

Die Schutzfunktion der intrazellulären Hitze-Schock-Protein70-Expression bei Patienten mit schwerer Sepsis

Protective functions of intracellular heat-shock-protein70-expression in patients with severe sepsis

S. Schroeder, A. Hoeft und F. Stüber

Klinik für Anästhesiologie und Spezielle Intensivmedizin der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. A. Hoeft)

Zusammenfassung: Die intrazelluläre Hitze-Schock-Protein70 (HSP70)-Expression ist ein evolutionär früh entstandener Mechanismus zum Schutz der zellulären Homeostase. HSP70 hat die Fähigkeit, noch nicht nativ gefaltete oder denaturierte Proteine zu erkennen und diese dann über Komplexbildung einer korrekten Faltung und Kompartimentierung oder auch einem proteolytischen Abbau zuzuführen. HSP70 kann offensichtlich auch Proteine vor einer Degeneration schützen. Die intrazelluläre HSP70-Expression wird durch Hitze, Fieber, Hypoxie, Sauerstoffradikale, Endotoxin, Zytokine und Schwermetallionen induziert. Es ist bekannt, daß eine vorausgehende Induktion der HSP70-Expression die Mortalität sowie Organdysfunktion bei tierexperimentell induzierter Sepsis verringert.

Die schwere Sepsis in der Intensivmedizin

Die Sepsis gehört trotz aller Fortschritte der modernen Medizin zu den häufigsten Todesursachen von Patienten auf Intensivstationen. Die Angaben zur Mortalität der Sepsis schwanken in der Literatur zwischen 30% und 50%, bei Multiorganversagen erreicht die Mortalität nahezu 90%. Damit ist die Sepsis mit der potentiellen Gefahr eines Multiorganversagens in der Intensivmedizin eines der vorrangigen Probleme hinsichtlich Prävention, Diagnostik und Therapie (4, 5, 10, 15, 16, 23, 36, 45, 49).

Die Nomenklatur für die unterschiedlichen Ausprägungsgrade der Sepsis wurde 1992 von der Konsensuskonferenz der Society of Critical Care Medicine und des American College of Chest Physicians definiert (31). Danach liegt bei einer Sepsis neben einer nachgewiesenen Infektion eine systemische Entzündungsreaktion mit mindestens zwei der folgenden Kriterien vor: Körpertemperatur $>38^{\circ}\text{C}$ oder $<36^{\circ}\text{C}$, Tachykardie (Herzfrequenz $>90/\text{min}$), respiratorische Insuffizienz (Tachypnoe >20 Atemzüge/min oder $\text{paCO}_2 <32 \text{ mmHg}$) und Veränderungen im weißen Blutbild (Leukozytose $>12000/\text{mm}^3$ oder Leukozytopenie $<4000/\text{mm}^3$ oder mehr als 10% unreife Zellen). Eine schwere Sepsis liegt definitionsgemäß

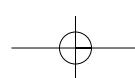
dann vor, wenn es im Rahmen der Sepsis zur Organdysfunktion kommt.

Allgemeine Funktionen von Hitze-Schock-Proteinen

Die Beobachtung klinisch unterschiedlicher Verläufe einer Sepsis bei vergleichbarem Infektionsherd lässt eine variable Aktivierung und Wirkung von Sepsis-Mediatoren vermuten, zum Beispiel aufgrund individuell ausgeprägter körpereigener zytoprotektiver Mechanismen. Es ist bekannt, daß die im Rahmen einer schweren Sepsis freigesetzten Zytokine die intrazelluläre Expression von Hitze-Schock-Proteinen induzieren können (40). Die Hitze-Schock-Protein-Expression kann des weiteren durch Hypoxie, Sauerstoffradikale, Endotoxin, Infektionen und Fieber induziert werden (27, 28, 40). Die intrazelluläre Hitze-Schock-Protein-Expression schützt die Zelle vor deletären Wirkungen, zum Beispiel durch Hitze, Hypoxie, Endotoxin und Zytokine, wobei ein möglicher Wirkmechanismus die Stabilisierung der intrazellulären Proteinstruktur ist: Hitze-Schock-Proteine haben die Fähigkeit, noch nicht nativ gefaltete oder denaturierte Proteine zu erkennen und diese dann über Komplexbildung einer korrekten Faltung und Kompartimentierung oder auch einem proteolytischen Abbau zuzuführen. Sie können offensichtlich auch Proteine vor einer Degeneration schützen (13, 17, 26, 34, 37, 60). Die protektiven Auswirkungen der Hitze-Schock-Protein-Expression konnten auch im Sepsis-Tiermodell bestätigt werden (42, 44, 59).

