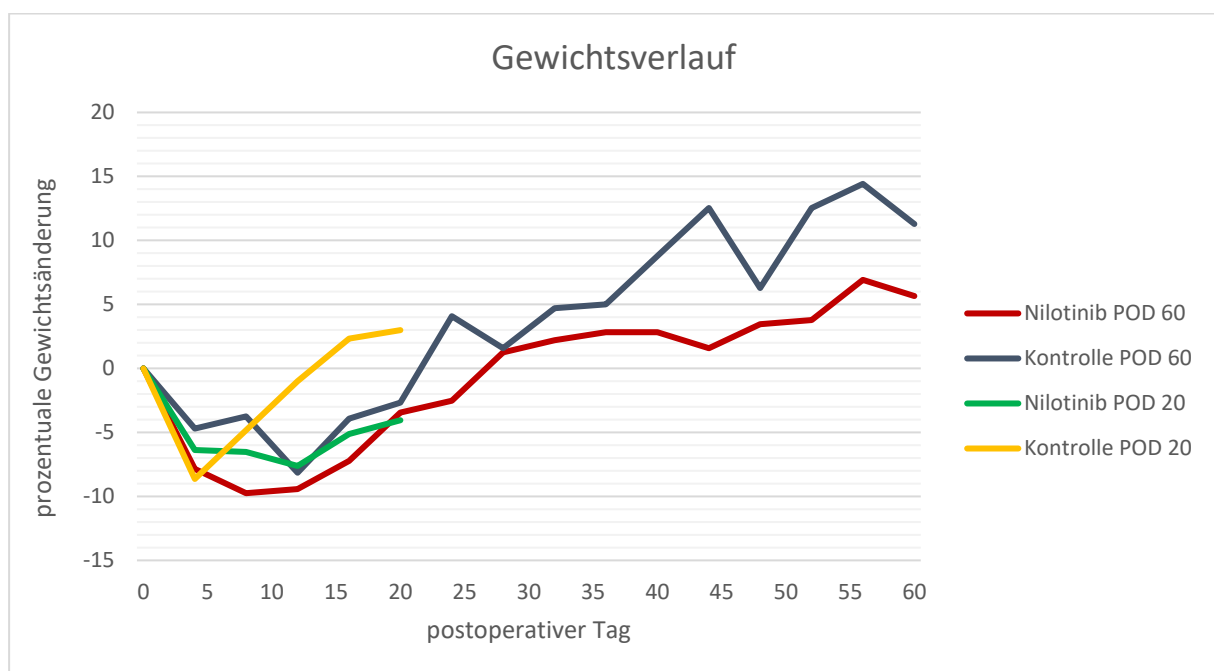


Abbildung 3.1 Gewichtsverlauf

Dargestellt ist die Gewichtsveränderung der Versuchstiere aus Nilotinib- und Kontrollgruppe ab dem Tag der LTx (POD 0) bis zum Zeitpunkt der Tötung (POD 20 bzw. POD 60). Herangezogen wurden hierfür die Mediane jeder einzelnen Gruppe, wobei das Startgewicht am Tag der LTx als Nullwert dient und die Gewichtszunahme bzw. -abnahme prozentual dargestellt werden.

In allen vier Versuchsgruppen war unmittelbar postoperativ eine Gewichtsabnahme von bis zu 7-10% des Ausgangsgewichts zu beobachten. Anschließend zeigten die Tiere aller Gruppen eine kontinuierliche Gewichtszunahme, welche jedoch in den Kontrollgruppen deutlich rascher verlief. Die Tiere der Kontrollgruppe POD 20 erlangten ihr initiales Körpergewicht bereits 16 Tage nach LTx wieder sowie die Tiere der Kontrollgruppe POD 60 nach 22 Tagen.

Demgegenüber lag in der Nilotinibgruppe POD 20 zum Tötungszeitpunkt noch immer ein vermindertes Körpergewicht vor, die Tiere der Nilotinibgruppe POD 60 konnten nach 28 Tagen ihr ursprüngliches Startgewicht erreichen.

3.2 Konventionelle Histologie

Im Folgenden werden die Ergebnisse der konventionellen histologischen Auswertung präsentiert. Es erfolgte die Beurteilung der akuten und chronischen Transplantatabstoßung nach ISHLT [9, 49] sowie die Klassifikation der interstitiellen Fibrosierung des Lungenparenchyms nach Ashcroft/Hübner [54, 55].

3.2.1 Native und rechte Lungen

Die rechten Lungen sowohl der Nilotinibtiere als auch der Kontrolltiere zeigten keinerlei Anzeichen für eine akute oder chronische Abstoßung. Die bronchiolären und vaskulären Strukturen entsprachen dem physiologischen Aufbau (vgl. Kapitel 2.5.1.1). Es fanden sich keine Zellinfiltrate, keine Epithel- oder Endothelschäden und keine pathologische Fibrosierung. Das Lungenparenchym zeigte sich regelrecht, die Alveolen waren nicht vergrößert und die Alveolarsepten wiesen keine Verdickungen auf. Die nativen rechten Lungen der korrelierenden Spendertiere zeigten eine unauffällige Histologie ohne pathologische Veränderungen (vgl. Abbildung 3.2).

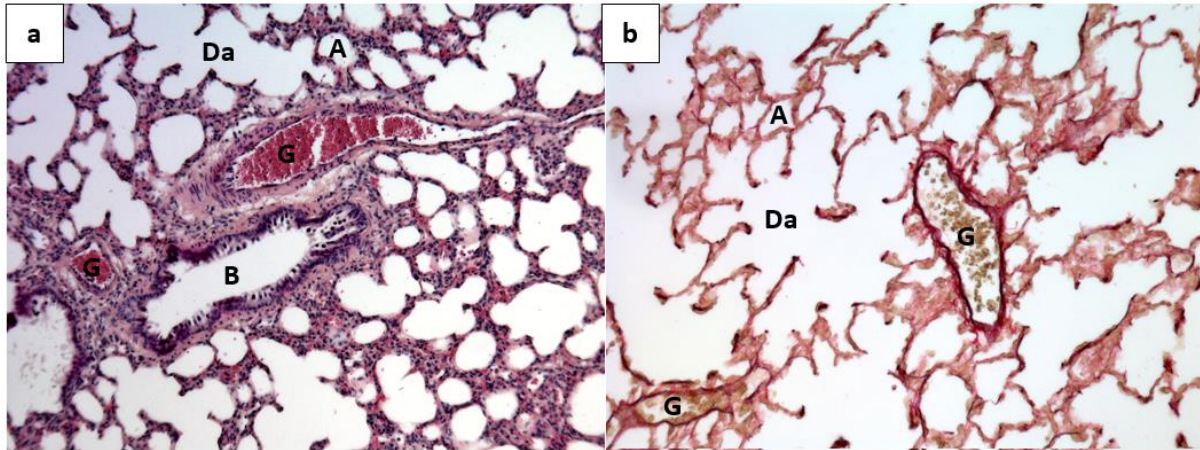


Abbildung 3.2 Ausschnitte aus einer nativen Spender-Lunge: a) HE-Färbung, b) SR/E-Färbung

a) Ausschnitt aus einer **rechten Spenderlunge, HE-Färbung, 20x Vergrößerung**

Bronchiolus (B) und Gefäße (G) entsprechen dem physiologischen Aufbau, es sind keinerlei Anzeichen für eine akute oder chronische Abstoßung zu erkennen. Es sind leichte peribronchioläre und perivaskuläre Zellinfiltrate sichtbar, das bronchioläre Lumen ist frei, in beiden Gefäßlumina befinden sich Rückstände an Erythrozyten. Das umliegende Parenchym weist eine normale Lungenarchitektur auf, die Alveolen (A) sowie der Ductus alveolaris (Da) sind nicht vergrößert und die Alveolarsepten zeigen keine fibrotischen Verdickungen.

b) Ausschnitt aus einer **rechten Spenderlunge, SR/E-Färbung, 20x Vergrößerung**

Abgebildet sind zwei Gefäße (G), welche keinerlei Anzeichen für eine chronische Abstoßung zeigen. Perivaskulär zeigt sich keine Fibrosierung, die Lumina beider Strukturen sind frei. Das umliegende Parenchym weist eine normale Lungenarchitektur auf, die Alveolen (A) sowie der Ductus alveolaris (Da) sind nicht vergrößert und die Alveolarsepten zeigen keine fibrotischen Verdickungen.

3.2.2 Linke Lungen

POD 20

Die Bewertung der Lungen am POD 20 erfolgte primär anhand der Gewebeschnitte, welche mittels HE-Färbung präpariert wurden. Diese Färbung ermöglicht eine sehr gute Beurteilung der akuten sowie bedingt auch der chronischen Abstoßung: Zellkerne werden blau und Kollagenfasern werden schwach rötlich dargestellt.

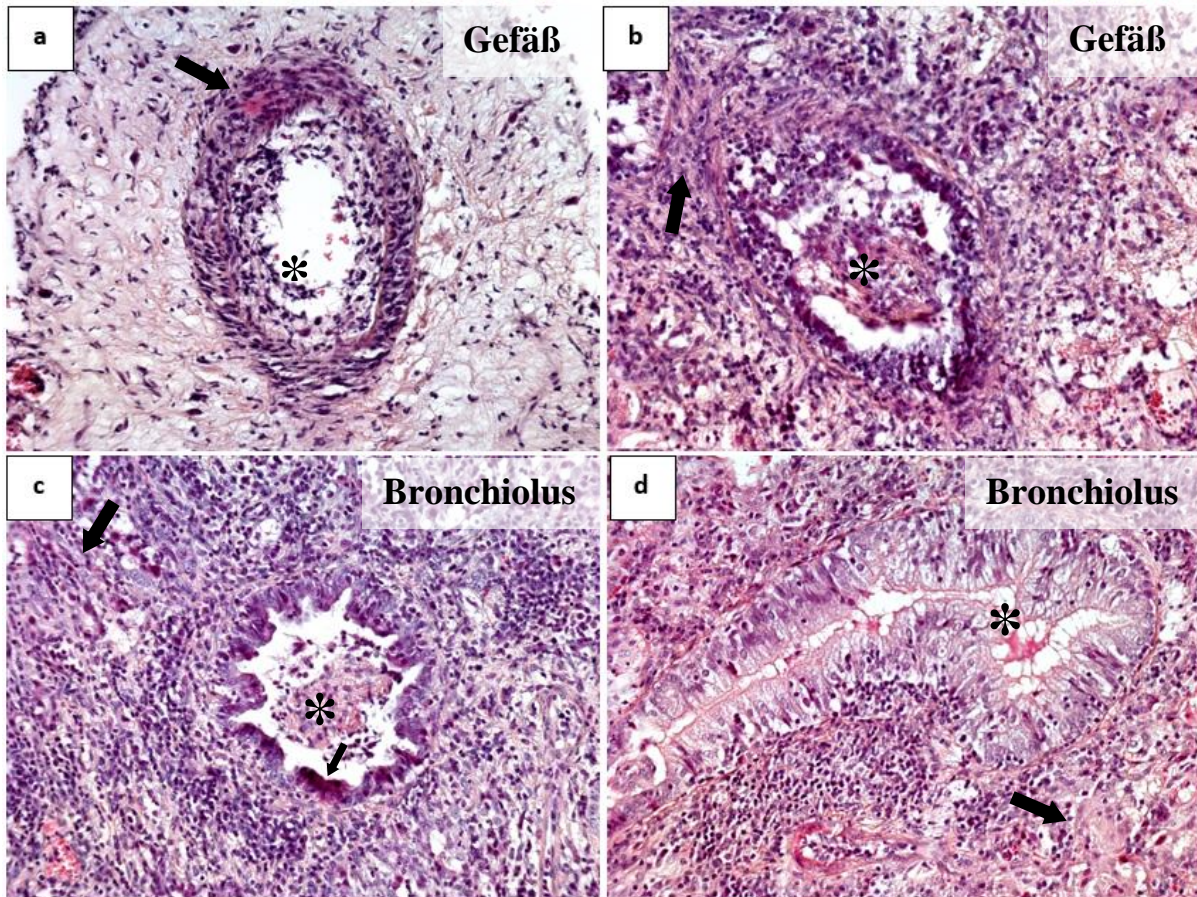


Abbildung 3.3 Ausschnitte aus linken Lungen, POD 20, HE-Färbung

a) Nilotinibgruppe, **Gefäß, POD 20**, HE-Färbung, 20x Vergrößerung

Alle drei Gefäßschichten sind geprägt von mononukleären Entzündungszellen, es zeigt sich die Abhebung des Gefäßendothels mit der Einwanderung von Entzündungszellen in das Gefäßlumen (Sternchen). Das perivaskuläre Gewebe ist moderat von Entzündungszellen durchsetzt, es zeigt sich bereits eine minimale vaskuläre Fibrosierung (Pfeil).

b) Kontrollgruppe, **Gefäß, POD 20**, HE-Färbung, 20x Vergrößerung

Das abgebildete Gefäß ist in allen Schichten stark von mononucleären Entzündungszellen infiltriert. Das Gefäßendothel zeigt sich komplett destruiert, Zelldebris okkludiert größtenteils das Gefäßlumen (Sternchen). Perivaskulär sind massive Zellinfiltrate sowie eine beginnende Fibrosierung des Gewebes sichtbar (Pfeil), welche gegenüber der Nilotinibgruppe deutlich stärker ausgeprägt sind.

c) Nilotinibgruppe, **Bronchiolus, POD 20**, HE-Färbung, 20x Vergrößerung

Der Bronchiolus ist komplett von Entzündungszellen durchsetzt, das respiratorische Epithel weist deutliche Läsionen auf (kleiner Pfeil), das bronchiale Lumen wird größtenteils durch Entzündungszellen okkludiert (Sternchen). Peribronchiolär zeigen sich massive Zellinfiltrate sowie eine beginnende Fibrosierung (großer Pfeil).

d) Kontrollgruppe, **Bronchiolus, POD 20**, HE-Färbung, 20x Vergrößerung

Alle Wandschichten des Bronchiolus sind von Entzündungszellen durchwandert, das Lumen ist stark durch Zelldebris okkludiert (Sternchen). Das Interstitium zeigt sich komplett von Entzündungszellen infiltriert, es ist bereits eine deutliche Fibrosierung des Gewebes sichtbar (Pfeil).

Um neben der akuten Abstoßungsreaktion eine suffiziente Beurteilung der chronischen Abstoßung zum POD 20 zu gewährleisten, wurden korrelierend zu den HE-gefärbten Schnitten auch die SR/E-Präparate herangezogen. Wie in nachfolgender Abbildung exemplarisch dargestellt, zeigt sich hier die Fibrosierung des Gewebes noch weitaus deutlicher; Kollagenfasern werden kräftig rot dargestellt.

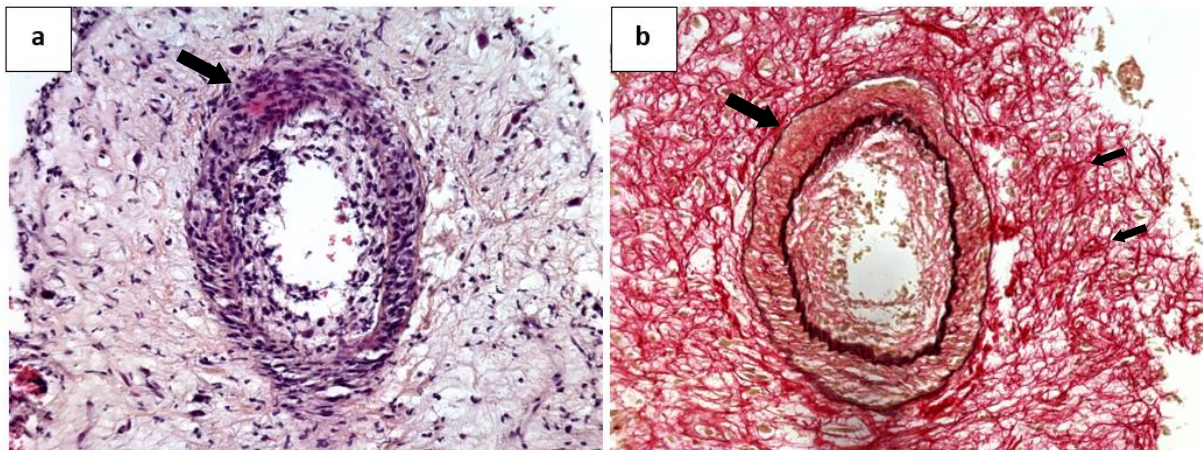


Abbildung 3.4 Ausschnitte aus linken Lungen, POD 20, Gegenüberstellung von HE- und SR/E-Färbung

a) Nilotinibgruppe, **Gefäß, POD 20, HE-Färbung**, 20x Vergrößerung

Wie bereits in Abbildung 3.3 (a) beschrieben, zeigt das dargestellte Gefäß in der HE-Färbung lediglich eine punktuelle vaskuläre Fibrosierung (Pfeil), welche durch eine leichte rötliche Färbung zu erkennen ist. Perivaskulär ergibt sich hier zunächst kein Anhalt auf eine weitere Fibrosierung.

b) Nilotinibgruppe, **Gefäß, POD 20, SR/E-Färbung**, 20x Vergrößerung

Gegenüber der HE-Färbung (a) stellt sich nun für dasselbe Gefäß in der SR/E-Färbung (b) eine wesentlich deutlichere Fibrosierung der Gefäßwand (Pfeil) sowie vor allem des perivaskulären Gewebes (kleine Pfeile) dar, weshalb die Auswertung der Präparate anhand beider Färbemethoden deutlich wird.

Die linken Lungen der Nilotinibtierchen wiesen gegenüber den Lungen der Kontrolltiere eine signifikant verminderte akute Abstoßung der vaskulären Strukturen auf, wobei in beiden Gruppen die Abstoßung als deutlich fortgeschritten zu beurteilen war. Beide Gruppen wiesen zudem eine massive akute Abstoßung der bronchialen Strukturen auf. Im Gewebe zeigten sich ausgeprägte vaskuläre, bronchioläre und interstitielle Entzündungsreaktionen sowie weitläufige Epithel- und Endothelschäden.

Die vaskulären Strukturen zeigten in beiden Gruppen ausgeprägte Schädigungen des Gefäßendothels durch eingewanderte mononukleäre Entzündungszellen in allen Gefäßschichten bis hinein in die Gefäßlumina, welche durch den Zelldebris bereits beginnend okkludiert waren, wie in Abbildung 3.3 a/b (Sternchen) zu sehen. Während die Lungen der

Kontrolltiere massive perivaskuläre Infiltrationen durch Entzündungszellen aufwiesen, waren diese in der Nilotinibgruppe nur moderat ausgeprägt. Der Grad der akuten vaskulären Abstoßung fiel in der Nilotinibgruppe (ISHLT-A: Median 3,2; 1. Quartile 2,7; 3. Quartile 3,6) signifikant vermindert ($p \leq 0,01$) gegenüber der Kontrollgruppe (ISHLT-A: Median 3,9; 1. Quartile 3,8; 3. Quartile 4,0) aus. Die Struktur der Bronchiolen war allorts durch ein größtenteils destruiertes respiratorisches Epithel gekennzeichnet, welches sich wie in Abbildung 3.3 c (kleiner Pfeil) dargestellt teilweise oder bereits vollständig von der darunterliegenden Lamina propria abgelöst hatte. Es zeigten sich massive bronchioläre Zellinfiltrate mit Ausstrahlung in das umgebende peribronchioläre Bindegewebe (s. Abbildung 3.3 c/d, großer Pfeil). Die akute bronchiale Abstoßung war in der Nilotinibgruppe (ISHLT-B: Median 2,0; 1. Quartile 1,9; 3. Quartile 2,0) und der Kontrollgruppe (ISHLT-B: Median 2,0; 1. Quartile 2,0; 3. Quartile 2,0) vergleichbar stark ausgeprägt.

In beiden Gruppen wiesen die linken Lungen zudem erste Anzeichen einer chronischen Abstoßung von sowohl vaskulären als auch bronchialen Strukturen auf, es zeigte sich bereits eine beginnende Fibrosierung des Gewebes. Analog zur akuten vaskulären Abstoßung fiel auch die chronische vaskuläre Abstoßung für die linken Lungen der Nilotinibgruppe signifikant vermindert gegenüber der Kontrollgruppe aus. Die chronische Abstoßung der bronchialen Strukturen war in beiden Gruppen vergleichbar ausgeprägt.

Bei Betrachtung der Gefäße zeigten sich vor allem in der Kontrollgruppe ausgeprägte fibrointimale Hyperplasien, die beginnende Obstruktion der Gefäßlumina durch Granulationsgewebe sowie die perivaskuläre Fibrosierung des Lungenparenchyms (s. Abbildung 3.3 b, Pfeil). Die chronische vaskuläre Abstoßung war hierbei in der Nilotinibgruppe (ISHLT-D: Median 0,2; 1. Quartile 0,2; 3. Quartile 0,3) signifikant ($p \leq 0,05$) gegenüber der Kontrollgruppe (ISHLT-D: Median 0,5; 1. Quartile 0,4; 3. Quartile 0,8) vermindert. Die Bronchiolen zeigten in beiden Gruppen beginnend obliterierte Lumina, bedingt durch die Bildung intraluminaler Polypen bestehend aus Granulationsgewebe, wie in Abbildung 3.3 c/d (großer Pfeil) zu sehen. Das peribronchioläre Lungengewebe wies bereits eine sichtbare Fibrosierung auf. Der Grad der chronischen bronchialen Abstoßung fiel in der Nilotinibgruppe (ISHLT-C: Median 0,5; 1. Quartile 0,5; 3. Quartile 0,6) leicht, jedoch nicht signifikant vermindert gegenüber der Kontrollgruppe (ISHLT-C: Median 0,8; 1. Quartile 0,5; 3. Quartile 1,0) aus.

Zudem fand sich in beiden Gruppen eine moderate bis starke Fibrosierung des interstitiellen Lungenparenchyms. Das Gewebe war geprägt durch mehrheitlich vergrößerte Alveolen sowie ausgedehnte Verdickungen der Alveolarsepten. Der Grad der interstitiellen Fibrosierung fiel für die Nilotinibgruppe (IF: Median 4,5; 1. Quartile 4,0; 3. Quartile 5,0) geringgradig vermindert gegenüber der Kontrollgruppe (IF: Median 5,0; 1. Quartile 5,0; 3. Quartile 5,0) aus.

Die oben beschriebenen Ergebnisse werden in Abbildung 3.5 graphisch zusammengefasst. Die Mediane der Nilotinibgruppe werden gegen die Mediane der Kontrollgruppe verglichen, gruppiert nach ISHLT-Grad und interstitieller Fibrose.

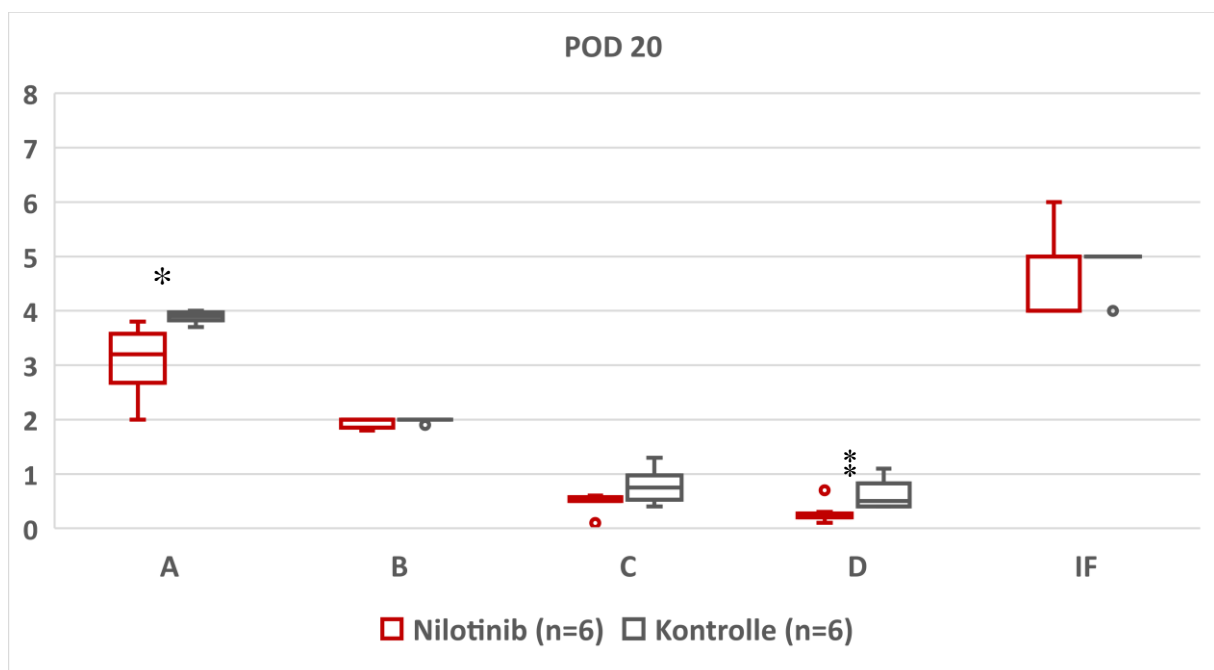


Abbildung 3.5 Konventionelle histologische Auswertung POD 20

Gegenüberstellung der Daten vom POD 20 aus Nilotinibgruppe (rot) und Kontrollgruppe (grau) in akuter und chronischer Abstoßung nach ISHLT (Grade A-D: A = akut vaskulär, B = akut bronchiolär, C = chronisch bronchiolär, D = chronisch vaskulär) [9, 49] und interstitieller Fibrose (IF, Grade 0-8) nach Ashcroft/Hübner [54, 55].

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

* signifikant erniedrigte Werte der Nilotinibgruppe vs. der Kontrollgruppe, $p \leq 0,01$

* signifikant erniedrigte Werte der Nilotinibgruppe vs. der Kontrollgruppe, $p \leq 0,05$

POD 60

Die chronische Abstoßung der Lungen am POD 60 wurde mittels der SR/E-Färbung beurteilt. Hier zeigte sich die perivaskuläre sowie peribronchioläre Fibrosierung weitaus deutlicher als in den HE-gefärbten Präparaten. Kollagenfasern werden kräftig rot, elastische Fasern werden schwarz dargestellt.

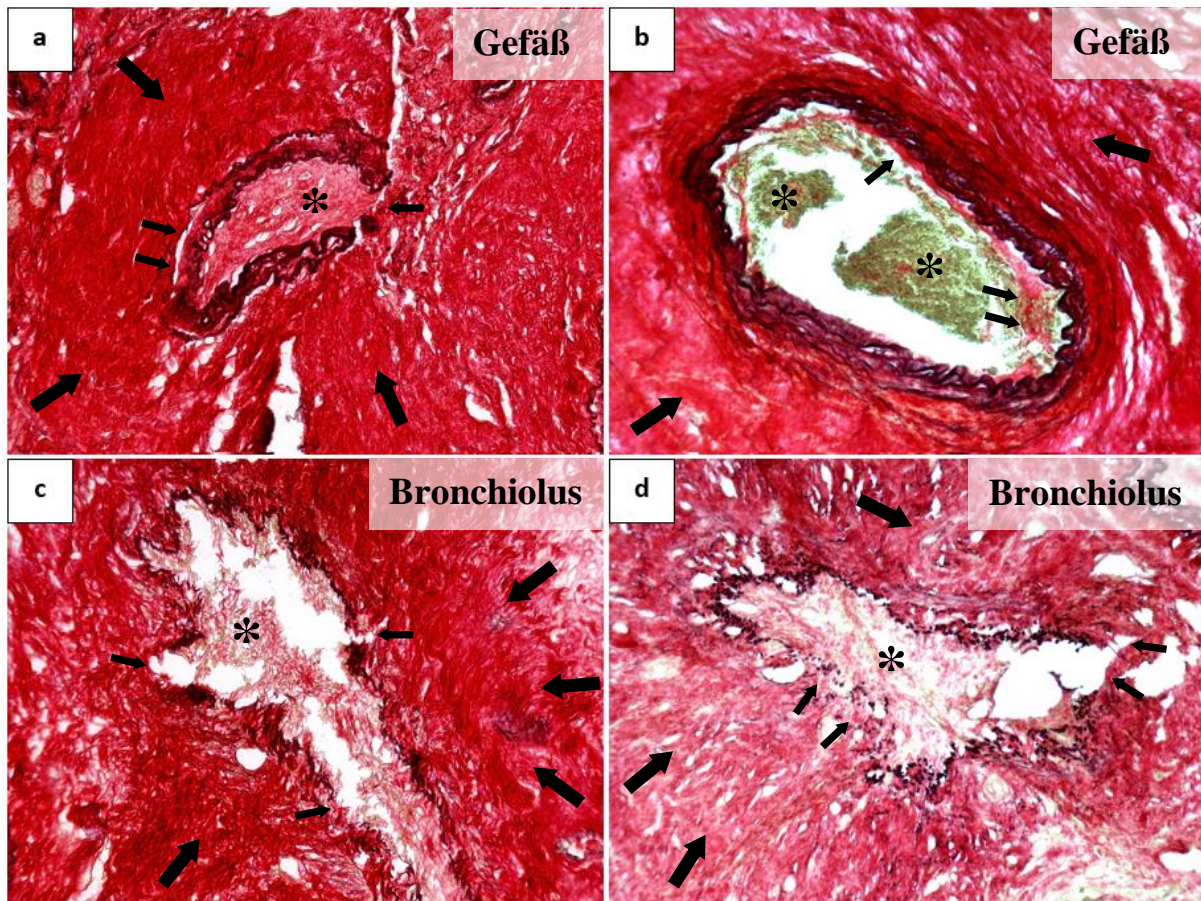


Abbildung 3.6 Ausschnitte aus linken Lungen, POD 60, SR/E-Färbung

a) Nilotinibgruppe, **Gefäß, POD 60**, SR/E-Färbung, 20x Vergrößerung

Es zeigt sich deutlich die vollständige chronische Abstoßung des Gefäßes. Das Gefäßlumen sowie alle Wandschichten sind komplett von Bindegewebe durchsetzt. Das Lumen ist okkludiert (Sternchen), die Gefäßwand weitläufig destruiert (kleine Pfeile). Perivaskulär ist keine alveoläre Struktur mehr zu erkennen, das Gewebe ist vollständig fibrosiert (große Pfeile).

b) Kontrollgruppe, **Gefäß, POD 60**, SR/E-Färbung, 20x Vergrößerung

Das Gefäß zeigt eine starke chronische Abstoßung. Im Gefäßlumen ist die beginnende kollagene Durchsetzung sichtbar (kleine Pfeile), daneben lassen sich einige nicht ausgewaschene Erythrozyten erkennen (Sternchen). Die Gefäßwand ist in allen Schichten stark fibrosiert, das umliegende Gewebe ist vollständig fibrosiert und weist keine erkennbare Lungenstruktur mehr auf (große Pfeile).

c) Nilotinibgruppe, **Bronchiolus, POD 60**, SR/E-Färbung, 200x Vergrößerung

Es ist die komplette chronische Abstoßung des Bronchiolus sichtbar. Das Lumen zeigt sich teilweise bindegewebig okkludiert (Sternchen), das respiratorische Epithel weist deutliche Läsionen auf (kleine Pfeile). Peribronchiolär ist das Gewebe vollständig fibrosiert (große Pfeile), es ist keine Alveolarstruktur zu erkennen.

d) Kontrollgruppe, **Bronchiolus, POD 60**, SR/E-Färbung, 200x Vergrößerung

Der Bronchiolus zeigt eine starke chronische Abstoßung. Das Lumen ist teilweise bindegewebig okkludiert (Sternchen), die Wandschichten des Bronchiolus sind größtenteils destruiert und von Bindegewebe durchsetzt (kleine Pfeile). Das peribronchioläre Gewebe ist komplett fibrosiert und weist keine erkennbare Lungenstruktur mehr auf (große Pfeile).

Zum POD 60 wiesen die linken Lungen beider Gruppen eine massive chronische Abstoßung von vaskulären und bronchialen Strukturen auf, es zeigte sich die deutliche Fibrosierung der Lumina, Wandschichten und des perivaskulären bzw. peribronchiolären Lungenparenchyms.

