

Tobias Peter Blank

Dr. sc. hum.

## **Experimentelle Ansätze zur Anwendung von Hypothermie als Therapieform der fokalen zerebralen Ischämie an der Ratte**

Geboren am 26.11.1978 in Mannheim

Diplom der Fachrichtung Biologie am 28.07.2004 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Neurologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Stefan Schwab

In der vorliegenden Studie wurden im Tierexperiment an der Ratte neuroprotektive Mechanismen therapeutischer Hypothermie zur Behandlung der fokalen zerebralen Ischämie untersucht. Die Arbeit gliedert sich in 2 Hauptabschnitte:

- a) Ermittlung der optimalen Hypothermietiefe
- b) Untersuchung möglicher Vorteile einer Kombinationstherapie von Hypothermie und Lysetherapie mit rekombinantem t-PA

Im ersten Teil der Arbeit wurden die Effekte unterschiedlicher therapeutischer Hypothermiefiefen nach transientser Okklusion der A. cerebri media (MCAO) mit dem Fadenmodell nach Longa an der Ratte untersucht. Ziel war es dabei, die optimale Hypothermiefiefe zu finden. Hierbei konnte zum ersten Mal eindeutig gezeigt werden, dass bereits ein Unterschied von 1°C Körpertemperatur zu einer erkennbaren Änderung im neurologischen Outcome und der Infarktgröße führt. Die Ergebnisse zeigten eine U-förmige Kurve mit einem signifikanten Optimum für 33°C und 34°C nach akuter Studie 24 Stunden nach MCAO. Zusammen mit den Ergebnissen der Langzeituntersuchungen 5 Tage nach MCAO konnte erstmals gezeigt werden, dass bezüglich neurologischem Outcome und Infarktgröße ein signifikanter Vorteil für die Behandlung mit 34°C Körpertemperatur gegenüber 33°C Körpertemperatur besteht. Die quantitative Evaluierung der Einwanderung von Leukozyten durch immunhistologische

Untersuchungen und die Quantifizierung apoptotischer Zellen in der ischämischen Hemisphäre durch eine *in situ*-TUNEL-Färbung an Paraffinschnitten unterstrichen diese Ergebnisse.

Die Ergebnisse dieses ersten Teils sind wesentlich für weitere experimentelle und klinische Untersuchungen. Zieltemperaturen von 35°C oder 34°C lassen sich auch beim wachen Patienten erreichen, wohingegen eine weitere Kühlung nur durch mechanische Beatmung und Sedierung erzielt werden kann. Außerdem treten in Abhängigkeit von der Hypothermiediefe vermehrt Nebenwirkungen wie Herzrhythmusstörungen oder Infektionen auf.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde unter Anwendung der in Teil 1 ermittelten optimalen Hypothermiediefe die Kombinationstherapie von Thrombolyse mit rt-PA und therapeutischer Hypothermie auf eine eventuelle Erweiterung des therapeutischen Fensters für die rt-PA-Behandlung und die Verminderung der Nebenwirkungen von rt-PA hin untersucht. Hierfür wurden die Tiere durch eine Modifikation des thrombembolischen Modells nach Busch einer MCAO unterzogen. Folgende Gruppen wurden untersucht: Normothermie ohne Lyse, Normothermie plus frühe Lyse nach 1,5 Stunden, Normothermie plus späte Lyse nach 5 Stunden gegenüber Hypothermie (34°C) ohne Lyse, Hypothermie plus frühe Lyse nach 1,5 Stunden und Hypothermie plus späte Lyse nach 5 Stunden.

Die frühe Lyse ohne Normothermie führte zunächst zu einer Verschlechterung des neurologischen Outcomes und einer Vergrößerung des Infarktolumens, eine späte Lyse führte dagegen zu einer leichten Verbesserung im Vergleich zur normothermen Kontrollgruppe. Signifikant am besten schnitten die Tiere der Gruppe mit Hypothermie ohne Lyse ab. Eine Kombinationstherapie führte nach früher Lyse zu einer Verkleinerung des Infarktolumens und verbessertem neurologischen Outcome gegenüber der Kontrolle und der frühen Lyse unter Normothermie. Eine späte Lyse plus Hypothermie führte dagegen zu keinem Unterschied gegenüber dem normothermen Pendant und der Kontrolle. Die Untersuchungen bezüglich einer Verminderung der rt-PA-bedingten Nebeneffekte zeigten deutliche Effekte. Die Gabe von rt-PA sowie eine rein normotherme Behandlung induzierten proinflammatorische Vorgänge und führten zu einer Schädigung der Blut-Hirn-Schranke. Hypothermiebehandlung verminderte diese schädlichen Prozesse.

Auch diese Ergebnisse sind von Bedeutung für die klinische Anwendung, da rt-PA bisher die einzige zugelassene kausale Therapie für den ischämischen Schlaganfall in Deutschland darstellt. Hypothermie konnte mögliche Nebenwirkungen von rt-PA deutlich reduzieren.