

Ariane Gross  
Dr. med.

Wirkung von Lokalanästhetika auf den Priming- und Aktivierungsprozess in humanen, polymorphkernigen, neutrophilen Granulozyten

Geboren am 17.03.1974 in Neustadt / Wstr.  
Staatsexamen am 02.06.2003 an der Ruprecht Karls Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anästhesie  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Markus Hollmann

Eine überschießende Aktivierung inflammatorischer Kaskaden kann peri- und postoperativ zu schweren Krankheitsbildern, wie dem „Adult Respiratory Distress Syndrom“ (ARDS), oder dem „Systemic Inflammatory Response Syndrom“ (SIRS) führen. Das Priming von hPMNs ist bei der Entstehung dieser Erkrankungen von entscheidender Bedeutung. Priming beschreibt dabei einen Vorgang, bei dem die Sauerstoffradikal-Produktion der hPMNs durch vorangegangenen Kontakt mit einer Substanz (dem „Priming-Agenz“) potenziert wird. Es konnte gezeigt werden, dass LA in der Lage sind, in klinisch relevanten Konzentrationen, diesen Priming-Prozess zu inhibieren und somit die Produktion freier Sauerstoffradikale zu vermindern. Der kaskadenartige Ablauf des PAF-Priming-Signalübertragungswegs benötigt zwei wesentliche Enzyme, PLC und PKC, deren Aktivierung allerdings erst dann stattfindet, sobald ein an PAF gekoppeltes G-Protein stimuliert wird. Ziel dieser Studie war es somit, den intrazellulären Signalübertragungsweg eines repräsentativen inflammatorischen Mediators, PAF, zu untersuchen, sowie die Bindungsstelle von Lidocain, innerhalb dieses Übertragungsweges zu identifizieren.

Die metabolische Aktivität der hPMNs wurde hierbei mit Hilfe der Cytochrom-C-Reduktionsmethode gemessen. Eine Beteiligung von PKC und PLC im PAF-induzierten Priming-Signalübertragungsweg wurde mit Hilfe der PKC-Inhibitoren (BIM  $10^{-6}$  M, CT  $10^{-5}$  M), dem PKC-Aktivator PMA (10 nM) und dem PLC-Antagonisten U-73122 ( $10^{-6}$  M) bestimmt. Mit Hilfe von PTX (0,3 µg/ml) konnten wir die im PAF-Priming-Prozess involvierten G-Proteine klassifizieren, sowie die Effekte von Lidocain ( $10^{-4}$  M) auf die Sauerstoffradikal-Produktion beurteilen.

PTX war in der Lage die Sauerstoffradikal-Produktion von PAF-geprimten und fMLP-aktivierten hPMNs um ca. 30% zu inhibieren, allerdings war die Radikalproduktion von PAF-geprimten und PMA-aktivierten hPMNs durch PTX (0,3 µg/ml; 1 µg/ml) nicht zu beeinflussen. Die durch Priming und eine PAF-geprimte PMA-Aktivierung induzierte Sauerstoffradikal-Produktion konnte durch Inkubation der hPMNs in U-73122 vollständig inhibiert und auf Werte alleiniger

Aktivierung reduziert werden. Ein ähnliches Ergebnis erhielt man bei der Inkubation der hPMNs mit verschiedenen PKC-Inhibitoren. Sowohl BIM als auch CT reduzierten die PAF-geprimte und fMLP-aktivierte Radikalproduktion auf Werte alleiniger fMLP-Aktivierung. Lidocain war in der Lage die Sauerstoffradikal-Produktion von geprimten und fMLP-aktivierten hPMNs auf 31,4% des Ausgangswertes zu hemmen. Diese Reaktion war unabhängig davon, ob zuvor PTX eingesetzt wurde. Geprimte und mit PMA aktivierte hPMNs wurden in ihrer Radikalproduktion durch Lidocain nicht beeinflusst.

In unserer Studie konnten wir zeigen, dass der Priming-Prozess von PAF, als Inflammationsmediator, über PTX-insensitive G-Proteine verläuft. Innerhalb der PAF-Signalkaskade ist die Aktivierung zweier Enzyme, PLC und PKC, von entscheidender Bedeutung. Lidocain, als LA, wirkt inhibitorisch auf die Sauerstoffradikal-Produktion von PAF-geprimten und fMLP-aktivierten hPMNs. Seine Bindungsstelle innerhalb der PAF-induzierten Signalkaskade muss sich oberhalb von PKC befinden und ist unabhängig von PTX-sensitiven G-Proteinen ( $G_i$ ,  $G_o$ ). Vorausgegangene Untersuchungen unseres Labors in *Xenopus*-Oozyten weisen auf eine Interaktion von Lidocain mit  $G\alpha_q$  hin.

Weiterführende Untersuchungen in diesem Gebiet sollten angestrebt werden. Es sollte dabei auf den genauen Wirkmechanismus der LA im Entzündungs- und Priming-Prozess eingegangen werden, dem Struktur- und Funktionsanalysen vorausgehen sollten. Ausweitend bietet sich eine systematische, klinische Untersuchung der antiinflammatorischen Wirkung von LA an.