Die Gefäße waren durch eine beginnende bis meist vollständige Okklusion ihrer Lumina gekennzeichnet, wie in Abbildung 3.6 a/b (Sternchen) dargestellt. Alle Wandschichten waren bindegewebig durchsetzt, die Gefäßwand wies weitläufige Läsionen bis hin zur kompletten Destruktion der Schichten auf (s. Abbildung 3.6 a/b, kleine Pfeile). Das perivaskuläre Parenchym zeigte sich stark fibrosiert, wie in Abbildung 3.6 a/b (große Pfeile) zu sehen. Der Grad der chronischen vaskulären Abstoßung fiel in der Nilotinibgruppe (ISHLT-D: Median 2,0; 1. Quartile 1,9; 3. Quartile 2,0) vergleichbar gegenüber der Kontrollgruppe (IHSLT-D: Median 2,0; 1. Quartile 1,8; 3. Quartile 2,0) aus. Die Bronchiolen wiesen ein weitgehend abgeflachtes Epithel auf, welches sich wie in Abbildung 3.6 c/d (kleine Pfeile) stellenweise von der Lamina propria abgelöst hatte. Die Lumina zeigten sich teilweise bis komplett okkludiert (s. Abbildung 3.6 c/d, Sternchen), das peribronchioläre Gewebe war massiv fibrotisch verändert (s. Abbildung 3.6 c/d, große Pfeile). Die Auswertung der chronischen bronchialen Abstoßung lieferte für die Nilotinibgruppe (ISHLT-C: Median 2,0; 1. Quartile 2,0; 3. Quartile 2,0) und die Kontrollgruppe (ISHLT-C: Median 2,0; 1. Quartile 2,0; 3. Quartile 2,0) vergleichbare Ergebnisse.

In beiden Gruppen zeigte sich eine massive Fibrosierung des interstitiellen Lungenparenchyms, sodass es in seiner Struktur beinahe vollständig destruiert vorlag. Die Gliederung des Gewebes in Alveolen durch Alveolarsepten war kaum noch erkennbar, die Alveolen zeigten sich in ihrer Größe variabel bis nicht vorhanden, die Alveolarsepten waren zu fibrotischen Knoten verdickt. Der Grad der interstitiellen Fibrosierung fiel für die Nilotinibgruppe (IF: Median 6,0; 1. Quartile 6,0; 3. Quartile 6,5) und die Kontrollgruppe (IF: Median 6,0; 1. Quartile 6,0; 3. Quartile 6,0) gleichwertig aus.

Die oben beschriebenen Ergebnisse werden in Abbildung 3.7 graphisch zusammengefasst. Die Mediane der Nilotinibgruppe werden gegen die Mediane der Kontrollgruppe verglichen, gruppiert nach ISHLT-Grad und interstitieller Fibrose.

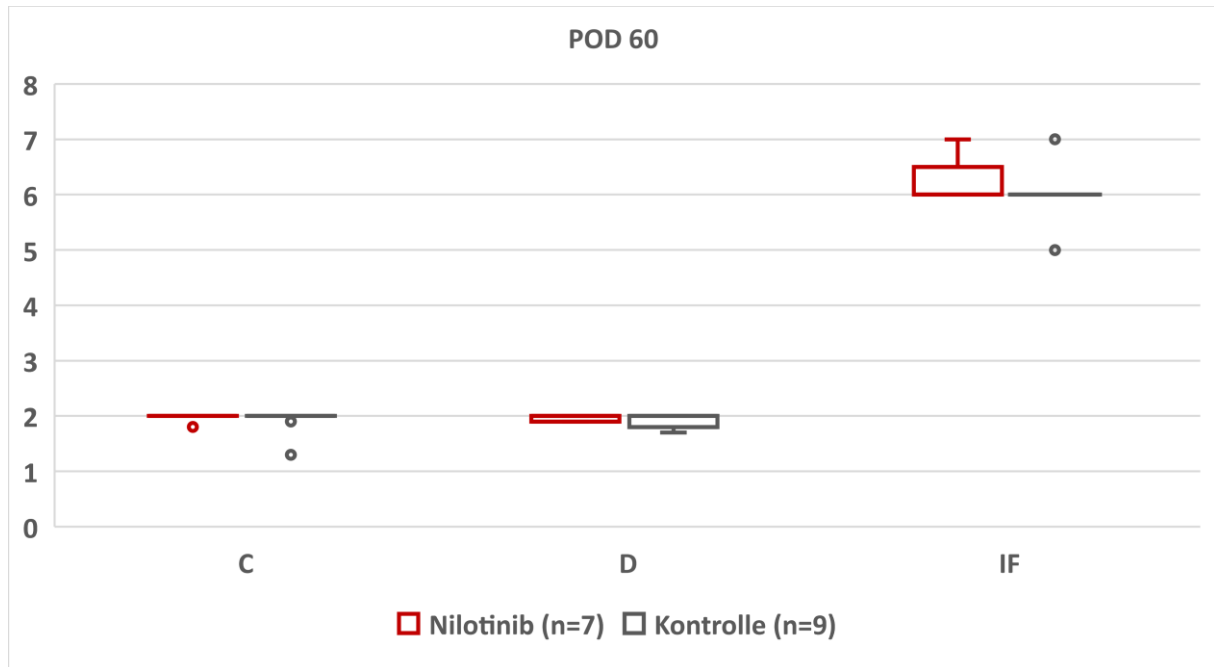


Abbildung 3.7 Konventionelle histologische Auswertung POD 60

Gegenüberstellung der Daten aus Nilotinibgruppe (rot) und Kontrollgruppe (grau) in chronischer Abstoßung nach ISHLT (Grade C-D: C = chronisch bronchiolär, D = chronisch vaskulär) [9, 49] und interstitieller Fibrose (IF, Grade 0-8) nach Ashcroft/Hübner [54, 55].

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede für $p \leq 0,05$.

3.3 Wachstumsfaktoren

In den folgenden Abschnitten wird die Expression der Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren CD117, PDGF-AA und PDGFR- α , VEGF-A und VEGFR-2 in den linken und rechten Empfängerlungen sowie den rechten Spenderlungen dargestellt. Es erfolgte die quantitative Beurteilung der Faktoren mittels Auszählung von jeweils fünf Gesichtsfeldern pro Marker und Lunge. Neben der quantitativen Auswertung wurde zudem für die linken Lungen jeweils eines exemplarischen Tiers aus Nilotinib- und Kontrollgruppe sowie die rechte Lunge eines exemplarischen Tiers aus der Spendergruppe die Intensität der Anfärbung pro Marker für

mehrere Zellarten (Bronchialepithel, Pneumozyten Typ I, Pneumozyten Typ II, interstitielle Zellen, Gefäßendothel, Alveolarmakrophagen, andere mononukleäre Zellen, metaplastische Zellen) bestimmt. Je nach Intensität der Färbung erfolgte die Einteilung in vier Grade von – (keine Färbung) bis +++ (starke Färbung).

3.3.1 CD117

Quantitative Auswertung

Die rechten Spenderlungen sowie die linken und rechten Lungen der Kontrollgruppe wiesen zum POD 20 eine vergleichbare Anzahl CD117 exprimierender Zellen auf. Dagegen waren die Werte sowohl für die linken als auch rechten Lungen der Nilotinibgruppe geringgradig erhöht.

In den rechten Spenderlungen zeigten sich im Median 30,0 (1. Quartile 12,7; 3. Quartile 83,1) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Die linken Lungen der Nilotinibgruppe wiesen 37,1 (1. Quartile 26,7; 3. Quartile 65,4), die rechten Lungen der Nilotinibgruppe 40,7 (1. Quartile 24,4; 3. Quartile 52,2) CD117 exprimierende Zellen auf. In den linken Lungen der Kontrollgruppe zeigten sich 31,5 (1. Quartile 24,0; 3. Quartile 41,5) angefärbte Zellen gegenüber 30,4 (1. Quartile 22,5; 3. Quartile 39,3) Zellen in den rechten Lungen der Kontrollgruppe. Es konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Zum POD 60 wurde in den linken Lungen der Kontrollgruppe ein hochgradiger Anstieg von CD117 exprimierenden Zellen sowohl gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe als auch gegenüber den Lungen der Spender- und Nilotinibgruppe festgestellt.

Die rechten Spenderlungen wiesen im Median 18,2 (1. Quartile 9,6; 3. Quartile 21,6) angefärbte Zellen auf. Vergleichbar zeigten sich in den linken Lungen der Nilotinibgruppe 11,4 (1. Quartile 8,5; 3. Quartile 16,2) und in den rechten Lungen der Nilotinibgruppe 21,0 (1. Quartile 10,1; 3. Quartile 30,1) CD117-positive Zellen. Die transplantierten linken Lungen der Kontrollgruppe wiesen eine deutlich stärkere Expression mit im Median 51,9 (1. Quartile 37,6; 3. Quartile 62,8) angefärbten Zellen auf, welche sich sowohl gegenüber den rechten Spenderlungen ($p \leq 0,05$) als auch gegenüber den transplantierten linken Lungen der Nilotinibgruppe ($p \leq 0,01$) als signifikante Erhöhung abgrenzte. Zudem zeigte sich die Expression in den linken Lungen der Kontrollgruppe gegenüber den rechten Lungen der

Kontrollgruppe mit 20,4 (1. Quartile 16,9; 3. Quartile 25,5) angefärbten Zellen stark, jedoch nicht signifikant, erhöht.

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.8 graphisch dargestellt. Die Mediane der CD117 exprimierenden Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

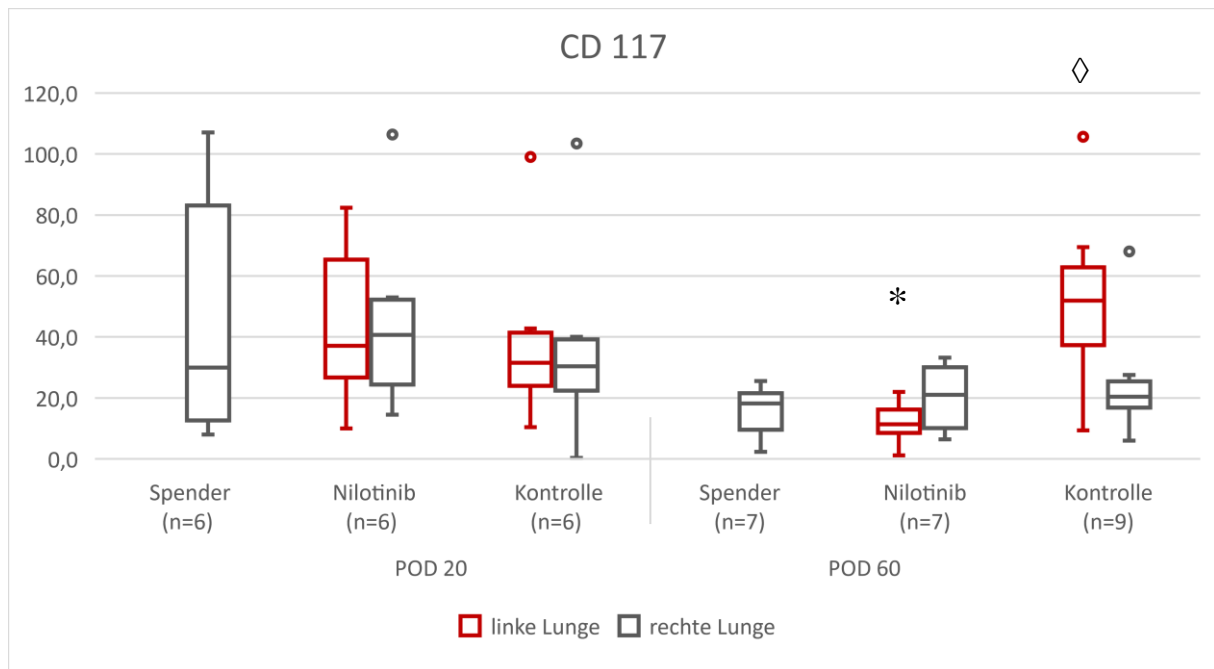


Abbildung 3.8 Expression von CD117: Quantitative Auswertung

Gegenüberstellung der Anzahl CD117 exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

* signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. der Kontrollgruppe, $p \leq 0,01$

◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,05$

Auswertung der Intensität

Die Beurteilung der Intensitäten von CD117 exprimierenden Zellen zum POD 20 ergab für alle Zelltypen mit Ausnahme von Bronchialepithel und metaplastischen Zellen jeweils eine stärkere

Anfärbung in Nilotinib- und Kontrollgruppe gegenüber der Spendergruppe. Hierbei fiel meist die Anfärbung in der Nilotinibgruppe schwächer aus als in der Kontrollgruppe.

Pneumozyten Typ I und andere mononukleäre Zellen waren in der Spendergruppe nicht angefärbt, während die Färbung in der Nilotinibgruppe schwach und in der Kontrollgruppe stark ausgeprägt war. In interstitiellen Zellen und Alveolarmakrophagen zeigte sich ebenso keine Anfärbung in der Spendergruppe, in der Nilotinibgruppe wiesen die Zellen eine moderate, in der Kontrollgruppe eine starke Färbung auf. Für Pneumozyten Typ II zeigte sich in der Spendergruppe eine schwache, in der Nilotinibgruppe eine moderate und in der Kontrollgruppe eine starke Färbung. Das Gefäßendothel war in der Spendergruppe schwach angefärbt, während in der Nilotinib- und Kontrollgruppe die Färbung gleichermaßen stark ausfiel. Für das Bronchialepithel und die metaplastischen Zellen in Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe ergab sich eine vergleichbare Expression von CD117. Während das Bronchialepithel in allen drei Gruppen eine starke Färbung aufwies, zeigten die metaplastischen Zellen jeweils keine Anfärbung. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.1 zusammengefasst.

POD 20	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	+++	-	+	-	+	-	-	-
Nilotinib	+++	+	++	++	+++	++	+	-
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-

Tabelle 3.1 Expression von CD117: Intensitäten zum POD 20

Gegenüberstellung der Farbintensität für CD117 zum POD 20 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

Zum POD 60 zeigte sich eine heterogene Expression von CD117 für die unterschiedlichen Zelltypen in allen drei Vergleichsgruppen.

Pneumozyten Typ I, Alveolarmakrophagen und metaplastische Zellen wiesen in Spender- und Nilotinibgruppe keine Anfärbung auf, in der Kontrollgruppe zeigte sich eine schwache Färbung. Pneumozyten Typ II waren in der Spendergruppe moderat angefärbt, wohingegen die Färbung in der Nilotinib- und Kontrollgruppe nur schwach ausfiel. Für

interstitielle Zellen und Gefäßendothel zeigte sich keine Anfärbung in der Spendergruppe gegenüber einer moderaten Färbung in Nilotinib- und Kontrollgruppe. Wie schon zum POD 20 war das Bronchialepithel in allen drei Gruppen stark angefärbt. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.2 aufgelistet.

POD 60	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	+++	-	++	-	-	-	+	-
Nilotinib	+++	-	+	++	++	-	-	-
Kontrolle	+++	+	+	++	++	+	+	+

Tabelle 3.2 Expression von CD117: Intensitäten zum POD 60

Gegenüberstellung der Farbintensität für CD117 zum POD 60 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

3.3.2 PDGF-AA

Quantitative Auswertung

Zum POD 20 konnte in den linken und rechten Lungen der Nilotinibgruppe eine vermehrte, jedoch nicht signifikante, Expression von PDGF-AA gegenüber der Spender- und Kontrollgruppe festgestellt werden. Während in der Nilotinibgruppe die Expression von PDGF-AA in den linken und rechten Lungen vergleichbar ausfiel, war diese in der Kontrollgruppe in den linken Lungen gegenüber den rechten Lungen stärker ausgeprägt.

Die rechten Spenderlungen wiesen im Median 0,1 (1. Quartile 0,0; 3. Quartile 13,6) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld auf. In den linken Lungen der Nilotinibgruppe zeigten sich 16,7 (1. Quartile 2,8; 3. Quartile 43,1) Zellen gegenüber 15,5 (1. Quartile 5,1; 3. Quartile 22,5) Zellen in den rechten Lungen der Nilotinibgruppe. Die linken Lungen der Kontrollgruppe wiesen 7,4 (1. Quartile 5,7; 3. Quartile 13,2), die rechten Lungen der Kontrollgruppe 3,5 (1.

Quartile 2,3; 3. Quartile 5,4) CD117-positive Zellen auf. Es konnten keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden.

Zum POD 60 zeigten die linken Lungen der Kontrollgruppe einen massiven Anstieg von PDGF-AA exprimierenden Zellen sowohl gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe als auch gegenüber den Lungen der Spender- und Nilotinibgruppe.

Die rechten Spenderlungen wiesen im Median 4,4 (1. Quartile 0,0; 3. Quartile 7,0) angefärbte Zellen auf. Vergleichbar zeigten sich in den linken Lungen der Nilotinibgruppe 7,2 (1. Quartile 2,6; 3. Quartile 14,6) und in den rechten Lungen der Nilotinibgruppe 2,0 (1. Quartile 1,8; 3. Quartile 11,0) PDGF-AA-positive Zellen. Die transplantierten linken Lungen der Kontrollgruppe wiesen eine deutlich stärkere Expression mit im Median 44,6 (1. Quartile 28,4; 3. Quartile 71,1) angefärbten Zellen auf, welche sich sowohl gegenüber den rechten Spenderlungen ($p \leq 0,05$) als auch den transplantierten linken Lungen der Nilotinibgruppe ($p \leq 0,05$) als signifikante Erhöhung abgrenzte. Zudem zeigt sich die Expression in den linken Lungen der Kontrollgruppe gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe mit 7,4 (1. Quartile 2,6; 3. Quartile 31,2) angefärbten Zellen ausgeprägt, jedoch nicht signifikant, erhöht.

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.9 graphisch dargestellt. Die Mediane der PDGF-AA exprimierenden Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

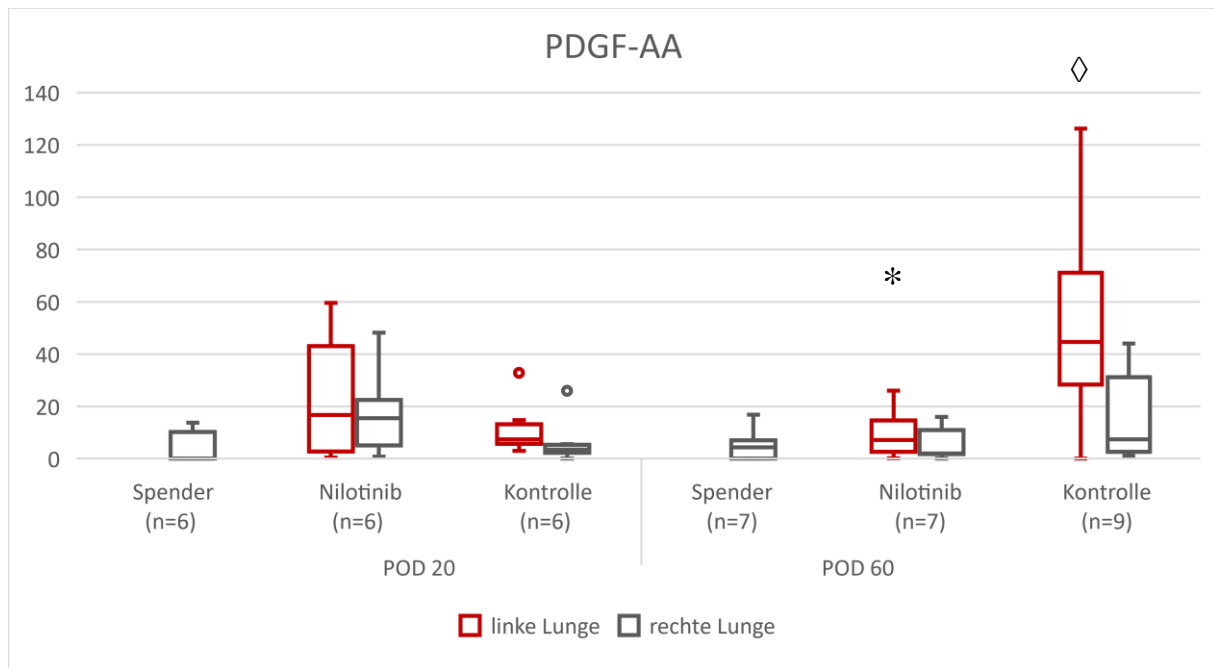


Abbildung 3.9 Expression von PDGF-AA: Quantitative Auswertung

Gegenüberstellung der Anzahl PDGF-AA exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

* signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. der Kontrollgruppe, $p \leq 0,05$

◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,05$

Auswertung der Intensität

Die Auswertung der Farbintensität von PDGF-AA exprimierenden Zellen zum POD 20 ergab für nahezu alle Zelltypen eine stärkere Anfärbung in Nilotinib- und Kontrollgruppe gegenüber der Spendergruppe. Dabei zeigten sich die Intensitäten im Vergleich zwischen Nilotinibgruppe und Kontrollgruppe für die meisten Zelltypen gleichwertig.

Das Bronchialepithel wies in der Spendergruppe eine moderate Färbung auf, während in der Nilotinib- und Kontrollgruppe eine starke Färbung vorlag. Pneumozyten Typ I und metaplastische Zellen zeigten keine Anfärbung in der Spendergruppe gegenüber einer schwachen Färbung in der Nilotinib- und Kontrollgruppe. Für Pneumozyten Typ II, interstitielle Zellen und das Gefäßendothel wurde keine Färbung in der Spendergruppe festgestellt, während in der Nilotinib- und Kontrollgruppe eine moderate Färbung vorlag. Die

Alveolarmakrophagen wiesen sowohl in der Spendergruppe als auch der Nilotinibgruppe keine Färbung auf, in der Kontrollgruppe zeigte sich eine schwache Färbung. Andere mononukleäre Zellen waren in der Spendergruppe und Kontrollgruppe nicht angefärbt, demgegenüber lag eine schwache Färbung in der Nilotinibgruppe vor. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.3 zusammengefasst.

POD 20	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	++	-	-	-	-	-	-	-
Nilotinib	+++	+	++	++	++	-	+	+
Kontrolle	+++	+	++	++	++	+	-	+

Tabelle 3.3 Expression von PDGF-AA: Intensitäten zum POD 20

Gegenüberstellung der Farbintensität für PDGF-AA zum POD 20 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

Zum POD 60 war die Anfärbung der verschiedenen Zelltypen in der Kontrollgruppe meist stärker gegenüber der Spender- und Nilotinibgruppe ausgeprägt. In der Spender- und Nilotinibgruppe lag für alle Zelltypen mit Ausnahme des Bronchialepithels keine oder nur eine schwache Färbung vor.

Das Bronchialepithel zeigte in der Spendergruppe eine moderate Färbung, wohingegen in der Nilotinibgruppe eine schwache und in der Kontrollgruppe eine starke Färbung vorlag. Pneumozyten Typ I und Alveolarmakrophagen wiesen sowohl in der Spendergruppe als auch in der Nilotinibgruppe keine Färbung auf, in der Kontrollgruppe waren die Zellen schwach angefärbt. Pneumozyten Typ II zeigten ebenso keine Anfärbung in der Spender- und Nilotinibgruppe, demgegenüber war die Färbung in der Kontrollgruppe moderat ausgeprägt. Für interstitielle Zellen und das Gefäßendothel ergab sich keine Anfärbung in der Spendergruppe gegenüber einer schwachen Färbung in der Nilotinibgruppe und einer moderaten Färbung in der Kontrollgruppe. Andere mononukleäre Zellen und metaplastische Zellen zeigten sich in allen drei Gruppen gleichermaßen nicht angefärbt. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.4 dargestellt.

POD 60	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	++	-	-	-	-	-	-	-
Nilotinib	+	-	-	+	+	-	-	-
Kontrolle	+++	+	++	++	++	+	-	-

Tabelle 3.4 Expression von PDGF-AA: Intensitäten zum POD 60

Gegenüberstellung der Farbtintensität für PDGF-AA zum POD 60 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

3.3.3 PDGFR- α

Quantitative Auswertung

Die Expression von PDGFR- α zum POD 20 fiel in den linken und rechten Lungen der Nilotinibgruppe am stärksten aus, während die linken und rechten Lungen der Kontrollgruppe deutlich niedrigere Werte sowohl gegenüber der Nilotinibgruppe als auch der Spendergruppe aufwiesen. Zudem war sowohl in der Nilotinibgruppe als auch der Kontrollgruppe die Expression von PDGFR- α jeweils in den rechten Lungen stärker als in den linken Lungen ausgeprägt.

Die rechten Spenderlungen zeigten im Median 18,9 (1. Quartile 16,1; 3. Quartile 39,7) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Demgegenüber wiesen die linken Lungen der Nilotinibgruppe 34,0 (1. Quartile 20,9; 3. Quartile 76,9) Zellen auf; in den rechten Lungen war die Expression von PDGFR- α mit 91,7 (1. Quartile 87,1; 3. Quartile 111,2) Zellen noch stärker ausgeprägt. Dagegen fiel in den rechten und linken Lungen der Kontrollgruppe die Expression von PDGFR- α deutlich geringer aus. In den linken Lungen der Kontrollgruppe zeigten sich 3,4 (1. Quartile 0,9; 3. Quartile 5,5) angefärbte Zellen, hierbei war die Zellzahl sowohl gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,05$) als auch den linken Lungen der Nilotinibgruppe ($p \leq 0,01$) signifikant erniedrigt. Ebenso war die Expression von PDGFR- α in den linken Lungen der

Kontrollgruppe gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe mit 16,9 (1. Quartile 7,7; 3. Quartile 46,9) angefärbten Zellen signifikant vermindert ($p \leq 0,05$).

Zum POD 60 wiesen die rechten Spenderlungen sowie die linken Lungen der Nilotinibgruppe vergleichbare Werte auf, während die Anzahl PDGFR- α -positiver Zellen in den linken Lungen der Kontrollgruppe demgegenüber massiv erhöht war. Sowohl in der Nilotinibgruppe als auch der Kontrollgruppe war die Expression von PDGFR- α jeweils in den rechten Lungen stärker ausgeprägt als in den linken Lungen.

In den rechten Spenderlungen fanden sich im Median 14,6 (1. Quartile 0,0; 3. Quartile 23,3) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Die linken Lungen der Nilotinibgruppe wiesen 14,0 (1. Quartile 2,9; 3. Quartile 37,6) Zellen auf, demgegenüber zeigte sich eine stark erhöhte, jedoch nicht signifikante, Expression in den rechten Lungen der Nilotinibgruppe mit 58,4 (1. Quartile 26,8; 3. Quartile 112,7) Zellen. Signifikant erhöhte Werte ergaben sich für die linken Lungen der Kontrollgruppe mit 51,3 (1. Quartile 29,8; 3. Quartile 75,8) Zellen gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,01$); ebenso war die Zellzahl gegenüber den linken Lungen der Nilotinibgruppe stark erhöht, allerdings nicht signifikant. In den rechten Lungen der Kontrollgruppe war die Expression von PDGFR- α mit 66,0 (1. Quartile 54,8; 3. Quartile 93,0) Zellen ebenfalls stark ausgeprägt.

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.10 graphisch dargestellt. Die Mediane der PDGFR- α -positiven Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

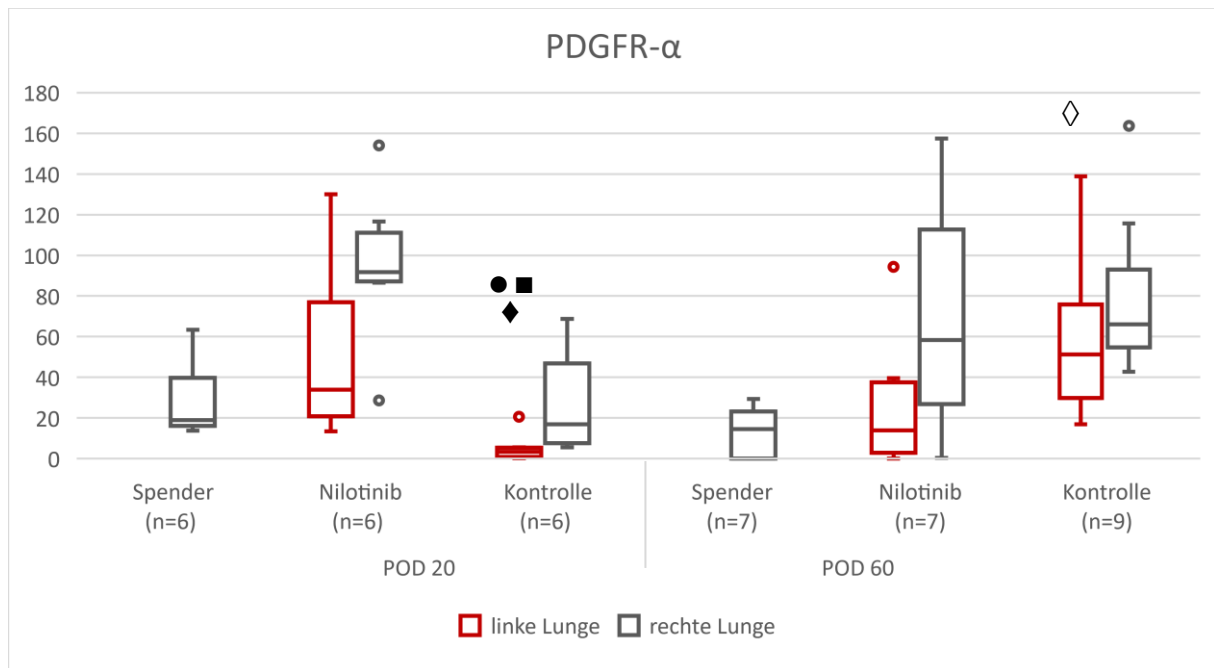


Abbildung 3.10 Expression von PDGFR- α : Quantitative Auswertung

Gegenüberstellung der Anzahl PDGFR- α exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

- ◆ signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,05$
- signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. der Nilotinibgruppe, $p \leq 0,01$
- signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Kontrollgruppe, $p \leq 0,05$
- ◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,01$

Auswertung der Intensität

Die Auswertung der Farbintensität von PDGFR- α exprimierenden Zellen zum POD 20 ergab für nahezu alle Zelltypen eine stärkere Anfärbung in Nilotinib- und Kontrollgruppe gegenüber der Spendergruppe. Dabei zeigten sich die Intensitäten im Vergleich zwischen Nilotinibgruppe und Kontrollgruppe für die meisten Zelltypen gleichwertig oder in der Kontrollgruppe leicht verstärkt.

Bronchialepithel sowie Gefäßendothel wiesen in der Spendergruppe keine Anfärbung auf, demgegenüber waren die Zellen in der Nilotinibgruppe moderat und in der Kontrollgruppe stark gefärbt. Für Pneumozyten Typ I und interstitielle Zellen konnte in der Spendergruppe keine Anfärbung nachgewiesen werden, während in der Nilotinib- und Kontrollgruppe die

Färbung moderat ausfiel. Ebenso zeigten Pneumozyten Typ II eine moderate Färbung in Nilotinib- und Kontrollgruppe gegenüber einer schwachen Anfärbung in der Spendergruppe. Alveolarmakrophagen waren in der Spendergruppe nicht angefärbt, in der Nilotinibgruppe wiesen die Zellen eine schwache, in der Kontrollgruppe eine moderate Färbung auf. Metaplastische Zellen zeigten sowohl in der Spendergruppe als auch in der Kontrollgruppe keine Anfärbung, in der Nilotinibgruppe lag eine schwache Färbung vor. Andere mononukleäre Zellen waren in allen drei Gruppen gleichermaßen schwach angefärbt. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.5 aufgelistet.

POD 20	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	-	-	+	-	-	-	+	-
Nilotinib	++	++	++	++	++	+	+	+
Kontrolle	+++	++	++	++	+++	++	+	-

Tabelle 3.5 Expression von PDGFR- α : Intensitäten zum POD 20

Gegenüberstellung der Farbintensität für PDGFR- α zum POD 20 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

Zum POD 60 waren die Intensitäten der verschiedenen Zelltypen in der Spender- und Nilotinibgruppe entweder gleichwertig oder in der Nilotinibgruppe geringgradig stärker ausgeprägt. Dagegen fiel die Anfärbung der Zellen in der Kontrollgruppe meist intensiver aus.

