

Abstracts

der 16. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI

Die nachfolgend publizierten Untersuchungen wurden nach einem gutachterlichen Auswahlverfahren auf den Wissenschaftlichen Arbeitstagen der DGAI vom 22. - 23.02.2002 in Würzburg als Vortrag vorgestellt, nachfolgend diskutiert und entsprechend dem Votum der wissenschaftlichen Audienz zur Publikation angenommen.

Isovolämische Hämodilution mit Hydroxyethylstärke plus der bovinen Hämoglobinlösung HBOC-201 verbessert den Gewebs-pO₂ des Pankreas im Vergleich zu Hydroxyethylstärke und Ringer bei schwerer akuter Pankreatitis

M. Freitag¹, T. Strate², C. Schneider², W.T. Knoefel², J.R. Izbicki², T. Standl¹ und J. Schulte am Esch¹

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und

² Abt. für Allgemeinchirurgie Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Fragestellung

Eine schwere akute Pankreatitis (AP) bewirkt den Zusammenbruch der pankreatischen Mikrozirkulation und führt zu einer Verschlechterung der pankreatischen Gewebsoxygenierung. Kann eine ausreichende Sauerstoffversorgung des minderperfundierten Gewebes aufrecht erhalten werden, so ließe sich die Entstehung einer therapierefraktären nekrotisierenden Pankreatitis mit hoher Letalität möglicherweise vermeiden. Durch isovolämische Hämodilution (IHD) konnte bei AP die Progression von Pankreasschädigungen vermieden werden (1). Eigene Untersuchungen mit der bovinen Hb-Lösung HBOC-201 konnten eine Verringerung histopathologischer Pankreasschädigungen zeigen (2). Ziel dieser Studie war es, den therapeutischen Effekt von HBOC-201 auf die Gewebsoxygenierung des Pankreas bei schwerer akuter porciner Pankreatitis im Vergleich zu nicht O₂-transportierenden Infusionslösungen zu untersuchen.

Methodik

33 Schweine (Deutsches Hybridprogramm) wurden nach Genehmigung durch die Behörde mit Fentanyl, Isofluran und Pancuronium narkotisiert und über einen endotrachealen Tubus mit O₂ und Luft kontrolliert normoventiliert (FiO₂: 0,3). Nach Laparatomie und Splenektomie wurde der Ductus pancreaticus kanüliert. Die Messung des tpO₂ im Pankreas erfolgte mit einem Licox Siliconkatheter (Licox Medical Systems, GMS, Kiel). Nach 30 minütiger Äquilibrationszeit (MP0) erfolgte die Induktion einer akuten Pankreatitis mittels Glycodeoxycholsäure (10mmol/l, 0,3 ml/kg intraduktal über 10 Minuten) und Cerulein (5 µg/kg/h i.v.). 15 Minuten (MP1) bzw. 75 Minuten (MP2) nach Pankreatitisinduktion schloß sich die Randomisierung und isovolämische (PCWP-konstante) Hämodilution mit 10% HES 200000/0,5 plus HBOC-201 (+ 0,6 g/dl freies Hb; Oxyglobin®, Biopure, Cambridge, MA, USA), 10% HES 200000/0,5 oder Ringerlösung auf einen Hämatokrit von 15% an. 30 Minuten nach Erreichen des Zielhämatokrits erfolgte eine Messung in stündlichen Abständen (MP3-MP8). Mittels Varianzanalyse (ANOVA) bzw. Student-t-Test wurden die Daten auf mögliche Unterschiede zwischen den Gruppen untersucht (Signifikanzniveau= p<0,05).

Ergebnisse

Die Ergebnisse der tpO₂-Messungen sind in Abbildung 1 zusammengefaßt. Nach Abfall des tpO₂ in allen Gruppen durch Induktion der AP kommt es nach ANH mit HBOC/HES zu einem Anstieg des tpO₂ im Vergleich zur HES bzw. Ringer-Gruppe (p ≤ 0,001). Der tpO₂ bleibt in der HES und Ringer-Gruppe erniedrigt und fällt ab MP 7 (p=0,046) bzw. MP8 (p=0,015) in der Ringer-Gruppe im Vergleich zur HES Gruppe.

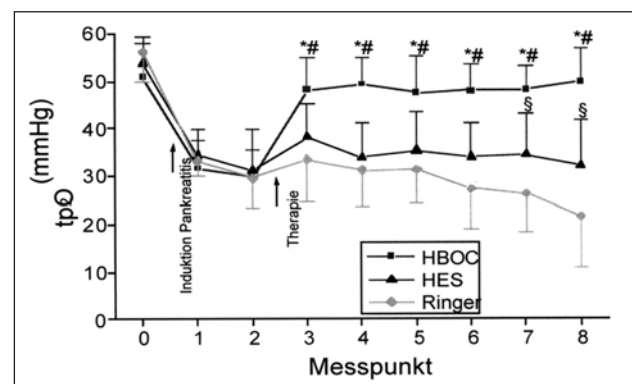


Abbildung 1: Veränderungen des tpO₂ des Pankreas, Mittelwert ± Standardabweichung.

