

Peter Heinz-Joseph Gebauer

Dr. med.

Einfluss der Ornithin-Decarboxylase auf die hypoxisch-pulmonale Vasokonstriktion bei Endotoxinämie

Anaesthesiologie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Cornelius J. Busch

Das *Acute Respiratory Distress Syndrome*, als die fulminante Form des akuten Lungenversagens, ist mit einer Mortalität von 30-45 % behaftet. Sepsis stellt eines der größten Risiken für die Entwicklung eines *Acute Respiratory Distress Syndrome* dar, zudem hat das Sepsis-assoziierte Lungenversagen insgesamt die schlechteste Prognose. Eine wesentliche Ursache der ausgeprägten Hypoxämie, als einem Hauptcharakteristikum dieses klinischen Syndroms, ist eine pathologische Verminderung der hypoxisch-pulmonalen Vasokonstriktion mit darauffolgendem intrapulmonalem Rechts-Links-Shunt venösen Bluts. Obwohl schon seit 70 Jahren bekannt und trotz intensiver Forschung, ist der genaue Mechanismus der hypoxisch-pulmonalen Vasokonstriktion bislang noch nicht vollständig verstanden. Insbesondere die Rolle des Endothels als Modulator oder Mediator ist Gegenstand kontroverser Diskussionen.

Lipopolysaccharid-induzierte experimentelle Endotoxinämie bewirkt nach achtzehn Stunden eine signifikant abgeschwächte hypoxisch-pulmonale Vasokonstriktion im Modell der isoliert-perfundierten Mäuselunge. Molekularbiologische Untersuchungen des Lungengewebes endotoxämischer Mäuse zeigten eine erhöhte Genexpression des Enzyms Ornithin-Decarboxylase.

Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb die Evaluation des Effekts der Inhibition der Ornithin-Decarboxylase auf die hypoxisch-pulmonale Vasokonstriktion unter Endotoxinämie, um daraus mögliche Ansätze einer Behandlung der eingeschränkten hypoxisch-pulmonalen Vasokonstriktion, etwa beim Sepsis-assoziierten *Acute Respiratory Distress Syndrome*, ableiten zu können.

Männlichen C57BL/6 Mäusen (n=10) wurde achtzehn Stunden vor isolierter Lungenperfusion Lipopolysaccharid von *Escherichia coli* Bakterien intraperitoneal injiziert. Als Kontrolle dienten Mäuse, die zum gleichen Zeitpunkt eine Injektion von reiner Kochsalzlösung gleichen Flüssigkeitsvolumens erhielten (n=14). Je n=7 Tieren wurde zusätzlich eine Stunde vor isolierter Lungenperfusion der irreversible Ornithin-Decarboxylase-Inhibitor DL- α -Difluoromethylornithin in drei verschiedenen Dosierungen (20, 100 und 500 mg/kg Körpergewicht) intraperitoneal injiziert. Die hypoxisch-pulmonale Vasokonstriktion wurde gemessen als die Differenz zwischen basalem pulmonalarteriellen Druck während Ventilation mit Raumluft und dem pulmonalarteriellen Druck am Ende einer sechsminütigen Ventilation mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration von 0,01 - in Prozent des basalen

pulmonalarteriellen Drucks. Um zusätzliche Informationen zum pulmonal-vaskulären Tonus zu erhalten, wurden durch Variation der Perfusat-Flussrate vier Druck-Fluss-Punkte während Normoxie und Hypoxie ermittelt. An diese wurde, mit Hilfe zweier mathematischer Modelle, eine Kurve angenähert, welche die Druck-Fluss-Beziehungen beschreibt und Rückschlüsse über die Veränderung von Gefäßwiderstand und Gefäßdehnbarkeit erlaubt.

Außerdem wurde ebenfalls achtzehn Stunden nach Lipopolysaccharid- beziehungsweise Kochsalz-Injektion Lungengewebe entnommen und die pulmonale Expression der Ornithin-Decarboxylase mittels *real-time* quantitativer Polymerase-Kettenreaktion, Immunoblot und immunhistologischer Färbung untersucht, sowie verschiedene Metabolite im Lungengewebe gemessen.

Achtzehn Stunden nach LPS-induzierter Endotoxinämie zeigte sich eine verminderte hypoxisch-pulmonale Vasokonstriktion, verglichen mit Kontrollmäusen (26,3 % vs. 67,0 %, $p < 0,05$). Endotoxinämie bewirkte zudem eine Induktion der pulmonalen Expression der Ornithin-Decarboxylase ($2,1 \pm 0,06$, Kontrolle normalisiert auf 1, $p < 0,05$).

Die Inhibition der Ornithin-Decarboxylase eine Stunde vor isolierter Lungenperfusion führte dosisabhängig zur Wiederherstellung der hypoxisch-pulmonalen Vasokonstriktion unter Endotoxinämie (25,8 % bei 20 mg/kg DFMO, 57,3 % bei 100 mg/kg DFMO, 62,3 % bei 500 mg/kg DFMO). Dem zugrunde liegt möglicherweise eine verminderte intrazelluläre Produktion von Polyaminen. Die Überprüfung dieser These bedarf weiterer Untersuchung. Zwar wurden in den Lungen endotoxämischer Mäuse stark erhöhte Putrescin-Spiegel gemessen, eine Veränderung der Polyaminkonzentration durch DFMO konnte in der vorliegenden Arbeit aber nicht nachgewiesen werden.

Der basale pulmonale Gefäßtonus wurde weder durch Endotoxinämie, noch durch Inhibition der Ornithin-Decarboxylase verändert. Sowohl die pulmonalarteriellen Ausgangsdrücke (7,8 – 8,4 mmHg), als auch alle ermittelten mathematischen Parameter unterschieden sich zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen während Normoxie nicht. Die Daten der Analyse der Druck-Fluss-Beziehungen unter Hypoxie hingegen lassen vermuten, dass Endotoxinämie insgesamt zu einer abgeschwächten Antwort der pulmonalen Gefäße auf eine verringerte Sauerstoffzufuhr führt.

Bei unbehandelten Kontrolltieren zeigte sich eine dosisabhängige Verminderung der hypoxisch-pulmonalen Vasokonstriktion (53,6 % bei 20 mg/kg DFMO, 40,0 % bei 100 mg/kg DFMO, 35,9 % bei 500 mg/kg DFMO). Dieses Phänomen könnte durch eine gesteigerte endogene Stickstoffmonoxid-Synthese infolge erhöhter intrazellulärer L-Arginin-Spiegel nach Inhibition der Ornithin-Decarboxylase begründet sein.

Die medikamentöse Inhibition der Ornithin-Decarboxylase stellt vorliegenden Ergebnissen zufolge möglicherweise einen Angriffspunkt in der Therapie von Erkrankungen dar, welche mit einer verminderten hypoxisch-pulmonalen Vasokonstriktion einhergehen.