Das Bronchialepithel zeigte sowohl in der Spendergruppe als auch der Nilotinibgruppe eine schwache Färbung, während die Zellen in der Kontrollgruppe stark angefärbt waren. Pneumozyten Typ I wiesen in der Spender- und Nilotinibgruppe keine Färbung auf, in der Kontrollgruppe fiel die Anfärbung schwach aus. Für Pneumozyten Typ II ergab sich eine schwache Färbung in Spender- und Nilotinibgruppe gegenüber einer moderaten Färbung in der Kontrollgruppe. Interstitielle Zellen sowie das Gefäßendothel waren in der Spendergruppe nicht angefärbt; in der Nilotinibgruppe zeigten die Zellen eine schwache, in der Kontrollgruppe eine starke Färbung. Alveolarmakrophagen wiesen keine Anfärbung in der Spender- und Nilotinibgruppe auf, dagegen waren sie in der Kontrollgruppe moderat gefärbt. Für andere

mononukleäre Zellen ergab sich keine Anfärbung in der Spendergruppe gegenüber einer schwachen Färbung in der Nilotinib- und Kontrollgruppe. Metaplastische Zellen zeigten in allen drei Gruppen gleichermaßen keine Anfärbung. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.6 zusammengefasst.

POD 60	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	+	-	+	-	-	-	-	-
Nilotinib	+	-	+	+	+	-	+	-
Kontrolle	+++	+	++	++	++	++	+	-

Tabelle 3.6 Expression von PDGFR- α : Intensitäten zum POD 60

Gegenüberstellung der Farbintensität für PDGFR- α zum POD 60 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

3.3.4 VEGF-A

Quantitative Auswertung

Zum POD 20 konnte eine deutlich stärkere Expression von VEGF-A in den linken und rechten Lungen der Nilotinibgruppe gegenüber den Spenderlungen festgestellt werden, während die linken und rechten Lungen der Kontrollgruppe gegenüber den Spenderlungen eine verminderte Anzahl VEGF-positiver Zellen aufwiesen.

In den rechten Spenderlungen fanden sich im Median 8,1 (1. Quartile 2,1; 3. Quartile 36,0) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Die linken Lungen der Nilotinibgruppe zeigten 27,9 (1. Quartile 16,0; 3. Quartile 37,0), die rechten Lungen der Nilotinibgruppe 20,5 (1. Quartile 11,0; 3. Quartile 31,7) Zellen. Hierbei war die Anzahl VEGF-A exprimierender Zellen in der Nilotinibgruppe stark, jedoch nicht signifikant gegenüber der Spendergruppe erhöht. Dagegen erwies sich die Expression von VEGF-A in den linken Lungen der Nilotinibgruppe gegenüber den linken Lungen der Kontrollgruppe als signifikant erhöht ($p \leq 0,05$). Diese zeigten im

Median 1,2 (1. Quartile 0,2; 3. Quartile 13,4) angefärbte Zellen, in den rechten Lungen der Kontrollgruppe fanden sich vergleichbar 1,2 (1. Quartile 0,7; 3. Quartile 1,8) Zellen.

Zum POD 60 zeigten die linken Lungen der Nilotinibgruppe einen mäßigen sowie die linken Lungen der Kontrollgruppe einen massiven Anstieg von VEGF-A exprimierenden Zellen gegenüber den Spenderlungen. Dagegen wiesen die Spenderlungen sowie die rechten Lungen der Nilotinib- und Kontrollgruppe untereinander vergleichbare Werte auf.

Die rechten Spenderlungen zeigten im Median 3,0 (1. Quartile 0,6; 3. Quartile 12,8) angefärbte Zellen. Leicht erhöhte Werte wiesen die linken Lungen der Nilotinibgruppe mit 10,8 (1. Quartile 2,0; 3. Quartile 15,3) Zellen auf, die rechten Lungen der Nilotinibgruppe zeigten im Median 3,8 (1. Quartile 1,7; 3. Quartile 7,5) Zellen. Demgegenüber war die Expression von VEGF-A mit 16,3 (1. Quartile 4,4; 3. Quartile 32,9) Zellen in den linken Lungen der Kontrollgruppe stark, jedoch nicht signifikant verstärkt. Im Vergleich mit den rechten Lungen der Kontrollgruppe (Median 2,6; 1. Quartile 0,6; 3. Quartile 4,1) erwies sich die Anzahl VEGF-A -positiver Zellen in den linken Lungen der Kontrollgruppe als signifikant erhöht ($p \leq 0,05$).

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.11 graphisch dargestellt. Die Mediane der VEGF-A exprimierenden Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

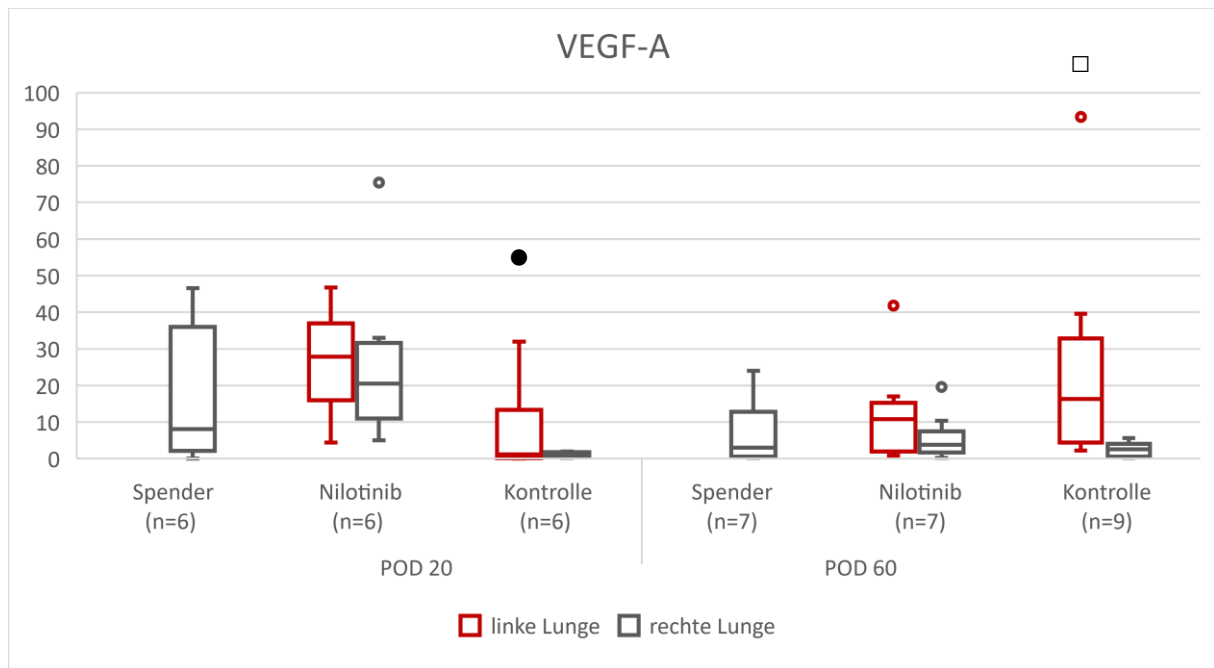


Abbildung 3.11 Expression von VEGF-A: Quantitative Auswertung

Gegenüberstellung der Anzahl VEGF-A exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

- signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. der Nilotinibgruppe, $p \leq 0,05$
- signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Kontrollgruppe, $p \leq 0,05$

Auswertung der Intensität

Die Auswertung der Farbintensität von VEGF-A exprimierenden Zellen zum POD 20 ergab für nahezu alle Zelltypen eine stärkere Anfärbung in Nilotinib- und Kontrollgruppe gegenüber der Spendergruppe. Dabei waren die Färbungen in der Nilotinibgruppe und der Kontrollgruppe für alle Zelltypen entweder leicht oder moderat ausgeprägt.

Das Bronchialepithel wies sowohl in der Spendergruppe als auch in der Nilotinibgruppe eine schwache Färbung auf, in der Kontrollgruppe fiel die Färbung dagegen moderat aus. Für Pneumozyten Typ I zeigte sich keine Anfärbung in der Spendergruppe gegenüber einer schwachen Färbung in der Nilotinibgruppe und einer moderaten Färbung in der Kontrollgruppe. Pneumozyten Typ II und Gefäßendothel waren in der Spendergruppe schwach gefärbt, dagegen zeigte sich eine moderate Färbung in der Nilotinib- und Kontrollgruppe. Interstitielle Zellen

wiesen keine Anfärbung in der Spendergruppe auf, während die Färbung in der Nilotinib- und Kontrollgruppe moderat ausfiel. Für Alveolarmakrophagen zeigte sich keine Anfärbung in der Spendergruppe gegenüber einer moderaten Färbung in der Nilotinibgruppe und einer schwachen Färbung in der Kontrollgruppe. Sowohl andere mononukleäre Zellen als auch metaplastische Zellen waren in der Spendergruppe nicht angefärbt, dagegen zeigte sich eine schwache Färbung in Nilotinib- und Kontrollgruppe. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.7 dargestellt.

POD 20	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	+	-	+	-	+	-	-	-
Nilotinib	+	+	++	++	++	++	+	+
Kontrolle	++	++	++	++	++	+	+	+

Tabelle 3.7 Expression von VEGF-A: Intensitäten zum POD 20

Gegenüberstellung der Farbintensität für VEGF-A zum POD 20 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: – (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

Zum POD 60 zeigte sich eine heterogene Expression von VEGF-A für die unterschiedlichen Zelltypen in allen drei Vergleichsgruppen.

Das Bronchialepithel wies sowohl in der Spendergruppe als auch der Kontrollgruppe eine moderaten Färbung auf, wohingegen die Färbung in der Nilotinibgruppe stark ausfiel. Pneumozyten Typ I waren in der Spender- und Nilotinibgruppe nicht angefärbt, in der Kontrollgruppe zeigte sich eine schwache Anfärbung. Pneumozyten Typ II zeigten in der Nilotinibgruppe keine Anfärbung gegenüber einer schwachen Färbung in Spender- und Kontrollgruppe. Interstitielle Zellen wiesen keine Anfärbung in der Spendergruppe auf, während die Färbung in der Nilotinibgruppe moderat und in der Kontrollgruppe schwach ausfiel. Sowohl Gefäßendothel als auch andere mononukleäre Zellen waren in den Spenderlungen nicht angefärbt, in der Nilotinib- und Kontrollgruppe zeigte sich eine schwache Färbung. Metaplastische Zellen wiesen in allen drei Gruppen gleichermaßen keine Färbung auf. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.8 aufgeführt.

POD 60	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	++	-	+	-	-	-	-	-
Nilotinib	+++	-	-	++	+	+	+	-
Kontrolle	++	+	+	+	+	-	+	-

Tabelle 3.8 Expression von VEGF-A: Intensitäten zum POD 60

Gegenüberstellung der Farbintensität für VEGF-A zum POD 60 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

3.3.5 VEGFR-2

Quantitative Auswertung

Zum POD 20 zeigten die linken Lungen der Kontrollgruppe eine deutlich erhöhte Anzahl an VEGFR-2 exprimierenden Zellen sowohl gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe als auch gegenüber den Lungen der Spender- und Nilotinibgruppe. Dagegen wiesen die Spenderlungen, die linken und rechten Lungen der Nilotinibgruppe sowie die rechten Lungen der Kontrollgruppe untereinander vergleichbare Werte auf.

Die rechten Spenderlungen zeigten im Median 3,4 (1. Quartile 1,3; 3. Quartile 8,1) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Gleichmaßen fanden sich in den linken Lungen der Nilotinibgruppe 2,8 (1. Quartile 0,4; 3. Quartile 7,2) sowie in den rechten Lungen der Nilotinibgruppe 3,4 (1. Quartile 2,3; 3. Quartile 5,0) Zellen. Dagegen war die Expression von VEGFR-2 in den linken Lungen der Kontrollgruppe mit 24,3 (1. Quartile 13,7; 3. Quartile 27,2) Zellen deutlich stärker ausgeprägt. Diese erwies sich sowohl gegenüber den linken Lungen der Nilotinibgruppe ($p \leq 0,05$) als auch gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe mit 3,3 (1. Quartile 1,1; 3. Quartile 8,0) Zellen als signifikant erhöht ($p \leq 0,05$).

Die Expression von VEGFR-2 zum POD 60 fiel in den linken Lungen der Nilotinibgruppe leicht sowie in den linken Lungen der Kontrollgruppe deutlich stärker gegenüber den Spenderlungen aus. Zudem war sowohl in der Nilotinibgruppe als auch der Kontrollgruppe die Expression von VEGFR-2 jeweils in den linken Lungen stärker als in den rechten Lungen ausgeprägt.

Die rechten Spenderlungen wiesen im Median 1,2 (1. Quartile 0,0; 3. Quartile 6,8) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld auf. Eine gesteigerte Expression von VEGFR-2 fand sich in den linken Lungen der Nilotinibgruppe mit 5,0 (1. Quartile 2,8; 3. Quartile 11,0) Zellen, welche sich als signifikante Erhöhung ($p \leq 0,05$) gegenüber den rechten Lungen der Nilotinibgruppe mit 1,0 (1. Quartile 0,1; 3. Quartile 3,2) Zellen abgrenzte. Demgegenüber zeigten die linken Lungen der Kontrollgruppe eine deutlich gesteigerte Zellzahl mit 13,6 (1. Quartile 10,0; 3. Quartile 32,4) Zellen. Diese vermehrte Expression erwies sich sowohl gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,01$) und linken Lungen der Nilotinibgruppe ($p \leq 0,05$) als auch gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe mit 2,6 (1. Quartile 1,0; 3. Quartile 6,8) Zellen ($p \leq 0,05$) als signifikant.

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.12 graphisch dargestellt. Die Mediane der VEGFR-2 exprimierenden Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

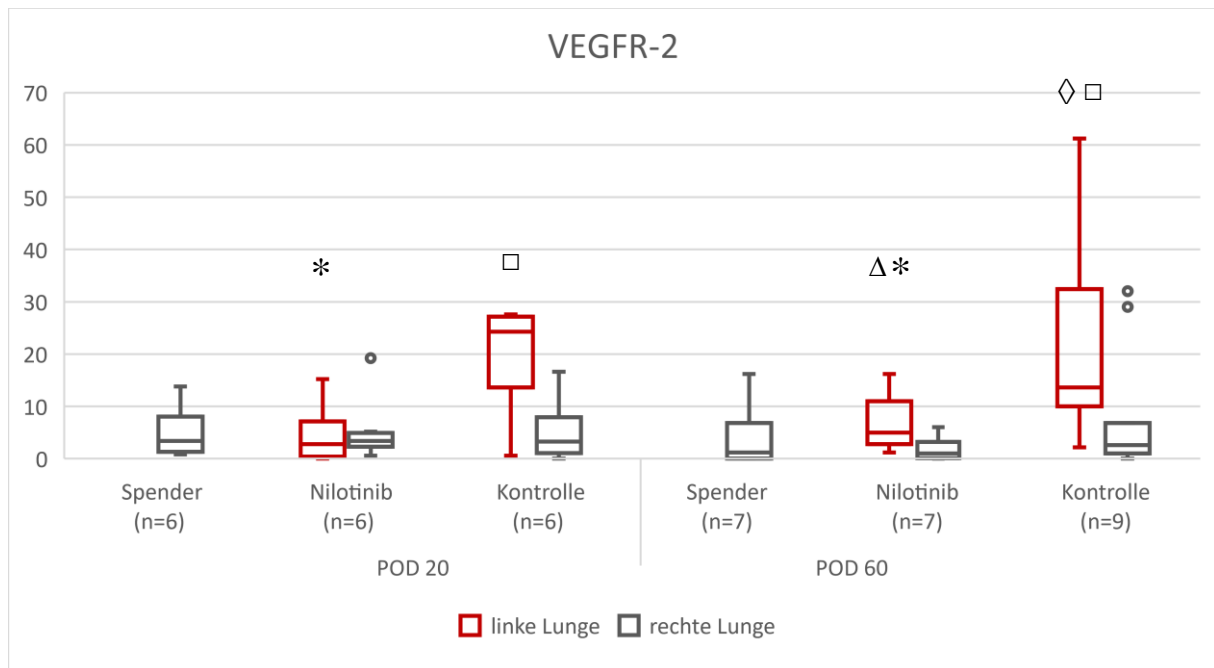


Abbildung 3.12 Expression von VEGFR-2: Quantitative Auswertung

Gegenüberstellung der Anzahl VEGFR-2 exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

- * signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. der Kontrollgruppe, $p \leq 0,05$
- signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Kontrollgruppe, $p \leq 0,05$
- Δ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Nilotinibgruppe, $p \leq 0,05$
- ◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,01$

Auswertung der Intensität

Die Auswertung der Farbintensität von VEGFR-2 exprimierenden Zellen zum POD 20 ergab für alle Zelltypen ausgenommen Alveolarmakrophagen eine stärkere Anfärbung in der Kontrollgruppe gegenüber der Spender- und Nilotinibgruppe. Dabei waren die Färbungen in der Spendergruppe und Nilotinibgruppe für fast alle Zelltypen gleichwertig ausgeprägt.

Für das Bronchialepithel sowie Pneumozyten Typ II zeigte sich in der Spender- und Nilotinibgruppe eine schwache Färbung, dagegen fiel die Färbung in der Kontrollgruppe moderat aus. Sowohl Pneumozyten Typ I als auch metaplastische Zellen wiesen keine Anfärbung in der Spender- und Nilotinibgruppe gegenüber einer schwachen Färbung in der Kontrollgruppe auf. Interstitielle Zellen und andere mononukleäre Zellen zeigten keine

Anfärbung in der Spender- und Nilotinibgruppe, während die Färbung in der Kontrollgruppe moderat ausfiel. Das Gefäßendothel war in der Spendergruppe nicht angefärbt, dagegen zeigte sich in der Nilotinibgruppe eine schwache sowie in der Kontrollgruppe eine starke Färbung. Alveolarmakrophagen wiesen eine moderate Färbung in der Spendergruppe gegenüber einer schwachen Färbung in der Nilotinib- und Kontrollgruppe auf. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.9 zusammengefasst.

POD 20	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	+	-	+	-	-	++	-	-
Nilotinib	+	-	+	-	+	+	-	-
Kontrolle	++	+	++	++	+++	+	++	+

Tabelle 3.9 Expression von VEGFR-2: Intensitäten zum POD 20

Gegenüberstellung der Farbtintensität für VEGFR-2 zum POD 20 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

Zum POD 60 zeigte sich eine heterogene Expression von VEGFR-2 für die unterschiedlichen Zelltypen in allen drei Vergleichsgruppen.

Das Bronchialepithel wies eine moderate Färbung in der Spendergruppe auf, während die Färbung in der Nilotinibgruppe schwach und in der Kontrollgruppe stark ausfiel. Pneumozyten Typ I zeigten in der Spender- und Nilotinibgruppe keine Anfärbung gegenüber einer schwachen Färbung in der Kontrollgruppe. Sowohl Pneumozyten Typ II als auch Alveolarmakrophagen waren in der Spender- und Kontrollgruppe schwach angefärbt, dagegen lag in der Nilotinibgruppe keine Färbung vor. Für interstitielle Zellen und das Gefäßendothel fand sich keine Färbung in der Spendergruppe gegenüber einer schwachen Färbung in der Nilotinibgruppe und einer moderaten Färbung in der Kontrollgruppe. Andere mononukleäre Zellen sowie metaplastische Zellen wiesen in allen drei Gruppen gleichermaßen keine Färbung auf. Die beschriebenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.10 aufgelistet.

POD 60	BE	PZ I	PZ II	IZ	GE	AM	MNZ	MZ
Spender	++	-	+	-	-	+	-	-
Nilotinib	+	-	-	+	+	-	-	-
Kontrolle	+++	+	+	++	++	+	-	-

Tabelle 3.10 Expression von VEGFR-2: Intensitäten zum POD 60

Gegenüberstellung der Farbtintensität für VEGFR-2 zum POD 60 in den verschiedenen Zelltypen für Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe. Einteilung in vier Grade: - (keine Färbung), + (schwache Färbung), ++ (moderate Färbung), +++ (starke Färbung).

BE = Bronchialepithel, PZ I = Pneumozyten Typ I, PZ II = Pneumozyten Typ II, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

3.4 Oxidative Stress-Marker

Nachfolgend wird die Ausprägung der oxidativen Stress-Marker MPO, TGM-2, HO-1 und Eisen in den linken und rechten Empfängerlungen sowie den rechten Spenderlungen dargestellt. Es erfolgte die quantitative Beurteilung der Faktoren durch Bestimmung der Zellzahl in jeweils fünf Gesichtsfeldern pro Marker und Lunge.

3.4.1 MPO

Die Expression von MPO zum POD 20 fiel in den linken Lungen der Nilotinib- und Kontrollgruppe wesentlich stärker gegenüber den Spenderlungen aus. Dabei war sowohl in der Nilotinibgruppe als auch der Kontrollgruppe die Expression von MPO jeweils in den linken Lungen deutlicher als in den rechten Lungen ausgeprägt.

Die rechten Spenderlungen zeigten im Median 1,2 (1. Quartile 0,4; 3. Quartile 3,4) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Demgegenüber fiel die Expression von MPO in den linken Lungen der Nilotinibgruppe mit 29,1 (1. Quartile 15,6; 3. Quartile 33,2) Zellen deutlich stärker aus. Diese erwies sich gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,001$) als hochsignifikant sowie gegenüber den rechten Lungen der Nilotinibgruppe mit 4,6 (1. Quartile 1,7; 3. Quartile 14,7) Zellen ($p \leq 0,05$) als signifikant erhöht. Vergleichbar fanden sich in den linken Lungen der

Kontrollgruppe 31,7 (1. Quartile 25,9; 3. Quartile 41,3) MPO-positiven Zellen, welche sich ebenfalls gegen die Spenderlungen als hochsignifikant erhöht abgrenzten ($p \leq 0,001$). Gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe (Median 21,0; 1. Quartile 13,3; 3. Quartile 28,5) war die Expression von MPO in den linken Lungen der Kontrollgruppe mäßig, jedoch nicht signifikant gesteigert

Zum POD 60 wiesen die linken Lungen der Nilotinib- und Kontrollgruppe eine leicht gesteigerte Expression von MPO gegenüber den Spenderlungen auf. Sowohl in der Nilotinibgruppe als auch der Kontrollgruppe war die Zellzahl in den linken und rechten Lungen vergleichbar.

In den rechten Spenderlungen fanden sich im Median 6,4 (1. Quartile 3,4; 3. Quartile 8,7) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. In der Nilotinibgruppe zeigten sich leicht erhöhte Werte, die linken Lungen wiesen 10,7 (1. Quartile 2,4; 3. Quartile 17,6) Zellen sowie die rechten Lungen 11,8 (1. Quartile 5,3; 3. Quartile 14,3) Zellen auf. Vergleichbar war die Expression von MPO in der Kontrollgruppe ausgeprägt, hier waren 9,6 (1. Quartile 6,4; 3. Quartile 10,2) Zellen in den linken Lungen und 12,0 (1. Quartile 7,0; 3. Quartile 21,8) Zellen in den rechten Lungen angefärbt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede aufgezeigt werden.

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.13 graphisch dargestellt. Die Mediane der MPO exprimierenden Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

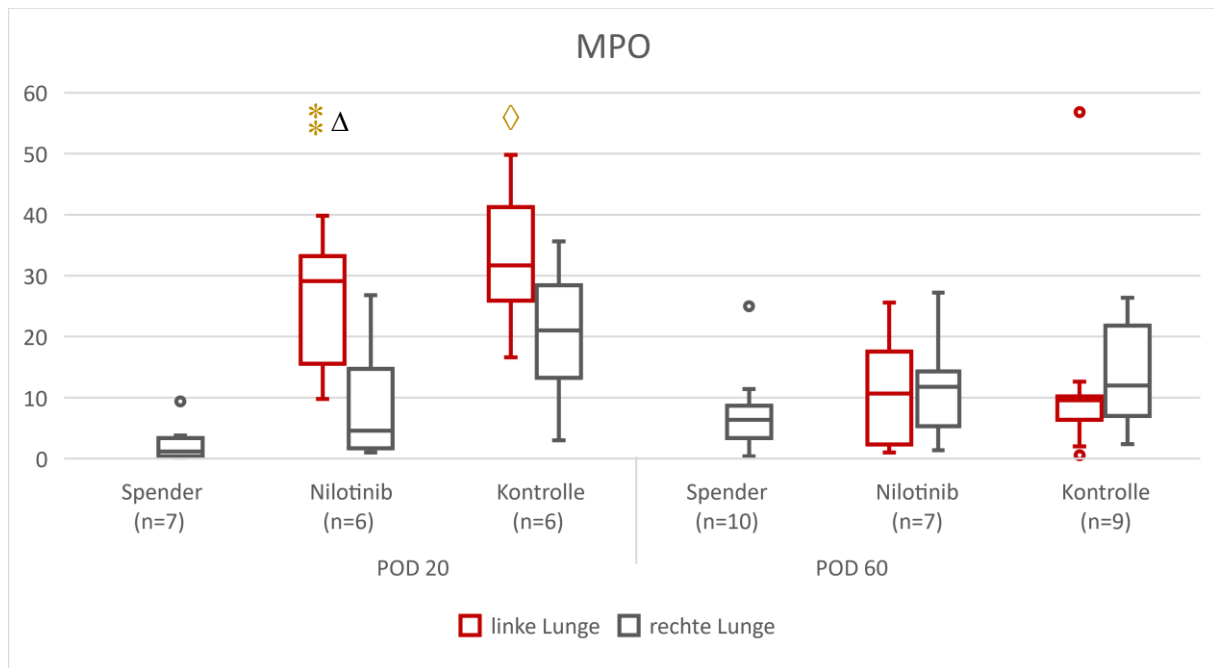


Abbildung 3.13 Expression von MPO

Gegenüberstellung der Anzahl MPO exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

* signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,001$

Δ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Nilotinibgruppe, $p \leq 0,05$

◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,001$

3.4.2 TGM-2

Während die Expression von TGM-2 zum POD 20 in den Spenderlungen beinahe nicht vorhanden war, fiel diese demgegenüber in den linken Lungen der Nilotinibgruppe signifikant erhöht aus. Ein noch deutlicherer Anstieg der TGM-2-Expression war in den linken Lungen der Kontrollgruppe zu sehen, dieser erwies sich sowohl gegenüber den Spenderlungen als auch den linken Lungen der Nilotinibgruppe als signifikant erhöht.

Die rechten Spenderlungen zeigten im Median 0,0 (1. Quartile 0,0; 3. Quartile 0,2) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Demgegenüber war die Anzahl in den linken Lungen der Nilotinibgruppe mit 2,0 (1. Quartile 1,4; 3. Quartile 4,9) TGM-2-positiven Zellen signifikant erhöht ($p \leq 0,01$). Vergleichbar fiel die Expression von TGM-2 in den jeweiligen rechten

Lungen der Nilotinibgruppe mit 1,0 (1. Quartile 0,4; 3. Quartile 6,7) Zellen aus. Dagegen erwies sich die Anzahl TGM-2-positiver Zellen in den linken Lungen der Kontrollgruppe mit 20,3 (1. Quartile 14,8; 3. Quartile 43,1) gegenüber den linken Lungen der Nilotinibgruppe als signifikant ($p \leq 0,05$) sowie gegenüber den Spenderlungen als hochsignifikant ($p \leq 0,001$) gesteigert. Gegenüber den zugehörigen rechten Lungen mit 5,0 (1. Quartile 2,8; 3. Quartile 10,0) Zellen fiel die Expression von TGM-2 in den linken Lungen der Kontrollgruppe ebenfalls deutlich stärker aus, war jedoch nicht signifikant erhöht.

Zum POD 60 war die Expression von TGM-2 in den Spenderlungen äußerst gering ausgeprägt, während diese in den linken Lungen der Nilotinib- und Kontrollgruppe massiv stärker ausfiel. Sowohl in der Nilotinibgruppe als auch der Kontrollgruppe wiesen jeweils die linken Lungen eine deutlich höhere Zellzahl als die zugehörigen rechten Lungen auf.

In den rechten Spenderlungen fanden sich im Median 1,2 (1. Quartile 0,3; 3. Quartile 2,3) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Die linken Lungen der Nilotinibgruppe zeigten 81,0 (1. Quartile 57,7; 3. Quartile 96,8) Zellen, hierbei erwies sich die Expression von TGM-2 als hochsignifikant erhöht gegenüber den rechten Spenderlungen ($p \leq 0,001$) sowie signifikant erhöht gegenüber den rechten Lungen der Nilotinibgruppe mit 7,0 (1. Quartile 5,3; 3. Quartile 10,0) Zellen ($p \leq 0,01$). In der Kontrollgruppe war die Expression von TGM-2 vergleichbar stark ausgeprägt wie in der Nilotinibgruppe. Die linken Lungen der Kontrollgruppe wiesen 71,6 (1. Quartile 66,2; 3. Quartile 76,6) angefärbte Zellen auf, diese Anzahl war sowohl gegenüber den rechten Spenderlungen ($p \leq 0,001$) als auch den rechten Lungen der Kontrollgruppe mit 14,4 (1. Quartile 3,0; 3. Quartile 27,8) Zellen hochsignifikant ($p \leq 0,001$) gesteigert.

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.14 graphisch dargestellt. Die Mediane der TGM-2 exprimierenden Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

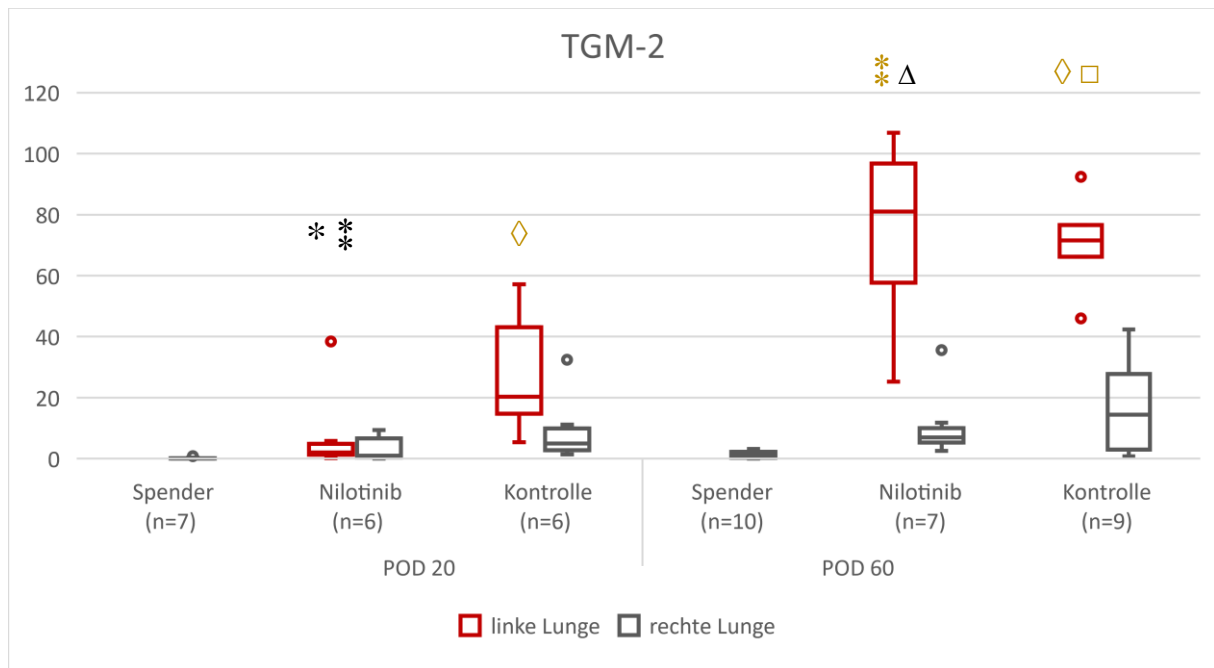


Abbildung 3.14 Expression von TGM-2

Gegenüberstellung der Anzahl TGM-2 exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

* signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. der Kontrollgruppe, $p \leq 0,05$

* signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,01$

◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,001$

* signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,001$

Δ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Nilotinibgruppe, $p \leq 0,01$

□ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Kontrollgruppe, $p \leq 0,001$

3.4.3 HO-1

Zum POD 20 zeigte sich eine geringe Expression von HO-1 in den Spenderlungen, während diese in den linken Lungen der Nilotinibgruppe mäßig sowie in den linken Lungen der Kontrollgruppe massiv stärker ausgeprägt war. Sowohl in der Nilotinibgruppe als auch der Kontrollgruppe wiesen jeweils die linken Lungen eine höhere Zellzahl als die zugehörigen rechten Lungen auf.