* p<0,05 HBOC-201 vs HES, # p<0,05 HBOC-201 vs Ringer, § p<0,05 HES vs Ringer.

Interpretation

HBOC-201 führt durch seine niedrige O₂-Affinität (p50=36mmHg) und den plasmatischen O₂-Transport im Gegensatz zu HES und Ringer zu einer Normalisierung der pankreatischen Gewebsoxygenierung nach Induktion einer AP. Die IHD und zusätzliche intravenöse Applikation von HBOC-201 als Kombination von rheologischer und O₂-liefernder Therapie stellt möglicherweise eine neuartige Option zur Behandlung einer schweren akuten Pankreatitis dar.

Literatur

1. Klar E, Mall G, Messmer K, Herfarth C, Rattner D W, Warshaw A L: Improvement of impaired pancreatic microcirculation by isovolemic hemodilution protects pancreatic morphology in acute biliary pancreatitis. Surg Gynecol Obstet 176 (1993) 144-155
2. Strate T, Kleinhans H, Mann O, Schneider C, Standl T, Izbicki JR, Bloechle C: Therapy of microcirculatory dysfunction in acute pancreatitis with i.v. application of bovine hemoglobin in the rat. Gastroenterology 118 (2000) A302-0.

Induktion der Hämoxigenase-1 in der Leber der Ratte durch Hemmung der Stickstoffmonoxid-Synthase

A. Hoetzel, A. Welle, R. Schmidt, M. Humar, T. Loop, H.L. Pahl, K. Geiger und B.H.J. Pannen
Anästhesiologische Universitätsklinik Freiburg

Fragestellung

Das Enzym Hämoxigenase (HO) katalysiert den Abbau von prooxidativ wirkendem Häm. Dabei entsteht neben Biliverdin, einem Antioxidans, freies Eisen, ein Regulator der hepatozytären Genexpression sowie Kohlenmonoxid (CO), ein portaler Vasodilatator. Dies ist für die Aufrechterhaltung der Durchblutung, der Funktion und der Integrität der Leber von zentraler Bedeutung (1). Im Gegensatz zu den organprotektiven Wirkungen sind die molekularen Regulationsmechanismen der HO-Expression in der Leber nur unvollständig untersucht. Wir konnten in einer vorausgegangenen Untersuchung zeigen, daß exogenes Stickstoffmonoxid (NO) die hepatische Expression der HO-1, der streßinduzierbaren Isoform der HO, supprimiert (2). Es war deshalb das Ziel dieser Untersuchung, die Frage zu klären, ob endogen gebildetes NO an der Regulation der HO-1 Expression in der normalen Leber beteiligt ist.

Methodik

Nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium wurden Ratten mit Pentobarbital anästhesiert, tracheotomiert und nach Katheterisierung einer Schwanzvene sowie einer Arteria carotis einer der folgenden Gruppen randomisiert zugeteilt: Gruppe 1: Kontrollen (Aqua ad injectabile, 3x1 ml/kg i.v., n=6); Gruppe 2: N_G-Nitro-L-Argininmethylester (L-N, 3x10 mg/kg i.v., n=6); Gruppe 3: (L-Arginin 1x200 mg/kg i.v.+ L-N 3x10 mg/kg i.v., n=5). Da die Gabe von L-N zu einem Blutdruckanstieg führte, wurde in zusätzlichen Experimenten L-N mit dem Vasodilatator Dihydralazin (repetitiv 2 mg/kg i.v., n=5) appliziert um den Blutdruck auf das Niveau der Kontrollgruppe zu senken. Sechs Stunden nach Versuchsbeginn wurde der HO-1 mRNA Gehalt in der Leber durch 'Northern Blotting' analysiert [Relative densitometrische Einheiten; RDE] und die Serumaktivität der Glutamat Oxalacetat Transaminase (GOT) und Laktat Dehydrogenase (LDH) durch einen modularen Analyseautomaten bestimmt [U/L]. In zusätzlichen Experimenten wurde der Blutfluß in der A. hepatica bzw. V. portae durch Ultraschallflussmessköpfe als Ausgangswert T0, 60 Minuten nach L-NAME (10 mg/kg i.v., T60) und weiteren 30 Minuten nach entweder Dihydralazin (2 mg/kg i.v., n=3) oder Aqua ad injectabile (1 ml/kg i.v., n=3) (T90) gemessen. Die Ergebnisse sind als Median [25% / 75% Konfidenzintervall] dargestellt. Die statistische Auswertung erfolgte durch einfaktorielle Varianzanalysen (ANOVA) und Student-Newman-Keuls bzw. Dunn's Posthoc-Tests (Signifikanzniveau p<0.05).