Hitze-Schock-Proteine bei verschiedenen Spezies

Die Expression von Hitze-Schock-Proteinen wurde erstmalig 1962 von Ritossa entdeckt (43). Gegen Ende der 70er Jahre waren Hitze-Schock-Proteine bei verschiedenen Spezies (Bakterien, Pflanzen, Tiere, Mensch) nachgewiesen worden, und es wird heute davon ausgegangen, daß sie bei allen Organismen vorkommen (6, 27, 47). Die Hitze-Schock-Proteine (HSP)



werden aufgrund ihrer molekularen Masse in Klassen eingeteilt: HSP100 (etwa 100 Kilodalton), HSP90, HSP70, HSP60 und kleinere HSP (molekulare Masse zwischen 40 und 10 Kilodalton) (12, 17, 37). Bei den Eukaryonten gibt es zum Teil mehrere Gene, die für ein HSP der verschiedenen Molekulargewichtsklassen kodieren. Die meisten Untersuchungen liegen zur HSP70-Familie vor (27, 40). Hier gibt es allein 11 verschiedene Gene beim Menschen, die für HSP70 kodieren. Dabei handelt es sich um konstitutiv exprimierte und induzierbare HSP70-Gene (56). Die Proteine der HSP70-Familie weisen eine ausgeprägte Homologie auf der Ebene der Aminosäuren auf. Während sie innerhalb der eukaryontischen HSP70-Familie 60-78% beträgt, finden sich beim humanen HSP70 und dem HSP70 von *Escherichia coli* (DnaK) 47% identische Aminosäuren (21).

Aktivierung der Expression von Hitze-Schock-Proteinen

Die Aktivierung der Hitze-Schock-Protein-Expression erfolgt durch einen sogenannten "Hitze-Schockfaktor" (HSF). Der HSF ist normalerweise im Zytosol an Hitze-Schock-Protein (HSP) gebunden und dadurch inaktiv. Unter Einwirkung einer Noxe trennt er sich vom HSP, wird durch verschiedene Proteinkinasen phosphoryliert und bildet anschließend Trimere. Diese

wandern in den Zellkern und binden dort an spezifische DNA-Abschnitte (Hitze-Schock-Element), welche in der Promotorregion von HSP-Genen lokalisiert sind. Nach erfolgter Transkription einer HSP-mRNA wandert diese in das Zytosol. Dort findet anschließend die Translation und Neusynthese von HSP statt. Der HSF kehrt ebenfalls in das Zytosol zurück und bindet erneut an HSP. Dadurch wird eine weitere Synthese von HSP unterbunden (Abb. 1) (1, 24, 35).

Humanes Hitze-Schock-Protein70 (HSP70)

HSP70 ist das am ausführlichsten untersuchte Hitze-Schock-Protein. Drei gut untersuchte Genloci der humanen Mr 70.000 Proteininfamilie liegen im Gencluster der HLA-Klasse-III-Gene auf dem kurzen Arm von Chromosom 6. Hierbei handelt es sich um die HSP70-1, HSP70-2 und HSP70-HOM Gene. Die Gene HSP70-1 und HSP70-2 kodieren ein identisches Protein; das HSP70-HOM Gen kodiert ein Protein, das zu 90% mit der Proteinsequenz des von HSP70-1 und HSP70-2 kodierten Genproduktes übereinstimmt. Die konstitutiven Proteine (HSP70-1 und HSP70-HOM) sind insbesondere in Phasen der Zellproliferation und -differenzierung von Bedeutung. Dabei ist HSP70 an der korrekten Faltung entstehender und partiell denaturierter Proteine, am Transport von Proteinen durch Membranen und an der Synthese

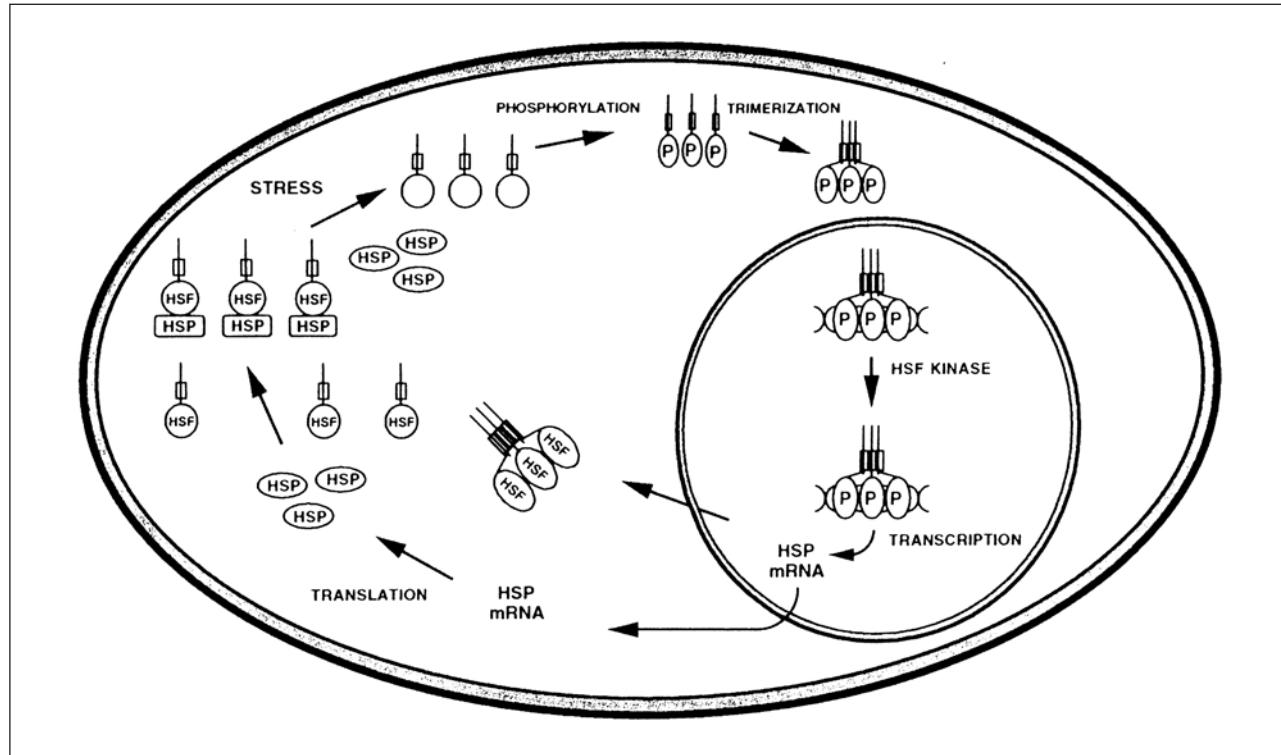
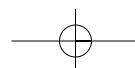


