

4 Diskussion

In dieser vorliegenden Arbeit wurde der neuroprotektive Effekt volatiler Anästhetika als Präkonditionierungsstimulus untersucht. In der Literatur ist der akute neuroprotektive Effekt dieser Stoffe bereits beschrieben⁹³. In dieser Arbeit wurde die Präkonditionierung und der Induktion prolongierter Neuroprotektion durch volatile Anästhetika, speziell Halothan und Isofluran, sowie die Induktion von iNOS durch Isofluran und deren Involvierung in der Präkonditionierung und Neuroprotektion untersucht.

Folgende Ergebnisse erbrachte die Arbeit:

1. a) Präkonditionierung mit volatilen Anästhetika induziert Neuroprotektion.
b) Der induzierte Schutz lässt sich bis zu 24 Stunden nach Präkonditionierung nachweisen.
c) Etwa zwölf Stunden nach Präkonditionierung scheint das Wirkungsmaximum erreicht zu sein.
d) Im Vergleich zur Kontrollgruppe reduzierte Anästhetika-Präkonditionierung die Infarkt volumina um etwa 30 %.
2. a) Isofluran induziert die iNOS Expression im kortikalem Hirngewebe
b) Die iNOS Expression erreicht 24 Stunden nach dreistündiger Präkonditionierung mit Isofluran das Maximum
3. a) Die Induktion der iNOS durch Isofluran hat möglicherweise einen wesentlichen Anteil an der verzögerten Präkonditionierung

4.1 Präkonditionierung mit volatilen Anästhetika

Volatile Anästhetika finden in der Klinik breite Anwendung und bisher wurden für Halothan und insbesondere Isofluran keine neurologischen Schädigungen für die Dauer der Anwendung und der Dosis von 1 MAC in der Literatur beschrieben¹¹⁰. Für die Untersuchung des neuroprotektiven Effekts durch Präkonditionierung galt es, ein weitestgehend unschädliches Substrat mit unkomplizierter Applikationsart einzusetzen. Halothan und Isofluran gelten in der Literatur bereits als neuroprotektiv^{89;93}, neu ist jedoch die Fragestellung nach dem prolongierten neuroprotektiven Effekt dieser Stoffe über der Dauer der Anwendung hinaus. Die Dauer der Präkonditionierungsphase von drei Stunden wurde von uns willkürlich festgelegt.

Als erstes erfolgte der Vergleich von Isofluran und Halothan zur Kontrollgruppe. Während der Präkonditionierungsphase wurden bei einigen Tieren aus jeder Gruppe die Blutgasparameter kontrolliert. Halothan induzierte allerdings während der Präkonditionierung eine Hypoxie. Da Hypoxie als Präkonditionierungsstimulus für Neuroprotektion bereits beschrieben ist¹¹¹, ist darin eine Beeinflussung unserer Untersuchungen bezüglich des neuroprotektiven Effektes volatiler Anästhetika nicht ausgeschlossen. Wir führten daher eine weitere Behandlungsgruppe ein. Bei dieser Gruppe wurde zusätzlich Sauerstoff appliziert, um einen normoxischen PaO₂ während der Halothannarkose aufrecht zu erhalten. Die Präkonditionierung mittels Halothan und Sauerstoff führte zu einer Reduzierung des Infarktolumens um 33 %. Im Gegensatz dazu wies die nur mit Halothan behandelte Gruppe keine signifikante Reduzierung des Infarktolumens im Vergleich mit der Kontrollgruppe auf.

Diese Resultate sind jedoch nur eingeschränkt miteinander vergleichbar, wenn der alleinige Effekt der volatilen Anästhetika beurteilt werden soll. Die Vorbehandlung mit Halothan und Sauerstoff, bzw. nur mit Halothan führte während der Präkonditionierung zu unterschiedlichen physiologischen Parametern. Während der Präkonditionierungsphase mit Halothan entwickelte sich aufgrund der Atemdepression eine respiratorische Azidose nach ca. 180 Minuten. In der Behandlungsgruppe Halothan mit Sauerstoff entwickelte sich eine verstärkte respiratorische Azidose bereits nach 90 Minuten. Die Ursache ist wahrscheinlich im Wegfall eines zusätzlichen Atemantriebes durch das Fehlen der Hypoxie zu sehen. Die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Behandlungsgruppen ist somit nicht gewährleistet.