Ergebnisse

Der NOS-Inhibitor L-N induzierte eine Akkumulation von HO-1 mRNA in der Leber (Tab. 1). Die zusätzliche Applikation des NOS-Substrates L-Arginin reduzierte diesen induktiven Effekt von L-N (Tab. 1). Eine vergleichbare Suppression der L-N-vermittelten Induktion der HO-1 konnte auch in zusätzlichen Experimenten bei gleichzeitiger Zufuhr des Vasodilatators Dihydralazin beobachtet werden (1,9

[1,6/2,1] RDE; p>0,05 vs. Kontrollgruppe). Die Aktivität der GOT und der LDH war nach L-N erhöht, während dies bei zusätzlicher Applikation von L-Arginin nicht beobachtet werden konnte (Tab.). Auch in Experimenten, in denen L-N und Dihydralazin appliziert wurden, kam es zu keinem Anstieg der Aktivität von GOT (75 [42/91]; p>0,05 vs. Kontrollgruppe) oder LDH (153 [103/264]; p>0,05 vs. Kontrollgruppe). Der regionale Blutfluß wurde nach L-N Applikation um 45% (V. portae) und 47% (A. hepatica) (T60, p<0,05 vs T0) gesenkt und blieb im gleichen Maße nach Vehikelgabe reduziert (T90). Im Gegensatz dazu zeigte die Applikation von Dihydralazin in der V. portae - nicht jedoch in der A. hepatica - einen Wiederanstieg des Flusses auf Ausgangsniveau (T90, p>0,05 vs T0).

Interpretation

Endogen gebildetes NO supprimiert die Expression der HO¹ in der Leber der anästhesierten Ratte, da der NOS-Inhibitor L-N zu einer hepatischen HO¹ mRNA Akkumulation führte, die durch das natürliche Substrat der NOS partiell antagonisierbar war. In einer vorausgegangenen Studie konnten wir zeigen, daß die endogene Bildung von NO wesentlich zur Aufrechterhaltung des nutritiven Blutflusses in der normalen Leber beiträgt (3). In der aktuellen Untersuchung ging die Blockade der NOS mit einem Anstieg der GOT- und LDH-Aktivität einher, der sowohl durch L-Arginin als auch durch Dihydralazin, ein potenter Vasodilatator im Splanchnikusgebiet, verhindert werden konnte. Diese Befunde wären damit vereinbar, daß es durch die Hemmung der endogenen Bildung von NO zu einer ischämischen Zellschädigung und damit zu einer Expression des streßinduzierbaren HO-1 Gens in der Leber kam.

Literatur

1. Pannen BJJ, Köhler N, Hole B, Bauer M, Clemens MG, Geiger KK: Protective role of endogenous carbon monoxide in hepatic microcirculatory dysfunction after hemorrhagic shock in rats. *J Clin Invest* 102 (1998) 1220
2. Hoetzel A, Vagts DA, Loop T, Humar M, Bauer M, Pahl HL, Geiger KK, Pannen BJJ: Effect of nitric oxide on shock-induced hepatic heme oxygenase-1 expression in the rat. *Hepatology* 33 (2001) 925
3. Pannen BJJ, Bauer M: Differential regulation of hepatic arterial and portal venous vascular resistance by nitric oxide and carbon monoxide in rats. *Life Sci* 62 (1998) 2025.

Dieses Projekt wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt (Sachbeihilfe PA 533/2-3 und Heisenberg-Stipendium PA 533/3-1 für B. Pannen).

Tabelle 1: HO-1 mRNA und Serumaktivität von GOT und LDH. Median (25% / 75%KI). *p<0.05 vs. Kontrollen.