Die rechten Spenderlungen zeigten im Median 5,8 (1. Quartile 2,3; 3. Quartile 10,7) positive Zellen. Dagegen waren in den linken Lungen der Nilotinibgruppe 49,2 (1. Quartile 35,7; 3. Quartile 57,8) Zellen angefärbt, diese Expression erwies sich sowohl gegenüber den

Spenderlungen ($p \leq 0,01$) als auch gegenüber den rechten Lungen der Nilotinibgruppe mit 19,5 (1. Quartile 10,0; 3. Quartile 22,6) Zellen ($p \leq 0,01$) als signifikant erhöht. Noch deutlicher war die Expression von HO-1 in den linken Lungen der Kontrollgruppe ausgeprägt. Hier fand sich eine Anzahl von 65,7 (1. Quartile 46,2; 3. Quartile 77,0) Zellen, welche sich gegenüber den Spenderlungen als signifikant erhöht zeigte ($p \leq 0,01$). Ebenso fiel die Expression von HO-1 in den linken Lungen der Kontrollgruppe stärker als in den zugehörigen rechten Lungen mit 26,6 (1. Quartile 19,8; 3. Quartile 30,5) Zellen aus, war jedoch nicht signifikant gesteigert.

Zum POD 60 war die Expression von HO-1 in den Spenderlungen am geringsten ausgeprägt, während diese in den linken Lungen der Nilotinibgruppe etwas stärker sowie in den rechten Lungen der Nilotinibgruppe vergleichbar ausfiel. Dagegen wies die Kontrollgruppe deutlich erhöhte Zellzahlen sowohl gegenüber den Spenderlungen als auch gegenüber der Nilotinibgruppe auf. Die linken und rechten Lungen der Kontrollgruppe zeigten vergleichbare Werte.

In den rechten Spenderlungen fanden sich im Median 7,6 (1. Quartile 4,4; 3. Quartile 18,6) angefärbte Zellen. Eine geringgradig höhere Zellzahl wiesen die linken Lungen der Nilotinibgruppe mit 14,8 (1. Quartile 10,7; 3. Quartile 24,4) Zellen auf, die rechten Lungen der Nilotinibgruppe zeigten 7,4 (1. Quartile 3,9; 3. Quartile 20,8) Zellen. Deutlich stärker war die Expression von HO-1 in der Kontrollgruppe ausgeprägt. Die linken Lungen der Kontrollgruppe wiesen eine Anzahl von 54,0 (1. Quartile 44,6; 3. Quartile 64,0) positiven Zellen auf, welche sich gegenüber den linken Lungen der Nilotinibgruppe als signifikant ($p \leq 0,01$) sowie gegenüber den Spenderlungen als hochsignifikant ($p \leq 0,001$) erhöht abgrenzte. Vergleichbare Werte fanden sich in den rechten Lungen der Kontrollgruppe mit 57,6 (1. Quartile 47,8; 3. Quartile 70,4) Zellen.

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.15 graphisch dargestellt. Die Mediane der HO-1 exprimierenden Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

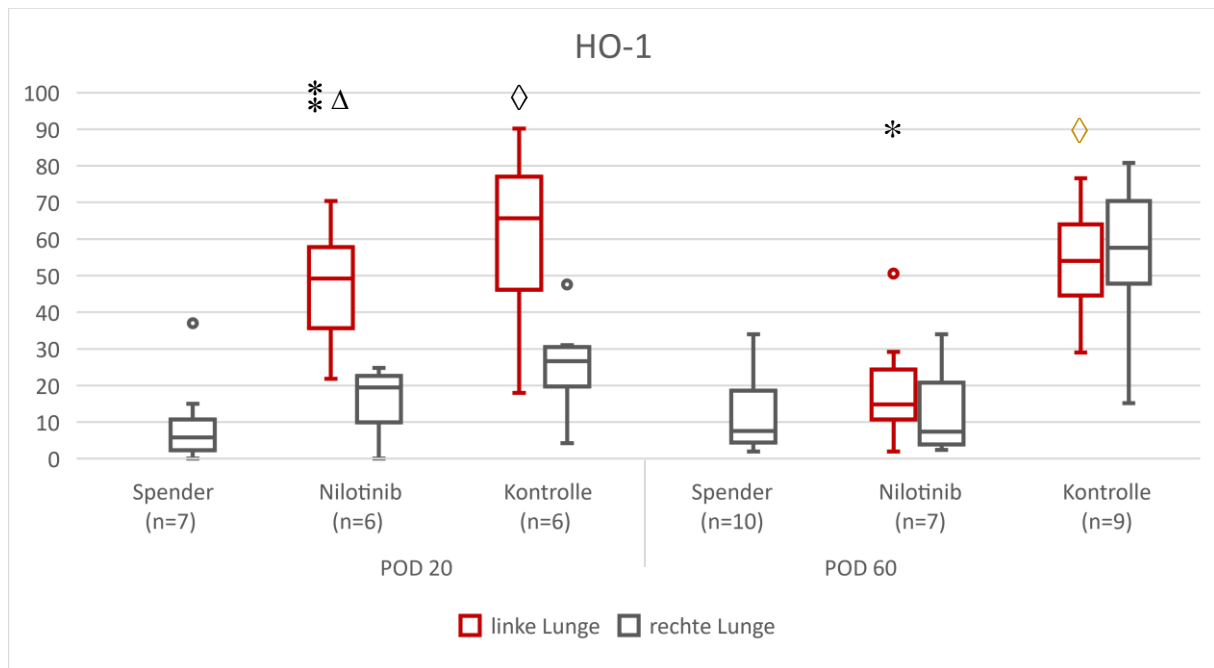


Abbildung 3.15 Expression von HO-1

Gegenüberstellung der Anzahl HO-1 exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

- * signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,01$
- Δ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Nilotinibgruppe, $p \leq 0,01$
- ◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,01$
- * signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. der Kontrollgruppe, $p \leq 0,01$
- ◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,001$

3.4.4 Eisen

Die Expression von Eisen zum POD 20 zeigte sich in den Spenderlungen äußerst gering ausgeprägt, demgegenüber fiel sie in der Nilotinib- und Kontrollgruppe deutlich stärker aus. In der Nilotinibgruppe wiesen die rechten Lungen eine erhöhte Anzahl Fe-positiver Zellen gegenüber den zugehörigen linken Lungen auf, in der Kontrollgruppe waren die Werte für linke und rechte Lungen vergleichbar.

Die rechten Spenderlungen zeigten im Median 0,2 (1. Quartile 0,2; 3 Quartile 0,6) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Demgegenüber fanden sich hochsignifikant erhöhte Werte ($p \leq 0,001$) in den linken Lungen der Nilotinibgruppe mit 11,0 (1. Quartile 9,3; 3 Quartile 11,7)

Zellen. Noch stärker, jedoch nicht signifikant erhöht gegenüber den jeweiligen linken Lungen, war die Expression von Eisen in den rechten Lungen der Nilotinibgruppe ausgeprägt, hier fanden sich 14,6 (1. Quartile 11,0; 3 Quartile 26,8) Zellen. In der Kontrollgruppe fiel die Expression von Eisen in den linken und rechten Lungen vergleichbar aus. Die linken Lungen der Kontrollgruppe wiesen eine Anzahl von 9,4 (1. Quartile 5,9; 3 Quartile 15,5) Fe-positiven Zellen auf, diese erwies sich ebenfalls als hochsignifikant erhöht gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,001$). In den rechten Lungen der Kontrollgruppe fanden sich 9,2 (1. Quartile 0,8; 3 Quartile 22,1) angefärbte Zellen.

Zum POD 60 zeigte sich eine geringe Expression von Eisen in den Spenderlungen, während diese in den linken Lungen der Nilotinibgruppe sowie der Kontrollgruppe massiv stärker ausgeprägt war. Sowohl in der Nilotinibgruppe als auch der Kontrollgruppe wiesen jeweils die linken Lungen eine höhere Zellzahl als die zugehörigen rechten Lungen auf.

In den rechten Spenderlungen fanden sich im Median 0,2 (1. Quartile 0,0; 3 Quartile 0,9) angefärbte Zellen pro Gesichtsfeld. Die linken Lungen der Nilotinibgruppe zeigten eine deutlich stärkere Expression von Eisen mit 68,4 (1. Quartile 62,9; 3 Quartile 136,5) Zellen, welche sich gegenüber den Spenderlungen als hochsignifikant erhöht abgrenzte ($p \leq 0,001$). Ebenso wiesen die linken Lungen der Nilotinibgruppe stark erhöhte, jedoch nicht signifikante Werte gegenüber den zugehörigen rechten Lungen mit 47,8 (1. Quartile 37,9; 3 Quartile 72,5) Zellen auf. Am stärksten fiel die Expression von Eisen in den linken Lungen der Kontrollgruppe aus, hier fanden sich 110,6 (1. Quartile 109,4; 3 Quartile 170,4) Zellen. Diese Expression zeigte sich sowohl gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,001$) als auch gegenüber den rechten Lungen der Kontrollgruppe mit 18,2 (1. Quartile 6,2; 3 Quartile 49,4) positiven Zellen hochsignifikant erhöht ($p \leq 0,001$).

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.16 graphisch dargestellt. Die Mediane der Eisen exprimierenden Zellen von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

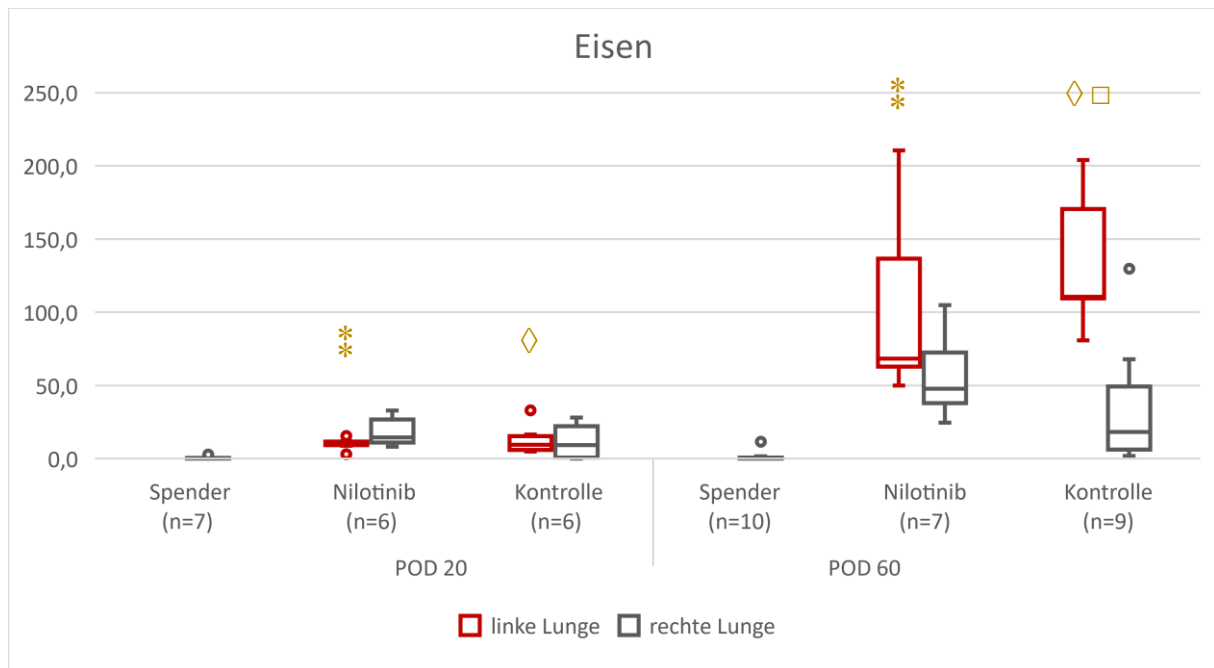


Abbildung 3.16 Expression von Eisen

Gegenüberstellung der Anzahl Eisen exprimierender Zellen für die linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

* signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,001$

◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,001$

□ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Kontrollgruppe, $p \leq 0,001$

3.5 Kollagen-Assay

Um den Grad der Fibrosierung in den transplantierten Lungen zu bestimmen, wurde neben der histologischen zusätzlich eine quantitative Beurteilung durchgeführt. Hierfür erfolgte die photometrische Bestimmung des Kollagengehalts in den einzelnen Lungen. Der Kollagengehalt wurde exemplarisch für fünf Spendertiere sowie jeweils vier Tiere der Nilotinib- und Kontrollgruppe zum POD 20 und POD 60 ermittelt. Die gewonnenen Ergebnisse werden nachfolgend beschrieben.

Die rechten Spenderlungen enthielten im Median $34,2 \mu\text{g}/\text{mg}$ (1. Quartile $33,1$; 3. Quartile $36,0$) Kollagen. Demgegenüber wiesen die linken Lungen aus Nilotinib- und Kontrollgruppe zum

POD 20 einen deutlich geringeren Anteil an Kollagen auf, während die linken Lungen aus Nilotinib- und Kontrollgruppe zum POD 60 einen massiven Anstieg des Kollagengehalts zeigten. In den rechten Lungen aus Nilotinib- und Kontrollgruppe fand sich zu beiden Zeitpunkten ein geringgradig verminderter Anteil an Kollagen gegenüber der Spendergruppe.

Zum POD 20 enthielten die linken Lungen der Nilotinibgruppe 9,9 µg/mg (1. Quartile 8,3; 3. Quartile 11,5) Kollagen. Dieser Kollagengehalt erwies sich als signifikant vermindert gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,05$) sowie den rechten Lungen der Nilotinibgruppe mit 22,4 µg/mg (1. Quartile 22,2; 3. Quartile 24,7) Kollagen ($p \leq 0,05$). Ebenso war der Gehalt in den linken Lungen der Kontrollgruppe mit 12,0 µg/mg (1. Quartile 11,3; 3. Quartile 16,3) Kollagen signifikant gegenüber den Spenderlungen vermindert ($p \leq 0,05$). Zudem wiesen die linken Lungen der Kontrollgruppe erniedrigte, jedoch nicht signifikante Werte gegenüber den zugehörigen rechten Lungen auf, diese enthielten 26,8 µg/mg (1. Quartile 25,6; 3. Quartile 27,4) Kollagen.

Dagegen zeigten die linken Lungen der Nilotinibgruppe zum POD 60 einen massiv gesteigerten Kollagenanteil mit 94,4 µg/mg (1. Quartile 73,4; 3. Quartile 116,2) Kollagen. Dieser war sowohl gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,05$) als auch den zugehörigen rechten Lungen mit 29,0 µg/mg (1. Quartile 26,9; 3. Quartile 31,4) Kollagen ($p \leq 0,05$) signifikant erhöht. Vergleichbare Werte wurden in der Kontrollgruppe ermittelt. Hier wiesen die linken Lungen einen Anteil von 90,0 µg/mg (1. Quartile 62,3; 3. Quartile 116,6) Kollagen auf, welcher sowohl gegenüber den Spenderlungen ($p \leq 0,05$) als auch den rechten Lungen der Kontrollgruppe mit 28,4 µg/mg (1. Quartile 26,7; 3. Quartile 30,7) Kollagen ($p \leq 0,05$) signifikant erhöht ausfiel.

Die oben beschriebenen Daten werden in Abbildung 3.17 graphisch dargestellt. Die Mediane des Kollagengehalts von linken und rechten Lungen aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe werden jeweils zum POD 20 und POD 60 gegenübergestellt.

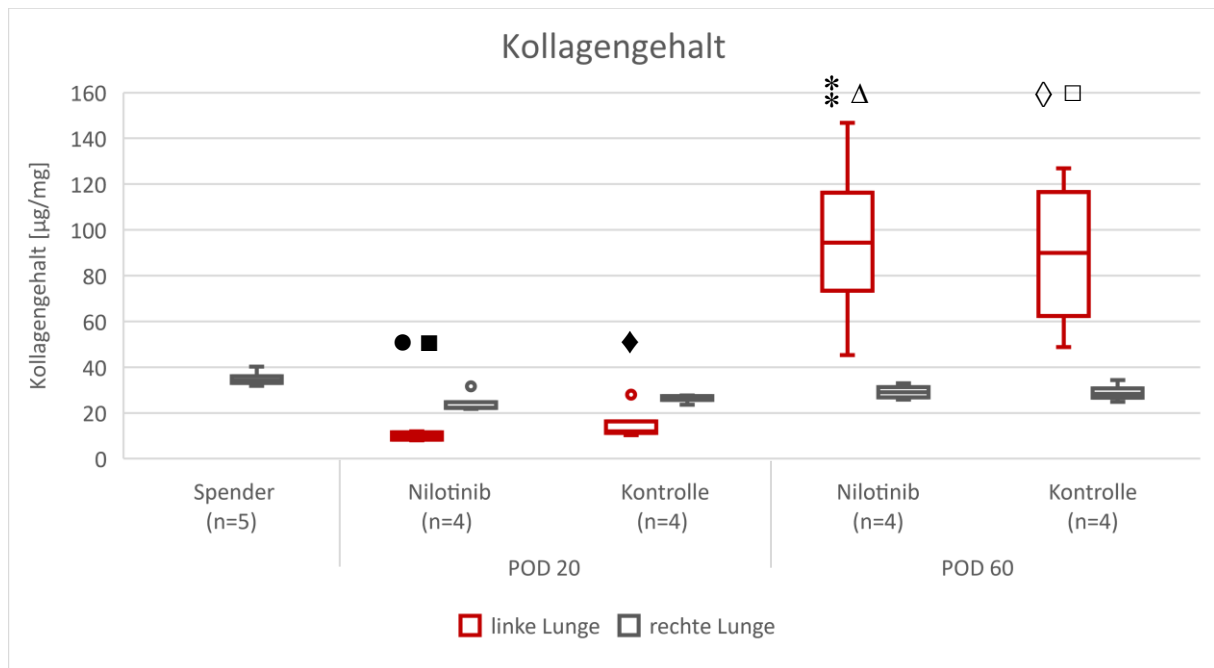


Abbildung 3.17 Kollagengehalt

Gegenüberstellung des Kollagengehalts [µg/mg] von linken Lungen (rot) und rechten Lungen (grau) aus Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe für POD 20 (linker Abschnitt) und POD 60 (rechter Abschnitt).

Die Daten werden als Median mit erster/dritter Quartile und Ausreißerpunkten angegeben.

- signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,05$
- signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Nilotinibgruppe, $p \leq 0,05$
- ◆ signifikant erniedrigte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,05$
- * signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Nilotinibgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,05$
- Δ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Nilotinibgruppe, $p \leq 0,05$
- ◇ signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen der Kontrollgruppe vs. den Spenderlungen, $p \leq 0,05$
- signifikant erhöhte Werte für die linken Lungen vs. den rechten Lungen in der Kontrollgruppe, $p \leq 0,05$

3.6 Übersicht signifikante Ergebnisse

Nachfolgend werden alle signifikanten Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten Auswertungen tabellarisch aufgeführt:

Wert	POD	Vergleichsgruppen	Signifikanz
ISHLT A	20	Nilotinib < Kontrolle	$p \leq 0,01$
ISHLT D	20	Nilotinib < Kontrolle	$p \leq 0,05$

Tabelle 3.11 Signifikante Ergebnisse konventionelle Histologie

Wert	POD	Vergleichsgruppen	Signifikanz
CD 117	60	linke Lg. Nilotinib < linke Lg. Kontrolle	$p \leq 0,01$
CD 117	60	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,05$
PDGF-AA	60	linke Lg. Nilotinib < linke Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$
PDGF-AA	60	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,05$
PDGFR-a	20	linke Lg. Kontrolle < Spender	$p \leq 0,05$
PDGFR-a	20	linke Lg. Kontrolle < linke Lg. Nilo	$p \leq 0,01$
PDGFR-a	20	linke Lg. Kontrolle < rechte Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$
PDGFR-a	60	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,01$
VEGF-A	20	linke Lg. Kontrolle < linke Lg. Nilotinib	$p \leq 0,05$
VEGF-A	60	linke Lg. Kontrolle > rechte Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$
VEGFR-2	20	linke Lg. Nilo < linke Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$
VEGFR-2	20	linke Lg. Kontrolle > rechte Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$
VEGFR-2	60	linke Lg. Nilo < linke Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$
VEGFR-2	60	linke Lg. Nilo > rechte Lg. Nilo	$p \leq 0,05$
VEGFR-2	60	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,01$
VEGFR-2	60	linke Lg. Kontrolle > rechte Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$

Tabelle 3.12 Signifikante Ergebnisse Wachstumsfaktoren

Lg. = Lunge

Wert	POD	Vergleichsgruppen	Signifikanz
MPO	20	linke Lg. Nilotinib > Spender	$p \leq 0,001$
MPO	20	linke Lg. Nilotinib > rechte Lg. Nilotinib	$p \leq 0,05$
MPO	20	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,001$
TGM-2	20	linke Lg. Nilotinib < linke Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$
TGM-2	20	linke Lg. Nilotinib > Spender	$p \leq 0,01$
TGM-2	20	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,001$
TGM-2	60	linke Lg. Nilotinib > Spender	$p \leq 0,001$
TGM-2	60	linke Lg. Nilotinib > rechte Lg. Nilotinib	$p \leq 0,01$
TGM-2	60	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,001$
TGM-2	60	linke Lg. Kontrolle > rechte Lg. Kontrolle	$p \leq 0,001$
HO-1	20	linke Lg. Nilotinib > Spender	$p \leq 0,01$
HO-1	20	linke Lg. Nilotinib > rechte Lg. Nilotinib	$p \leq 0,01$
HO-1	20	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,01$
HO-1	60	linke Lg. Nilotinib < linke Lg. Kontrolle	$p \leq 0,01$
HO-1	60	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,001$
Eisen	20	linke Lg. Nilotinib > Spender	$p \leq 0,001$
Eisen	20	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,001$
Eisen	60	linke Lg. Nilotinib > Spender	$p \leq 0,001$
Eisen	60	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,001$
Eisen	60	linke Lg. Kontrolle > rechte Lg. Kontrolle	$p \leq 0,001$

Tabelle 3.13 Signifikante Ergebnisse oxidativer Stress

Lg. = Lunge

POD	Vergleichsgruppen	Signifikanz
20	linke Lg. Nilotinib < Spender	$p \leq 0,05$
20	linke Lg. Nilotinib < rechte Lg. Nilotinib	$p \leq 0,05$
20	linke Lg. Kontrolle < Spender	$p \leq 0,05$
60	linke Lg. Nilotinib > Spender	$p \leq 0,05$
60	linke Lg. Nilotinib > rechte Lg. Nilotinib	$p \leq 0,05$
60	linke Lg. Kontrolle > Spender	$p \leq 0,05$
60	linke Lg. Kontrolle > rechte Lg. Kontrolle	$p \leq 0,05$

Tabelle 3.14 Signifikante Ergebnisse Kollagengehalt

Lg. = Lunge

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Wirkung des RTK-Inhibitors Nilotinib auf die Verbesserung des Transplantatüberlebens nach LTx durch eine Reduktion der unkontrollierten Proliferation von Wachstumsfaktoren und oxidativen Stress-Markern im Langzeitverlauf. Die Untersuchung erfolgte anhand eines etablierten Rattenmodells, welches auf der unilateralen, linksseitigen, orthotopen Lungentransplantation basiert [49]. Es wurde die Kombination von schwach allogenen männlichen F344-Ratten als Spender und männlichen WKY-Ratten als Empfänger ausgewählt, welche mit der immungenetischen Situation bei humanen Organtransplantationen vergleichbar ist [49]. Analog der klinischen Situation entwickelten die in WKY-Ratten transplantierten Lungen der F344-Spendertiere zunächst eine akute, sowie in den folgenden Wochen eine chronische Transplantatabstoßung [49]. Zum POD 20 bzw. POD 60 erfolgte die Tötung der Tiere zur Entnahme und weiteren Präparation der Lungen.

Zur Beurteilung der akuten und chronischen Abstoßungsreaktion der Lungen wurde eine histologische Auswertung nach den modifizierten Kriterien der ISHLT [49] sowie die Ermittlung der Fibrosierung des interstitiellen Lungenparenchyms gemäß der modifizierten Ashcroft-Skala vorgenommen [54, 55]. Zusätzlich fand eine immunhistochemische Auswertung statt, bei der die Ausprägung der Wachstumsfaktoren PDGF-AA/PDGFR- α [28], VEGF-A/VEGFR-2 [20] und c-Kit [18] bezüglich Zellzahl und Intensität untersucht wurde. Hierbei wurden Marker zur Untersuchung herangezogen, die zurzeit in der Literatur als relevant für die Ausbildung einer chronischen Abstoßung angesehen werden. Außerdem wurde die Ausprägung der oxidativen Stress-Marker MPO [56], TGM-2 [38], HO-1 [43] und Eisen [57] anhand ihrer Zellzahl beurteilt, die eventuell auch eine Rolle bei der Ausbildung der chronischen Abstoßung spielen. Um den Grad der Fibrosierung in den transplantierten Lungen zu bestimmen, wurde neben der histologischen Beurteilung eine quantitative Auswertung durchgeführt. Hierfür erfolgte die photometrische Bestimmung des Kollagengehalts in den transplantierten Lungen [58].

Die Ergebnisse der konventionellen Histologie zeigten eine signifikante Reduktion der akuten vaskulären Abstoßung zum POD 20 in der Nilotinibgruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Dagegen konnte unter der Therapie mit Nilotinib kein Einfluss auf die akute Abstoßung bronchialer Strukturen oder die beginnende Fibrosierung des interstitiellen Parenchyms

festgestellt werden. Ebenso wiesen die Lungen beider Gruppen zum POD 20 bereits erste Anzeichen einer chronischen Abstoßung auf. Hier erzielte die Therapie mit Nilotinib analog zur Reduktion der akuten vaskulären Abstoßung eine signifikant verminderte chronische Abstoßung der vaskulären Strukturen gegenüber der Kontrollgruppe. Auf die chronische Abstoßung der Bronchiolen sowie des interstitiellen Lungenparenchyms konnte zum POD 20 keine Wirkung erzielt werden. Trotz des initial positiven Effekts auf die akute und chronische vaskuläre Abstoßung konnte zum POD 60 die Progression einer chronischen Transplantatabstoßung weder verhindert noch verzögert werden. Sowohl die chronische Abstoßung von vaskulären und bronchialen Strukturen als auch die Fibrosierung des interstitiellen Parenchyms fielen in Nilotinib- und Kontrollgruppe vergleichbar aus. Es zeigte sich ausnahmslos das Bild einer kompletten chronischen Transplantatabstoßung. In Übereinstimmung mit der histologischen Auswertung ergab die Durchführung des Kollagen-Assays zum POD 60 wie erwartet eine signifikante Steigerung des Kollagengehalts in den linken Lungen der Nilotinib- und Kontrollgruppe gegenüber den nicht transplantierten Spenderlungen, während sich zwischen den behandelten Lungen der Nilotinibgruppe und den unbehandelten Lungen der Kontrollgruppe keine Unterschiede abzeichneten.

Entgegen der letztlich unveränderten Histopathologie konnte unter der Therapie mit Nilotinib dennoch eine signifikant reduzierte Expression der Wachstumsfaktoren CD117, PDGF-AA und VEGFR-2 im Langzeitverlauf gegenüber der Kontrollgruppe erreicht werden. Eine insignifikante Reduktion wurde für PDGFR- α und VEGF-A zum POD 60 ermittelt. Zudem zeigte sich eine signifikante Reduktion der oxidativen Stress-Marker TGM-2 zum POD 20 und HO-1 zum POD 60 unter der Therapie mit Nilotinib im Vergleich zur Kontrollgruppe. Für Eisen konnte zum POD 60 eine insignifikante Reduktion in der Nilotinibgruppe gegenüber der Kontrollgruppe ermittelt werden. Nachfolgend sollen nun die in diesem Absatz zusammengefassten Ergebnisse wissenschaftlich eingeordnet werden.

Oben beschriebene Ergebnisse konnten anhand eines in der eigenen Arbeitsgruppe bereits mehrfach angewandten Tiermodells gewonnen werden, welches auf der unilateralen, linksseitigen, orthotopen Lungentransplantation beruht [24, 49, 53]. Daneben sind bereits verschiedenste Tiermodelle zur Untersuchung der BO bekannt, hierunter beispielsweise die heterotope Trachealspangentransplantation, die orthotope Tracheatransplantation oder auch die orthotope Lungentransplantation bei großen Säugetieren [48].

Viele Studien haben sich aufgrund klarer Vorteile bislang des Trachealspangenmodells bedient. Es basiert auf einer einfachen operativen Technik, bei der eine Trachealspange in das subcutane Fettgewebe oder einen Omentumlappen implantiert wird; zudem bietet dieses Modell eine gute Reproduzierbarkeit und ist kostengünstig umzusetzen [48]. Es bestehen jedoch gravierende Nachteile, welche die Beurteilbarkeit einer Abstoßungsreaktion stark beeinträchtigen: initial liegt eine lange Ischämiezeit der transplantierten Trachealspange vor, zudem mangelt es an physiologischer Perfusion und Ventilation [48]. Demgegenüber wird im Modell der orthotopen Tracheatransplantation eine physiologische Ventilation gewährleistet, während letztendlich nur die Untersuchung der großen Atemwege möglich ist. Jedoch unterscheiden sich diese in Aufbau und Funktion deutlich von den kleinsten Atemwegen, welche im Rahmen der BO fibroproliferativen Prozessen unterliegen, sodass hierin die größte Limitation dieses Modells liegt [48]. Ähnlich zu dem in dieser Arbeit durchgeführten Tierversuch besteht prinzipiell die Möglichkeit, eine orthotope Lungentransplantation bei großen Säugetieren durchzuführen. Führender Vorteil dieser Technik ist die anatomische und physiologische Vergleichbarkeit zur LTx am Menschen [48]. Jedoch stehen hierfür meist keine Inzuchttiere zur Verfügung, sodass eine kontrollierte immungenetische Basis kaum geschaffen werden kann [48]. Dies führt zu einer mangelnden Reproduzierbarkeit, zudem ist die Durchführung eines solchen Tierversuchs aufgrund der Unterbringung und Versorgung der Tiere deutlich aufwendiger [48].

Aufgrund dessen wurde als Grundlage der vorliegenden Arbeit ein Tierversuch mittels orthotoper LTx der Ratte als das am besten geeignete Modell zur Beurteilung der akuten und chronischen Abstoßung gewählt. Dieses Modell der orthotopen, unilateralen LTx der Ratte wurde erstmals 1995 von Matsumara et al. etabliert [72]. Die Wahl der Rattenstämme basierte auf ihrer schwach allogenen Differenz ihrer MHC-1-Komplexe, welche mit der immungenetischen Situation bei humanen Organtransplantationen vergleichbar ist [49]. Während Tiere mit kompletter MHC-1-Inkompatibilität ohne Immunsuppression nach LTx bereits nach wenigen Tagen eine akute Abstoßung mit nachfolgender Nekrose entwickeln, ermöglicht die vorliegende MHC-1-Kombination ebenfalls eine Beurteilung chronischer Veränderungen bei etwas abgeschwächter akuter Abstoßung [48, 49, 72]. Zudem entspricht das Vorgehen der Transplantation dem operativen Prozedere am Menschen und bildet nachfolgend physiologische Bedingungen bezüglich der Perfusion und Ventilation ab. Abschließend ist durch die Tötung der Tiere mit Entnahme der Lunge in toto eine ausführliche Beurteilung des

gesamten Gewebes möglich. Dennoch weist auch dieses Modell einige Nachteile auf. Aufgrund der anspruchsvollen Operationstechnik ist eine Beeinflussung des Outcomes je nach chirurgischer Erfahrung des Operateurs möglich, was sich beispielsweise im Auftreten von Anastomosenstenosen oder -insuffizienzen mit hierdurch bedingter Einwanderung von Entzündungszellen zeigt [48, 73]. Zudem kann die Vergleichbarkeit verschiedener Studien durch unterschiedliche chirurgische Expertise erschwert werden. Des Weiteren erbrachte beispielsweise die Arbeitsgruppe von Grau et al. [73] unter Anwendung desselben Modells deutlich variable Ergebnisse: während einige Tiere nach LTx zwar eine akute Abstoßung entwickelten, die jedoch spontan sistierte und ohne histopathologische Veränderungen blieb, kam es bei dem anderen Teil der Tiere nach akuter Abstoßung zur Ausbildung von massiven Atelektasen mit letztlich Minderbelüftung und Funktionsverlust des Transplantats. Dennoch scheint unter Zusammenschau der beschriebenen Vor- und Nachteile das Modell der unilateralen LTx aktuell die umfassendste Beurteilung der akuten und chronischen Abstoßung zu ermöglichen.

