

Karsten Daniel Schmidt

Dr. med.

## **Einfluss von Physostigminsalicylat auf mikrozirkulatorische Veränderungen bei experimenteller Endotoxinämie**

Geboren am 30.01.1983 in Homburg/Saar

Staatsexamen am 30. 10. 2009 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anaesthesiologie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Walther

Die Sepsis stellt wegen ihrer hohen Morbidität und Mortalität eine der großen Herausforderungen der Humanmedizin dar. Störungen der Mikrozirkulation sind in der Sepsispathophysiologie von zentraler Bedeutung.

Der cholinergic antiinflammatory pathway (CAP) ist als physiologischer Entzündungskontrollmechanismus mit großem therapeutischem Potential von erheblichem wissenschaftlichem Interesse. Das zentrale Nervensystem kann über den cholinergic antiinflammatory pathway reflektorisch die Entzündungsreaktion kontrollieren und regulieren.

Der CAP reguliert die Produktion und Freisetzung proinflammatorischer Zytokine in der Körperperipherie durch einen spezifischen zellulären Signaltransduktionsmechanismus, der abhängig ist von einem nikotinergen Acetylcholin-Rezeptor mit der alpha7 Untereinheit ( $\alpha 7nAChR$ ). Im ZNS wird die immunregulatorische Funktion des CAP wesentlich durch muskarinerge Acetylcholin-Rezeptoren bestimmt. Acetylcholin ist der primäre Transmitter für die Signaltransduktion des CAP.

Kürzlich publizierte Daten zeigten, dass eine Aktivierung des cholinergic anti-inflammatory pathways durch Cholinesteraseinhibitoren möglich ist.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Effekte des zentral- und peripherenwirksamen Cholinesteraseinhibitors Physostigmin (Anticholinium®) auf die Mikrozirkulation bei experimenteller Endotoxinämie.

Hierzu erfolgte in einem pretreatment- und einem posttreatment-Setting die intravitalmikroskopische Untersuchung der Mikrohämodynamik, der Leukozyten-Endothel-

Interaktion und der Gefäßpermeabilität in postkapillären Venolen im Mesenterium von Wistar-Ratten.

Im verwendeten Versuchsmodell können früheste sepsisinduzierte Störungen der Mikrozirkulation in vivo anhand der Leukozyten-Endothel-Interaktion und der auf einer Endothelschädigung beruhenden Plasmaextravasation von fluoreszenzmarkiertem Albumin unter normotensiven Bedingungen während der hyperdynamen Phase der Sepsis untersucht und beurteilt werden.

Je 11 Versuchstiere wurden in die jeweiligen Versuchsgruppen der Studienarme randomisiert. Bei allen Tieren erfolgten dieselben anästhesiologischen und chirurgischen Interventionen in Vorbereitung der intravitalmikroskopischen Untersuchungen. Bei allen Versuchen wurde nach der vorbereitenden Präparation eine Stabilisierungsphase von 30 Minuten eingehalten, auf die anschließend während des Versuchszeitraums von 120 Minuten intravitalmikroskopische Untersuchungen der Zielparameter zu den Zeitpunkten 0-, 60- und 120 Minuten erfolgten.

In Abhängigkeit von der Randomisierung erhielten die Tiere eine kontinuierliche Infusion von physiologischer Kochsalzlösung in der Dosierung 3 ml/kg KG/h oder zur Induktion einer Endotoxinämie eine kontinuierliche Infusion mit Lipopolysacchariden (LPS) von *Escherichia coli* Serotyp 026:B6 in einer Dosierung von 2 mg/kg KG/h mit einer Infusionsrate von 3ml/kg KG/h.

Physostigmin wurde in einer Dosierung von 70 µg/kg KG als Bolus intravenös injiziert.

Im pretreatment-Studienarm erfolgte 10 Minuten vor, im posttreatment-Studienarm 30 Minuten nach der ersten Messung eine Bolusinjektion mit Physostigmin oder einer volumenäquivalenten Menge NaCl 0,9%.

Die Kontrollgruppen erhielten nur physiologische Kochsalzlösung, die LPS-Gruppen erhielten die LPS-Infusion und einen NaCl-Bolus, die treatment-Gruppen erhielten entsprechend des Studienprotokolls einen Physostigmin-Bolus und die LPS-Infusion. Im pretreatment-Studienarm wurden zusätzlich in einer Untersuchungsgruppe LPS-unabhängige Effekte von Physostigmin untersucht, diese Tiere erhielten eine kontinuierliche NaCl-Infusion und einen Physostigmin-Bolus.

Zu Versuchsbeginn konnten zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen bei den mikrohämodynamischen Parametern, der Leukozyten-Endothel-Interaktion und der Gefäßpermeabilität keine signifikanten Unterschiede gemessen werden.

Unter Berücksichtigung der durch LPS-induzierten pathophysiologischen Mechanismen und deren Kinetik zeigten die signifikanten Unterschiede zwischen den NaCl-Gruppen und den

LPS-Gruppen bei der Gefäßpermeabilität und der Leukozytenadhärenz, dass eine septische Endothelschädigung durch die kontinuierliche Infusion von 2 mg/kg/h LPS während des Versuchszeitraums erfolgreich etabliert werden konnte.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass Physostigmin bei einer durch LPS-induzierten Endotoxinämie hinsichtlich der Leukozyten-Endothel-Interaktion und der Endothelschädigung einen spezifisch antiinflammatorische Effekt hat und sowohl protektive als auch therapeutische Wirkung besitzt. Die Ergebnisse dieser Arbeit belegen, dass eine Aktivierung des CAP durch Physostigmin möglich ist und dass der CAP die Fähigkeit besitzt, auf die Endothelfunktion, die Leukozytenfunktion und die Leukozyten-Endothel-Interaktion Einfluss zu nehmen.

Da der positive antiinflammatorische Effekt von Physostigmin durch Aktivierung des CAP bereits kürzlich in einem Caecum-Punktions-Sepsismodell gezeigt werden konnte und durch die Ergebnisse dieser Arbeit unterstützt wird, stellt Physostigmin ein aussichtsreiches Medikament mit der Option einer zeitnahen Anwendung in der klinischen Sepsistherapie dar.