Parameter	Kontrollen	L-N (10 mg/kg) + L-Arginin (200 mg/kg)	L-N (10 mg/kg)	ANOVA P-Wert
HO-1 (RDE)	1,2 (0,9/1,8)	8,2 (2,9/11,8)*	3,1 (2,5/3,4)	0.0034
GOT (U/L)	59 (54/77)	132 (122/182)*	46 (41/53)	0.0001
LDH (U/L)	102 (93/127)	455 (350/629)*	124 (85/190)	0.0154

Einfluß von Perflubron auf den Energiestoffwechsel der Leber nach hämorrhagischem Schock

M. Paxian, H. Rensing, I. Bauer, R. Larsen und M. Bauer

Klinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

Fragestellung

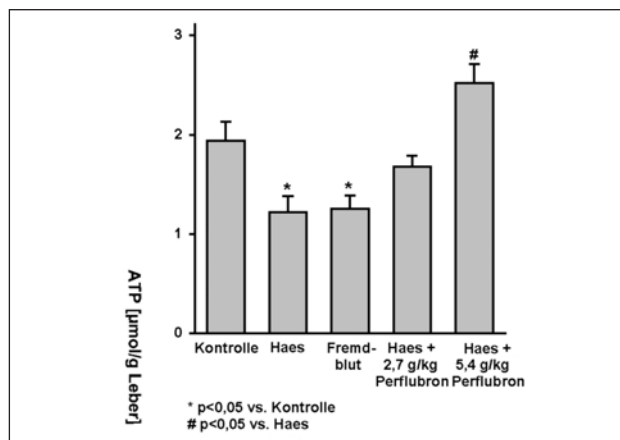
Die Leber spielt nach prolongiertem hämorrhagischem Schock (HS) eine zentrale Rolle bei der Entwicklung eines Multiorganversagens (1). Hypoxie während HS führt zu ATP-Verlust in der Leberzelle und zur unvollständigen Wiederherstellung des ATP-Gehalts nach Reperfusion, der mit der Organdysfunktion korreliert (2). Ziel dieser Studie war es, den Einfluß der Volumentherapie mit einem sich in der klinischen Erprobung befindlichen künstlichen Sauerstoffträger (3) gegenüber der Therapie mit gelagertem Ratten-Fremdblut (FB) nach prolongiertem HS auf die Wiederherstellung des ATP-Gehalts der Leber, die hepatozelluläre Schädigung sowie die Genexpression der hypoxieinduzierbaren Glutaminsynthetase zu untersuchen.

Methodik

Nach Genehmigung durch die zuständige Behörde wurde bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten in Pentobarbitalnarkose (50mg/kg i.p.) der mittlere arterielle Blutdruck durch Blutentnahme für 2 h auf 35 - 40 mmHg gesenkt. Die Volumentherapie erfolgte entweder asanguinös mit Infusion von Hydroxyethylstärke 6% (Haes) [entsprechend 60% des entnommenen Blutvolumens (SBV)], Haes + 2,7 g/kg Perflubron (PFB; Oxygent®) bzw. Haes + 5,4 g/kg PFB oder durch Transfusion von 21 Tage gelagertem homologem FB (je n=8) unter Erhöhung der inspiratorischen O₂-Konzentration von 21% auf 100%. Zusätzlich wurden mit Beginn der Reperfusion 300% des SBV als Ringerlösung über 2 h infundiert. Nach 4 h Reperfusion wurden die Leberproben schockgefroren. Die Bestimmung des ATP-Gehalts in der Leber erfolgte im Gefrierschnitt mit der ATP-Biolumineszenz-Technik sowie quantitativ im Homogenat. Die hepatozelluläre Schädigung wurde anhand der GLDH-Serumkonzentration beurteilt. Die Expression der Glutaminsynthetase wurde mittels Westernblot und Immunhistochemie quantifiziert. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte durch einfaktorielle Varianzanalyse. Die Daten sind als Mittelwerte mit Standardfehlern des Mittelwertes dargestellt.

Ergebnisse

Nach HS und Volumentherapie mit Haes oder FB war der hepatozelluläre ATP-Gehalt gegenüber der Kontrollgruppe signifikant vermindert (Abbildung). Eine Volumentherapie mit Haes in Kombination mit 2,7g/kg PFB bzw. 5,4g/kg PFB führte zu einer Wiederherstellung des ATP-Gehalts in der Leber auf Höhe der Ausgangswerte. Die Serumkonzentration der GLDH dagegen war nach Gabe von FB im Vergleich zur asanguinösen Volumentherapie signifikant erhöht (GLDH [U/l], Mittelwert \pm SEM: Kontrolle $2,2 \pm 0,2$; Haes $35,2 \pm 5,1$; FB $81,9 \pm 20,7^*$; Haes + 2,7g/kg PFB $35,1 \pm 6,6$; Haes + 5,4g/kg PFB $31,0 \pm 5,5$; *p<0,05 vs. Haes). Die Expression der Glutaminsynthetase zeigte nach Volumentherapie mit Haes wie auch nach Applikation von Fremdblut gegenüber dem Kontrollniveau eine signifikante Zunahme, vereinbar mit einer persistierenden Hypoxie, wohingegen nach Gabe von Perflubron (2,7 bzw. 5,4 g/kg) kein Unterschied gegenüber den Kontrollen zu verzeichnen war (densitometrische Einheiten, Mittelwert \pm SEM: Kontrolle $0,6 \pm 0,1$; Haes $1,3 \pm 2^*$; FB $1,4 \pm 0,2^*$; Haes+2,7g/kg



Abbildung

PFB $0,4 \pm 0,1$; Haes + 5,4g/kg PFB $0,5 \pm 0,1$; *p<0,05 vs. Kontrolle). Der arterielle pO₂ betrug während der Reperfusionsphase 377 - 413 mmHg ohne signifikanten Unterschied zwischen den jeweiligen Versuchsgruppen.