In der durchgeführten Versuchsreihe erhielten die Tiere der Medikamentengruppe täglich Nilotinib in einer Dosierung von 20mg/kg KG ab dem Tag der Transplantation. Die Dosierung orientierte sich an der vorangegangenen Arbeit von Shaker et al. mit Nilotinib in einem Leberfibrose-Modell der Ratte [50]. Die Medikamentengabe erfolgte bereits ab dem POD 0, um initial einer akuten Abstoßung entgegenzuwirken, welche als wichtigster Risikofaktor für die Ausbildung einer chronischen Transplantatabstoßung gilt [5, 16, 74]. In einer Studie der eigenen Arbeitsgruppe sowie der Arbeit von Hirt et al. konnte gezeigt werden, dass bei verzögertem Therapiebeginn im Tiermodell zwar noch eine Verminderung der akuten Abstoßung erzielt wurde, jedoch die bereits bestehende Inflammation persistierte und zur Entstehung der chronischen Abstoßung beitrug [49, 52]. Klinisch stellt die akute Abstoßung eine häufige Komplikation im ersten Jahr nach LTx dar [74]. Nach erfolgreicher Transplantation wird zunächst eine immunsuppressive Induktionstherapie eingeleitet, im Anschluss erfolgt in der Regel die Aufrechterhaltung der Immunsuppression mittels einer Dreifachkombination bestehend aus einem Calcineurininhibitor, Zellzyklusinhibitor und Kortikosteroiden [14]. Das Auftreten einer akuten Abstoßung nach LTx wird zusätzlich mittels Gabe von Kortikosteroid-Boli behandelt, histologischer Grenzwert hierfür ist die Feststellung einer mindestens mild ausgeprägten akuten Abstoßung (Grad A2). Der diagnostische

Goldstandard liegt dabei in der Durchführung einer transbronchialen Lungenbiopsie, welche allerdings bedingt durch das uneinheitliche Auftreten der histologischen Veränderungen sowie nur kleiner Gewebeentnahmen die Diagnose nicht immer bestätigen kann. Zudem bleibt die akute Abstoßung meist initial klinisch inapparent, was erschwerend hinzukommt [74]. Einige Studien weisen jedoch darauf hin, dass bereits eine leichte akute Abstoßung (Grad A1) ohne klinische Symptomatik das Risiko für die Entstehung einer chronischen Abstoßung erhöht [5, 74].

Die Entwicklung der chronischen Transplantatabstoßung zeichnet sich histologisch gesehen vordergründig durch eine zunehmende Fibrosierung der Bronchiolen (BO) und vaskulären Strukturen aus, zudem zeigt sich das interstitielle Lungenparenchym von narbigen Veränderungen betroffen. Klinisches Korrelat der BO ist das BOS, welches in einer Reduktion der pulmonalen Funktion einhergehend mit Symptomen wie Dyspnoe und Husten resultiert [5, 74]. Die histologische Diagnose der BO ist schwierig zu erheben, aufgrund der Entnahme nur kleiner Gewebeproben sind die heterogen auftretenden histologischen Veränderungen in der transbronchialen Lungenbiopsie oft nicht nachweisbar [5]. Diese Problematik wurde ebenso bereits für die Diagnostik der akuten Abstoßung beschrieben. Die aktuelle therapeutische Strategie bei Vorliegen einer chronischen Transplantatabstoßung liegt in einer individuellen Anpassung der bestehenden Immunsuppression oder einer Dosissteigerung derselben, dieser Ansatz konnte jedoch bislang die Progression der CLAD nicht verhindern [5]. Obwohl weitere Risikofaktoren für die schlechte Prognose nach LTx bekannt sind, darunter beispielsweise virale Infektionen der Atemwege, gastroösophagealer Reflux oder eine primäre Transplantatdysfunktion, ist dennoch die chronische Transplantatabstoßung führende Ursache für die verminderte Lebensqualität und Mortalität im Langzeitverlauf nach LTx [5, 74]. Nach Diagnosestellung einer chronischen Transplantatabstoßung liegt das mediane Überleben bei nur drei Jahren [74].

Daher werden dringend neue therapeutische Optionen benötigt, um die Entwicklung der CLAD präventiv zu verhindern oder ihre Progression zu verzögern. Aufgrund dessen wurde in dieser Arbeit der Einsatz von Nilotinib im Rahmen einer Monotherapie untersucht. Nilotinib ist ein RTK-Inhibitor der zweiten Generation, welcher als Nachfolger des RTK-Inhibitors Imatinib konzipiert wurde [17]. In einer Studie der eigenen Arbeitsgruppe konnte durch die Behandlung mit Imatinib bereits ein geringgradiger positiver Effekt auf die Ausbildung der CLAD im

Rattenmodell erzielt werden [13]. Im klinischen Alltag findet Imatinib Anwendung in der Therapie der Philadelphia-Chromosom-positiven CML [17, 18]. Vor allem in den späten Phasen der CML treten jedoch zunehmend Imatinib-Resistenzen auf, weshalb Nilotinib als mögliche Alternative entwickelt wurde [12]. In präklinischen Studien zur CML zeigte Nilotinib eine potentere Wirkung als Imatinib, im Tierversuch konnte eine gute orale Verfügbarkeit sowie Verträglichkeit nachgewiesen werden [18, 19, 75]. Nilotinib inhibiert die Tyrosinkinase-Aktivität von PDGFR, VEGFR und c-kit mit antiproliferativem Effekt [17, 18, 20, 75]. Nach LTx führen inflammatorische Prozesse und eine gesteigerte Immunreaktion initial zu unkontrollierten Reparaturmechanismen in den transplantierten Lungen [22]. Die Folge ist eine gesteigerte Stimulation von Wachstumsfaktoren, die eine Schlüsselrolle im Pathomechanismus der CLAD einzunehmen scheinen [10].

PDGF-AA zeigt vor allem fibroproliferativen Effekt in der Entwicklung der CLAD und wirkt als Mitogen für die glatte Muskulatur und Fibroblasten. Bei Patienten mit histologisch gesicherter Diagnose einer BO konnten gesteigerte Levels an PDGF in der bronchioalveolären Lavage nachgewiesen werden [76]. In einem Tiermodell der Ratte führte die intratracheale Injektion von PDGF zu peribronchiolärer und perivaskulärer Fibrosierung [77]. Die Arbeitsgruppe unter Kallio et al. konnte in einem Trachealspangenmodell der Ratte eine gesteigerte Expression von PDGF-AA und PDGFR- β in nicht medikamentös behandelten Transplantaten feststellen, welche mit der Zerstörung des respiratorischen Epithels und der Okklusion von Atemwegen einherging. Die Behandlung mit einem RTK-Inhibitor zeigte in dieser Studie eine signifikante Reduktion der Fibroproliferation und bronchialen Obliteration gegenüber der Kontrollgruppe. Auf die Einwanderung von Entzündungszellen wurde kein positiver Effekt erzielt [30]. In einem Modell der Bleomycin-induzierten dermalen Fibrose der Maus konnte die Behandlung mit Nilotinib durch die Inhibition von PDGFR die Anzahl der Fibroblasten sowie den Kollagengehalt der Haut nennenswert reduzieren und damit die Ausbildung einer Fibrosierung verhindern [78].

In der eigenen Studie wurde im Langzeitverlauf nach LTx durch die Gabe von Nilotinib eine signifikante Reduktion von PDGF-AA sowie eine insignifikante Reduktion von PDGFR- α gegenüber der nichtbehandelten Kontrollgruppe erzielt. Die Auswertung der Intensitäten zeigte hierbei eine deutlich schwächere Anfärbung (Differenz ≥ 2 Grade) für PDGF-AA in mit Nilotinib behandeltem Bronchialepithel und Pneumozyten Typ II, welche mit der jeweiligen

Färbeintensität in den Spenderlungen vergleichbar war. Die reduzierte Expression von PDGFR- α war in der gering ausgeprägten Anfärbung von Bronchialepithel und Alveolarmakrophagen sichtbar, hier fiel die Färbeintensität in der Nilotinibgruppe äquivalent zu derjenigen in der Spendergruppe aus. Initial wiesen die mit Nilotinib behandelten Lungen zunächst keine reduzierten Spiegel an PDGF-AA oder PDGFR- α auf. Hingegen fiel zum POD 20 die Expression von PDGFR- α in den transplantierten Lungen der Nilotinibgruppe sogar signifikant erhöht gegenüber der Kontrollgruppe aus. Erst im weiteren Verlauf konnte die Expression von PDGFR- α unter der Therapie mit Nilotinib inhibiert werden, diese erwies sich gegenüber der Kontrollgruppe zuletzt als insignifikant reduziert. Ähnliche Ergebnisse erbrachte die Arbeitsgruppe unter Savikko et. al. anhand eines Rattenmodells, welches die Wirkung des RTK-Inhibitors Imatinib auf die Expression von PDGF und PDGFR nach Nieren-Transplantation untersuchte [79]. Hier verursachte die Therapie mit Imatinib initial eine vermehrte Induktion von PDGFR, welche erst zu späterem Zeitpunkt signifikant reduziert werden konnte [79]. In einer vorangegangenen Studie der eigenen Arbeitsgruppe bewirkte die Gabe des RTK-Inhibitors Nintedanib zum POD 20 zunächst keinerlei Veränderung der Expression von PDGF und PDGFR, jedoch fiel diese im weiteren Verlauf zum POD 60 gegenüber der nicht behandelten Kontrollgruppe signifikant reduziert aus [80]. Dennoch zeigte die endgültige histopathologische Auswertung nach Nintedanib-Gabe keinerlei Effekt auf die akute oder chronische Transplantatabstoßung [80]. Ebenso konnten in der eigenen Studie trotz des im Langzeitverlauf positiven Effekts von Nilotinib auf die Expression von PDGF-AA und PDGFR- α zunehmende bronchioläre Veränderungen sowie die Fibrosierung der Lungentransplantate weder verhindert noch verzögert werden.

Hierfür kann zum einen die erst späte Reduktion der PDGF-AA und PDGFR- α Levels verantwortlich sein, wobei die bestehende chronische Inflammation des Gewebes einen immer wiederkehrenden Stimulus für die Proliferation der Wachstumsfaktoren bietet und so mit der Medikamentenwirkung konkurriert. Zum anderen spielen viele weitere Mediatoren wie z.B. TGF- α (Transforming-Growth-Factor α), EGF (Epithelial-Growth-Factor) und FGF (Fibroblast-Growth-Factor) eine wichtige Rolle in der Entwicklung fibroproliferativer Veränderungen [10, 81]. Untersuchungen konnten bei Patienten mit pulmonaler Fibrose neben erhöhten PDGF-Levels auch eine gesteigerte Ausschüttung von TGF- α feststellen, zudem zeigten sich in Tiermodellen der Bleomycin-induzierten Fibrose ebenfalls höhere Spiegel an EGF und TGF- α [81]. Möglicherweise kommt diesen Faktoren gegenüber PDGF-AA/PDGFR-

α eine übergeordnete Relevanz zu, sodass die lediglich punktuelle Unterbrechung der Signalkaskade durch Nilotinib keinen antifibrotischen Effekt entfaltet. Denkbar wäre weiterhin bei Blockade von PDGF-AA/PDGFR- α eine kompensatorisch vermehrte Ausschüttung dieser anderen Faktoren mit ihrerseits Anregung von Fibroblasten, da der zugrunde liegende Stimulus der Inflammation durch die Medikamentengabe nicht durchbrochen wird. Letztlich scheint diese begrenzte Wirkung von Nilotinib nicht auszureichen, um eine antifibrotische Wirkung zu erzielen.

Demgegenüber konnte die Behandlung mit Nilotinib einen signifikanten Effekt auf die akute sowie beginnende chronische Abstoßung vaskulärer Strukturen bewirken. Diese waren zum POD 20 in der Nilotinibgruppe signifikant geringer gegenüber der Kontrollgruppe ausgeprägt. Eine zentrale Rolle nehmen hierbei der Wachstumsfaktor VEGF-A und sein zugehöriger Rezeptor VEGFR-2 ein, welche die Gefäßbildung, endotheliale Proliferation und Zellmigration sowie die Gefäßpermeabilität regulieren [32, 82]. Die Expression von VEGF-A und VEGFR-2 wird unter anderem durch Stimuli wie Hypoxie oder eine Zunahme reaktiver Sauerstoffspezies angeregt [31, 82]. In der Entwicklung der CLAD zeigen sich erhöhte Level an VEGF und VEGFR, welche die frühe Okklusion von Gefäßen mit nachfolgender lokaler Ischämie, gesteigerter Gefäßpermeabilität und Einwanderung von Entzündungszellen fördern [10, 13]. Die Arbeitsgruppe unter Tikkanen et. al. zeigte anhand eines Trachealspangenmodells der Ratte einen bereits frühen Anstieg der Expression von VEGF und VEGFR, welche vorwiegend im Gefäßendothel vorlag [10]. Dabei konnte die Behandlung mit einem RTK-Inhibitor keinen positiven Effekt auf die frühe Steigerung der Expression erzielen, dennoch zeigte sich langfristig eine signifikante Reduktion fibroproliferativer Veränderungen [10].

In der eigenen Arbeit konnte mittels der Gabe von Nilotinib eine signifikante Reduktion von VEGFR-2 sowohl zum POD 20 als auch zum POD 60 erreicht werden. Hierbei fiel die Expression von VEGFR-2 zum POD 20 in der Nilotinibgruppe äquivalent zur Spendergruppe aus, zum POD 60 zeigte sich ein leichter Anstieg gegenüber der Spendergruppe. Gegenüber der Kontrollgruppe wiesen vor allem Gefäßendothel, interstitielle Zellen und andere mononukleäre Zellen eine deutlich verminderte Färbintensität auf. Unerwartet verlief die Expression von VEGF-A, welche zum POD 20 zunächst signifikant erhöht in der Nilotinibgruppe gegenüber der Kontrollgruppe ausfiel. Erst im weiteren Verlauf konnte die Expression von VEGF-A durch die Behandlung mit Nilotinib inhibiert werden und zeigte sich letztlich insignifikant vermindert

gegenüber der nichtbehandelten Kontrollgruppe. Die Auswertung der Färbeintensitäten konnte keinen weiteren Aufschluss über die Beteiligung einzelner Zelltypen liefern, hier zeigten sich keine aussagekräftigen Unterschiede zwischen Nilotinib- und Kontrollgruppe.

Hierbei kann die unterdrückte Expression von VEGFR-2 zum POD 20 durchaus auf die Medikamentenwirkung von Nilotinib zurückzuführen sein, sodass über die blockierte Signalkaskade eine Reduktion der akuten und frühen chronischen vaskulären Abstoßung erreicht wurde. Die jedoch gesteigerte Ausschüttung von VEGF-A zum POD 20 könnte als kompensatorische Überexpression verstanden werden, da der Wachstumsfaktor trotz Bindung an seinen Rezeptor keine entsprechende Wirkung bei Blockade der Tyrosinkinase-Aktivität entfaltet, sodass trotz der initial erhöhten VEGF-A-Level zunächst ein positiver Effekt erzielt wurde. Im Langzeitverlauf zeigten sich signifikant reduzierte Levels von VEGF-A sowie VEGFR-2, dennoch wurde die Progression der chronischen Abstoßung vaskulärer Strukturen weder verhindert noch verzögert. Möglicherweise ist jedoch die verminderte Expression der Wachstumsfaktoren zum POD 60 nur noch bedingt auf die Wirkung von Nilotinib zurückzuführen, da VEGFR-2 vorwiegend in Gefäßendothelzellen exprimiert wird [31]. Mit insgesamt Voranschreiten der Abstoßungsreaktion kommt es ebenfalls zu einer zunehmenden Destruktion des Gewebes, sodass hier die reduzierten VEGFR-2 Levels auch durch eine verminderte Anzahl intakter Gefäßendothelzellen zu erklären wäre.

Neben VEGF und VEGFR findet sich in Gefäßendothelzellen außerdem die Expression von CD117 [26]. CD117 nimmt unter anderem Einfluss auf Zellmigration und -proliferation, hierbei spielt vor allem die Regulation der Lymphozyten-Proliferation eine relevante Rolle [20, 25, 26]. Im Rahmen inflammatorischer Prozesse kommt es zu einer deutlich gesteigerten Expression des CD117-Liganden SCF (engl. stem-cell factor) [83]. Die Arbeitsgruppe unter Spaziano et al. fand in einem Tiermodell der Maus die Expression von CD117 vorwiegend in Endothelzellen der Lungengefäße sowie im Lungenparenchym [84]. Dabei schien CD117 involviert in die Ausbildung der Lungengefäße; Mäuse mit c-kit Mutationen zeigten eine abnormale Lungenarchitektur [84]. Mehrere Studien wiesen bereits einen positiven Effekt der RTK-Inhibitoren Imatinib und Nilotinib auf die Expression von CD117 in Zellkulturen nach, hier konnte eine Verminderung der CD117-Expression erreicht werden [85, 86].

In der eigenen Arbeit konnte zum POD 20 zunächst keine Reduktion der CD117-Expression durch die Gabe von Nilotinib erzielt werden, dagegen erwies sich der Spiegel an

CD117 zum POD 60 in der Nilotinibgruppe signifikant vermindert gegenüber der Kontrollgruppe. Die Auswertung der Intensitäten ergab sowohl zum POD 20 als auch zum POD 60 eine starke Anfärbung des Bronchialepithels in Spender-, Nilotinib- und Kontrollgruppe, hier konnten keine Differenzen festgestellt werden. Für Gefäßendothel und interstitielle Zellen fiel die Anfärbung in Nilotinib- und Kontrollgruppe dagegen zu beiden Zeitpunkten deutlich stärker gegenüber der Spendergruppe aus. Hieraus lässt sich vermuten, dass der initial positive Effekt von Nilotinib auf die akute vaskuläre Abstoßung vor allem auf die reduzierte Expression von VEGFR-2 zurückzuführen ist, da zum POD 20 weder die qualitative noch die quantitative Expression von CD117 beeinflusst werden konnte. Die erst späte Reduktion von CD117 zum POD 60 konnte keine positive Wirkung mehr erzielen, auch hier sind analog zur Expression von VEGFR-2 die verminderten CD117-Levels gegebenenfalls über die voranschreitende Gewebedestruktion mit Verlust von intaktem Gefäßendothel zu erklären.

Besonders unerwartete Ergebnisse erbrachte die Auswertung von sowohl Wachstumsfaktoren als auch oxidativen Stressmarkern in den Spenderlungen, welche anhand der Zuordnung zu den getöteten Empfängertieren in zum POD 20 und POD 60 zugehörige Gruppen unterteilt wurden. Entgegen der erwarteten vergleichbaren Expression der Marker in den Spendergruppen zeigten sich hier teilweise massive Unterschiede. Besonders eindrücklich fielen diese für PDGF-AA und TGM-2 aus, hier fanden sich Abweichungen um Faktoren > 20 zwischen den Spendergruppen. Für CD117, VEGFR-2 und MPO zeigten sich moderate Abweichungen um den Faktor zwei bis vier. Diese Auswertung zeigt eine relevante Schwäche der vorliegenden Studie auf, da die Expression von Wachstumsfaktoren sowie oxidativen Stressmarkern scheinbar trotz möglichst konstanten äußeren Bedingungen stark variabel ist. Durch unterschiedliche Startlevels der ausgewerteten Marker ist auch die Veränderung im Verlauf nur bedingt aussagekräftig. Hierbei bleibt zu prüfen, wie die festgestellten Abweichungen zukünftig reduziert werden können. Gegebenenfalls könnten Störvariablen mittels Durchführung des gesamten Tierversuchs in einem kürzeren Zeitraum sowie Bezug der Versuchstiere aus einer einzigen Charge minimiert werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit fielen zu Beginn deutliche Gewichtsunterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf. Während die Tiere der Nilotinibgruppe POD 20 sowie der Nilotinib- und Kontrollgruppe POD 60 ein vergleichbares Startgewicht aufwiesen, war dieses in der Kontrollgruppe POD 20 um ca. 6% gegenüber allen anderen Gruppen reduziert. Hieraus können postoperativ weitere

Schwankungen resultieren. Ebenso ist auf gleichwertige Operationsbedingungen unter den Transplantationen zu achten, wie z.B. nur geringe Abweichungen der Operationszeiten oder vergleichbare Qualität bezüglich der OP-Technik; dem wurde im vorliegenden Projekt bereits Beachtung geschenkt.

Wie die unkontrollierte Proliferation von Wachstumsfaktoren ist ebenso das Ungleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien bei Vorliegen von oxidativem Stress ein typisches Kennzeichen inflammatorischer Prozesse [35]. Zu den oxidativen Stress Markern zählt unter anderem das Enzym MPO, welches von Neutrophilen ausgeschüttet wird [22, 35]. Bei akuter Inflammation kommt es vermehrt zur Infiltration des betroffenen Gewebes durch Neutrophile, welche über die Freisetzung von MPO zur Bildung von ROS beitragen [35, 87]. ROS stimulieren unter anderem profibrotische Kaskaden sowie die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α , IL-1 und IL-8. [35, 87]. Diese Zytokine wiederum fördern die Rekrutierung weiterer Neutrophiler sowie deren Degranulation mit Freisetzung von MPO [87]. MPO stimuliert außerdem auf direktem Weg die Infiltration der Gefäßwand durch Leukozyten [34]. Zudem bauen die Substrate von MPO vermehrt NO ab und beeinflussen hiermit die durch NO regulierte Vasodilatation [36]. Bei Patienten mit entzündlichen Lungenerkrankungen wie Asthma bronchiale oder einer Pneumonie sind MPO und die Zytokine IL-1, IL-8 und TNF- α stark erhöht [87]. Bei Patienten mit idiopathischer pulmonaler Fibrose finden sich erhöhte Spiegel an MPO und Entzündungszellen in dem das Epithel auskleidenden Flüssigkeitsfilm [33]. In vivo liegt MPO im Gefäßendothel sowie dem subendothelialen Raum bei Patienten mit akuter Transplantatabstoßung vor [37]. In einem Tiermodell der Ratte von Grattendick et al. zeigten sich nach Gabe von MPO deutlich gesteigerte ROS-Levels gegenüber der Kontrollgruppe [87]. Klebanoff et al. zeigten ebenfalls in einem Tiermodell der Ratte, dass die intratracheale Gabe von MPO sowie seines Substrates Wasserstoffperoxid zur Entwicklung eines akuten Lungenversagens mit Ausbildung einer interstitieller Fibrose führte [33]. Bonnell et al. konnten des Weiteren im Tiermodell der Ratte eine Korrelation zwischen der Expression von MPO und dem Schweregrad der akuten Abstoßung darstellen [43].

Analog hierzu zeigte sich in der eigenen Arbeit ein massiver Anstieg des MPO-Spiegels zum POD 20 in den transplantierten linken Lungen, welcher signifikant erhöht gegenüber der Spendergruppe sowie stark erhöht gegenüber den zugehörigen rechten Lungen ausfiel. Dabei

wiesen die linken Lungen der Nilotinibgruppe leicht erniedrigte Werte gegenüber den linken Lungen der Kontrollgruppe auf. Im weiteren Verlauf sank der MPO-Spiegel in den transplantierten Lungen deutlich ab und war zum POD 60 in den linken Lungen beider Gruppen nur noch leicht erhöht gegenüber den Spenderlungen, hier konnte die Gabe von Nilotinib keine positive Wirkung erzielen.

Die Ergebnisse zum POD 20 fielen aus wie erwartet; durch die akute Inflamationsreaktion nach LTx wurde mit der Einwanderung von Entzündungszellen vermehrt MPO in den transplantierten linken Lungen ausgeschüttet. Die verminderten MPO-Spiegel in der Nilotinibgruppe können hier auf die signifikant reduzierte vaskuläre Infiltration durch Leukozyten zum POD 20 unter der Therapie mit Nilotinib zurückzuführen sein, während wiederum der reduzierte MPO-Spiegel zu einer verminderten Leukozyten-Infiltration beitragen kann. Interessant zeigt sich der Verlauf der MPO-Expression zum POD 60, hier fielen die MPO-Level in den linken transplantierten Lungen beinahe so niedrig aus wie in der Spendergruppe. Durch den Circulus vitiosus aus Inflammation mit Leukozyteneinwanderung, hierdurch Ausschüttung von MPO mit Stimulation proinflammatorischer Zytokine und wiederum Rekrutierung neuer Entzündungszellen könnte man ansteigende Spiegel im Verlauf erwarten. Dem gegenüber steht zum POD 60 jedoch das vorrangige Vorliegen einer chronischen Abstoßung, nachdem die akute Entzündungsphase bereits abgeflaut ist. Ferner wurde der Nachweis von MPO bei Patienten mit Lungenfibrose oder akuter Transplantatabstoßung vorwiegend im Gefäßendothel erbracht, welches mit Voranschreiten der Abstoßungsreaktion zunehmend zu Grunde geht [33, 37].

Neben der gesteigerten Expression von MPO liegen bei inflammatorischen Prozessen außerdem erhöhte Levels an TGM-2 vor [39]. TGM-2 findet sich unter anderem in Fibroblasten, Makrophagen, Endothelzellen sowie der glatter Muskulatur [38, 39, 88]. Das Enzym fördert die Vernetzung von extrazellulärem Kollagen und Fibronectin, wodurch deren Stabilität gesteigert wird; zudem stimuliert TGM-2 die Produktion von Fibronectin [38]. Daneben weist TGM-2 Interaktionen mit PDGFR sowie VEGFR auf, wodurch es zum vermehrten Ablauf der nachgeschalteten Signalkaskaden zu kommen scheint [88, 89]. Die exakten Prozesse und deren Auswirkungen sind hierbei noch nicht abschließend geklärt [88]. Die Induktion von TGM-2 ist assoziiert mit einer gesteigerten Zelldifferenzierung, Inflammation und Fibrosierung [39, 88, 89]. Patienten mit idiopathischer pulmonaler Fibrose

weisen erhöhte TGM-2-Werte in Lungenbiopsien gegenüber gesunden Probanden auf [38]. In einem Tiermodell der Bleomycin-induzierten Lungenfibrose bewirkte die Gabe von Bleomycin eine massive Steigerung der TGM-2 Levels, während dieser Anstieg in der Kontrollgruppe unter Gabe von Phosphatpuffer ausblieb [38]. Ein weiterer Bleomycin-Versuch mit TGM-2-defizienten Mäusen erbrachte eine signifikante Reduktion von Fibrosierung sowie Hydroxyprolinegehalt gegenüber der Vergleichsgruppe mit regelrechter TGM-2-Funktion zum Endzeitpunkt nach 21 Tagen [38].

Die eigene Studie konnte bestätigen, dass im Rattenmodell ohne medikamentöse Therapie nach LTx ein signifikanter Anstieg der TGM-2-Expression in den transplantierten Lungen sowohl gegenüber den zugehörigen rechten Lungen als auch den Spenderlungen auftritt. Demgegenüber zeigte sich in der Nilotinibgruppe eine signifikante Reduktion der TGM-2-Spiegel in den linken Lungen, welche zum POD 20 vergleichbare Werte zu den jeweiligen rechten Lungen aufwiesen. Im Langzeitverlauf konnte jedoch unter Therapie mit Nilotinib die Suppression von TGM-2 nicht aufrechterhalten werden; sowohl in der Nilotinibgruppe als auch in der Kontrollgruppe stiegen die TGM-2 Levels massiv an und fielen hochsignifikant gesteigert gegenüber den Spenderlungen aus. Zum Endzeitpunkt konnten keine Unterschiede zwischen Nilotinib- und Kontrollgruppe festgestellt werden. Eine vorangegangene Studie der eigenen Arbeitsgruppe untersuchte die Wirkung des RTK-Inhibitors Nintedanib auf die Expression von TGM-2 [24]. Hier bewirkte die Gabe von Nintedanib im selben Versuchsaufbau zum POD 60 zwar eine signifikante Reduktion der TGM-2-Expression gegenüber der Kontrollgruppe, dennoch konnte langfristig ebenfalls kein positiver Effekt auf die Progression der Transplantatabstoßung verzeichnet werden [24].

Wie erwartet kam es zum POD 20 zu einem signifikanten Anstieg von TGM-2 in den transplantierten Lungen der Kontrollgruppe, zurückzuführen auf eine gesteigerte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies im Rahmen der Inflammationsreaktion bei Abstoßung des Transplantats [38, 39]. Aus den verminderten TGM-2-Levels zum POD 20 in der Nilotinibgruppe kann daher auf eine Reduktion von oxidativem Stress als Medikamentenwirkung von Nilotinib rückgeschlossen werden, wie z.B. auch durch die reduzierten MPO-Spiegel zum POD 20 unter Nilotinibgabe vermutet werden kann. Ferner konnten wir in der eigenen Studie auch eine signifikant verminderte Einwanderung von Entzündungszellen unter Therapie mit Nilotinib zum POD 20 feststellen, was diese Hypothese unterstreicht. Jedoch war dieser Effekt zum POD 60 nicht mehr zu beobachten. Dies mag in der

insgesamt voranschreitenden Fibrosierung der transplantierten Lungen beider Versuchsgruppen begründet liegen, welche durch die punktuelle Wirkung von Nilotinib nicht durchbrochen werden konnte. Mit zunehmender Proliferation von Fibroblasten bei Voranschreiten der Abstoßungsreaktion wird durch die Fibroblasten selbst wiederum vermehrt TGM-2 ausgeschüttet [38, 39].

Des Weiteren erfolgte die Beurteilung des oxidativen Stress Markers HO-1, welcher pulmonal vor allem in respiratorischen Epithelzellen, Fibroblasten, Endothelzellen und Alveolarmakrophagen exprimiert wird [42]. Seine Induktion erfolgt unter anderem durch Stimuli wie Hypoxie sowie dem vermehrten Anfall von proinflammatorischen Zytokinen und reaktiven Sauerstoffspezies [41, 42]. Die Funktion des Enzyms liegt im Abbau von Häm zu Biliverdin, Kohlenstoffmonoxid und Eisen [41–43]. Diese Reaktionsprodukte wirken regulatorisch auf die Ausprägung von oxidativem Stress sowie inflammatorischen Prozessen und zeigen zytoprotektive Effekte [41–43]. Erhöhte Levels an HO-1 ließen sich in Lungenbiopsien von Patienten nachweisen, die nach LTx eine akute Transplantatabstoßung entwickelten [43, 90]. In der Studie von Lu et al. zeigte sich zudem eine Korrelation zwischen der Expression von HO-1 und dessen Produkt Eisen, welche beide im Verlauf der akuten Abstoßung nach LTx deutlich ansteigende Levels aufwiesen [90]. Im LTx-Modell der Ratte wiesen transplantierte Lungen signifikant erhöhte HO-1-Spiegel gegenüber nativen Lungen auf, hierbei korrelierte die zunehmende Expression von HO-1 mit der Ausprägung der akuten Abstoßung [43].

Die Ergebnisse der oben beschriebenen Studien konnten in der eigenen Arbeit bestätigt werden. Zum POD 20 zeigten sich wie erwartet deutlich erhöhte HO-1-Werte in den transplantierten linken Lungen der Nilotinib- und Kontrollgruppe gegenüber den zugehörigen rechten Lungen sowie eine signifikante Erhöhung gegenüber den nativen Spenderlungen. Hierbei konnte die Gabe von Nilotinib die Expression von HO-1 zum Zeitpunkt der akuten Abstoßung nur geringfügig minimieren. Im weiteren Verlauf erzielte jedoch die Therapie mit Nilotinib eine deutliche Suppression der HO-1-Expression, welche zum POD 60 vergleichbar gegenüber der Spendergruppe sowie signifikant reduziert gegenüber der Kontrollgruppe ausfiel.