Abbildung 1: Auswirkungen einer Zellnoxe auf die Synthese und Funktion des Hitze-Schock-Proteins. Die Regelung der Transkription und Translation des Hitze-Schock-Proteins (HSP) erfolgt über den Hitze-Schock-Faktor (HSF) und das Hitze-Schock-Element (HSE) im Promotorbereich des Hitze-Schock-Gens. (Quelle: Kiang JG and Tsokos GC, Pharmacol Ther 80 (1998) 183-201)



oligomerer Proteinstrukturen beteiligt. Die induzierbaren Proteine (HSP70-2 und auch HSP70-1) werden dagegen nach dem Einwirken verschiedener Zellnoxen (Hitze, Hypoxie, Endotoxin, Zytokine, Sauerstoffradikale, u.a.) synthetisiert (32, 33, 34, 37). Sie haben die Fähigkeit, denaturierte Proteine zu erkennen und diese dann über Komplexbildung einer korrekten Faltung und Kompartimentierung oder auch einem proteolytischen Abbau zuzuführen. Sie können offensichtlich auch Proteine vor einer Degeneration schützen.

Protektive Wirkungen von Hitze-Schock-Protein70 (HSP70) auf zellulärer Ebene

Es ist bekannt, daß Hitze-Schock-Proteine Zellen vor deletären Wirkungen durch starke Hitze und andere Noxen schützen (61). Dafür haben Hitze-Schock-Proteine die Fähigkeit, denaturierte Proteine zu erkennen und diese dann einer korrekten Faltung und Kompartimentierung oder auch einem proteolytischen Abbau zuzuführen. Hitze-Schock-Proteine können offensichtlich auch Proteine vor einer Degeneration schützen. In einer Untersuchung von *Johnston* und *Kucey* (22) konnte gezeigt werden, daß eine kompetitive Hemmung der intrazellulären HSP70-Expression eine erhöhte Thermosensitivität von Zellen bewirkt. Zellen mit intakter intrazellulärer HSP70-Expression erwiesen sich im Vergleich zu modifizierten Zellen mit reduzierter HSP70-Expression gegenüber Hitze als deutlich widerstandsfähiger (Thermotoleranz). Mit einer weiteren Untersuchung wurde demonstriert, daß Zellen, die mit intrazellulären Antikörpern gegen HSP70 vorbehandelt waren, einen kurzen Hitzeschock (45°C) nicht überlebten. Zellen ohne Vorbehandlung mit Antikörpern gegen intrazelluläres HSP70 überlebten die gleiche Hitzeschockbehandlung. Damit scheint funktionelles HSP70 während und nach dem Einwirken von starker Hitze für das Überleben von Zellen wichtig zu sein (41).

Hitze-Schock-Protein70 (HSP70) im Sepsis-Tiermodell

In der Literatur finden sich Hinweise, daß im Tiermodell eine vorausgehende Hitze-Schock-Reaktion die Mortalität sowie die Organdysfunktion bei experimentell induzierter schwerer Sepsis verringert: *Hotchkiss* et al. (20) und *Ryan* et al. (44) zeigten, daß Nager nach Hyperthermie mit konsekutiver HSP70-Expression eine geringere Mortalitätsrate nach Gabe von letalen Endotoxindosen aufwiesen als die Kontrolltiere ohne vorherige Induktion der HSP70-Expression. Weitere Studien von *Villar* et al. (59) und *Ribeiro* et al. (42) konnten ebenfalls in einem Sepsis-Tiermodell den protektiven Effekt der HSP70-Expression, induziert durch Hyperthermie oder intra-