Interessant wäre natürlich, ob durch Kombinationen von Präkonditionierungsstimuli additive Effekte auftreten oder, wie hier am Beispiel von Hypoxie und Halothan, der Organismus möglicherweise überfordert wird, sie vielleicht miteinander in Wechselwirkung treten und sich gegenseitig so beeinflussen, dass die neuroprotektive Wirkung aufgehoben ist. Zur Untersuchung dieser Hypothese wurde in unserer Arbeitsgruppe eine Halothanpräkonditionierung während durch Intubation unterstützter Atmung durchgeführt. Die Blutgaswerte wichen dabei nicht von den anderen Behandlungsgruppen ab. Das Infarktolumen wurde hierbei um 28 % reduziert¹¹².

Dieses Ergebnis bestätigt die Hypothese, dass eine niedrigere Dosierung eines Stimulus eine Protektion bewirken kann (vgl. Janoff¹¹³), bei höherer Dosierung oder wie unserem Beispiel durch die Überlagerungen mehrerer Stressoren diese Effekte jedoch wegfallen oder eine toxische Wirkung resultiert.

In dieser Arbeit wurde aufgrund der komplexen Veränderungen der Blutgaswerte durch Halothan alle weiteren Untersuchungen mit dem volatilen Anästhetikum Isofluran fortgeführt. Einerseits ist die Applikation von Isofluran komplikationsloser, andererseits gilt dieses Anästhetikum als weniger toxisch im Vergleich zu Halothan. Hinzu kommt, dass Halothan in der Klinik aufgrund seiner Toxizität kaum noch verwendet wird.

4.2 Neuroprotektion durch Isofluran

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Neuroprotektion durch Isofluran bis 24 Stunden nach Präkonditionierung anhält und eine signifikante Reduzierung des Infarktes um ein Drittel möglich ist. Im Zeitintervall von 24 bis 48 Stunden nach Präkonditionierung lässt die neuroprotektive Wirkung Isoflurans nach. Nach 48 Stunden ist keine signifikante Reduzierung des mittleren Infarktvolumens nachweisbar.

Es stellt sich jedoch die Frage, ob die Neuroprotektion durch anästhetische Präkonditionierung auch beobachtet werden kann, wenn eine längere Überlebenszeit nach dem ischämischen Insult folgt, welches in dieser Arbeit nicht geprüft wurde. In unserer Studie wurden die Infarktvolumina vier Tage nach Okklusion der Arteria cerebri media untersucht. Deshalb können wir nicht vollständig ausschließen, dass bereits mehrere Tage oder wenigen Wochen nach Ischämie eine durch anästhetische Präkonditionierung ausgelöste Neuroprotektion nicht mehr nachweisbar ist, bzw. dass der induzierte ischämische Schaden durch die anästhetische Präkonditionierung nur verzögert wurde.

In einer Untersuchung von Du et al.¹¹⁴ wird beschrieben, dass die Infarktgröße nach zwei Tagen ausgereift ist. Es gibt keine Anhalte, dass sich eine ischämische Läsion in dem von uns verwandten Modell vier Tage nach dem Insult weiter verändert.

Allerdings zeigte die Arbeitsgruppe Kawaguchi et al.¹¹⁵ in einer Studie, bei der eine Okklusion der A. cerebri media durch Einführen von Fäden („Fadenmodell“) zur Induktion fokaler Ischämie in Ratten angewandt wurde, dass akute Neuroprotektion, induziert durch Isofluran, den Zelluntergang verzögern, aber nicht verhindern kann. Kawaguchi ließ die Tiere zwei Tage nach dem ischämischen Insult überleben und beobachtete im Vergleich zu den Kontrollen eine signifikante Reduzierung der Infarktvolumina bei den mit Isofluran behandelten Tieren. Dieser Unterschied war

jedoch nicht mehr nachweisbar, wenn die Infarkt volumina nach 14 Tagen Überlebenszeit untersucht wurden.

Kawaguchis Arbeit unterscheidet sich jedoch von unserer Arbeit bezüglich des Experimentaufbaus. Die Isoflurannarkose wurde nicht als Intervall zur Präkonditionierung vor, sondern gleichzeitig mit der ischämischen Phase verabreicht. Da mit dem Fadenmodell die Induktion der Ischämie ohne Narkose möglich ist, fand ein direkter Vergleich mit den nicht-narkotisierten Kontrolltieren statt.