Dieses Ergebnis war überraschend, da bei Voranschreiten der Abstoßungsreaktion auch eine weitere Zunahme der HO-1-Levels zu erwarten gewesen wäre, wie es sich zum POD 20

abgezeichnet hatte. Ferner zeigten sich zum POD 60 die transplantierten Lungen von sowohl Nilotinib- als auch Kontrollgruppe gleichermaßen destruiert, was nicht mit den erniedrigten HO-1-Spiegeln in der Nilotinibgruppe korreliert. Hieraus kann vermutet werden, dass die reduzierte Expression von HO-1 auf die Medikamentenwirkung von Nilotinib zurückgeführt werden kann, jedoch nicht für eine Verlangsamung der histopathologischen Prozesse ausreicht. HO-1 wird als zytoprotektiv beschrieben und vermehrt bei oxidativem Stress induziert, um das Gleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien aufrecht zu erhalten [41–43]. Zum POD 20 kann daher anhand unserer Ergebnisse eine vergleichbare Stressreaktion in den transplantierten Lungen der Nilotinib- und Kontrollgruppe abgeleitet werden. Interessant wäre nun der Verlauf der HO-1-Expression zwischen dem POD 20 und POD 60. Es wäre denkbar, dass sich in diesem Zeitraum bereits niedrigere HO-1-Levels in der Nilotinibgruppe gegenüber der Kontrollgruppe zeigen, was auf eine Reduktion von oxidativem Stress zurückzuführen wäre und möglicherweise zu einem schnelleren Abklingen der akuten Abstoßungsreaktion führen könnte. Um diese Hypothese zu prüfen, wäre ein Versuchsaufbau mit engmaschigerer Auswertung der HO-1-Expression und histologischen Veränderungen notwendig. Letztlich ist zum POD 60 in den linken Lungen der Kontrollgruppe ein massiv erhöhter Spiegel an HO-1 ersichtlich, welcher hier mit der gänzlichen Abstoßung der Transplantate und wiederkehrender Stimuli wie Inflammation mit Zytokinausschüttung korreliert. Der fehlende positive Effekt in der Nilotinibgruppe trotz verminderter HO-1-Levels mag auf die Relevanz der initialen akuten Abstoßung zurückzuführen sein, welche als wichtigster Risikofaktor für die Ausbildung einer chronischen Transplantatabstoßung gilt [5, 16, 74]. In Vorarbeiten konnte gezeigt werden, dass im Tiermodell bei Verminderung der akuten Abstoßung im Verlauf dennoch die Inflammation persistierte und zur Entstehung der chronischen Abstoßung beitrug [49, 52]. Daher war nicht zu erwarten, dass langfristig trotz der Minderung von oxidativem Stress auch eine Verhinderung der chronischen Abstoßung erzielt werden kann.

Wie bereits oben beschrieben konnten Lu et al. eine Korrelation zwischen der Expression von HO-1 und Eisen aufzeigen, welche beide im Verlauf der akuten Abstoßung nach LTx deutlich ansteigende Levels aufwiesen [90]. Eisen ist ein essentielles Spurenelement, welches über den Gasaustausch pulmonal aufgenommen wird und durch seine Beteiligung an Redox-Reaktionen die Bildung freier Radikale fördern kann [44–46]. Eine Schädigung des Lungenepithels durch inflammatorische Prozesse führt zu einer verminderten Aufnahme und Sequestrierung des

Eisens und beding dessen Akkumulation, welche eine vermehrte Generierung von Radikalen bewirkt [44, 46, 47]. Diese führen zur Schädigung intrazellulärer Organellen und Aktivierung von Fibroblasten, welche sich in der Fibrosierung des Lungenparenchyms manifestieren [47, 91]. Eine Studie von Pugh et al. zeigte höhere Eisenkonzentrationen in der BAL transplantierte Patienten verglichen zu einer gesunden Kontrollgruppe auf. Zudem ließ sich hier der Trend ableiten, dass mit Voranschreiten der Zeit nach Transplantation die Eisenkonzentration weiterhin zunimmt [57]. Zudem konnten Lu et al. in Lungenbiopsien von Patienten mit akuter Abstoßungsreaktion nach LTx einen deutlich gesteigerten Eisengehalt gegenüber Biopsien von Patienten ohne Hinweis auf Abstoßung nachweisen [90]. Bei Progression der mit einer Abstoßungsreaktion einhergehenden Inflammation begünstigt unter anderem die Zunahme der Gefäßpermeabilität die weitere Akkumulation von Eisen im Langzeitverlauf [91].

Die eigene Studie zeigte zum POD 20 wie erwartet eine signifikante Erhöhung der Eisen-Expression in den transplantierten linken Lungen gegenüber den nativen Spenderlungen. Hierbei konnte zunächst die Therapie mit Nilotinib keinerlei positiven Effekt gegenüber der Kontrollgruppe bewirken. Im Langzeitverlauf konnte bestätigt werden, dass einhergehend mit einer zunehmenden Transplantatabstoßung ebenso der Eisengehalt weiter zunimmt. So fielen zum POD 60 die Eisenkonzentrationen der linken Lungen aus Nilotinib- und Kontrollgruppe hochsignifikant gesteigert verglichen zu den nativen Spenderlungen aus. Ebenso war die Eisenkonzentration der transplantierten linken Lungen aus sowohl Nilotinib- als auch Kontrollgruppe erhöht gegenüber den zugehörigen rechten Lungen. Unter Gabe von Nilotinib konnte lediglich eine insignifikante Reduktion der Eisen-Expression in den transplantierten linken Lungen gegenüber der Kontrollgruppe erzielt werden. Im Hinblick auf die signifikant reduzierten HO-1-Spiegel in den linken Lungen der Nilotinibgruppe verglichen zur Kontrollgruppe wäre eine größere Auswirkung auf die Eisenkonzentration zu erwarten gewesen, da Eisen unter anderem als Reaktionsprodukt des Enzyms HO-1 anfällt. Dem gegenüber steht möglicherweise der eingeschränkte Abtransport von Eisen aus dem Lungengewebe nach Transplantation, welcher z.B. lymphatisch oder durch mukoziliäre Reinigung erfolgt [57]. Ferner wird physiologisch Eisen in das Lungenepithel aufgenommen und hier zu Ferritin sequestriert, um seinen toxischen Eigenschaften entgegenzuwirken [44–46]. Diese Mechanismen werden in Lungentransplantaten als geschädigt beschrieben, sodass auch langfristig das Eisengleichgewicht beeinträchtigt wird [57].

Anhand der beschriebenen Ergebnisse lässt sich festhalten, dass Nilotinib im Tiermodell der Ratte durchaus eine inhibierende Wirkung auf die unkontrollierte Proliferation von Wachstumsfaktoren sowie oxidativen Stressmarkern entfalten kann. Hierdurch zeigte sich zunächst eine signifikante Reduktion der akuten und beginnenden chronischen vaskulären Abstoßung gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe. Dennoch blieb langfristig die Progression der chronischen Abstoßungsreaktion nach LTx unbeeinflusst, es präsentierte sich zum Endpunkt ausnahmslos das Bild einer gänzlichen Transplantatabstoßung. Hierbei ist zu bedenken, dass die vorliegende Arbeit die Wirkung von Nilotinib lediglich im Sinne einer Monotherapie untersucht hat. In der Pathogenese der CLAD setzen jedoch initial inflammatorische Prozesse und eine gesteigerte Immunreaktion ein, welche erst im Verlauf zu unkontrollierten Reparaturmechanismen durch die vermehrte Stimulation von Wachstumsfaktoren führen [22]. Während Nilotinib seinen Effekt vorwiegend über die Hemmung der fibroproliferativen Kaskaden ausübt, fehlt hier eine starke antiinflammatorische Komponente. Daher könnte in einem nächsten Ansatz die Wirkung von Nilotinib im Rahmen einer Kombinationstherapie z.B. mit Methylprednisolon und Mycophenolat-Mofetil, ähnlich zu den bislang klinisch etablierten immunsuppressiven Schemata, untersucht werden [14].

Auch wenn unter der Monotherapie mit Nilotinib in unserem Tiermodell der Ratte positive Teilergebnisse erhoben werden konnten, sind zudem im Rahmen der Therapie am Menschen vielfältige mögliche Nebenwirkungen des Medikaments zu bedenken. Bereits in unserem Tiermodell konnte festgestellt werden, dass die Tiere unter Nilotinibtherapie gegenüber der Kontrollgruppe postoperativ deutlich mehr an Körpergewicht verloren und auch im weiteren Verlauf die Wiedererlangung des Startgewichts protrahiert verlief. Hieraus kann gefolgert werden, dass Nilotinib in einer wirksamen Dosierung verabreicht wurde, dies jedoch auch mit Nebenwirkungen einhergeht. Im Rahmen des Tiermodells war allerdings nicht zu eruieren, ob der beschriebene Gewichtsverlust beispielsweise auf eine verminderte Nahrungsaufnahme oder einen gesteigerten Energieverbrauch zurückzuführen ist. Eine klinische Studie unter Cauchi et al. untersuchte die Behandlung einer kleinen Patientengruppe mit gastrointestinalen Stromatumoren mittels Nilotinib, welches im Median für 42,5 Tage verabreicht wurde [92]. Bereits innerhalb dieses kurzen Zeitraums gaben 100% der Patienten neu aufgetretene Fatigue an, 92% der Patienten entwickelten eine Anämie und mehr als 50% der Patienten litten an Gewichtsverlust, Obstipation oder Leukopenie [92]. Jedoch fand hier keine explizite

Differenzierung gegenüber einer Kontrollgruppe statt, sodass ein Teil der angegebenen Nebenwirkungen auch auf das Tumorleiden selbst zurückzuführen sein könnte. Saglio et al. führten eine große Studie anhand einer Gruppe von über 800 Patienten mit CML über einen Zeitraum von 12 Monaten durch, welche die Vor- und Nachteile von Nilotinib gegenüber Imatinib untersuchte [12]. Hier zeigte sich unter Therapie mit Nilotinib bei über 35% der Patienten ebenfalls eine laborchemische Anämie, Thrombozytopenie oder Neutropenie [12]. Zudem wiesen mindestens 40% der Studienteilnehmer unter Nilotinibgabe erhöhte Laborwerte für Gesamt-Bilirubin, Alanin-Aminotransferase oder Aspartat-Aminotransferase auf [12]. Unter den weiteren häufigen Nebenwirkungen (mindestens 15% der Patienten betroffen) wurden beispielsweise Ausschlag, Juckreiz, Kopfschmerz und Übelkeit sowie eine laborchemische Erhöhung von alkalischer Phosphatase, Lipase und Zuckerwerten aufgelistet [12]. Vergleichbare Nebenwirkungen traten in einer Studie von Kantarijan et al. bei 119 Patienten mit Imatinib-resistenter CML unter der Therapie mit Nilotinib auf [93]. Hier erhielten die Patienten 50mg bis 1200mg Nilotinib in einer oder zwei Einzeldosen pro Tag; im Vergleich zwischen den Gruppen zeigte sich eine deutliche Korrelation zwischen der Häufigkeit unerwünschter Nebenwirkungen und einer höheren Dosierung des Medikaments [93]. Hierin liegt bislang eine deutliche Limitation der Therapie mittels Nilotinib. Daher bliebe in der klinischen Anwendung zunächst eine engmaschige Überwachung der Patienten anhand von Anamnese, körperlicher Untersuchung und Erhebung von Laborwerten unerlässlich.

5 Zusammenfassung

Die LTx ist heutzutage ein etabliertes Verfahren zur Behandlung von Patienten mit Lungenerkrankungen im Endstadium [5]. Bei einer stetig steigenden Anzahl an Lungentransplantationen in den letzten Jahren ist dennoch die Langzeitprognose nach LTx mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 54% unter Erwachsenen nach wie vor unbefriedigend [6]. Ursächlich für diese schlechte Prognose ist die Entstehung eines chronischen Transplantatversagens [7], welches vordergründig mit einer fortschreitenden Fibrosierung der terminalen Bronchiolen sowie der vaskulären Strukturen einhergeht [9].

Die vorliegende Arbeit untersuchte den Einsatz des RTK-Inhibitors Nilotinib in Hinblick auf die Entstehung einer akuten Abstoßungsreaktion sowie deren Progression zum chronischen Transplantatversagen nach LTx. Hierfür wurde auf ein bereits etabliertes Modell der unilateralen, linksseitigen, orthotopen Lungentransplantation der Ratte zurückgegriffen. Als Spendertiere wurden männliche Ratten des Stamms Fischer 344 ausgewählt, als Empfängertiere dienten männliche Ratten des Wistar Kyoto Stamms. Die Wahl der Rattenstämme basierte auf der schwach allogenen Differenz ihrer MHC-1-Komplexe, welche mit der immungenetischen Situation bei humanen Organtransplantationen vergleichbar ist [49]. Zur Durchführung der Studie wurden die Versuchstiere in eine Medikamentengruppe und eine Kontrollgruppe eingeteilt. Die Medikamentengruppe erhielt ab dem Tag der Transplantation täglich Nilotinib in einer Dosis von 20mg/kg KG, während die Kontrollgruppe ohne jegliche postoperative Immunsuppression blieb. Zum POD 20 bzw. POD 60 erfolgte die Tötung der Tiere sowie die Anfertigung histologischer Präparate der Lungen zur weiterführenden Beurteilung. Akute und chronische Transplantatabstoßung wurden nach den modifizierten Kriterien der ISHLT [49] sowie der Fibrosegrad des interstitiellen Lungenparenchyms gemäß der modifizierten Ashcroft-Skala eruiert [54, 55]. Daneben erfolgte eine quantitative photometrische Bestimmung des Kollagengehalts in den transplantierten Lungen [58]. Zusätzlich wurden die Wachstumsfaktoren PDGF-AA/PDGFR- α [28], VEGF-A/VEGFR-2 [20] und c-Kit [18] bezüglich Zellzahl und Intensität untersucht sowie die Ausprägung der oxidativen Stress-Marker MPO [56], TGM-2 [38], HO-1 [43] und Eisen [57] anhand ihrer Zellzahl beurteilt.

Schlussendlich konnte Nilotinib in unserem Tiermodell der Ratte durchaus eine inhibierende Wirkung auf die unkontrollierte Proliferation von Wachstumsfaktoren sowie oxidativen Stressmarkern entfalten. Hierdurch zeigte sich zunächst eine signifikante Reduktion der akuten sowie beginnenden chronischen Abstoßung von vaskulären Strukturen in der Nilotinibgruppe gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe. Dennoch blieb langfristig die Progression der chronischen Abstoßungsreaktion nach LTx unbeeinflusst, es präsentierte sich zum Endpunkt in beiden Versuchsgruppen ausnahmslos das Bild einer gänzlichen Transplantatabstoßung. Somit konnte die Anwendung von Nilotinib als Monotherapie die Ausbildung eines chronischen Transplantatversagens nach LTx weder verzögern noch verhindern. Aufgrund der erzielten positiven Teilergebnisse könnte in einem nächsten Ansatz die Wirkung von Nilotinib im Rahmen einer Kombinationstherapie z.B. mit Methylprednisolon und Mycophenolat-Mofetil, ähnlich zu den bislang klinisch etablierten immunsuppressiven Schemata, untersucht werden [14].

6 Literaturverzeichnis

1. Brunner E. Einsatz von Everolimus zur Prävention der chronischen Abstoßung nach orthotoper unilateraler Lungentransplantation in der Ratte [Regensburg, Universität Regensburg, Diss., 2013]. Regensburg; 2013.
2. Davis RD, JR, Pasque MK. Pulmonary transplantation. *Ann Surg.* 1995;221:14–28.
3. Moffatt SD, Demers P, Robbins RC, Doyle R, Wienacker A, Henig N, et al. Lung transplantation: A decade of experience. *J Heart Lung Transplant.* 2005;24:145–51. doi:10.1016/j.healun.2003.10.020.
4. Sommerwerck U, Rabis T, Fleimisch P, Carstens H, Teschler H, Kamler M. Lungentransplantation: Lung transplantation. [Lungentransplantation]. *Herz.* 2014;39:74–83. doi:10.1007/s00059-013-4044-3.
5. Belperio JA, Weigt SS, Fishbein MC, Lynch JP. Chronic lung allograft rejection: Mechanisms and therapy. *Proc Am Thorac Soc.* 2009;6:108–21. doi:10.1513/pats.200807-073GO.
6. Yusen RD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Dipchand AI, Goldfarb SB, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second Official Adult Lung and Heart-Lung Transplantation Report--2015; Focus Theme: Early Graft Failure. *J Heart Lung Transplant.* 2015;34:1264–77. doi:10.1016/j.healun.2015.08.014.
7. Suwara MI, Vanaudenaerde BM, Verleden SE, Vos R, Green NJ, Ward C, et al. Mechanistic differences between phenotypes of chronic lung allograft dysfunction after lung transplantation. *Transpl Int.* 2014;27:857–67. doi:10.1111/tri.12341.
8. Verleden SE, Vos R, Vanaudenaerde BM, Verleden GM. Chronic lung allograft dysfunction phenotypes and treatment. *J Thorac Dis.* 2017;9:2650–9. doi:10.21037/jtd.2017.07.81.
9. Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, Berry GJ, Boehler A, Burke MM, et al. Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2007;26:1229–42. doi:10.1016/j.healun.2007.10.017.
10. Tikkanen JM, Hollmén M, Nykänen AI, Wood J, Koskinen PK, Lemström KB. Role of platelet-derived growth factor and vascular endothelial growth factor in obliterative airway disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:1145–52. doi:10.1164/rccm.200601-044OC.

11. Meyer KC, Raghu G, Verleden GM, Corris PA, Aurora P, Wilson KC, et al. An international ISHLT/ATS/ERS clinical practice guideline: Diagnosis and management of bronchiolitis obliterans syndrome. *Eur Respir J*. 2014;44:1479–503. doi:10.1183/09031936.00107514.
12. Saglio G, Kim D-W, Issaragrisil S, Le Coutre P, Etienne G, Lobo C, et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2010;362:2251–9. doi:10.1056/NEJMoa0912614.
13. Suesskind-Schwendi M von, Valenti V, Haneya A, Pühler T, Bewig B, Schmid C, et al. Synergism of imatinib mesylate and everolimus in attenuation of bronchiolitis obliterans after rat LTX. *Histol Histopathol*. 2013;28:1273–84. doi:10.14670/HH-28.1273.
14. Snell GI, Westall GP. Immunosuppression for lung transplantation: Evidence to date. *Drugs*. 2007;67:1531–9.
15. Knoop C, Haverich A, Fischer S. Immunosuppressive therapy after human lung transplantation. *European Respiratory Journal*. 2004;23:159–71. doi:10.1183/09031936.03.00039203.
16. Sharples LD, McNeil K, Stewart S, Wallwork J. Risk factors for bronchiolitis obliterans: A systematic review of recent publications. *J Heart Lung Transplant*. 2002;21:271–81.
17. Manley PW, Stiefl N, Cowan-Jacob SW, Kaufman S, Mestan J, Wartmann M, et al. Structural resemblances and comparisons of the relative pharmacological properties of imatinib and nilotinib. *Bioorg Med Chem*. 2010;18:6977–86. doi:10.1016/j.bmc.2010.08.026.
18. Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, Brügggen J, Cowan-Jacob SW, Ray A, et al. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell*. 2005;7:129–41. doi:10.1016/j.ccr.2005.01.007.
19. Golemovic M, Verstovsek S, Giles F, Cortes J, Manshouri T, Manley PW, et al. AMN107, a novel aminopyrimidine inhibitor of Bcr-Abl, has in vitro activity against imatinib-resistant chronic myeloid leukemia. *Clin Cancer Res*. 2005;11:4941–7. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-2601.
20. Regad T. Targeting RTK Signaling Pathways in Cancer. *Cancers (Basel)*. 2015;7:1758–84. doi:10.3390/cancers7030860.
21. Knoop C, Estenne M. Acute and chronic rejection after lung transplantation. *Semin Respir Crit Care Med*. 2006;27:521–33. doi:10.1055/s-2006-954609.

22. Neuringer IP, Chalermkulrat W, Aris R. Obliterative bronchiolitis or chronic lung allograft rejection: A basic science review. *J Heart Lung Transplant.* 2005;24:3–19. doi:10.1016/j.healun.2004.01.009.
23. Riise GC, Williams A, Kjellström C, Schersten H, Andersson BA, Kelly FJ. Bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients is associated with increased neutrophil activity and decreased antioxidant status in the lung. *European Respiratory Journal.* 1998;12:82–8. doi:10.1183/09031936.98.12010082.
24. Boxhammer E, Lehle K, Schmid C, Suesskind-Schwendi M von. Anti-oxidative effect of the tyrosine kinase inhibitor nintedanib: a potential therapy for chronic lung allograft dysfunction? *Exp Lung Res.* 2020;46:128–45. doi:10.1080/01902148.2020.1738594.
25. Liang J, Wu Y-L, Chen B-J, Zhang W, Tanaka Y, Sugiyama H. The C-kit receptor-mediated signal transduction and tumor-related diseases. *Int J Biol Sci.* 2013;9:435–43. doi:10.7150/ijbs.6087.
26. Stankov K, Popovic S, Mikov M. C-KIT signaling in cancer treatment. *Curr Pharm Des.* 2014;20:2849–80.
27. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev.* 2008;22:1276–312. doi:10.1101/gad.1653708.
28. Virakul S, van Steensel L, Dalm VASH, Paridaens D, van Hagen PM, Dik WA. Platelet-derived growth factor: A key factor in the pathogenesis of graves' ophthalmopathy and potential target for treatment. *Eur Thyroid J.* 2014;3:217–26. doi:10.1159/000367968.
29. Herlemann A. Die Rolle des Platelet-derived Growth Factors und seines Rezeptors bei der Proliferation glatter Muskelzellen der Harnblase [München, Ludwig-Maximilians-Universität, Diss., 2014]. München: Universitätsbibliothek der Ludwig-Maximilians-Universität; 2014.
30. Kallio EA, Koskinen PK, Aavik E, Buchdunger E, Lemstrom KB. Role of platelet-derived growth factor in obliterative bronchiolitis (chronic rejection) in the rat. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:1324–32. doi:10.1164/ajrccm.160.4.9802006.
31. Koch S, Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2:a006502. doi:10.1101/cshperspect.a006502.
32. Claesson-Welsh L. VEGF receptor signal transduction - A brief update. *Vascul Pharmacol.* 2016;86:14–7. doi:10.1016/j.vph.2016.05.011.

33. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol.* 2005;77:598–625. doi:10.1189/jlb.1204697.
34. Hickey MJ. MPO and neutrophils: a magnetic attraction. *Blood.* 2011;117:1103–4. doi:10.1182/blood-2010-11-317479.
35. Friedrichs K, Baldus S, Klinke A. Fibrosis in Atrial Fibrillation – Role of Reactive Species and MPO. *Front. Physio.* 2012. doi:10.3389/fphys.2012.00214.
36. Eiserich JP, Baldus S, Brennan M-L, Ma W, Zhang C, Tousson A, et al. Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase. *Science.* 2002;296:2391–4. doi:10.1126/science.1106830.
37. Lau D, Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacol Ther.* 2006;111:16–26. doi:10.1016/j.pharmthera.2005.06.023.
38. Olsen KC, Sapinoro RE, Kottmann RM, Kulkarni AA, Iismaa SE, Johnson GVW, et al. Transglutaminase 2 and its role in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184:699–707. doi:10.1164/rccm.201101-0013OC.
39. Lai T-S, Lin C-J, Greenberg CS. Role of tissue transglutaminase-2 (TG2)-mediated aminylation in biological processes. *Amino Acids.* 2017;49:501–15. doi:10.1007/s00726-016-2270-8.
40. Olsen KC, Epa AP, Kulkarni AA, Kottmann RM, McCarthy CE, Johnson GV, et al. Inhibition of transglutaminase 2, a novel target for pulmonary fibrosis, by two small electrophilic molecules. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;50:737–47. doi:10.1165/rcmb.2013-0092OC.
41. Ryter SW, Choi AMK. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: novel therapeutic strategies in critical care medicine. *Curr Drug Targets.* 2010;11:1485–94.
42. Slebos D-J, Ryter SW, Choi AMK. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide in pulmonary medicine. *Respir Res.* 2003;4:7. doi:10.1186/1465-9921-4-7.
43. Bonnell MR, Visner GA, Zander DS, Mandalapu S, Kazemfar K, Spears L, Beaver TM. Heme-oxygenase-1 expression correlates with severity of acute cellular rejection in lung transplantation. *J Am Coll Surg.* 2004;198:945–52. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2004.01.026.
44. Turi JL, Yang F, Garrick MD, Piantadosi CA, Ghio AJ. The iron cycle and oxidative stress in the lung. *Free Radic Biol Med.* 2004;36:850–7. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2003.12.008.

45. Carocci A, Catalano A, Sinicropi MS, Genchi G. Oxidative stress and neurodegeneration: the involvement of iron. *Biometals* 2018. doi:10.1007/s10534-018-0126-2.
46. Jomova K, Valko M. Importance of iron chelation in free radical-induced oxidative stress and human disease. *Curr Pharm Des.* 2011;17:3460–73.
47. Yatmark P, Morales NP, Chaisri U, Wichaiyo S, Hemstapat W, Srichairatanakool S, et al. Effects of Iron Chelators on Pulmonary Iron Overload and Oxidative Stress in β -Thalassemic Mice. *Pharmacology.* 2015;96:192–9. doi:10.1159/000438994.
48. Sato M, Keshavjee S, Liu M. Translational research: animal models of obliterative bronchiolitis after lung transplantation. *Am J Transplant.* 2009;9:1981–7. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02770.x.
49. Süßkind-Schwendi M von, Ruummele P, Schmid C, Hirt SW, Lehle K. Lung transplantation in the fischer 344-wistar kyoto strain combination is a relevant experimental model to study the development of bronchiolitis obliterans in the rat. *Exp Lung Res.* 2012;38:111–23. doi:10.3109/01902148.2012.656820.
50. Shaker ME, Shiha GE, Ibrahim TM. Comparison of early treatment with low doses of nilotinib, imatinib and a clinically relevant dose of silymarin in thioacetamide-induced liver fibrosis. *Eur J Pharmacol.* 2011;670:593–600. doi:10.1016/j.ejphar.2011.08.041.
51. Hirt SW, You XM, Moller F, Boeke K, Ernst M, Starke M, et al. Early treatment of acute rejection prevents chronic rejection in a rat model of allogenic left lung transplantation. *Transplant Proc.* 1998;30:1005–6.
52. Hirt SW, You XM, Moller F, Boeke K, Starke M, Spranger U, Wottge HU. Development of obliterative bronchiolitis after allogeneic rat lung transplantation: Implication of acute rejection and the time point of treatment. *J Heart Lung Transplant.* 1999;18:542–8.
53. Keil LD. Rezeptortyrosinkinaseinhibitoren Vatalanib und Imatinib als Therapieoption der chronischen Transplantatabstoßung nach experimenteller Lungentransplantation [Regensburg, Universität Regensburg, Diss., 2019]. Regensburg; 2019.
54. Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol.* 1988;41:467–70.
55. Hübner R-H, Gitter W, El Mokhtari NE, Mathiak M, Both M, Bolte H, et al. Standardized quantification of pulmonary fibrosis in histological samples. *BioTechniques.* 2008;44:507-11, 514-7. doi:10.2144/000112729.

56. Behr J, Maier K, Braun B, Schwaiblmair M, Vogelmeier C, Munich Lung Transplant Group. EVIDENCE FOR OXIDATIVE STRESS IN BRONCHIOLITIS OBLITERANS SYNDROME AFTER LUNG AND HEART-LUNG TRANSPLANTATION. *Transplantation*. 2000;69.
57. Pugh C, Hathwar V, Richards JH, Stonehuerner J, Ghio AJ. Disruption of iron homeostasis in the lungs of transplant patients. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24:1821–7. doi:10.1016/j.healun.2005.03.016.
58. PROCKOP DJ, UDENFRIEND S. A specific method for the analysis of hydroxyproline in tissues and urine. *Anal Biochem*. 1960;1:228–39.
59. Lee DS, Steinbaugh GE, Quarrie R, Yang F, Talukder MAH, Zweier JL, Crestanello JA. Ischemic postconditioning does not provide cardioprotection from long-term ischemic injury in isolated male or female rat hearts. *J Surg Res*. 2010;164:175–81. doi:10.1016/j.jss.2010.08.050.
60. Pinto RE, Bartley W. The nature of the sex-linked differences in glutathione peroxidase activity and aerobic oxidation of glutathione in male and female rat liver. *Biochem J*. 1969;115:449–56. doi:10.1042/bj1150449.
61. Rutkai I, Dutta S, Katakam PV, Busija DW. Dynamics of enhanced mitochondrial respiration in female compared with male rat cerebral arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015;309:H1490-500. doi:10.1152/ajpheart.00231.2015.
62. Hanley K, Rassner U, Jiang Y, Vansomphone D, Crumrine D, Komüves L, et al. Hormonal basis for the gender difference in epidermal barrier formation in the fetal rat. Acceleration by estrogen and delay by testosterone. *J Clin Invest*. 1996;97:2576–84. doi:10.1172/JCI118706.
63. Lüllmann-Rauch R, Paulsen F. *Taschenlehrbuch Histologie*. 4th ed. Stuttgart: Thieme; 2012.
64. Amboss online Nachschlagewerk. Atemwege und Lunge. <https://amboss.miamed.de/library#xid=6o0j1S&anker=Ze2440ffc60bd8ab1fbfb4e9c2d672eb2>.
65. Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K. *Innere Organe*. 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2012.
66. Amboss online Nachschlagewerk. Aufbau und Funktion der Blutgefäße. <https://amboss.miamed.de/library#xid=go0FYs>.

67. Powell JT, Whitney PL. Postnatal development of rat lung. Changes in lung lectin, elastin, acetylcholinesterase and other enzymes. *Biochem J.* 1980;188:1–8. doi:10.1042/bj1880001.
68. Burri PH. The postnatal growth of the rat lung. 3. Morphology. *Anat Rec.* 1974;180:77–98. doi:10.1002/ar.1091800109.
69. Sengbusch P. Die Anatomie der Ratte und der Maus. In: Sengbusch P von, editor. *Einführung in die allgemeine Biologie.* Berlin: Springer; 1974. p. 293–303. doi:10.1007/978-3-642-96207-3_36.
70. Joachim Bruch. Die pulmonale Oberfläche: Vergleich Ratte und Mensch. 2013. https://www.baua.de/DE/Aufgaben/Geschaeftsfuehrung-von-Ausschuessen/AGS/pdf/AGS-publik-2013-7.pdf?__blob=publicationFile&v=2.
71. Laurent GJ, Cockerill P, McAnulty RJ, Hastings, JR. A simplified method for quantitation of the relative amounts of type I and type III collagen in small tissue samples. *Anal Biochem* 1981. doi:10.1016/0003-2697(81)90081-6.
72. Matsumura Y, Marchevsky A, Zuo XJ, Kass RM, Matloff JM, Jordan SC. Assessment of pathological changes associated with chronic allograft rejection and tolerance in two experimental models of rat lung transplantation. *Transplantation.* 1995;59:1509–17.
73. Hirschburger M, Greschus S, Kuchenbuch T, Plötz C, Obert M, Traupe H, et al. Lung transplantation in the Fischer 344--Wistar Kyoto rat strain combination is not suitable to study bronchiolitis obliterans. *J Heart Lung Transplant.* 2007;26:390–8. doi:10.1016/j.healun.2007.01.018.
74. Hachem RR. Lung allograft rejection: Diagnosis and management. *Curr Opin Organ Transplant.* 2009;14:477–82. doi:10.1097/MOT.0b013e32832fb981.
75. Kaur P, Feldhahn N, Zhang B, Trageser D, Müschen M, Pertz V, et al. Nilotinib treatment in mouse models of P190 Bcr/Abl lymphoblastic leukemia. *Molecular Cancer.* 2007;6:67. doi:10.1186/1476-4598-6-67.
76. Hertz MI, Henke CA, Nakhleh RE, Harmon KR, Marinelli WA, Fox JM, et al. Obliterative bronchiolitis after lung transplantation: a fibroproliferative disorder associated with platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89:10385–9. doi:10.1073/pnas.89.21.10385.