venöse Gabe einer Arsenverbindung (NaAsO_2), nachweisen. Beide Studien zeigten, daß die Induktion der HSP70-Expression Schutz vor Organschäden der Lunge und Leber durch Endotoxin bewirkt. Kürzlich veröffentlichte Studienergebnisse von *Klosterhalfen* et al. (25) beschrieben die protektiven Auswirkungen von HSP70 bei Schweinen mit Sepsis. Die Autoren induzierten die HSP70-Expression durch eine Zinkverbindung (Zn-bis-(DL-Hydrogenaspartat)). Sie konnten zeigen, daß die HSP70-Expression mit einer Reduktion der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen und einer verminderten Apoptoserate von Zellen aus Lunge, Leber und Nieren einherging. Des Weiteren hatten die Schweine mit induzierter HSP70-Expression geringer ausgeprägte Hypotensionen. Dies ist möglicherweise auf die Modulation der Zytokinexpression zurückzuführen. In-vitro-Studien zeigten, daß die Induktion der Hitze-Schock-Antwort in kultivierten mononukleären Zellen eine Inhibition der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen zur Folge hatte (11, 48, 54). Weitere In-vitro-Untersuchungen mit kultivierten humanen und tierischen Zellen aus Leber, Lunge und Gefäßwand demonstrierten als Folge einer Hitze-Schock-Antwort eine verminderte zytokinassoziierte Freisetzung der induzierbaren Stickoxidsynthase (iNOS) (57, 58, 62, 63, 65). *Cahill* et al. (7) zeigten, daß der Hitzeschockfaktor offenbar eine inhibierende Wirkung auf die Transkription des Prointerleukin-1 β -Gens in mit Lipopolysaccharid stimulierten humanen Monozyten ausübt.

Der nukleäre Transkriptionsfaktor NF- κ B, ein DNA-bindendes Protein und intrazelluläres Glied der Signaltransduktionskette, hat eine wichtige Funktion bei der Regulation der Expression von proinflammatorischen Zytokinen: NF- κ B bindet in der Promotorregion der meisten proinflammatorischen Zytokine und aktiviert deren Transkription (2). Der Verlauf einer systemischen Entzündungsreaktion und Sepsis scheint von der NF- κ B-Aktivierung abhängig zu sein. Eine erhöhte NF- κ B Bindungsaktivität in mononukleären Zellen aus dem peripheren Blut korrelierte in der Untersuchung von *Böhrer* et al. (3) mit der Mortalitätsrate von Patienten mit einer Sepsis. Es gibt Hinweise, daß Hitze-Schock-Proteine die Expression proinflammatorischer Zytokine durch Inhibition der Translokation von NF- κ B in den Kern modulieren (57, 64, 65).

I- κ B, ein natürlicher NF- κ B Inhibitor (2), liegt intrazellulär sowohl in freier als auch in gebundener Form an NF- κ B vor. Die Bindung von I- κ B an NF- κ B bewirkt, daß der nukleäre Transkriptionsfaktor nicht in den Zellkern gelangen kann, um dort an entsprechende Zytokingene zu binden. Hier haben Untersuchungen gezeigt, daß ein Hitze-Schock die Gen-Expression von I- κ B induzieren kann (30, 64). Die Induktion der Expression von I- κ B und Bindung an NF- κ B bedeutet eine weitere Möglichkeit der modulierten Expression von proinflammatorischen Zytokinen (Abb. 2).

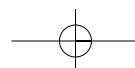


Abbildung 2: Schematische Übersicht möglicher Effekte der Hitze-Schock-Antwort auf verschiedene Regulationsmechanismen der Expression von Entzündungsmediatoren. Erläuterungen im Text unter Hitze-Schock-Protein 70 im Sepsis-Tiermodell.

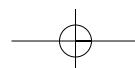
Humanes Hitze-Schock-Protein70 (HSP70) und schwere Sepsis

Die bislang veröffentlichten Untersuchungen zur Expression von Hitze-Schock-Proteinen im Sepsis-Tiermodell zeigen deren protektive Effekte. Dies wird einerseits darauf zurückgeführt, daß Hitze-Schock-Proteine die Fähigkeit haben, denaturierte Proteine zu erkennen und diese dann über Komplexbildung einer korrekten Faltung und Kompartimentierung oder auch einem proteolytischen Abbau zuzuführen. Sie können offensichtlich auch Proteine vor einer Degeneration schützen (13, 17, 26, 34, 37, 60). Zusätzlich haben Hitze-Schock-Proteine die Fähigkeit, die Zytokinexpression zu modulieren. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, inwieweit Sepsismediatoren bei Patienten mit schwerer Sepsis einen Einfluß auf die HSP70-Expression haben, und inwiefern die HSP70-Expression den Verlauf und die Prognose einer schweren Sepsis beeinflussen kann. Dazu wurde in einer Untersuchung geklärt, ob es bei gesunden Probanden, Patienten nach großen chirurgischen Eingriffen und Patienten mit schwerer Sepsis einen Unterschied in bezug auf die Kapazität der potentiell protektiven HSP70-Expression in mononukleären Zellen des peripheren Blutes vor und nach ex vivo Lipopolysaccharid-Stimulation gibt (51). Mit dieser Untersuchung wurde gezeigt, daß bei Patienten mit schwerer Sepsis im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe und Patienten nach großen chirurgischen Eingriffen HSP70 in mononukleären Zellen des peripheren Blutes nur vermindert induziert werden konnte (51). In einer weiteren Studie bestätigten sich diese Befunde (50). Dabei wurde gezeigt, daß die HSP70-Expression in mononukleären Zellen des peripheren Blutes von Patienten mit schwerer Sepsis und gesunden Probanden ex vivo durch Lipopolysaccharid dosis- und zeitabhängig inhibiert wird. Die HSP70-Expression war in der Patientengruppe zu jedem Zeitpunkt mit variabler Lipopolysacchariddosis signi-