Bei unseren Untersuchungen ging es um den längerfristigen Effekt des Isoflurans. Um eine MCAO zu ermöglichen, wurden sowohl die präkonditionierten Tiere als auch die Tiere des Kontrollexperimentes mit Isofluran narkotisiert. Trotz der gleichen Behandlung während der MCAO gab es deutliche Unterschiede, die nicht auf den kurzfristigen Effekt der Isoflurannarkose während der Ischämie zurückzuführen sind. Die Reduzierung des Infarkt volumens um ein Drittel bis zu 24 Stunden nach Präkonditionierung mit Isofluran ist mit Sicherheit unabhängig von der Narkose während der MCAO, da auch die Kontrollen während der MCAO mit Isofluran narkotisiert wurden.

Die Arbeitsgruppe Zheng et al.¹¹⁶ ermittelte zwei Jahre nach Veröffentlichung unserer Ergebnisse das Infarkt volumen bei Ratten 14 Tage nach permanenter MCAO bei vorangehender Präkonditionierung für 30 Minuten mit 2 % Isofluran 24 Stunden vor der MCAO. Hier konnte beobachtet werden, dass Ratten, die 24 Stunden vor der Ischämie mit Isofluran präkonditioniert wurden, mehr morphologisch intakte Neurone im ipsilateralen Frontalkortex 1 und Subventrikularzone aufwiesen als Ratten, die keine Vorbehandlung erhielten. Es konnte in diesem Experiment somit auch gezeigt werden, dass selbst bis zu 14 Tagen nach Ischämie der verzögerte Zelltod in den Regionen der Penumbra durch Isofluranpräkonditionierung reduziert wird.

4.3 Hypothesen zu Wirkmechanismen der anästhetischen Präkonditionierung durch volatile Anästhetika

4.3.1 Beeinflussung des zerebralen Metabolismus durch volatile Anästhetika

Es ist bereits in der Literatur beschrieben, dass Isofluran eine Reduzierung des zerebralen Metabolismus bewirkt¹¹⁷. Die Arbeitsgruppen Michenfelder et al. und Barone et al. konnten durch Reduzierung des zerebralen Metabolismus während der Ischämie eine Neuroprotektion bewirken^{118;119}. Auch ist es möglich, länger anhaltende Neuroprotektion durch Reduzierung des Metabolismus zu erzeugen. Wiegand et al.¹²⁰

inhibierten den Metabolismus mit 3-Nitropropionensäure (3-NPA), einem Blocker des Komplex II der respiratorischen Kette, und induzierten Neuroprotektion bis zu 72 Stunden nach Gabe dieser Substanz. Es ist deshalb nicht unwahrscheinlich, dass ein Zusammenhang zwischen einer durch Anästhesie induzierten Reduzierung des Metabolismus und prolongierter Neuroprotektion besteht. In weiteren Experimenten wurde gezeigt, dass der globale und lokale zerebrale Glucoseverbrauch dosisabhängig mit Isofluran herabgesetzt werden kann^{121;122}. Möglicherweise hat auch die Reduzierung des zerebralen Glukosemetabolismus durch Isoflurannarkose einen Anteil an der prolongierten Neuroprotektion, den wir in unseren *in vivo* und *in vitro* Experimenten beobachten konnten.

Parallel zu dieser Doktorarbeit wurde in Kooperation mit Dr. Waschke und Karsten Fütterer in Heidelberg der globale und lokale zerebrale Glucosemetabolismus 24 Stunden nach Isofluranpräkonditionierung mit radioaktiv markierter Glucose bestimmt. Die Gehirnstrukturen, welche hauptsächlich von der MCAO betroffen sind, sind die Regionen des Pyriformkortex, des Frontalkortex, des sensorisch motorischen Kortex, des Parietalkortex, der Cingula, des auditoren Kortex und des visuellen Kortex. In keiner dieser untersuchten Regionen des Gehirns konnten Unterschiede des zerebralen Glukosemetabolismus zwischen den unbehandelten Kontrolltieren und den mit Isofluran präkonditionierten Tieren detektiert werden¹¹². Diese Ergebnisse korrelieren mit den Studien, die sich mit den akuten neuroprotektiven Effekten der Anästhetika befassen und unterstützen die in dieser Arbeit dargestellten Erkenntnisse, dass es sich bei der Neuroprotektion durch volatile Anästhetika um einen direkten Effekt auf das neuronale Gewebe handelt.