77. Yi ES, Lee H, Yin S, Piguet P, Sarosi I, Kaufmann S, et al. Platelet-derived growth factor causes pulmonary cell proliferation and collagen deposition in vivo. *Am J Pathol.* 1996;149:539–48.
78. Akhmetshina A, Dees C, Pileckyte M, Maurer B, Axmann R, Jüngel A, et al. Dual inhibition of c-abl and PDGF receptor signaling by dasatinib and nilotinib for the treatment of dermal fibrosis. *FASEB J.* 2008;22:2214–22. doi:10.1096/fj.07-105627.
79. Savikko J, Taskinen E, Willebrand E von. Chronic allograft nephropathy is prevented by inhibition of platelet-derived growth factor receptor: tyrosine kinase inhibitors as a potential therapy. *Transplantation.* 2003;75:1147–53. doi:10.1097/01.TP.0000062836.93496.CE.
80. Suesskind-Schwendi M von, Boxhammer E, Hirt SW, Schreml S, Schmid C, Wollin L, Lehle K. The activity of nintedanib in an animal model of allogenic left lung transplantation resembling aspects of allograft rejection. *Exp Lung Res.* 2017;43:259–70. doi:10.1080/01902148.2017.1354408.
81. Rice AB, Moomaw CR, Morgan DL, Bonner JC. Specific Inhibitors of Platelet-Derived Growth Factor or Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Reduce Pulmonary Fibrosis in Rats. *Am J Pathol.* 1999;155:213–21. doi:10.1016/S0002-9440(10)65115-2.
82. Homsí J, Daud AI. Spectrum of activity and mechanism of action of VEGF/PDGF inhibitors. *Cancer Control.* 2007;14:285–94. doi:10.1177/107327480701400312.
83. Dubreuil P, Letard S, Ciufolini M, Gros L, Humbert M, Castéran N, et al. Masitinib (AB1010), a potent and selective tyrosine kinase inhibitor targeting KIT. *PLoS ONE.* 2009;4:e7258. doi:10.1371/journal.pone.0007258.
84. Spaziano G, Cappetta D, Urbanek K, Piegari E, Esposito G, Matteis M, et al. New Role of Adult Lung c-kit+ Cells in a Mouse Model of Airway Hyperresponsiveness. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:3917471. doi:10.1155/2016/3917471.
85. Belle L, Bruck F, Foguene J, Gothot A, Beguin Y, Baron F, Briquet A. Imatinib and nilotinib inhibit hematopoietic progenitor cell growth, but do not prevent adhesion, migration and engraftment of human cord blood CD34+ cells. *PLoS ONE.* 2012;7:e52564. doi:10.1371/journal.pone.0052564.
86. D'allard D, Gay J, Descarpentries C, Frisan E, Adam K, Verdier F, et al. Tyrosine kinase inhibitors induce down-regulation of c-Kit by targeting the ATP pocket. *PLoS ONE.* 2013;8:e60961. doi:10.1371/journal.pone.0060961.

87. Grattendick K, Stuart R, Roberts E, Lincoln J, Lefkowitz SS, Bollen A, et al. Alveolar macrophage activation by myeloperoxidase: a model for exacerbation of lung inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002;26:716–22. doi:10.1165/ajrcmb.26.6.4723.
88. Belkin AM. Extracellular TG2: emerging functions and regulation. *FEBS J*. 2011;278:4704–16. doi:10.1111/j.1742-4658.2011.08346.x.
89. Wang Z, Griffin M. TG2, a novel extracellular protein with multiple functions. *Amino Acids*. 2012;42:939–49. doi:10.1007/s00726-011-1008-x.
90. Lu F, Zander DS, Visner GA. Increased expression of heme oxygenase-1 in human lung transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2002;21:1120–6. doi:10.1016/s1053-2498(02)00423-0.
91. Reid D, Snell G, Ward C, Krishnaswamy R, Ward R, Zheng L, et al. Iron overload and nitric oxide-derived oxidative stress following lung transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2001;20:840–9. doi:10.1016/s1053-2498(01)00282-0.
92. Cauchi C, Somaiah N, Engstrom PF, Litwin S, Lopez M, Lee J, et al. Evaluation of nilotinib in advanced GIST previously treated with imatinib and sunitinib. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2012;69:977–82. doi:10.1007/s00280-011-1785-7.
93. Kantarjian H, Giles F, Wunderle L, Bhalla K, O'Brien S, Wassmann B, et al. Nilotinib in imatinib-resistant CML and Philadelphia chromosome-positive ALL. *N Engl J Med*. 2006;354:2542–51. doi:10.1056/NEJMoa055104.

7 Anhang

7.1 Messwerte konventionelle Histologie

	ISHLT	A0	A1	A2	A3	A4	B0	B1R	B2R	C0	C1R	C2R	D0	D1R	D2R
Nilotinib	FW 569	0	1	2	1	11	0	0	11	5	6	0	12	3	0
	FW 570	0	3	5	3	5	0	1	3	2	2	0	12	4	0
	FW 572	0	1	0	0	14	0	0	7	3	4	0	6	8	1
	FW 573	7	9	13	4	9	0	0	8	5	2	1	33	9	0
	FW 581	0	0	3	3	2	0	3	11	12	2	0	7	1	0
	FW 582	0	0	3	2	13	0	0	9	4	5	0	14	4	0
Kontrolle	FW 534	0	0	1	8	25	0	1	14	1	9	5	5	19	10
	FW 535	0	0	0	0	19	0	0	17	2	13	2	4	13	2
	FW 536	0	0	1	2	14	0	0	14	2	12	0	10	7	0
	FW 537	0	0	0	0	31	0	0	8	4	3	1	20	11	0
	FW 538	0	0	0	6	69	0	0	2	1	1	0	46	29	0
	FW 551	0	0	0	1	12	0	0	10	6	4	0	5	8	0

Tabelle 7.1 Auszählung gemäß ISHLT-Klassifikation zum POD 20

Anzahl von Gefäßen und Bronchiolen je Schweregrad der Abstoßung gemäß ISHLT-Klassifikation zum POD 20 für die einzelnen Tiere der Nilotinib- und Kontrollgruppe

	ISHLT	A	B	C0	C1R	C2R	D0	D1R	D2R
Nilotinib	FW 559	n.a.	n.a.	0	0	2	0	1	40
	FW 560	n.a.	n.a.	0	0	3	0	4	50
	FW 567	n.a.	n.a.	0	0	10	0	3	53
	FW 568	n.a.	n.a.	0	3	12	0	5	97
	FW 578	n.a.	n.a.	0	0	7	0	0	66
	FW 579	n.a.	n.a.	0	0	9	0	0	43
	FW 580	n.a.	n.a.	0	0	17	0	6	56
Kontrolle	FW 528	n.a.	n.a.	0	2	1	0	16	30
	FW 529	n.a.	n.a.	0	0	9	0	8	29
	FW 530	n.a.	n.a.	0	0	4	0	0	31
	FW 531	n.a.	n.a.	0	0	5	0	6	26
	FW 532	n.a.	n.a.	0	0	3	0	1	26
	FW 533	n.a.	n.a.	0	0	10	0	0	29
	FW 552	n.a.	n.a.	0	0	12	0	0	26
	FW 554	n.a.	n.a.	0	2	19	0	9	58
FW 555	n.a.	n.a.	0	0	8	0	0	24	

Tabelle 7.2 Auszählung gemäß ISHLT-Klassifikation zum POD 60

Anzahl von Gefäßen und Bronchiolen je Schweregrad der Abstoßung gemäß ISHLT-Klassifikation zum POD 60 für die einzelnen Tiere der Nilotinib- und Kontrollgruppe. Akute Abstoßung nicht ausgewertet (n.a.)

Tier	ISHLT				Hübner
	A	B	C	D	
FW 569	3,5	2,0	0,5	0,2	5
FW 570	2,6	1,8	0,5	0,3	4
FW 572	3,8	2,0	0,6	0,7	6
FW 573	2,0	2,0	0,5	0,2	4
FW 581	2,9	1,8	0,1	0,1	4
FW 582	3,6	2,0	0,6	0,2	5
Median	3,2	2,0	0,5	0,2	4,5
Minimum	2,0	1,8	0,1	0,1	4,0
Quartile 1	2,7	1,9	0,5	0,2	4,0
Quartile 3	3,6	2,0	0,6	0,3	5,0
Maximum	3,8	2,0	0,6	0,7	6,0

Tabelle 7.3 Konventionelle Histologie Nilotinibgruppe POD 20

Angabe der Mittelwerte für akute und chronische Abstoßung nach ISHLT-Klassifikation und Fibrosierung nach Ashcroft/Hübner-Skala für die einzelnen Tiere der Nilotinibgruppe sowie zusammenfassend Angabe der Mediane für die gesamte Gruppe zum POD 20

Tier	ISHLT				Hübner
	A	B	C	D	
FW 534	3,7	1,9	1,3	1,1	5
FW 535	4,0	2,0	1,0	0,9	5
FW 536	3,8	2,0	0,9	0,4	5
FW 537	4,0	2,0	0,6	0,4	5
FW 538	3,9	2,0	0,5	0,4	4
FW 551	3,9	2,0	0,4	0,6	5
Median	3,9	2,0	0,8	0,5	5,0
Minimum	3,7	1,9	0,4	0,4	4,0
Quartile 1	3,8	2,0	0,5	0,4	5,0
Quartile 3	4,0	2,0	1,0	0,8	5,0
Maximum	4,0	2,0	1,3	1,1	5,0

Tabelle 7.4 Konventionelle Histologie Kontrollgruppe POD 20

Angabe der Mittelwerte für akute und chronische Abstoßung nach ISHLT-Klassifikation und Fibrosierung nach Ashcroft/Hübner-Skala für die einzelnen Tiere der Kontrollgruppe sowie zusammenfassend Angabe der Mediane für die gesamte Gruppe zum POD 20

Tier	ISHLT				Hübner
	A	B	C	D	
FW 559	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6
FW 560	n.a.	n.a.	2,0	1,9	6
FW 567	n.a.	n.a.	2,0	1,9	6
FW 568	n.a.	n.a.	1,8	2,0	6
FW 578	n.a.	n.a.	2,0	2,0	7
FW 579	n.a.	n.a.	2,0	2,0	7
FW 580	n.a.	n.a.	2,0	1,9	6
Median	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6,0
Minimum	n.a.	n.a.	1,8	1,9	6,0
Quartile 1	n.a.	n.a.	2,0	1,9	6,0
Quartile 3	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6,5
Maximum	n.a.	n.a.	2,0	2,0	7,0

Tabelle 7.5 Konventionelle Histologie Nilotinibgruppe POD 60

Angabe der Mittelwerte für die chronische Abstoßung nach ISHLT-Klassifikation und Fibrosierung nach Ashcroft/Hübner-Skala für die einzelnen Tiere der Nilotinibgruppe sowie zusammenfassend Angabe der Mediane für die gesamte Gruppe zum POD 60. Akute Abstoßung nicht ausgewertet (n.a.)

Tier	ISHLT				Hübner
	A	B	C	D	
FW 528	n.a.	n.a.	1,3	1,7	5
FW 529	n.a.	n.a.	2,0	1,8	6
FW 530	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6
FW 531	n.a.	n.a.	2,0	1,8	6
FW 532	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6
FW 533	n.a.	n.a.	2,0	2,0	7
FW 552	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6
FW 554	n.a.	n.a.	1,9	1,9	6
FW 555	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6
Median	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6,0
Minimum	n.a.	n.a.	1,3	1,7	5,0
Quartile 1	n.a.	n.a.	2,0	1,8	6,0
Quartile 3	n.a.	n.a.	2,0	2,0	6,0
Maximum	n.a.	n.a.	2,0	2,0	7,0

Tabelle 7.6 Konventionelle Histologie Kontrollgruppe POD 60

Angabe der Mittelwerte für die chronische Abstoßung nach ISHLT-Klassifikation und Fibrosierung nach Ashcroft/Hübner-Skala für die einzelnen Tiere der Kontrollgruppe sowie zusammenfassend Angabe der Mediane für die gesamte Gruppe zum POD 60. Akute Abstoßung nicht ausgewertet (n.a.)

7.2 Messwerte Wachstumsfaktoren

7.2.1 CD117

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	109	100	55	73	75	82,4	19,55
	FW 570	7	13	2	18	10	10,0	5,40
	FW 572	0	34	159	34	3	46,0	58,35
	FW 573	18	17	21	34	51	28,2	12,92
	FW 581	0	65	3	12	51	26,2	26,63
	FW 582	7	86	106	113	47	71,8	39,71
Rechte Lunge	FW 569	0	44	61	53	0	31,6	26,36
	FW 570	59	49	46	58	37	49,8	8,13
	FW 572	19	25	34	30	2	22,0	11,19
	FW 573	29	77	41	56	62	53,0	16,65
	FW 581	149	105	91	119	68	106,4	27,16
	FW 582	27	31	14	1	0	14,6	12,82

Tabelle 7.7 Auszählung CD117 Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der CD117-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	119	84	60	84	148	99,0	30,89
	FW 535	92	22	24	27	49	42,8	26,44
	FW 536	35	18	55	16	63	37,4	19,00
	FW 537	29	25	24	21	29	25,6	3,07
	FW 538	21	24	20	11	41	23,4	9,81
	FW 551	1	3	0	39	9	10,4	14,64
Rechte Lunge	FW 534	149	47	153	168	0	103,4	67,21
	FW 535	16	44	19	45	76	40,0	21,70
	FW 536	16	12	32	34	25	23,8	8,63
	FW 537	0	28	13	39	30	22,0	13,81
	FW 538	46	23	32	49	35	37,0	9,49
	FW 551	0	0	0	2	0	0,4	0,80

Tabelle 7.8 Auszählung CD117 Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der CD117-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	10	0	18	1	0	5,8	7,17
	FW 560	14	29	33	1	33	22,0	12,62
	FW 567	15	8	9	8	16	11,2	3,54
	FW 568	1	18	33	0	29	16,2	13,73
	FW 578	0	0	0	6	0	1,2	2,40
	FW 579	7	0	0	38	12	11,4	14,05
	FW 580	8	1	34	21	17	16,2	11,30
Rechte Lunge	FW 559	0	0	17	15	0	6,4	7,86
	FW 560	77	26	0	0	2	21,0	29,68
	FW 567	9	26	40	32	38	29,0	11,14
	FW 568	39	27	21	55	14	31,2	14,46
	FW 578	0	5	7	19	25	11,2	9,30
	FW 579	61	35	25	37	8	33,2	17,28
	FW 580	0	0	0	37	8	9,0	14,34

Tabelle 7.9 Auszählung CD117 Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der CD117-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	56	99	88	86	18	69,4	29,39
	FW 529	59	58	60	50	44	54,2	6,21
	FW 530	14	28	29	8	28	21,4	8,71
	FW 531	94	51	128	130	125	105,6	30,30
	FW 532	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 533	2	9	131	70	36	49,6	47,20
	FW 552	166	0	7	18	22	42,6	62,19
	FW 554	10	45	76	110	62	60,6	33,12
Rechte Lunge	FW 555	9	14	1	2	21	9,4	7,50
	FW 528	0	21	43	38	36	27,6	15,63
	FW 529	0	31	24	34	35	24,8	12,98
	FW 530	0	34	6	36	13	17,8	14,65
	FW 531	13	16	9	27	22	17,4	6,41
	FW 532	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 533	8	7	5	6	4	6,0	1,41
	FW 552	0	4	12	47	52	23,0	22,04
	FW 554	12	16	22	9	17	15,2	4,45
FW 555	97	46	58	70	69	68,0	16,91	

Tabelle 7.10 Auszählung CD117 Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der CD117-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	0	5	24	22	7	11,6	9,60
	FW 570	75	45	103	112	145	96,0	33,91
	FW 572	24	43	65	31	58	44,2	15,54
	FW 573	0	0	6	59	14	15,8	22,20
	FW 581	132	122	77	104	100	107,0	19,02
	FW 582	0	5	13	0	22	8,0	8,46
POD 60	FW 559	12	2	20	47	10	18,2	15,50
	FW 560	16	16	10	22	36	20,0	8,85
	FW 567	44	45	37	2	0	25,6	20,28
	FW 568	21	23	46	22	4	23,2	13,38
	FW 578	0	22	1	34	17	14,8	12,92
	FW 579	0	0	0	19	3	4,4	7,39
	FW 580	0	0	0	12	0	2,4	4,80

Tabelle 7.11 Auszählung CD117 rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der CD117-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=6)	n.a.	n.a.	n.a.	30,0	12,7	83,1
	Nilotinib (n=6)	37,1	26,7	65,4	40,7	24,4	55,2
	Kontrolle (n=6)	31,5	24,0	41,5	30,4	22,5	39,3
POD 60	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	18,2	9,6	21,6
	Nilotinib (n=7)	11,4	8,5	16,2	21,0	10,1	30,1
	Kontrolle (n=9)	51,9	37,3	62,8	20,4	16,9	25,5

Tabelle 7.12 Gesamtauswertung CD117: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für CD117-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.2.2 PDGF

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	0	1	7	10	4	4,4	3,72
	FW 570	0	0	0	0	2	0,4	0,80
	FW 572	9	163	92	0	34	59,6	60,84
	FW 573	0	2	19	35	89	29,0	32,58
	FW 581	0	7	6	75	151	47,8	58,46
	FW 582	0	0	0	6	5	2,2	2,71
Rechte Lunge	FW 569	0	7	31	28	47	22,6	17,02
	FW 570	81	58	51	17	34	48,2	21,70
	FW 572	0	0	0	4	0	0,8	1,60
	FW 573	0	0	10	0	34	8,8	13,18
	FW 581	0	0	0	0	19	3,8	7,60
	FW 582	1	27	20	4	59	22,2	20,80

Tabelle 7.13 Auszählung PDGF Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der PDGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	0	4	11	0	0	3,0	4,29
	FW 535	2	25	26	69	42	32,8	22,14
	FW 536	9	11	22	20	12	14,8	5,19
	FW 537	0	4	15	11	12	8,4	5,54
	FW 538	11	1	2	4	9	5,4	3,93
	FW 551	17	0	0	5	10	6,4	6,47
Rechte Lunge	FW 534	0	0	6	2	3	2,2	2,23
	FW 535	43	25	11	28	23	26,0	10,28
	FW 536	0	3	10	8	2	4,6	3,77
	FW 537	0	0	0	3	9	2,4	3,50
	FW 538	4	0	0	5	19	5,6	7,00
	FW 551	0	0	0	0	0	0,0	0,00

Tabelle 7.14 Auszählung PDGF Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der PDGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	0	0	0	0	1	0,2	0,40
	FW 560	0	3	42	13	50	21,6	20,54
	FW 567	0	0	0	4	7	2,2	2,86
	FW 568	0	0	9	27	0	7,2	10,50
	FW 578	0	13	2	0	0	3,0	5,06
	FW 579	0	20	0	0	18	7,6	9,33
	FW 580	1	3	9	5	112	26,0	43,08
Rechte Lunge	FW 559	0	0	0	0	10	2,0	4,00
	FW 560	26	24	22	52	6	26,0	14,81
	FW 567	0	0	0	1	8	1,8	3,12
	FW 568	26	19	30	5	0	16,0	11,68
	FW 578	0	0	0	9	0	1,8	3,60
	FW 579	13	0	15	2	0	6,0	6,60
	FW 580	0	0	0	0	0	0,0	0,00

Tabelle 7.15 Auszählung PDGF Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der PDGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	96	66	81	105	57	81,0	17,90
	FW 529	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 530	35	29	28	42	37	34,2	5,19
	FW 531	70	83	30	79	44	61,2	20,68
	FW 532	207	99	46	24	255	126,2	90,26
	FW 533	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 552	0	173	1	44	5	44,6	66,25
	FW 554	0	12	4	42	55	22,6	21,89
Rechte Lunge	FW 528	71	26	25	39	43	40,8	16,67
	FW 529	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 530	69	64	54	8	25	44,0	23,59
	FW 531	37	28	28	5	10	21,6	12,08
	FW 532	7	13	11	2	4	7,4	4,13
	FW 533	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 552	0	0	3	0	2	1,0	1,26
	FW 554	1	2	1	8	3	3,0	2,61
FW 555	0	2	4	2	3	2,2	1,33	

Tabelle 7.16 Auszählung PDGF Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der PDGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 570	0	0	30	39	0	13,8	17,14
	FW 572	0	0	0	52	16	13,6	20,18
	FW 573	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 581	0	0	0	0	1	0,2	0,40
	FW 582	0	0	0	0	0	0,0	0,00
POD 60	FW 559	0	4	6	4	8	4,4	2,65
	FW 560	1	2	13	9	17	8,4	6,18
	FW 567	15	10	31	9	19	16,8	7,96
	FW 568	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 578	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 579	10	5	1	4	8	5,6	3,14
	FW 580	0	0	0	0	0	0,0	0,00

Tabelle 7.17 Auszählung PDGF rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der PDGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlung der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=6)	n.a.	n.a.	n.a.	0,1	0,0	13,6
	Nilotinib (n=6)	16,7	2,8	43,1	15,5	5,1	22,5
	Kontrolle (n=6)	7,4	5,7	13,2	3,5	2,3	5,4
POD 60	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	4,4	0,0	7,0
	Nilotinib (n=7)	7,2	2,6	14,6	2,0	1,8	11,0
	Kontrolle (n=9)	44,6	28,4	71,1	7,4	2,6	31,2

Tabelle 7.18 Gesamtauswertung PDGF: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für PDGF-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.2.3 PDGFR

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	0	0	0	0	67	13,4	26,80
	FW 570	8	12	1	51	69	28,2	26,81
	FW 572	0	1	41	78	79	39,8	34,89
	FW 573	0	38	214	194	0	89,2	94,97
	FW 581	69	249	60	191	81	130,0	76,03
	FW 582	0	0	24	68	0	18,4	26,48
Rechte Lunge	FW 569	36	136	146	126	139	116,6	40,81
	FW 570	86	108	107	98	75	94,8	12,67
	FW 572	0	7	162	157	117	88,6	71,25
	FW 573	131	157	154	161	167	154,0	12,30
	FW 581	0	0	7	43	93	28,6	35,94
	FW 582	0	127	126	101	79	86,6	46,80

Tabelle 7.19 Auszählung PDGFR Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der PDGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	12	17	23	26	25	20,6	5,31
	FW 535	0	0	3	5	0	1,6	2,06
	FW 536	0	2	0	1	0	0,6	0,80
	FW 537	8	9	10	0	1	5,6	4,22
	FW 538	2	15	9	0	0	5,2	5,91
	FW 551	0	0	0	0	1	0,2	0,40
Rechte Lunge	FW 534	84	99	42	74	45	68,8	22,16
	FW 535	82	42	12	64	79	55,8	26,08
	FW 536	25	16	12	13	3	13,8	7,08
	FW 537	1	28	19	34	18	20,0	11,19
	FW 538	6	1	9	6	6	5,6	2,58
	FW 551	0	0	20	4	4	5,6	7,42

Tabelle 7.20 Auszählung PDGFR Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der PDGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	0	3	0	0	7	2,0	2,76
	FW 560	81	64	162	74	91	94,4	34,93
	FW 567	0	13	2	2	2	3,8	4,66
	FW 568	0	69	25	44	40	35,6	22,74
	FW 578	7	30	47	88	26	39,6	27,34
	FW 579	0	16	3	38	13	14,0	13,40
	FW 580	0	0	0	0	0	0,0	0,00
Rechte Lunge	FW 559	7	29	35	19	47	27,4	13,65
	FW 560	121	247	193	92	134	157,4	55,58
	FW 567	186	164	142	144	135	154,2	18,59
	FW 568	73	57	56	38	68	58,4	12,08
	FW 578	0	6	12	76	37	26,2	27,90
	FW 579	162	76	53	49	16	71,2	49,27
	FW 580	0	1	0	0	1	0,4	0,49

Tabelle 7.21 Auszählung PDGFR Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der PDGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	82	45	80	55	37	59,8	18,24
	FW 529	42	8	54	34	22	32,0	15,90
	FW 530	22	12	26	9	16	17,0	6,26
	FW 531	196	160	98	138	102	138,8	36,72
	FW 532	259	55	69	180	55	123,6	82,35
	FW 533	17	38	126	89	20	58,0	42,68
	FW 552	70	0	104	42	7	44,6	38,94
	FW 554	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Rechte Lunge	FW 528	138	123	88	121	108	115,6	16,76
	FW 529	66	61	44	53	67	58,2	8,66
	FW 530	46	55	29	44	40	42,8	8,47
	FW 531	180	191	186	103	158	163,6	32,33
	FW 532	10	14	22	167	96	61,8	61,30
	FW 533	113	46	20	108	64	70,2	35,79
	FW 552	51	74	93	134	75	85,4	27,72
	FW 554	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 555	50	44	36	41	51	44,4	5,61

Tabelle 7.22 Auszählung PDGFR Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der PDGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	0	0	0	69	0	13,8	27,60
	FW 570	0	0	5	0	102	21,4	40,35
	FW 572	0	0	0	0	82	16,4	32,80
	FW 573	0	0	4	161	152	63,4	76,08
	FW 581	0	0	0	67	162	45,8	63,63
	FW 582	0	0	0	31	49	16,0	20,41
POD 60	FW 559	1	13	19	13	27	14,6	8,52
	FW 560	0	0	15	45	42	20,4	19,66
	FW 567	35	48	20	0	44	29,4	17,57
	FW 568	0	10	34	49	38	26,2	18,27
	FW 578	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 579	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 580	0	0	0	0	0	0,0	0,00

Tabelle 7.23 Auszählung PDGFR rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der PDGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlung der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=6)	n.a.	n.a.	n.a.	18,9	16,1	39,7
	Nilotinib (n=6)	34,0	20,9	76,9	91,7	87,1	111,2
	Kontrolle (n=6)	3,4	0,9	5,5	16,9	7,7	46,9
POD 60	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	14,6	0,0	23,3
	Nilotinib (n=7)	14,0	2,9	37,6	58,4	26,8	112,7
	Kontrolle (n=9)	51,3	29,8	75,8	66,0	54,8	93,0

Tabelle 7.24 Gesamtauswertung PDGFR: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für PDGFR-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.2.4 VEGF

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	0	69	100	37	28	46,8	34,53
	FW 570	24	4	49	5	13	19,0	16,63
	FW 572	0	7	34	53	91	37,0	33,02
	FW 573	0	1	0	0	21	4,4	8,31
	FW 581	0	61	27	29	67	36,8	24,53
	FW 582	0	43	32	0	0	15,0	18,70
Rechte Lunge	FW 569	0	0	1	14	10	5,0	5,87
	FW 570	44	24	38	12	20	27,6	11,76
	FW 572	6	10	35	19	95	33,0	32,56
	FW 573	0	16	18	17	16	13,4	6,74
	FW 581	0	43	145	122	67	75,4	52,58
	FW 582	26	23	0	0	2	10,2	11,74

Tabelle 7.25 Auszählung VEGF Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der VEGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	33	7	47	19	54	32,0	17,34
	FW 535	1	0	0	0	2	0,6	0,80
	FW 536	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 537	44	18	3	14	7	17,2	14,39
	FW 538	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 551	0	8	1	0	0	1,8	3,12
Rechte Lunge	FW 534	0	1	6	1	1	1,8	2,14
	FW 535	5	3	2	0	0	2,0	1,90
	FW 536	0	0	0	0	1	0,2	0,40
	FW 537	4	3	1	0	0	1,6	1,62
	FW 538	2	1	0	0	0	0,6	0,80
	FW 551	0	0	4	0	0	0,8	1,60

Tabelle 7.26 Auszählung VEGF Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der VEGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	0	0	1	0	3	0,8	1,17
	FW 560	1	0	15	15	23	10,8	8,91
	FW 567	0	1	41	1	25	13,6	16,63
	FW 568	0	4	6	0	0	2,0	2,53
	FW 578	3	36	5	41	0	17,0	17,70
	FW 579	0	0	6	4	0	2,0	2,53
	FW 580	30	9	106	64	0	41,8	38,93
Rechte Lunge	FW 559	0	2	2	4	11	3,8	3,82
	FW 560	24	35	11	17	11	19,6	9,07
	FW 567	0	0	12	0	11	4,6	5,64
	FW 568	7	7	7	14	17	10,4	4,27
	FW 578	0	0	0	0	9	1,8	3,60
	FW 579	0	0	0	0	1	0,2	0,40
	FW 580	0	0	1	0	7	1,6	2,73

Tabelle 7.27 Auszählung VEGF Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der VEGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	38	89	25	23	23	39,6	25,33
	FW 529	5	5	0	11	1	4,4	3,88
	FW 530	2	5	2	0	2	2,2	1,60
	FW 531	16	29	21	33	42	28,2	9,11
	FW 532	114	80	90	128	55	93,4	25,64
	FW 533	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 552	0	128	0	23	2	30,6	49,47
	FW 554	0	0	15	5	2	4,4	5,61
Rechte Lunge	FW 555	0	12	9	0	1	4,4	5,08
	FW 528	16	10	0	2	0	5,6	6,37
	FW 529	0	2	0	0	0	0,4	0,80
	FW 530	1	0	0	0	2	0,6	0,80
	FW 531	3	0	4	10	1	3,6	3,50
	FW 532	2	1	7	2	2	2,8	2,14
	FW 533	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 552	0	0	0	0	1	0,2	0,40
	FW 554	7	4	1	0	0	2,4	2,73
FW 555	18	28	19	14	14	18,6	5,12	

Tabelle 7.28 Auszählung VEGF Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der VEGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	1	0	1	4	0	1,2	1,47
	FW 570	4	5	6	0	9	4,8	2,93
	FW 572	64	81	78	3	7	46,6	34,47
	FW 573	27	0	0	16	14	11,4	10,31
	FW 581	6	2	48	53	112	44,2	39,82
	FW 582	0	0	0	0	0	0,0	0,00
POD 60	FW 559	0	0	0	5	0	1,0	2,00
	FW 560	3	12	25	61	19	24,0	19,90
	FW 567	31	15	6	21	28	20,2	9,02
	FW 568	0	7	12	2	6	5,4	4,18
	FW 578	0	0	1	0	0	0,2	0,40
	FW 579	0	0	0	0	1	0,2	0,40
	FW 580	3	0	0	12	0	3,0	4,65

Tabelle 7.29 Auszählung VEGF rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der VEGF-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlung der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=6)	n.a.	n.a.	n.a.	8,1	2,1	36,0
	Nilotinib (n=6)	27,9	16,0	37,0	20,5	11,0	31,7
	Kontrolle (n=6)	1,2	0,2	13,4	1,2	0,7	1,8
POD 60	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	3,0	0,6	12,8
	Nilotinib (n=7)	10,8	2,0	15,3	3,8	1,7	7,5
	Kontrolle (n=9)	16,3	4,4	32,9	2,6	0,6	4,1

Tabelle 7.30 Gesamtauswertung VEGF: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für VEGF-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.2.5 VEGFR

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	0	0	0	16	60	15,2	23,24
	FW 570	0	3	12	24	2	8,2	8,91
	FW 572	0	0	8	0	0	1,6	3,20
	FW 573	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 581	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 582	0	0	0	6	14	4,0	5,51
Rechte Lunge	FW 569	0	0	5	9	12	5,2	4,79
	FW 570	7	12	0	0	2	4,2	4,66
	FW 572	0	0	3	0	0	0,6	1,20
	FW 573	0	0	0	13	0	2,6	5,20
	FW 581	8	6	5	3	74	19,2	27,45
	FW 582	5	4	1	1	0	2,2	1,94

Tabelle 7.31 Auszählung VEGFR Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der VEGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	4	29	21	11	71	27,2	23,50
	FW 535	25	28	7	25	50	27,0	13,70
	FW 536	0	19	5	10	21	11,0	8,02
	FW 537	19	10	23	62	24	27,6	17,90
	FW 538	13	28	16	23	28	21,6	6,15
	FW 551	0	0	0	0	3	0,6	1,20
Rechte Lunge	FW 534	0	19	17	6	4	9,2	7,47
	FW 535	0	3	0	5	13	4,2	4,79
	FW 536	4	1	0	2	5	2,4	1,85
	FW 537	27	28	19	5	4	16,6	10,37
	FW 538	0	0	2	1	0	0,6	0,80
	FW 551	0	0	0	0	0	0,0	0,00

Tabelle 7.32 Auszählung VEGFR Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der VEGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	0	1	0	14	10	5,0	5,87
	FW 560	29	5	31	15	1	16,2	12,17
	FW 567	7	39	9	7	5	13,4	12,86
	FW 568	4	0	0	1	1	1,2	1,47
	FW 578	0	5	9	11	18	8,6	6,02
	FW 579	0	0	2	8	9	3,8	3,92
	FW 580	2	2	0	5	0	1,8	1,83
Rechte Lunge	FW 559	0	2	0	1	2	1,0	0,89
	FW 560	0	5	0	1	7	2,6	2,87
	FW 567	0	1	6	5	7	3,8	2,79
	FW 568	12	0	4	2	12	6,0	5,06
	FW 578	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 579	0	0	0	0	1	0,2	0,40
	FW 580	0	0	0	0	0	0,0	0,00

Tabelle 7.33 Auszählung VEGFR Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der VEGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	113	38	45	38	72	61,2	28,77
	FW 529	33	4	11	5	44	19,4	16,16
	FW 530	3	17	14	11	23	13,6	6,62
	FW 531	5	45	48	51	13	32,4	19,37
	FW 532	0	40	0	15	0	11,0	15,62
	FW 533	8	3	26	6	7	10,0	8,17
	FW 552	1	14	41	81	42	35,8	27,55
	FW 554	0	0	10	19	21	10,0	8,97
Rechte Lunge	FW 528	64	32	9	22	18	29,0	18,99
	FW 529	70	25	10	41	14	32,0	21,83
	FW 530	0	0	3	0	2	1,0	1,26
	FW 531	3	11	13	0	7	6,8	4,83
	FW 532	6	1	6	0	0	2,6	2,80
	FW 533	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 552	0	0	3	1	3	1,4	1,36
	FW 554	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 555	3	0	0	1	10	2,8	3,76

Tabelle 7.34 Auszählung VEGFR Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der VEGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	0	1	2	2	0	1,0	0,89
	FW 570	4	4	5	1	9	4,6	2,58
	FW 572	2	1	1	0	0	0,8	0,75
	FW 573	0	48	17	2	2	13,8	18,16
	FW 581	26	3	0	15	2	9,2	9,91
	FW 582	1	1	0	7	2	2,2	2,48
POD 60	FW 559	5	0	1	0	0	1,2	1,94
	FW 560	0	0	15	15	0	6,0	7,35
	FW 567	16	1	19	20	25	16,2	8,13
	FW 568	5	11	10	9	3	7,6	3,07
	FW 578	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 579	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 580	0	0	0	0	0	0,0	0,00

Tabelle 7.35 Auszählung VEGFR rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der VEGFR-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=6)	n.a.	n.a.	n.a.	3,4	1,6	8,1
	Nilotinib (n=6)	2,8	0,4	7,2	3,4	2,3	5,0
	Kontrolle (n=6)	24,3	13,7	27,2	3,3	1,1	8,0
POD 60	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	1,2	0,0	6,8
	Nilotinib (n=7)	5,0	2,8	11,0	1,0	0,1	3,2
	Kontrolle (n=9)	13,6	10,0	32,4	2,6	1,0	6,8

Tabelle 7.36 Gesamtauswertung VEGFR: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für VEGFR-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.2.6 Intensitäten

POD 20	CD117			PDGF			PDGFR			VEGF			VEGFR		
	S	K	N	S	K	N	S	K	N	S	K	N	S	K	N
BE	+++	+++	+++	++	+++	+++	-	+++	++	+	++	+	+	++	+
PZ Typ I	-	+++	+	-	+	+	-	++	++	-	++	+	-	+	-
PZ Typ II	+	+++	++	-	++	++	+	++	++	+	++	++	+	++	+
IZ	-	+++	++	-	++	++	-	++	++	-	++	++	-	++	-
GE	+	+++	+++	-	++	++	-	+++	++	+	++	++	-	+++	+
AM	-	+++	++	-	+	-	-	++	+	-	+	++	++	+	+
MNCs	-	+++	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	++	-
MZ	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-

Tabelle 7.37 Intensitäten Wachstumsfaktoren für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe POD 20

Farbintensitäten (Grad – bis +++) aller Wachstumsfaktoren zum POD 20 in den verschiedenen Zelltypen für Spender- (S), Nilotinib- (N) und Kontroll- (K) Gruppe.