Interpretation

Die Ergebnisse dieser Untersuchung legen nahe, daß nach prolongiertem hämorrhagischem Schock mit Verlust energiereicher Phosphate der hepatozelluläre ATP-Gehalt durch Volumentherapie unter Einsatz von Perflubron über eine Erhöhung des O₂-Angebots wieder Ausgangsniveau erreicht. Die Gabe von gelagertem Fremdblut führt dagegen zu einer prolongierten und anhaltenden Verminderung des ATP-Gehalts, die mit einer Zunahme der hepatozellulären Schädigung einhergeht. Die Normalisierung der Expression der durch niedrige pO₂-Werte regulierten Glutaminsynthetase nach Schocktherapie mit Perflubron sowie die Wiederherstellung des hepatozellulären ATP-Gehalts nach Applikation des künstlichen Sauerstoffträgers legen nahe, daß durch Perflubron eine funktionell bedeutsame Erhöhung des O₂-Angebots an die Leber resultiert.

Literatur

- Regel, G., Grotz, M., Weltner, T. et al.: Pattern of organ failure after severe trauma. *World J Surg* 1996, 20: 422-429
- Marubayashi S., Takenaka M., Dohi K. et al.: Adenine nucleotide metabolism during hepatic ischemia and subsequent blood reflow periods and its relation to organ viability. *Transplantation* 1980, 30(4): 294-6
- Spahn, D.R., van Brempf R., Theilmeier, G. et al.: Perflubron emulsion delays blood transfusions in orthopedic surgery. *Anesthesiology* 1999, 91 1195-1208.

Zelluläre Mechanismen der Mikrozirkulationsstörungen nach hämorrhagischem Schock

H. Rensing¹, I. Bauer¹, J. Zhang², M. G. Clemens², M. Paxian¹, R. Larsen¹ und M. Bauer¹

¹ Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

² Department of Biology, University of North Carolina at Charlotte, North Carolina, USA

Fragestellung

Nach Ischämie/Reperfusionseignissen kommt es in der Leber zu ausgeprägten Störungen der Mikrozirkulation, die durch eine Perfusionsheterogenität des Azinus mit Ausbildung funktioneller Shunts charakterisiert sind. Diese Perfusionsheterogenität trägt entscheidend zur Ausbildung eines Reperfusionsschadens bei. In einer früheren Untersuchung konnten wir zeigen, daß die streßbedingte Hochregulation von Endothelin(ET)-1 und von Kohlenmonoxid (CO), gebildet durch die Hämoxigenase-1, eine wesentliche Bedeutung für die Ausbildung der Perfusionsheterogenität hat (1). Als kontraktiles Element des Sinusoids wurden erst kürzlich die Vitamin-A-speichernden Sternzellen identifiziert (2). Ob die beobachteten Veränderungen der Mikrozirkulation durch eine direkte Wirkung der genannten Mediatoren auf die hepatische Sternzelle in vivo hervorgerufen werden, ist nicht geklärt. Ziel der

vorliegenden Untersuchung war es daher, die Bedeutung der Sternzellen für die sinusoidale Konstriktion nach hämorrhagischem Schock in vivo zu ermitteln.

Methodik

Nach Genehmigung durch die zuständige Behörde wurde bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten (n=5 / Gruppe) durch intraperitoneale Injektion von Pentobarbital eine Narkose eingeleitet. In dem verwendeten, nicht heparinisierten hämorrhagischen Schockmodell wurde durch raschen arteriellen Blutentzug der mittlere arterielle Druck auf 35 - 40 mmHg für 60 Minuten gesenkt. Die anschließende Volumentherapie erfolgte mittels Rückgabe von 60% des entnommenen Blutes und Vollelektrolytlösung (300% des entnommenen Blutvolumens in 2 Stunden). Der sinusoidale Durchmesser im Bereich der Sternzellen (identifiziert durch ihre Vitamin-A-Autofluoreszenz) wurde mittels hochauflösender intravitaler Transilluminationsmikroskopie nach 6 Stunden Versuchsdauer untersucht: Nach einer 10-minütigen Ruhephase erfolgte die Gabe des nicht selektiven Endothelinantagonisten Bosentan (10mg/kg i.v.) oder NaCl (0,9%) als Kontrolle. Nach weiteren 10 Minuten erhielten alle Tiere Zinn-Protoporphyrin (SnPP-IX) (50 µmol/kg i.v.), einen Hemmstoff des Hämoxigenasestoffwechsels. Anschließend erfolgte für weitere 15 Minuten die Beurteilung der Mikrozirkulation. Hierbei wurden bei jedem Tier die Durchmesser von Sinusoidabschnitten, die mit der Autofluoreszenz der Sternzellen kolokalisierten, bestimmt und mit den Durchmessern in nicht kolokalisierenden Sinusoidabschnitten verglichen (n= 42 - 50 Sinusoidabschnitte pro Gruppe). Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte durch zweifaktorielle Varianzanalyse (Signifikanzniveau p<0,05).