Ebenso wie eine Narkose mit Halothan führt auch eine Narkose mit Isofluran zu Veränderungen verschiedener Vitalparameter. Insbesondere wurde nach drei Stunden eine signifikante Reduzierung des mittleren arteriellen Blutdrucks beobachtet (siehe Tabelle 4). Durch die Beeinflussung des respiratorischen Systems und des Kreislaufs ist nicht auszuschließen, dass die anhaltende Neuroprotektion nach Präkonditionierung mit volatilen Anästhetika das Resultat einer Vielzahl verschiedener Effekte regulativer Systeme oder Zellreaktionen im Gehirn ist.

Mit Experimenten an neuronalen Zellkulturen ist es möglich, Effekte und Reaktionen auszuschließen, die auf Interaktionen mit nicht neuronalen Zellen, z. B. Blutzellen und

Zellen der Blutgefäße, sowie Veränderungen des zerebralen Blutflusses, des Kreislaufes und Respiration beruhen.

In unserer Arbeitsgruppe wurden ergänzend zu den hier vorgestellten Untersuchungen *in vitro* neuronale Zellkulturen mit Isofluran präkonditioniert und anschließend Sauerstoff entzogen. Eine dreistündige Vorbehandlung mit 1,4 % Isofluran 24 Stunden vor einem kombinierten Entzug von Glucose und Sauerstoff (OGD) reduzierte die LDH-Freisetzung, als Parameter der Zellschädigung, auf 49 % im Vergleich zu nicht vorbehandelten Zellkulturen¹¹². Zheng et al. konnten ebenfalls Neuroprotektion durch Isofluranpräkonditionierung in Zellkulturen induzieren. Nach einer 20-minütigen OGD wurde das Überleben der Purkinje Zellen ausgewertet. Auch hier konnte eine signifikante Reduzierung der Zellschädigung nach Isofluranpräkonditionierung sowie eine Dosisabhängigkeit zu Isofluran beobachtet werden¹²³.

Diese Experimente bestätigen nicht nur den anhaltenden neuroprotektiven Effekt Isoflurans, der in dieser Arbeit an *in vivo* Modellen dargestellt werden konnte, sondern zeigen auch, dass die durch anästhetische Präkonditionierung induzierte Ischämietoleranz unabhängig von Veränderungen der Blutgaswerte, des zerebralen Blutflusses und von Interaktionen mit Blutgefäßen und Blutzellen sein kann.

4.3.2 Beeinflussung des zellulären Metabolismus durch volatile Anästhetika

Unklar ist weiterhin der genaue Wirkmechanismus der akuten und verzögerten Neuroprotektion durch volatile Anästhetika. Einige Autoren führen den neuroprotektiven Effekt auf die herabgesetzte kortikale elektrische Aktivität und somit auf den reduzierten cerebralen Metabolismus sowie auf Änderungen des cerebralen Blutflusses zurück^{94;124}. Mackensen et al. konnten experimentell zeigen, dass die protektiven Effekte Isoflurans nicht allein auf Veränderungen des CBF beruhen können und postulieren, dass für den neuroprotektiven Effekt andere Mechanismen verantwortlich sein müssen¹²⁵. Weiterhin wird die Blockade der durch Ischämie verursachten Glutamatausschüttung¹²⁶, die Induktion des Gammaaminobuttersäure (GABA) Type A assoziierten K⁺ Einstroms^{127;128} oder die Hemmung der N-Methyl-D-Aspartat-abhängigen Ionenkanäle¹²⁹ als die Aktivitäten betrachtet, die wahrscheinlich bei der Induktion der neuroprotektiven Wirkung volatiler Anästhetika involviert sind. Die Untersuchungen dieser Studien konzentrieren sich auf den direkten protektiven Effekt der Anästhetika während der Ischämie. In der Literatur gibt es bereits seit 1997 erste Hinweise, dass der protektive Effekt volatiler Anästhetika auch nach deren unmittelbaren Applikation anhält¹³⁰.

Besonders in der Kardiologie gelten volatile Anästhetika als interessante Präkonditionierungsstimuli^{131;132}. Einen direkten Beleg für eine verzögerte Präkonditionierung von neuronalem Gewebe wurde erst im Rahmen dieser Arbeit geliefert.

Da volatile Anästhetika, insbesondere Isofluran, nur geringfügig metabolisiert und sehr schnell vom Organismus ausgeschieden werden¹³³, vermuten wir, dass prolongierte neuroprotektive Effekte volatiler Anästhetika, die mehr als zwölf Stunden anhalten, nicht von der direkten Anwesenheit dieser Stoffe abhängig sein können.