fikant geringer als bei den gesunden Probanden. Diese Befunde erschienen zunächst überraschend, da für Patienten mit schwerer Sepsis im Vergleich zu Gesunden eine vermehrte intrazelluläre HSP70-Expression vermutet wurde, weil zirkulierende Sepsis-Mediatoren als potente Induktoren der HSP70-Expression gelten. Möglicherweise waren die mononukleären Zellen der Patienten mit schwerer Sepsis für eine erneute Induktion der Hitze-Schock-Antwort ex vivo refraktär, da diese bereits durch zirkulierende Sepsismediatoren im Körper stimuliert wurden. In der Literatur finden sich Hinweise eines genetischen Einflusses auf die Zytokin-Expression: *Pociot et al.* (38) fanden einen TaqI-Polymorphismus im humanen Interleukin-1beta(IL-1 beta)-Gen, der mit einer variablen IL-1beta-Expression ex vivo verbunden war. *Fishman et al.* (14) zeigten einen Unterschied bei der Interleukin-6-Expression in Abhängigkeit vom Genotyp. Für die Interleukin-10-Expression konnte ebenfalls eine Abhängigkeit vom Genotyp gezeigt werden (19). Die intrazelluläre HSP70-Expression wird möglicherweise auch, ähnlich wie bei den Zytokinen, vom Genotyp beeinflußt. In diesem Zusammenhang gab es erste Untersuchungen bei Patienten mit einem insulinpflichtigen Diabetes mellitus (39). Die Autoren diskutierten einen möglichen Zusammenhang zwischen Genotyp und variabler HSP70-Expression. In einer weiteren Untersuchung wurde deshalb auch der Zwei-Allel-PstI-Polymorphismus in der Kodierungsregion von HSP70-2 (G/A) und der Zwei-Allel-NcoI-Polymorphismus in der Kodierungsregion von HSP70-HOM (C/T) bei Patienten mit schwerer Sepsis und gesunden Probanden mit der Fragestellung untersucht, inwieweit diese beiden HSP70-Gen-Polymorphismen Auswirkungen auf die Inzidenz, den Verlauf und die Prognose einer schweren Sepsis haben (52). Die Untersuchungsergebnisse zeigten keinen Zusammenhang zwischen HSP70-2 und HSP70-HOM Gen-Polymorphismen und dem Überleben einer schweren Sepsis. Eine zusätzliche Untersuchung ergab, daß Genotypen des induzierbaren HSP70-2 keinen Einfluß auf die HSP70-Expression haben (53). Mit der Untersuchung von erweiterten Haplotypen konnte allerdings gezeigt werden, daß der Genotyp HSP70-2 A/A überhäufig mit dem Genotyp TNF B2/B2 gekoppelt ist (52). Der Genotyp TNF B2/B2 ist mit einer erhöhten Freisetzung des Tumor-Nekrose-Faktors (TNF) und einer signifikant erhöhten Sterblichkeit bei schwerer Sepsis verbunden (55). Damit scheint die Untersuchung von erweiterten Haplotypen im Zusammenhang mit HSP70 eine Prognose des Verlaufs der schweren Sepsis zu ermöglichen.

Ausblick

Die intrazelluläre Expression von Hitze-Schock-Proteinen in Immunzellen führt ex vivo zu einer erhöhten Widerstandsfähigkeit gegenüber Zellnoxen und zu einem geringeren Zelltod und ist damit möglicherweise ein wichtiger Bestandteil beim Erhalt der



Intensivmedizin

Immunfunktion im Rahmen einer schweren Sepsis (8, 9, 29). Es konnte in weiteren Studien bestätigt werden, daß die intrazelluläre Expression von Hitze-Schock-Proteinen vor Apoptose schützen kann (18, 46). In zukünftigen weiterführenden Untersuchungen sollte geklärt werden, welcher zeitliche und kausale Zusammenhang zwischen Zytokinspiegeln und intrazellulärer HSP70-Expression in Immunzellen bei Patienten mit schwerer Sepsis besteht. Des weiteren ist von Interesse, inwieweit die HSP70-Expression bei Patienten mit schwerer Sepsis eine Kovariable für den bekannten Zusammenhang zwischen der überschießenden Expression von proinflammatorischen Zytokinen mit nachfolgender Organdysfunktion und möglichen Multiorganversagen darstellt. Aus den gewonnenen Erkenntnissen könnte möglicherweise ein adjuvanter Therapieansatz zur Modulation der systemischen Entzündungsreaktion durch geplante Induktion der intrazellulären HSP70-Expression entwickelt werden.