Ergebnisse

Scheinoperierte Kontrolltiere zeigten keine signifikanten Änderungen ihrer Sinusoiddurchmesser durch die pharmakologischen Interventionen. Nach hämorrhagischem Schock und Volumentherapie zeigte sich kolokalierend mit der Autofluoreszenz der hepatischen Sternzellen eine signifikante lokale sinusoidale Konstriktion nach Blockade des Hämoxigenasestoffwechsels mit SnPP-IX (Abb. A/B/C). Vorbehandlung mit dem Endothelinantagonisten Bosentan verhinderte die lokale Konstriktion des Sinusoids im Bereich der hepatischen Sternzellen (Abb D/E/F).

Interpretation

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß es nach hämorrhagischem Schock und Volumentherapie zu einer lokalen und direkten Konstriktion des Sinusoids durch ET-1 und einer Vasodilatation durch CO kommt, die auf sinusoidalem Niveau durch die hepatische Sternzelle vermittelt wird und von wesentlicher Bedeutung für die Entwicklung einer ausgeprägten Perfusionsheterogenität ist.

Literatur

- Rensing H., Bauer I., Pannen BHJ., Paxian M., Larsen R., Bauer M.: Funktioneller Antagonismus zwischen Kohlenmonoxid und Endothelin-1 in der Lebermikrozirkulation nach hämorrhagischem Schock. *Anästh Intensivmed* 41 (2000) 837-838.
- Pinzani M., Failli P., Ruocco C., Casini A., Milani S., Baldi E., Giotti A., Gentilini O.: Fat storing cells as liver-specific pericytes. Spatial dynamics of agonist-stimulated intracellular calcium transients. *J Clin Invest* 90 (1992) 642-646.