Unterstützt wird diese Hypothese auch dadurch, dass in neuronalen Zellkulturen prolongierte Neuroprotektion durch Isofluran induziert werden kann.

Welche Auswirkungen die volatilen Anästhetika auf die Genexpression haben, wurde bisher nur unvollständig untersucht. Es gibt einige Studien, welche eine Beteiligung von Transkriptionsfaktoren der Klasse der IEG (Induced Early Genes)-Familie, speziell auf *c-fos* und *c-jun*, zeigen¹³⁴. Die Arbeitsgruppe Marota et al.⁹⁶ konnte die Induktion von *c-fos* und *jun-B* im Rattenhirn demonstrieren, nachdem die Tiere mit Pentobarbital und Halothan anästhesiert wurden. In weiteren Experimenten konnten Takayama et al.¹³⁵ immunhistochemisch die Induktion der *c-fos* Expression beobachten, welche durch die verschiedenen Anästhetika Urethan, Halothan, Pentobarbital und Fentanyl verursacht wurde. Diese beobachteten Veränderungen in der Genexpression implizieren, dass es zu Umbauvorgängen kommt, die auch noch nach Beendigung des anästhetischen Zustandes vorhanden sind. Die Identifizierung der Zielgene, kontrolliert durch IEGs, würden möglicherweise den Mechanismus, welcher dem prolongierten neuroprotektiven Effekt der volatilen Anästhetika unterliegt, offenbaren.

Nakes et al. konnten in ihrer Arbeit die direkte Aktivierung der mitochondrialen K-ATP-Kanäle in der inneren Mitochondrienmembran durch Isofluranpräkonditionierung induzieren¹³⁶. Am Herzen spielen die mitochondrialen K-ATP-Kanäle eine übergeordnete Rolle bei der kardialen Präkonditionierung, welche durch volatile Anästhetika hervorgerufen wurden.

Weiterhin konnte die Arbeitsgruppe Zheng et al. durch Präkonditionierung mit Isofluran die Aktivierung der mitochondrial aktivierten Proteinkinase p38 (p38 MAPK) im *in vivo* – Modell zeigen¹¹⁶. MAPK p38 gehört zur Familie der mitochondrial aktivierten Proteinkinasen, zu denen auch die Extrazellulär regulierten Kinasen(ERK's) und *c-jun*-Terminalkinase gehören. Diese werden durch Phosphorylierung aktiviert und aktivieren ihreseits wiederum intrazelluläre Enzyme und Transkriptionsfaktoren.

4.4 Die induzierbare NO - Synthase und Neuroprotektion

In der Literatur gibt es einige Studien, in welchen iNOS oder NO mit einer prolongierten Protektion gegenüber Ischämie in Zusammenhang gebracht wurde^{35;76;134;137}. Aufgrund dessen prüften wir anhand von Western-Blot-Analysen die Expression von iNOS im Neokortex von Ratten, die drei Stunden zuvor mit Isofluran präkonditioniert wurden. Bereits sechs Stunden nach Beenden der anästhetischen Präkonditionierung konnte eine deutliche Expression des iNOS-Proteins nachgewiesen werden.

Es besteht jedoch die Frage, weshalb eine signifikante iNOS-Expression erst 18 Stunden nach Präkonditionierung nachweisbar ist, obwohl die anästhetische Präkonditionierung bereits nach Beenden der Narkose Neuroprotektion induziert.

Vermutlich spielt iNOS in der frühen Phase der Neuroprotektion keine Rolle, sondern eher während der verzögerten Präkonditionierung.

Letztendlich bleibt aber festzuhalten, dass der beobachtete Effekt eine kontinuierliche Neuroprotektion über etwa 24 Stunden ist. Die Einteilung in „frühe Phase“ und „verzögerte Präkonditionierung“ dient eben, wie in der Einleitung bereits erwähnt, der Begreiflichmachung komplexer, teilweiser redundanter und identischer Vorgänge, die sich in engem Wechselspiel zeitlich überlappen.