BE = Bronchialepithel, PZ = Pneumozyten, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

POD 60	CD117			PDGF			PDGFR			VEGF			VEGFR		
	S	K	N	S	K	N	S	K	N	S	K	N	S	K	N
BE	+++	+++	+++	++	+++	+	+	+++	+	++	++	+++	++	+++	+
PZ Typ I	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
PZ Typ II	++	+	+	-	++	-	+	++	+	+	+	-	+	+	-
IZ	-	++	++	-	++	+	-	++	+	-	+	++	-	++	+
GE	-	++	++	-	++	+	-	++	+	-	+	+	-	++	+
AM	-	+	-	-	+	-	-	++	-	-	-	+	+	+	-
MNCs	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
MZ	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 7.38 Intensitäten Wachstumsfaktoren für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe POD 60

Farbintensitäten (Grad – bis +++) aller Wachstumsfaktoren zum POD 20 in den verschiedenen Zelltypen für Spender- (S), Nilotinib- (N) und Kontroll- (K) Gruppe.

BE = Bronchialepithel, PZ = Pneumozyten, IZ = interstitielle Zellen, GE = Gefäßendothel, AM = Alveolarmakrophagen, MNZ = andere mononukleäre Zellen, MZ = metaplastische Zellen

7.3 Messwerte oxidative Stressmarker

7.3.1 MPO

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	31	2	3	8	5	9,8	10,80
	FW 570	46	11	25	9	63	30,8	20,83
	FW 572	52	60	16	36	6	34,0	20,55
	FW 573	68	41	51	39	0	39,8	22,39
	FW 581	0	46	4	2	6	11,6	17,32
	FW 582	54	52	19	0	12	27,4	21,78
Rechte Lunge	FW 569	2	2	3	6	14	5,4	4,54
	FW 570	9	3	3	2	2	3,8	2,64
	FW 572	5	0	0	0	0	1,0	2,00
	FW 573	1	0	3	1	0	1,0	1,10
	FW 581	1	11	14	18	45	17,8	14,72
	FW 582	19	26	29	27	33	26,8	4,58

Tabelle 7.39 Auszählung MPO Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der MPO-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	55	52	62	51	29	49,8	11,09
	FW 535	40	33	28	38	23	32,4	6,28
	FW 536	21	32	36	24	8	24,2	9,72
	FW 537	36	46	27	23	23	31,0	8,88
	FW 538	35	35	50	45	56	44,2	8,28
	FW 551	3	5	11	26	38	16,6	13,40
Rechte Lunge	FW 534	31	29	42	33	18	30,6	7,71
	FW 535	1	3	8	34	9	11,0	11,88
	FW 536	19	21	7	16	37	20,0	9,76
	FW 537	54	61	3	18	42	35,6	21,90
	FW 538	19	32	20	9	30	22,0	8,32
	FW 551	3	2	2	6	2	3,0	1,55

Tabelle 7.40 Auszählung MPO Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der MPO-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	2	2	1	0	1	1,2	0,75
	FW 560	4	10	9	2	4	5,8	3,12
	FW 567	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 568	17	7	21	12	34	18,2	9,20
	FW 578	1	4	8	3	112	25,6	43,26
	FW 579	14	14	5	8	37	15,6	11,25
	FW 580	0	0	4	0	1	1,0	1,55
Rechte Lunge	FW 559	8	17	7	31	3	13,2	10,01
	FW 560	22	10	20	1	6	11,8	8,06
	FW 567	5	13	7	6	7	7,6	2,80
	FW 568	0	0	3	1	3	1,4	1,36
	FW 578	15	21	23	14	4	15,4	6,65
	FW 579	44	26	19	26	21	27,2	8,84
	FW 580	0	5	6	1	3	3,0	2,28

Tabelle 7.41 Auszählung MPO Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der MPO-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	8	11	11	6	12	9,6	2,24
	FW 529	7	2	0	0	1	2,0	2,61
	FW 530	31	1	1	13	5	10,2	11,29
	FW 531	1	12	13	6	3	7,0	4,77
	FW 532	2	8	5	2	15	6,4	4,84
	FW 533	6	23	42	123	90	56,8	43,42
	FW 552	0	2	0	0	1	0,6	0,80
	FW 554	22	20	8	6	7	12,6	6,92
	FW 555	18	2	16	9	5	10,0	6,16
Rechte Lunge	FW 528	9	7	9	3	7	7,0	2,19
	FW 529	16	5	3	8	11	8,6	4,59
	FW 530	19	54	36	13	4	25,2	17,79
	FW 531	18	24	22	25	20	21,8	2,56
	FW 532	24	22	37	37	12	26,4	9,56
	FW 533	27	8	6	13	32	17,2	10,42
	FW 552	7	9	4	1	4	5,0	2,76
	FW 554	16	0	11	20	13	12,0	6,72
	FW 555	9	3	0	0	0	2,4	3,50

Tabelle 7.42 Auszählung MPO Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der MPO-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	1	1	0	0	0	0,4	0,49
	FW 570	0	2	1	3	0	1,2	1,17
	FW 572	0	0	2	0	0	0,4	0,80
	FW 573	0	1	0	0	0	0,2	0,40
	FW 581	1	4	21	21	0	9,4	9,56
	FW 582	0	11	4	0	0	3,0	4,29
	FW 551	3	3	3	7	3	3,8	0,00
POD 60	FW 559	3	33	55	15	19	25,0	17,80
	FW 560	7	1	3	12	3	5,2	3,92
	FW 567	12	7	13	9	5	9,2	2,99
	FW 568	0	6	5	0	2	2,6	2,50
	FW 578	0	0	0	2	0	0,4	0,80
	FW 579	7	3	5	12	8	7,0	3,03
	FW 580	3	8	7	5	6	5,8	1,72
	FW 552	0	3	2	7	2	2,8	2,32
	FW 554	6	6	16	22	7	11,4	6,50
	FW 555	2	2	9	8	15	7,2	4,87

Tabelle 7.43 Auszählung MPO rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der MPO-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlung der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	1,2	0,4	3,4
	Nilotinib (n=6)	29,1	15,6	33,2	4,6	1,7	14,7
	Kontrolle (n=6)	31,7	25,9	41,3	21,0	13,3	28,5
POD 60	Spender (n=10)	n.a.	n.a.	n.a.	6,4	3,4	8,7
	Nilotinib (n=7)	10,7	2,4	17,6	11,8	5,3	14,3
	Kontrolle (n=9)	9,6	6,4	10,2	12,0	7,0	21,8

Tabelle 7.44 Gesamtauswertung MPO: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für MPO-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.3.2 TGM-2

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	0	1	0	0	5	1,2	1,94
	FW 570	0	0	9	0	2	2,2	3,49
	FW 572	0	1	0	0	0	0,2	0,40
	FW 573	10	0	0	6	13	5,8	5,23
	FW 581	0	0	0	7	2	1,8	2,71
	FW 582	8	61	5	62	56	38,4	26,14
Rechte Lunge	FW 569	0	2	0	0	0	0,4	0,80
	FW 570	2	0	0	0	0	0,4	0,80
	FW 572	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 573	0	2	0	4	2	1,6	1,50
	FW 581	4	7	4	25	2	8,4	8,45
	FW 582	20	4	3	18	2	9,4	7,89

Tabelle 7.45 Auszählung TGM-2 Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der TGM-2-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	0	0	0	0	27	5,4	10,80
	FW 535	46	17	53	71	99	57,2	27,19
	FW 536	0	3	6	46	18	14,6	16,85
	FW 537	36	27	59	60	63	49,0	14,63
	FW 538	4	35	18	42	28	25,4	13,32
	FW 551	9	29	28	4	6	15,2	10,98
Rechte Lunge	FW 534	5	14	5	0	7	6,2	4,53
	FW 535	26	13	48	49	26	32,4	13,98
	FW 536	0	2	0	4	1	1,4	1,50
	FW 537	1	0	1	10	0	2,4	3,83
	FW 538	11	11	0	23	11	11,2	7,28
	FW 551	1	1	6	8	3	3,8	2,79

Tabelle 7.46 Auszählung TGM-2 Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der TGM-2-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	0	2	13	108	3	25,2	41,64
	FW 560	102	67	68	27	211	95,0	62,68
	FW 567	67	33	38	68	129	67,0	34,18
	FW 568	24	215	107	97	44	97,4	66,58
	FW 578	164	119	121	119	11	106,8	50,89
	FW 579	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	FW 580	63	66	66	22	56	54,6	16,70
Rechte Lunge	FW 559	0	3	7	3	0	2,6	2,58
	FW 560	7	12	6	8	0	6,6	3,88
	FW 567	1	1	5	23	5	7,0	8,20
	FW 568	0	1	3	8	29	8,2	10,76
	FW 578	8	10	9	22	10	11,8	5,15
	FW 579	4	1	5	4	6	4,0	1,67
	FW 580	43	25	36	18	56	35,6	13,37

Tabelle 7.47 Auszählung TGM-2 Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der TGM-2-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	197	85	74	49	57	92,4	53,80
	FW 529	69	107	32	49	89	69,2	26,88
	FW 530	66	38	48	8	73	46,6	22,97
	FW 531	88	31	99	94	71	76,6	24,68
	FW 532	53	56	212	71	70	92,4	60,23
	FW 533	47	119	68	87	37	71,6	29,32
	FW 552	4	79	96	79	106	72,8	35,92
	FW 554	6	20	54	127	124	66,2	50,88
	FW 555	94	54	16	13	53	46,0	29,69
Rechte Lunge	FW 528	34	82	11	8	4	27,8	29,04
	FW 529	20	86	41	9	4	32,0	29,85
	FW 530	8	9	9	3	12	8,2	2,93
	FW 531	28	19	0	22	3	14,4	10,97
	FW 532	11	33	51	2	1	19,6	19,47
	FW 533	34	36	39	72	31	42,4	15,03
	FW 552	10	3	1	1	0	3,0	3,63
	FW 554	0	0	0	2	2	0,8	0,98
	FW 555	3	2	4	6	0	3,0	2,00

Tabelle 7.48 Auszählung TGM-2 Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der TGM-2-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 570	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 572	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 573	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 581	0	0	0	0	4	0,8	1,60
	FW 582	1	0	0	0	1	0,4	0,49
	FW 551	0	0	0	0	0	0,0	0,00
POD 60	FW 559	4	5	0	1	0	2,0	2,10
	FW 560	0	3	0	1	12	3,2	4,53
	FW 567	0	0	2	1	0	0,6	0,80
	FW 568	1	0	4	0	0	1,0	1,55
	FW 578	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 579	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 580	0	1	0	14	1	3,2	5,42
	FW 552	1	0	7	2	2	2,4	2,42
	FW 554	1	0	0	0	6	1,4	2,33
	FW 555	0	0	0	1	0	0,2	0,40

Tabelle 7.49 Auszählung TGM-2 rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der TGM-2-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	0,0	0,0	0,2
	Nilotinib (n=6)	2,0	1,4	4,9	1,0	0,4	6,7
	Kontrolle (n=6)	20,3	14,8	43,1	5,0	2,8	10,0
POD 60	Spender (n=10)	n.a.	n.a.	n.a.	1,2	0,3	2,3
	Nilotinib (n=7)	81,0	57,7	96,8	7,0	5,3	10,0
	Kontrolle (n=9)	71,6	66,2	76,6	14,4	3,0	27,8

Tabelle 7.50 Gesamtauswertung TGM-2: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für TGM-2-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.3.3 HO-1

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	70	129	88	32	33	70,4	36,38
	FW 570	17	32	90	2	92	46,6	37,48
	FW 572	12	43	48	10	47	32,0	17,24
	FW 573	82	58	49	89	21	59,8	24,38
	FW 581	34	85	36	48	56	51,8	18,44
	FW 582	8	30	24	17	30	21,8	8,40
Rechte Lunge	FW 569	0	5	42	7	61	23,0	24,14
	FW 570	54	46	1	23	0	24,8	22,30
	FW 572	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 573	0	37	0	0	0	7,4	14,80
	FW 581	2	9	12	37	47	21,4	17,42
	FW 582	72	7	6	0	3	17,6	27,31

Tabelle 7.51 Auszählung HO-1 Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der HO-1-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	62	132	98	42	52	77,2	33,29
	FW 535	30	127	93	88	113	90,2	33,20
	FW 536	56	59	62	51	47	55,0	5,40
	FW 537	48	79	64	97	94	76,4	18,45
	FW 538	36	25	37	54	64	43,2	13,93
	FW 551	0	18	15	6	51	18,0	17,70
Rechte Lunge	FW 534	38	0	10	32	75	31,0	26,03
	FW 535	25	69	80	51	13	47,6	25,41
	FW 536	29	2	43	13	4	18,2	15,64
	FW 537	15	7	69	9	22	24,4	22,91
	FW 538	1	72	26	29	16	28,8	23,71
	FW 551	0	1	4	7	9	4,2	3,43

Tabelle 7.52 Auszählung HO-1 Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der HO-1-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	8	12	10	8	5	8,6	2,33
	FW 560	98	38	58	45	14	50,6	27,68
	FW 567	1	2	4	3	0	2,0	1,41
	FW 568	10	56	18	39	23	29,2	16,41
	FW 578	0	17	39	4	4	12,8	14,30
	FW 579	9	16	24	18	31	19,6	7,45
	FW 580	19	11	23	8	13	14,8	5,46
Rechte Lunge	FW 559	37	2	3	23	76	28,2	27,24
	FW 560	13	8	8	1	37	13,4	12,40
	FW 567	3	2	3	3	2	2,6	0,49
	FW 568	0	7	4	1	0	2,4	2,73
	FW 578	0	1	32	1	3	7,4	12,34
	FW 579	3	4	2	6	11	5,2	3,19
	FW 580	18	37	18	15	82	34,0	25,24

Tabelle 7.53 Auszählung HO-1 Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der HO-1-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	88	41	55	63	43	58,0	17,02
	FW 529	36	74	83	71	56	64,0	16,48
	FW 530	63	39	72	62	34	54,0	14,79
	FW 531	61	39	47	52	48	49,4	7,17
	FW 532	20	89	93	99	82	76,6	28,83
	FW 533	34	63	91	48	85	64,2	21,57
	FW 552	49	10	61	31	72	44,6	22,01
	FW 554	11	36	38	35	56	35,2	14,33
Rechte Lunge	FW 528	63	59	37	59	70	57,6	11,06
	FW 529	76	134	19	81	61	74,2	37,00
	FW 530	112	69	81	92	50	80,8	20,91
	FW 531	48	36	44	70	41	47,8	11,77
	FW 532	79	35	94	32	112	70,4	31,90
	FW 533	61	50	44	34	54	48,6	9,16
	FW 552	35	104	67	61	34	60,2	25,64
	FW 554	1	8	41	18	25	18,6	13,89
FW 555	26	10	16	22	2	15,2	8,54	

Tabelle 7.54 Auszählung HO-1 Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der HO-1-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	0	6	0	0	0	1,2	2,40
	FW 570	8	7	3	28	29	15,0	11,15
	FW 572	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 573	12	4	0	0	1	3,4	4,54
	FW 581	22	1	5	0	4	6,4	8,01
	FW 582	42	23	48	28	44	37,0	9,72
	FW 551	4	4	16	1	4	5,8	5,23
POD 60	FW 559	7	7	16	5	5	8,0	4,10
	FW 560	4	4	1	7	4	4,0	1,90
	FW 567	1	5	9	16	5	7,2	5,08
	FW 568	1	0	11	54	0	13,2	20,82
	FW 578	0	3	1	6	0	2,0	2,28
	FW 579	0	1	14	0	0	3,0	5,51
	FW 580	1	7	0	7	13	5,6	4,72
	FW 552	13	33	40	35	11	26,4	11,99
	FW 554	36	25	23	30	56	34,0	11,88
	FW 555	30	31	27	2	12	20,4	11,46

Tabelle 7.55 Auszählung HO-1 rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der HO-1-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlung der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	5,8	2,3	10,7
	Nilotinib (n=6)	49,2	35,7	57,8	19,5	10,0	22,6
	Kontrolle (n=6)	65,7	46,2	77,0	26,6	19,8	30,5
POD 60	Spender (n=10)	n.a.	n.a.	n.a.	7,6	4,4	18,6
	Nilotinib (n=7)	14,8	10,7	24,4	7,4	3,9	20,8
	Kontrolle (n=9)	54,0	44,6	64,0	57,6	47,8	70,4

Tabelle 7.56 Gesamtauswertung HO-1: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für HO-1-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.3.4 Eisen

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 569	24	4	17	1	11	11,4	8,40
	FW 570	0	0	39	10	10	11,8	14,32
	FW 572	13	19	7	14	0	10,6	6,53
	FW 573	48	8	0	12	10	15,6	16,70
	FW 581	3	11	24	5	1	8,8	8,30
	FW 582	0	2	3	2	8	3,0	2,68
Rechte Lunge	FW 569	93	0	30	0	30	30,6	33,96
	FW 570	0	4	0	66	0	14,0	26,05
	FW 572	1	18	0	1	21	8,2	9,28
	FW 573	58	30	43	1	33	33,0	18,75
	FW 581	1	4	45	0	0	10,0	17,56
	FW 582	0	0	12	64	0	15,2	24,84

Tabelle 7.57 Auszählung Eisen Nilotinibgruppe POD 20

Anzahl der Eisen-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 534	22	5	27	0	9	12,6	10,25
	FW 535	80	34	10	34	7	33,0	26,14
	FW 536	5	31	26	10	10	16,4	10,17
	FW 537	21	2	6	1	1	6,2	7,63
	FW 538	0	2	2	25	0	5,8	9,64
	FW 551	0	5	3	7	9	4,8	3,12
Rechte Lunge	FW 534	16	7	19	67	10	23,8	22,01
	FW 535	0	1	1	1	0	0,6	0,49
	FW 536	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 537	0	54	87	0	0	28,2	36,08
	FW 538	6	0	78	1	0	17,0	30,58
	FW 551	0	1	0	3	3	1,4	1,36

Tabelle 7.58 Auszählung Eisen Kontrollgruppe POD 20

Anzahl der Eisen-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 20

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 559	33	96	80	44	79	66,4	23,82
	FW 560	201	160	160	141	28	138,0	58,39
	FW 567	77	30	55	63	25	50,0	19,74
	FW 568	129	123	23	27	40	68,4	47,40
	FW 578	129	110	218	182	36	135,0	62,55
	FW 579	38	33	20	109	97	59,4	36,28
	FW 580	276	218	251	164	144	210,6	50,14
Rechte Lunge	FW 559	52	22	44	37	84	47,8	20,61
	FW 560	117	29	151	135	92	104,8	42,67
	FW 567	3	4	62	54	0	24,6	27,42
	FW 568	79	45	67	13	69	54,6	23,58
	FW 578	71	11	17	46	47	38,4	21,92
	FW 579	31	0	42	89	25	37,4	29,25
	FW 580	131	43	133	81	64	90,4	36,04

Tabelle 7.59 Auszählung Eisen Nilotinibgruppe POD 60

Anzahl der Eisen-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Nilotinibgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
Linke Lunge	FW 528	115	118	151	99	64	109,4	28,30
	FW 529	142	220	190	209	189	190,0	26,71
	FW 530	205	173	238	263	141	204,0	43,74
	FW 531	81	180	169	63	60	110,6	52,78
	FW 532	133	135	66	124	185	128,6	37,90
	FW 533	88	121	121	43	175	109,6	43,45
	FW 552	111	158	243	171	169	170,4	42,32
	FW 554	54	257	93	48	77	105,8	77,30
Rechte Lunge	FW 555	188	24	92	36	64	80,8	58,54
	FW 528	14	0	9	4	4	6,2	4,83
	FW 529	44	100	204	191	110	129,8	59,82
	FW 530	29	63	25	46	26	37,8	14,72
	FW 531	29	5	5	1	38	15,6	14,96
	FW 532	22	50	43	81	51	49,4	18,94
	FW 533	0	0	2	2	5	1,8	1,83
	FW 552	16	0	9	0	0	5,0	6,51
	FW 554	100	72	1	87	79	67,8	34,67
FW 555	34	18	14	0	25	18,2	11,36	

Tabelle 7.60 Auszählung Eisen Kontrollgruppe POD 60

Anzahl der Eisen-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro linker und rechter Lunge der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro Lunge der Kontrollgruppe zum POD 60

	Tier	1	2	3	4	5	Mittelwert	STABW
POD 20	FW 569	0	1	0	0	0	0,2	0,40
	FW 570	1	0	0	0	0	0,2	0,40
	FW 572	0	0	1	0	0	0,2	0,40
	FW 573	0	2	0	0	12	2,8	4,66
	FW 581	0	0	0	4	0	0,8	1,60
	FW 582	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 551	0	0	0	0	2	0,4	0,80
POD 60	FW 559	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 560	1	1	0	0	0	0,4	0,49
	FW 567	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 568	7	1	0	0	0	1,6	2,73
	FW 578	0	4	0	1	0	1,0	1,55
	FW 579	1	0	0	0	0	0,2	0,40
	FW 580	0	15	12	0	31	11,6	11,46
	FW 552	0	0	0	1	0	0,2	0,40
	FW 554	0	0	0	0	0	0,0	0,00
	FW 555	0	0	0	0	0	0,0	0,00

Tabelle 7.61 Auszählung Eisen rechte Spenderlungen POD 20 und POD 60

Anzahl der Eisen-positiven Zellen in jeweils 5 Gesichtsfeldern pro rechter Spenderlung der einzelnen Tiere sowie Angabe der Mittelwerte pro rechter Lunge der Spendertiere zum POD 20 und POD 60

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
POD 20	Spender (n=7)	n.a.	n.a.	n.a.	0,2	0,2	0,6
	Nilotinib (n=6)	11,0	9,3	11,7	14,6	11,0	26,8
	Kontrolle (n=6)	9,4	5,9	15,5	9,2	0,8	22,1
POD 60	Spender (n=10)	n.a.	n.a.	n.a.	0,2	0,0	0,9
	Nilotinib (n=7)	68,4	62,9	136,5	47,8	37,9	72,5
	Kontrolle (n=9)	110,6	109,4	170,4	18,2	6,2	49,4

Tabelle 7.62 Gesamtauswertung Eisen: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für Eisen-positive Zellen der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60

n.a. = nicht ausgewertet

7.4 Messwerte Kollagen-Assay

		Tier	Probenverarbeitung	links	rechts
	Spender	573	nativ	n.a.	31,8
		568	nativ	n.a.	34,2
		551	nativ	n.a.	33,1
		552	nativ	n.a.	37,5
		552	Methylbutan	n.a.	34,4
		554	nativ	n.a.	41,8
		554	Methylbutan	n.a.	38,7
POD 20	Nilotinib	569	nativ	8,4	21,7
		572	nativ	11,3	31,7
		573	nativ	12,0	22,4
		582	nativ	8,1	22,3
	Kontrolle	535	nativ	10,3	27,7
		536	nativ	28,0	27,3
		537	nativ	12,4	26,3
		551	nativ	11,6	23,6
POD 60	Nilotinib	559	nativ	106,0	27,2
		568	nativ	45,3	33,0
		578	nativ	82,8	30,8
		580	nativ	146,8	25,8
	Kontrolle	530	nativ	113,1	29,5
		531	nativ	126,9	27,3
		552	nativ	42,8	28,0
		552	Methylbutan	54,8	40,5
		554	nativ	72,3	24,4
		554	Methylbutan	61,3	25,1

Tabelle 7.63 Messwerte Kollagenkonzentration

Angabe der Kollagenkonzentration in $\mu\text{g}/\text{mg}$ der linken und rechten Lungen einzelner exemplarischer Tiere aus Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60. Die Messung erfolgte für alle Lungen anhand nativer Gewebeproben, für einzelne Lungen wurde eine zusätzliche Messung anhand von Gewebeproben in Methylbutan durchgeführt und verglichen.

n.a. = nicht ausgewertet

		Median links	1. Quartile links	3. Quartile links	Median rechts	1. Quartile rechts	3. Quartile rechts
Spender (n=5)		n.a.	n.a.	n.a.	34,2	33,1	36,0
POD 20	Nilotinib (n=4)	9,9	8,3	11,5	22,4	22,2	24,7
	Kontrolle (n=4)	12	11,3	16,3	26,8	25,6	27,4
POD 60	Nilotinib (n=4)	94,4	73,4	116,2	29	26,9	31,4
	Kontrolle (n=4)	90	62,3	116,6	28,4	26,7	30,7

Tabelle 7.64 Gesamtauswertung Kollagen: Mediane für Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe

Angabe der Mediane für die Kollagenkonzentration in µg/mg der linken und rechten Lungen je Nilotinib-, Kontroll- und Spendergruppe zum POD 20 und POD 60 basierend auf den Messwerten aus Tabelle 7.63

n.a. = nicht ausgewertet

8 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von Juni 2017 bis Januar 2024 an der Klinik und Poliklinik für Herz-, Thorax- und herznahe Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Regensburg unter der Leitung von Frau PD Dr. med. vet. Marietta von Süßkind-Schwendi angefertigt. An erster Stelle gilt daher mein besonderer Dank Frau PD Dr. med. vet. von Süßkind-Schwendi für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie ihre hervorragende Betreuung in jeder Phase meiner Promotion. Sie war mir eine enorme Unterstützung und stets freundschaftliche Ansprechpartnerin während der gesamten Umsetzung meiner Arbeit.

Ein großer Dank geht auch an Frau Prof. Dr. rer. nat. Karla Lehle, die ihre Forschungseinrichtung zur Verfügung gestellt und mir immer mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat. Des Weiteren möchte ich mir herzlich bei allen wissenschaftlichen Mitarbeitern bedanken, welche mich durch den experimentellen Teil meiner Arbeit begleitet haben. Mein Dank gilt Frau Eva Lesser für die Durchführung der Tierversuche, ohne welche die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Ferner geht mein Dank an Frau Katrin Bielenberg, Frau Angelika Urbanek, Frau Karin Hollnberger und Frau Christina Leykauf für ihre ausgezeichnete Hilfe in der Anfertigung histologischer Präparate sowie darüber hinaus in allen Fragen der Labortätigkeit.

Vor allem möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, die mich nicht nur während der Arbeit an dieser Dissertation, sondern auf meinem gesamten Lebensweg stets mit Geduld und Zuspruch begleitet hat. Insbesondere geht mein Dank an meine Mutter Ayse Schreiber, meinen Vater Johann Frank, meinen Stiefvater Thomas Schreiber und meinen Mann Johannes Büttner.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Aylin Denise Büttner
Geburtsdaten 27.07.1994, Regensburg
Staatsangehörigkeit deutsch
E-Mail aylin.buettner@ukr.de

Ausbildung

Sept 2000 – Juli 2004 Grundschule Burgweinting, Regensburg
Sept 2004 – Juni 2012 Albertus-Magnus-Gymnasium Regensburg
▪ Juni 2012 Allgemeine Hochschulreife
Okt 2013 – Mai 2020 Studium der Humanmedizin, Universität Regensburg
▪ Apr 2016 Erstes Staatsexamen
▪ Apr 2019 Zweites Staatsexamen
▪ Mai 2020 Drittes Staatsexamen
Juni 2017 – Jan 2024 Experimentelle Promotion: „Wirkung des Tyrosinkinase-Inhibitors Nilotinib auf die Ausbildung einer chronischen Transplantatabstoßung nach experimenteller Lungentransplantation“
Herz-, Thorax- und herznahe Gefäßchirurgie,
Universitätsklinikum Regensburg

Erwerbstätigkeit

Nov 2012 – Aug 2013 Freiwilliges Soziales Jahr
Neurologische Frührehabilitation medbo Regensburg
Seit Okt 2020 Assistenzärztin der Klinik und Poliklinik für Chirurgie
Universitätsklinikum Regensburg

10 Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt. Inhalte dieser Arbeit wurden bislang nicht veröffentlicht.

Regensburg, den 12.01.2024

Aylin Büttner