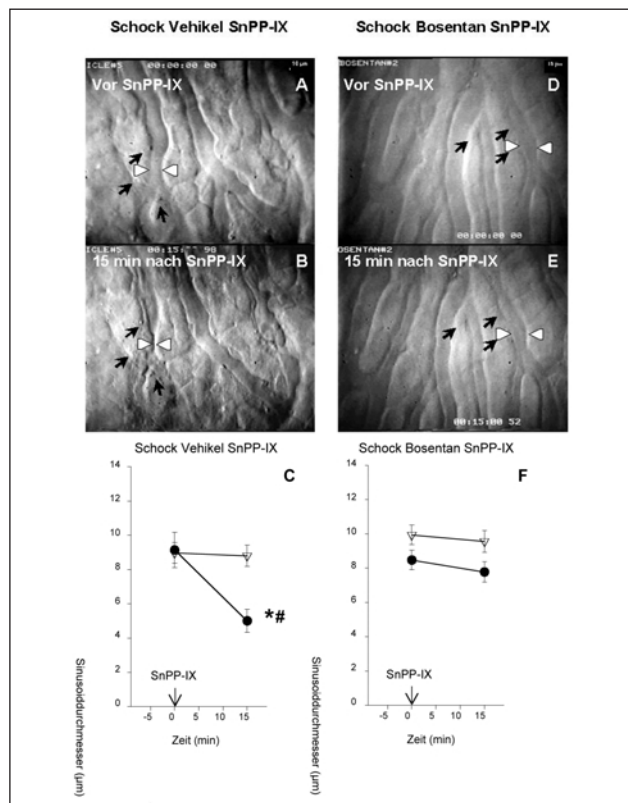


Abbildung: Lokale, mit den Sternzellen kolokalisierte Konstriktion des Sinusoids vor (A) bzw. 15 Minuten nach Blockade des Hämoxigenasestoffwechsels (B). Eine signifikante Konstriktion ist nur kolokalierend zu den Sternzellen zu beobachten (C ↓), in den nicht kolokalisierenden Abschnitten des Sinusoids zeigt sich keine signifikante Änderung des Sinusoiddurchmessers (C ↗ %). Vorbehandlung mit dem Endothelin-Antagonisten Bosentan verhindert die signifikante Abnahme des Sinusoiddurchmessers nach Blockade des Hämoxigenasestoffwechsels (D vor SnPP-IX; E 15 min nach SnPP-IX; F Sinusoiddurchmesser). Schwarze Pfeile repräsentieren hepatische Sternzellen, weiße Pfeile exemplarisch den Sinusoiddurchmesser kolokalierend zur Sternzelle. *p<0,05 vs. Ausgangswerten; #p<0,05 vs. nicht zur Sternzelle kolokalisierender Sinusoidabschnitte. Mittelwerte ± SEM. n= 42-50 Sinusoidabschnitte pro Punkt.

Effekte und Wirkmechanismen von Fenoldopam und Dopamin auf die Magenschleimhaut-Oxygenierung unter Beatmung mit positivem endexpiratorischem Atemwegsdruck

L.A. Schwarte, A.W. Schindler, O. Picker, A. Fournell und T.W.L. Scheeren

Klinik für Anaesthesiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf

Fragestellung

Die Beatmung mit hohem endexpiratorischem Atemwegsdruck (PEEP) vermindert die mikro-vaskuläre Magenschleimhaut-Oxygenierung (μHbO_2) u.a. über eine Reduktion des systemischen Sauerstofftransportes (DO_2). Dieser Effekt ist weder reversibel durch Dopamin (DOP) noch durch Volumenexpansion (HAES-Infusion), obgleich beide Interventionen die DO_2 deutlich steigern (1). Andererseits konnten wir zeigen, daß Fenoldopam (FEN), ein selektiver DA_1 -Agonist, unter physiologischen Bedingungen die μHbO_2 bei Hunden steigert (2). Wir überprüften daher zum einen, ob mögliche positive Effekte von DOP, einem gemischten DA_1 -, DA_2 -, α_1 - und β -Agonisten, durch die Stimulation von α_1 -Rezeptoren (Vasokonstriktion) maskiert werden. Zweitens untersuchten wir, ob FEN auch die unter PEEP-Beatmung reduzierte μHbO_2 wiederherstellt. Da die jeweiligen Effekte vom Niveau des DO_2 abhängen könnten, haben wir diese Interventionen durchgeführt sowohl unter PEEP-Beatmung allein als auch nach Wiederherstellung des DO_2 auf das Ausgangsniveau vor PEEP-Anwendung (Volumenexpansion durch HAES-Infusion).

Methodik

An 8 gesunden, chronisch instrumentierten Hunden (Flußaufnehmer zur HZV-Messung, 1,5 MAC Enfluran, kontrollierte Beatmung) wurde mit Genehmigung der Bezirksregierung mehrfach die μHbO_2 der Magenschleimhaut (Spektrophotometrie, EMPHO II (3)) und die DO_2 untersucht. Folgende Interventionen wurden durchgeführt: DOP 2,5 und 5,0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ allein (1) und nach α_1 -Rezeptorblockade (Prazosin) bzw. FEN 0,1 und 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ allein und nach DA_1 -Rezeptorblockade (SCH-23390) sowie eine Kontrolle (NaCl). Sämtliche Interventionen wurden durchgeführt unter Beatmung mit PEEP (15 cmH_2O) allein sowie nach einer Volumenexpansion (5 - 10 $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ HAES 200/0.5, 6%), wodurch der DO_2 wieder auf Ausgangsniveau angehoben wurde. Die Ergebnisse sind angegeben als $\bar{x} \pm s_x$ für die jeweils höhere Dosierung von DOP, FEN und NaCl. Statistik: Varianzanalyse für wiederholte Messungen, $p < 0,05$.

Ergebnisse

Beatmung mit PEEP führte zu einer signifikanten Reduktion der μHbO_2 von $57 \pm 2\%$ auf $37 \pm 3\%$ und des DO_2 von $19,0 \pm 1,4$ auf $11,7 \pm$