Die funktionelle Relevanz von iNOS in den in vivo-Experimenten wurde durch Hemmung von iNOS durch Aminoguanidin bestätigt. Aminoguanidin wurde bereits 1992 von der Arbeitsgruppe Misko und Moore et al. als ein selektiver Inhibitor der iNOS beschrieben. Allerdings hemmt Aminoguanidin auch eNOS und nNOS, wenngleich in 10-40 mal höheren Konzentrationen^{138;139}. Eine spezifische Beteiligung der iNOS an der verzögerten Präkonditionierung ist durch diesen experimentellen Aufbau nicht zweifelsfrei nachweisbar. Jedoch wurde die Frage, welche NOS-Isoform hauptsächlich an der verzögerten Präkonditionierung beteiligt ist, bereits 1999 von Guo et al. am Herzen beantwortet⁷⁶. Die Arbeitsgruppe zeigte, dass an Mäusen mit defizientem iNOS-Gen (iNOS-knockout Mäuse) keine verzögerte ischämische Präkonditionierung möglich ist. Die gezielte Unterbrechung des iNOS-Gens führte zu einem kompletten Ausfall der verzögerten Präkonditionierung, wohingegen die frühe Präkonditionierung weiterhin bei diesen Tieren bestehen bleibt und kein Unterschied zu den präkonditionierten Wildtypmäusen nachweisbar ist. Weiterhin konnten Guo et al. anhand von Western-

Blot-Analysen eine starke Expression der iNOS bei Wildtypmäusen 24 Stunden nach Präkonditionierung zeigen. Die Expression der eNOS sowie der nNOS zeigte keinen Unterschied zwischen den verschiedenen Mausstämmen und den unterschiedlichen Behandlungen (Präkonditionierung und keine Präkonditionierung).

Mit diesen Experimenten konnten Guo et al. die selektive Expression und die obligatorische Rolle der iNOS an der verzögerten Präkonditionierung am Herzen beweisen.

In dieser Arbeit konnten wir zeigen, dass anästhetische Präkonditionierung die iNOS Expression am Neokortex induziert. Eine Behandlung mit dem iNOS-Blocker Aminoguanidin eliminierte den neuroprotektiven Effekt. Dies deutet darauf hin, dass die iNOS- Aktivität auch im Gehirn einen entscheidenden Anteil an der verzögerten Präkonditionierung hat.

Wir können jedoch nicht ausschließen, dass Aminoguanidin auch Wirkungen auf andere zelluläre Elemente ausübt und dadurch die Präkonditionierung hemmt.

Für die These, dass die Verhinderung der Neuroprotektion durch Aminoguanidin auf der Hemmung der iNOS und nicht auf unspezifischen Effekte von Aminoguanidin, sprechen auch Ergebnisse der Arbeitsgruppe Cho et al. 2005¹⁴⁰. iNOS-null-Mäuse konnten im Gegensatz zu Wildtypmäusen keine Neuroprotektion nach ischämischer Präkonditionierung entwickeln. Wurden Wildtypmäuse vor und nach ischämischer Präkonditionierung mit Aminoguanidin behandelt, so war auch in diesen Fällen keine Neuroprotektion nachweisbar, was unsere Ergebnisse bestätigt. Stimulierung mit LPS, welches die Expression von iNOS induziert, führte zu einer Infarktreduktion von 40 %. Eine Behandlung mit Aminoguanidin verhinderte die Neuroprotektion. Auch diese Arbeiten unterstützen unsere Daten, dass iNOS ein relevanter Faktor bei der Entwicklung von Ischämietoleranz ist.

4.4.1 Hypothesen des Wirkmechanismus von iNOS

Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen für eine wichtige Rolle von iNOS bei der Entwicklung der Ischämietoleranz. Speziell während der verzögerten Präkonditionierung ist iNOS ein wesentlicher Bestandteil für die Induktion der Neuroprotektion im Gehirn bei Ratten.

So sind u. a. ischämische Episoden, LPS^{140;76} und, wie in dieser Arbeit gezeigt, Isofluran mögliche Stimuli einer Ischämietoleranz durch Induktion der iNOS-Expression. iNOS scheint ein wesentlicher Mediator der Neuroprotektion im Rahmen der

verzögerten Präkonditionierung, jedoch nicht der frühen Präkonditionierung zu sein. Anhand der Western-Blot-Analysen konnte nachgewiesen werden, dass iNOS erst 18 Stunden nach Isofluranpräkonditionierung signifikant exprimiert wird, eine starke Neuroprotektion wird jedoch bereits direkt nach dem Beenden der Isofluranpräkonditionierung in vivo beobachtet. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die frühe und die späte Phase der Präkonditionierung durch volatile Anästhetika höchstwahrscheinlich auf unterschiedlichen Mechanismen beruhen und die induzierte anhaltende Neuroprotektion das Resultat eines komplexen Zusammenspiels mehrerer Prozesse darstellt.