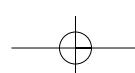
Summary: Expression of heat-shock protein70 (HSP70) is a mechanism that arose early in evolutionary development to protect cellular homeostasis. HSP70 has the ability to detect proteins that are incorrectly folded or denatured. Complexing with such proteins, HSP70 can fold and compartmentalize or metabolize them through proteolysis. HSP70 apparently also protects proteins from degeneration. Intracellular HSP70-expression is induced by heat, fever, hypoxia, oxygen radicals, endotoxins, cytokines and heavy metal ions. It has been shown, that pre-emptive induction of HSP70-expression decreases organ dysfunction and mortality in animal models of sepsis.

Key-words:

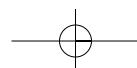
**Heat-shock proteins 70;
Septicemia;
Intensive care;
Cytokines.**

Literatur

1. Abravaya K, Myers MP, Murphy SP, Morimoto RI: The human heat shock protein hsp70 interacts with HSF, the transcription factor that regulates heat shock gene expression. *Genes Dev* 6 (1992) 1153-1164
2. Baldwin AS, Jr: The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 14 (1996) 649-683
3. Böhrer H, Qiu F, Zimmermann T, Zhang Y, Jilmer T, Männel D, Böttiger BW, Stern DM, Waldherr R, Saeger HD, Ziegler R, Bierhaus A, Martin E, Nawroth PP: Role of NFkappaB in the mortality of sepsis. *J Clin Invest* 100 (1997) 972-985
4. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Gouin F, Lepoutre A, Mercier JC, Offenstadt G, Regnier B: Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU group for severe sepsis. *JAMA* 274 (1995) 968-974
5. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J: Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. French bacteremia-sepsis study group. *Am J Respir Crit Care Med* 154 (1996) 617-624
6. Burdon RH: Heat shock and the heat shock proteins. *Biochem J* 240 (1986) 313-324
7. Cahill CM, Waterman WR, Xie Y, Auron PE, Calderwood SK: Transcriptional repression of the prointerleukin 1beta gene by heat shock factor 1. *J Biol Chem* 271 (1996) 24874-24879
8. Ciavarra RP, Simeone A: T lymphocyte stress response. I. Induction of heat shock protein synthesis at febrile temperatures is correlated with enhanced resistance to hyperthermic stress but not to heavy metal toxicity or dexamethasone-induced immunosuppression. *Cell Immunol* 129 (1990) 363-376
9. Ciavarra RP, Simeone A: T lymphocyte stress response. II. Protection of translation and DNA replication against some forms of stress by prior hyperthermic stress. *Cell Immunol* 131 (1990) 11-26
10. Debets JM, Kampmeijer R, van der Linden MP, Buurman WA, van der Linden CJ: Plasma tumor necrosis factor and mortality in critically ill septic patients. *Crit Care Med* 17 (1989) 489-494
11. Dinarello CA, Dempsey RA, Allegretta M, LoPreste G, Dainiak N, Parkinson DR, Mier JW: Inhibitory effects of elevated temperature on human cytokine production and natural killer activity. *Cancer Res* 46 (1986) 6236-6241
12. Ellis RJ: Stress proteins as molecular chaperones. In: van Eden W, Young DB (eds). Stress proteins in medicine. pp 1-26, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong 1986
13. Ellis RJ, van der Vies SM: Molecular chaperones. *Annu Rev Biochem* 60 (1991) 321-347
14. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Woo P: The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 102 (1998) 1369-1376
15. Friedman G, Silva E, Vincent JL: Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med* 26 (1998) 2078-2086
16. Le Gall JR, Lemeshow S, Leleu G, Klar J, Huillard J, Rue M, Teres D, Artigas A: Customized probability models for early severe sepsis in adult intensive care patients. Intensive Care Unit Scoring Group. *JAMA* 273 (1995) 644-650
17. Georgopoulos C, Welch WJ: Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones. *Annu Rev Cell Biol* 9 (1993) 601-634
18. Gorman AM, Heavey B, Creagh E, Cotter TG, Samali A: Antioxidant-mediated inhibition of the heat shock response leads to apoptosis. *FEBS Lett* 445 (1999) 98-102
19. Hajeer AH, Lazarus M, Turner D, Mageed RA, Vencovsky J, Sinnott P, Hutchinson IV, Ollier WE: IL-10 gene promoter polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 27 (1998) 142-145
20. Hotchkiss R, Nunnally I, Lindquist S, Taulien J, Perdrizet G, Karl I: Hyperthermia protects mice against the lethal effects of endotoxin. *Am J Physiol* 265 (1993) R1447-R1457
21. Hunt C, Morimoto RI: Conserved features of eukaryotic HSP70 genes revealed by comparison with the nucleotide sequence of human HSP70. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82 (1985) 6455-6459
22. Johnston RN, Kucey BL: Competitive inhibition of hsp70 gene expression causes thermosensitivity. *Science* 242 (1988) 1551-1554
23. Jones GR, Lowes JA: The systemic inflammatory response syndrome as a predictor of bacteraemia and outcome from sepsis. *QJM* 89 (1996) 515-522
24. Kiang JC, Tsokos GC: Heat shock protein 70 kDa:



- Molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Ther* 80 (1998) 183-201
25. Klosterhalfen B, Hauptmann S, Tietze L, Tons C, Winkeltau G, Kupper W, Kirkpatrick CJ: The influence of heat shock protein 70 induction on hemodynamic variables in a porcine model of recurrent endotoxemia. *Shock* 7 (1997) 358-363
26. Langer T, Neupert W: Heat shock proteins hsp60 and hsp70: their roles in folding, assembly and membrane translocation of proteins. *Curr Top Microbiol Immunol* 167 (1991) 3-30
27. Lindquist S: The heat-shock response. *Annu Rev Biochem* 55 (1986) 1151-1191
28. Lindquist S, Craig EA: The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet* 22 (1988) 631-677
29. Marini M, Frabetti F, Musiani D, Franceschi C: Oxygen radicals induce stress proteins and tolerance to oxidative stress in human lymphocytes. *Int J Radiat Biol* 70 (1996) 337-350
30. De Meester SL, Buchman TG, Qiu Y, Jacob AK, Dunnigan K, Hotchkiss RS, Karl I, Cobb JP: Heat shock induces IkappaB-alpha and prevents stress-induced endothelial cell apoptosis. *Arch Surg* 132 (1997) 1283-1287
31. Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 20 (1992) 864-874
32. Milner CM, Campbell RD: Structure and expression of the three MHC-linked HSP70 genes. *Immunogenetics* 32 (1990) 242-251
33. Milner CM, Campbell RD: Polymorphic analysis of the three MHC-linked HSP70 genes. *Immunogenetics* 36 (1992) 357-362
34. Morimoto RI: Heat shock: the role of transient inducible responses in cell damage, transformation, and differentiation. *Cancer Cells* 3 (1991) 295-301
35. Morimoto RI: Cells in stress: transcriptional activation of heat shock genes. *Science* 259 (1993) 1409-1410
36. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, Suffredini AF, Danner RL, Cunnion RE, Ognibene FP: Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. *Ann Intern Med* 113 (1990) 227-242
37. Parsell DA, Lindquist S: The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins. *Annu Rev Genet* 27 (1993) 437-496
38. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J: A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 22 (1992) 396-402
39. Pociot F, Ronningen KS, Nerup J: Polymorphic analysis of the human MHC-linked heat shock protein 70 (HSP70-2) and HSP70-Hom genes in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Scand J Immunol* 38 (1993) 491-495
40. Polla BS: A role for heat shock proteins in inflammation? *Immunol Today* 9 (1988) 134-137
41. Riabowol KT, Mizzen LA, Welch WJ: Heat shock is lethal to fibroblasts microinjected with antibodies against hsp70. *Science* 242 (1988) 433-436
42. Ribeiro SP, Villar J, Downey GP, Edelson JD, Slutsky AS: Sodium arsenite induces heat shock protein-72 kilodalton expression in the lungs and protects rats against sepsis. *Crit Care Med* 22 (1994) 922-929
43. Ritossa F: A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in Drosophila. *Experientia* 18 (1962) 571-573
44. Ryan AJ, Flanagan SW, Moseley PL, Gisolfi CV: Acute heat stress protects rats against endotoxin shock. *J Appl Physiol* 73 (1992) 1517-1522
45. Salvo I, de Cian W, Musicco M, Langer M, Piadena R, Wolfier A, Montani C, Magni E: The Italian sepsis study: preliminary results on the incidence and evolution of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 21 (1995) 244-249 (Suppl 2)
46. Samali A, Cotter TG: Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. *Exp Cell Res* 223 (1996) 163-170
47. Schlesinger MJ, Ashburner M, Tissieres A (eds): *Heat shock from bacteria to man*. Cold Spring Harbor Laboratory Press 1982
48. Schmidt JA, Abdulla E: Down-regulation of IL-1 beta biosynthesis by inducers of the heat-shock response. *J Immunol* 141 (1988) 2027-2034
49. Schoenberg MH, Weiss M, Radermacher P: Outcome of patients with sepsis and septic shock after ICU treatment. *Langenbecks Arch Surg* 383 (1998) 44-48
50. Schroeder S, Bischoff J, Lehmann LE, Hering R, von Spiegel T, Putensen C, Hoeft A, Stüber F: Endotoxin inhibits heat shock protein 70 (HSP70) expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with severe sepsis. *Intensive Care Med* 25 (1999) 52-57
51. Schroeder S, Lindemann C, Hoeft A, Putensen C, Decker D, von Ruecker AA, Stüber F: Impaired inducibility of heat shock protein 70 in peripheral blood lymphocytes of patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 27 (1999) 1080-1084
52. Schroeder S, Reck M, Hoeft A, Stüber F: Analysis of two HLA-linked polymorphic heat shock protein 70 genes in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 27 (1999) 1265-1270
53. Schroeder S, Reck M, Lehmann LE, Book M, Hoeft A, Stüber F: The PstI polymorphism of the endotoxin-inducible heat-shock-protein 70-2 gene does not affect messenger RNA level in human whole blood cultures. *Int Care Med* 26 (2000) 1139-1143
54. Snyder YM, Guthrie L, Evans GF, Zuckerman SH: Transcriptional inhibition of endotoxin-induced monokine synthesis following heat shock in murine peritoneal macrophages. *J Leukoc Biol* 51 (1992) 181-187
55. Stüber F, Petersen M, Boekelmann F, Schade U: A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor-alpha concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 24 (1996) 381-384
56. Tavaria M, Gabriele T, Kola I, Anderson RL: A hitchhiker's guide to the human Hsp70 family. *Cell Stress Chaperones* 1 (1996) 23-28
57. De Vera ME, Kim YM, Wong HR, Wang Q, Billiar TR, Geller DA: Heat shock response inhibits cytokine-inducible nitric oxide synthase expression in rat hepatocytes. *Hepatology* 24 (1996) 1238-1245
58. De Vera ME, Wong JM, Zhou JY, Tzeng E, Wong HR, Billiar TR, Geller DA: Cytokine-induced nitric oxide synthase gene transcription is blocked by the heat shock response in human liver cells. *Surgery* 120 (1996) 144-149
59. Villar J, Ribeiro SP, Mullen JB, Kuliszewski M, Post M, Slutsky AS: Induction of the heat shock response reduces mortality rate and organ damage in a sepsis-induced acute lung injury model. *Crit Care Med* 22 (1994) 914-921
60. Welch WJ: Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol Rev* 72 (1992) 1063-1081
61. Welch WJ: How cells respond to stress. *Sci Am* 268 (1993) 56-64
62. Wong HR, Finder JD, Wasserloos K, Pitt BR: Expression of iNOS in cultured rat pulmonary artery smooth muscle cells is inhibited by the heat shock response. *Am J Physiol* 269 (1995) L843-L848



