

1. Zusammenfassung

1.1. Präkonditionierung mit Häm-basierten Lösungen: Einfluss auf die Expression der Hämoxigenase-1 sowie den Organschaden nach hämorrhagischem Schock

Der Transfusion von Blutprodukten sind aufgrund der notwendigen Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger sowie der potentiellen Übertragung von Krankheitserregern Grenzen gesetzt. Entsprechend werden seit mehreren Jahren große Anstrengungen unternommen, um universell einsetzbare Blutersatzlösungen zu entwickeln. Zu diesen gehört auch das Diaspirin-quervernetztes Hämoglobin (DCLHb), welches durch die Möglichkeit des blutgruppenunabhängigen Sauerstofftransportes als viel versprechende Alternative zu Bluttransfusionen erschien. In Studien wies DCLHb jedoch zahlreiche Nebenwirkungen auf, darunter eine ausgeprägte Affinität zu Stickstoffmonoxid (NO), was zu einer erhöhten Letalität in klinischen Phase III Studien führte. Im Gegensatz zu DCLHb weist Häminarginat (HAR), eine Hämin-basierte Lösung, keine Sauerstoff transportierende Eigenschaft auf. Beiden Lösungen gemeinsam ist jedoch das Molekül Häm, welches das Substrat und der stärkste Induktor des antioxidativen Stressproteins der Hämoxigenase (HO)-1 ist. Dieses mikrosomale Enzym katalysiert den Abbau von Häm zu äquimolaren Mengen von Kohlenmonoxid (CO, Vasodilator), Biliverdin (Antioxidans) und Eisen. Die Induktion der HO-1 Expression könnte über die daraus resultierende antioxidativen und vasodilatierenden Effekte zu einer höheren Stresstoleranz des Gewebes gegenüber ischämischen Ereignissen, wie nach hämorrhagischem Schock, führen.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir deshalb die Auswirkungen von DCLHb und HAR auf die HO-1 Proteinexpression in Leber, Niere, Herz, Lunge und Aorta. Darüber hinaus wurde geprüft, ob eine Präkonditionierung mit DCLHb oder HAR eine Reduktion des durch hämorrhagischen Schock (HS) und Reperfusion (H/R) hervorgerufenen Organschaden und der Letalität bewirkt.

Die Untersuchungen wurden an narkotisierten, spontan atmenden Sprague-Dawley Ratten durchgeführt. Im Studienabschnitt 1 wurde 24 h nach i.v. Infusion von DCLHB (1, 2 bzw. 3 g/kg KG) bzw. HAR (5, 25 bzw. 75 mg/kg KG) die HO-1 und HSP 70 Genexpression in den Organen durch Western Blot Analyse untersucht. Im Studienabschnitt 2 erfolgte die Präkonditionierung mit 1 bzw. 3 g/kg KG DCLHb, bzw. 5 mg/kg KG HAR. Nach 24 h wurden die Tiere einem 1- bzw. 2-stündigen HS (MAP: 30-40mmHg) mit anschließender 5- bzw. 4-stündiger Reperfusion ausgesetzt. Gleichbehandelte Tiere, vorbehandelt mit 30ml/kg Ringerlaktat dienten als Kontrollen (Vehikel). Zur Klärung der Rolle der HO-1 wurde im Studienabschnitt 3 in je einer Vehikel- und HAR-Gruppe die HO-Aktivität durch den kompetitiven Inhibitor Zinn-Mesoporphyrin-IX (SnMP-IX) unmittelbar vor Schockinduktion blockiert. Zur Quantifizierung des Organschadens wurden jeweils vor Induktion und am Ende der Schockperiode sowie am

1. Zusammenfassung

Versuchsende Blutproben entnommen. Am Versuchsende wurde zusätzlich die Leber zur nachfolgenden Bestimmung des ATP-Gehaltes entnommen.

DCLHb und HAR, nicht aber Ringerlaktat induzierten eine spezifische, dosisabhängige HO-1 Proteinexpression in den untersuchten Organen. Die Zunahme der HO-1 Expression führte gleichzeitig zu einer dosisabhängigen Zunahme der Gesamtbilirubinkonzentration im Serum.

Die Präkonditionierung mit HAR führte sowohl nach 1 als auch nach 2 Stunden HS zu einer Verminderung des schockbedingten Organschadens im Vergleich zu Vehikel oder Vorbehandlung mit DCLHb. Diese spiegelte sich in einem höheren Blutvolumen zur Erzeugung des HS, einem späteren Beginn der Dekompensation während des HS, einem höheren Oxygenierungsindex am Ende der Schockperiode und schließlich in einer verbesserten Rekompensation nach Schockende wieder. Im Gegensatz dazu trug die DCLHb-Präkonditionierung zu einer Verschlechterung des schockbedingten Organschadens im Vergleich zu Vehikel bei. Darüber hinaus wiesen die DCLHb-vorbehandelten Tiere eine im Vergleich zur Vehikel- und HAR-Gruppe zusätzliche Depletion des ATP-Gehaltes im Lebergewebe auf. Insgesamt resultierte hieraus eine DCLHb-vermittelte Zunahme der Letalität. Nach HAR-Präkonditionierung dagegen überlebten alle Versuchstiere das Stressereignis. Die protektiven Effekte der HAR-Präkonditionierung wurden nach Blockade der HO-Aktivität durch SnMP-IX vollständig aufgehoben.

Beide untersuchten Substanzen DCLHb und Häminarginat führen somit zu einer Induktion von HO-1 in allen untersuchten Organsystemen ohne Auslösung einer generellen Hitzeschockantwort. Ein protektiver Effekt bezüglich des Organschadens und des Überlebens nach hämorrhagischem Schock wurde jedoch nur durch Vorbehandlung mit Häminarginat erzielt. Die negativen Folgen der DCLHb-Präkonditionierung könnten möglicherweise durch die Affinität zu NO und die damit verbundene Verstärkung einer schockbedingten, mikrozirkulatorischen Perfusionsstörung mit daraus resultierendem Organversagen verursacht worden sein.

Demnach bietet die Präkonditionierung mit Häminarginat einen möglichen Schutz gegenüber nachfolgenden Stressereignissen durch Induktion der HO-1 Genexpression.