Die Arbeitsgruppe Cho et al. zeigte, dass iNOS für eine gesteigerte mitochondriale Toleranz gegen Ca^{2+} Depolarisation verantwortlich ist¹⁴⁰. Dieses Phänomen, ausgelöst durch Präkonditionierung, indiziert, dass iNOS möglicherweise Signalkaskaden induziert, welche zu einer gesteigerten mitochondrialen Resistenz führten.

Sowohl im Gehirn als auch am Herzen werden den Mitochondrien eine wichtige Rolle zur Ausbildung der ischämischen Präkonditionierung zugeschrieben^{141;142}. Vermutlich wird durch Präkonditionierung die mitochondriale Integrität geschützt, u. a. durch Aktivierung der K_{ATP} Kanäle, durch Induktion der Expression neuroprotektiver Gene und auch durch Schutz vor Ca^{2+} induzierter mitochondrialer Membrandepolarisation^{136;143;144}.

Weiterhin konnte auch NO, das Substrat der iNOS als ein Übermittler der Protektion gegenüber ischämischen Zuständen bereits in vielen anderen Studien untermauert werden. Unter anderem wurde NO bei der Beteiligung der Funktion der p21-ras-extrazellulär regulierten Kinasenkaskade beobachtet, was sich als wichtiger Signaltransduktionsweg bei der Induktion der ischämischen Toleranz in neuronalen Zellkulturen zeigte³⁵. In einer anderen Studie wurde NO als ein Suppressor der Nuklear Faktor- κB abhängigen Genexpression¹⁴⁵ identifiziert, und es konnte beobachtet werden, dass das Nitroxylion (NO^-), welches unter physiologischen Bedingungen aus NO mit metallhaltigen Reduktionsmitteln gebildet wird, mit der NR2A-Untereinheit des NMDA-Rezeptors interagiert. Dadurch wird eine Reduktion des Ca^{2+} -Einstroms¹⁴⁶ verursacht.

4.5 Der klinische Ausblick

Experimentell kann bei Ratten und anderen Nagetieren die Toleranz gegen zerebrale Ischämie durch Präkonditionierung mit den verschiedensten Stimuli induziert werden, z.B. durch Hypoxie¹⁴⁷, durch globale und fokale zerebrale Ischämie^{148;149}, durch Reduktion des Grundumsatzes¹¹⁹, Vorbehandlung mit Lipopolysacchariden^{150;151} und auch, wie wir in dieser Studie zeigen konnten, durch volatile Anästhetika, insbesondere Isofluran. Leider wissen wir noch nicht sehr viel über die Möglichkeiten für die Induktion von Ischämietoleranz im menschlichen Gehirn. Dennoch wurden in klinischen Studien Belege gefunden und diskutiert, dass im menschlichen Gehirn durch kurze ischämische Intervalle (Transiente Ischämische Attacken - TIA) Toleranz induziert werden kann^{51;52;152}. In dieser Arbeit beschäftigten wir uns mit dem Induzieren einer prolongierten Neuroprotektion durch Präkonditionierung mit volatilen Anästhetika.

Unsere Beobachtungen weisen auf einen bisher noch nicht beschriebenen prolongierten Effekt volatiler Anästhetika auf das Zentralnervensystem hin, der nicht nur für die protektiven Wirkungen, sondern möglicherweise auch für die unerwünschten perioperativen Dysfunktionen des Zentralnervensystems durch Vollnarkose, verantwortlich sind.

Während sich der klinische Einsatz vieler Präkonditionierungsstimuli verbietet, ist vorstellbar, volatile Anästhetika in Fällen zu verwenden, bei denen mit ischämischen Schäden im Zentralnervensystem gerechnet wird.

Anwendungen würden sich dafür z.B. in der Neuro- und Kardiochirurgie, bei verzögertem Vasospasmus nach subarachnoidalen Blutungen und schwerem hypoxischen Stress bei komplizierten Geburten Neugeborener finden.

Schließlich ist zu hoffen, dass auf dem Boden der Untersuchungen der Mechanismen der Präkonditionierung Applikationen (wie etwa iNOS-Induktoren) entwickelt werden, die eine Neuroprotektion unabhängig von anderen, unerwünschten Effekten bewirken.