Intensivmedizin

63. Wong HR, Ryan M, Gebb S, Wispe JR: Selective and transient in vitro effects of heat shock on alveolar type II cell gene expression. *Am J Physiol* 272 (1997) L132-L138
64. Wong HR, Ryan M, Wispe JR: Stress response decreases NF-kappaB nuclear translocation and increases I-kappaBalpha expression in A549 cells. *J Clin Invest* 99 (1997) 2423-2428
65. Wong HR, Ryan M, Wispe JR: The heat shock response inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression by blocking I kappa-B degradation and NF-kappa B nuclear translocation. *Biochem Biophys Res Commun* 231 (1997) 257-263.

Korrespondenzadresse:

Dr. med. Stefan Schroeder
 Klinik für Anästhesiologie und Spezielle
 Intensivmedizin
 Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
 Sigmund-Freud-Straße 25
 D-53105 Bonn.

**Das Centre Hospitalier de SAINT-DIZIER
 sucht zum nächstmöglichen Termin**

1 Facharzt/ärztin für Anästhesiologie

Der Aufgabenbereich umfaßt die anästhesiologische Betreuung der Operativen Abteilungen (Orthopädie, Traumatologie, Allgemeinchirurgie, HNO, Urologie, Gynäkologie) und Endoskopie.



Ca. 3 500 Anästhesien, 1 000 Geburten pro Jahr. Hoher Anteil an Regionalanästhesien. Außerdem werden die interdisziplinäre Intensivstation (8 Betten) sowie die Intermediärstation (4 Betten) mit betreut.

Französische Basiskenntnisse sind erwünscht. Eine bereitschaftsdienstfreie Anpassungszeit wird geboten.

Die Vergütung liegt über dem BAT. 15 Tage Fortbildung im Jahr.

SAINT-DIZIER (35 000 Einwohner) liegt am Ostrand der Region Champagne-Ardenne in einem naturtouristisch attraktiven Gebiet zwischen NANCY und REIMS.

Eine deutsche Anästhesistin steht für nähere Informationen zur Verfügung. Die Stelle ist nach einem Jahr verlängerbar.

Interessiert an einer verantwortungsvollen Tätigkeit im dynamischen Team?
 Dann rufen Sie uns an oder schicken Sie Ihre Bewerbungsunterlagen an:

Maike PAUSTIAN oder Docteur Philippe DAGRENAT
Chef du Département d'Anesthésie-Réanimation/S.A.U
CENTRE HOSPITALIER DE SAINT-DIZIER
4 rue Godard Jeanson
F-52115 SAINT-DIZIER CEDEX
E.mail: chgstdizdir@wanadoo.fr
Tél.: 0033/325-56-88-51 / 0033/325-56-84-84