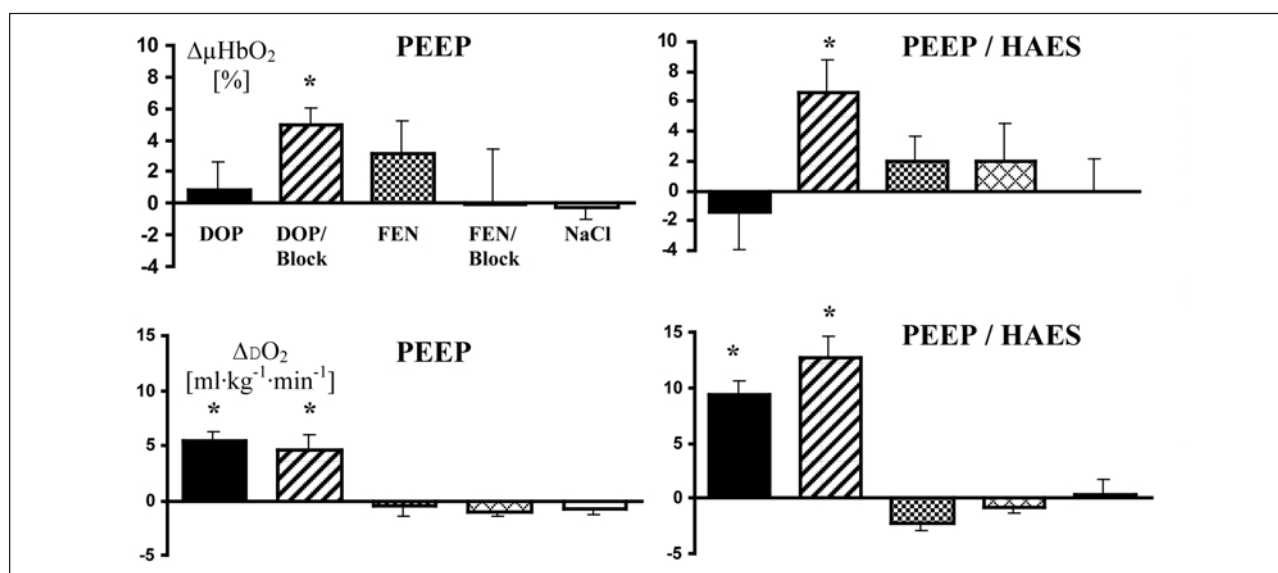
$1,2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, wobei die Volumenexpansion den DO_2 zwar auf das Ausgangsniveau steigerte, nicht jedoch die μHbO_2 , die signifikant erniedrigt blieb. Zusammengefaßt sind die Effekte der folgenden Interventionen auf die μHbO_2 (oben) bzw. den DO_2 (unten) in der Abbildung. Unter beiden Bedingungen (PEEP bzw. PEEP/HAES) steigerte DOP zwar signifikant die DO_2 , nicht hingegen die μHbO_2 . Unter α_1 -Blockade hingegen steigerte DOP die μHbO_2 sowohl unter PEEP (von 37 ± 1 auf $42 \pm 1\%$, $p < 0,05$) als auch nach Volumenexpansion (von 49 ± 2 auf $55 \pm 1\%$, $p < 0,05$). FEN änderte weder allein noch unter DA_1 -Blockade signifikant die μHbO_2 oder die DO_2 unter beiden Bedingungen, ebenso wenig wie NaCl.

Interpretation

Unter α_1 -Blockade steigert Dopamin die durch Beatmung mit hohem Atemwegsdruck eingeschränkte Magenschleimhaut-Oxygenierung, wohingegen Dopamin allein - trotz ähnlicher Steigerung des systemischen Sauerstofftransportes - ohne Einfluß auf die μHbO_2 blieb, was auf eine α_1 -vermittelte, vasokonstriktorische Genese der ausbleibenden Steigerung der Oxygenierung hinweist. Im Gegensatz zu physiologischen Bedingungen (2) steigert die selektive DA_1 -Rezeptor-Stimulation mit Fenoldopam nicht die Magenschleimhaut-Oxygenierung unter Beatmung mit PEEP, was auf eine geringere Bedeutung dieses Rezeptor-Systems unter kompromittierten regionalen Kreislaufbedingungen hindeutet. Daher scheint eine Verbesserung der regionalen Oxygenierung unter PEEP-Beatmung v.a. über DA_2 - und/oder β_2 -Rezeptorstimulation (1) zu erfolgen.

Literatur

- Scheeren TWL, Loer SA, Picker O, Schwarte LA, Fournell A: (1999) Dopamine, dopexamine and splanchnic oxygenation: Which drug, which dose, which mechanism? *Intensive Care Med* 25 S1: 21 A68
- Schwarte LA, Schindler AW, Picker O, Fournell A, Scheeren TWL: (2001) Fenoldopam, but not dopamine selectively increases gastric mucosal oxygenation in dogs. *Intensive Care Med* 27 S2: 190 A218
- Frank KH, Kessler M, Appelbaum K, Dummmler W: (1989) The Erlangen micro-lightguide spectrophotometer EMPHO I. *Phys Med Biol* 34(12): 1883-1900.



Abbildung

Wirkung von Cannabinoiden auf synaptische Transmission in der Amygdala

S.C. Azad^{1,2}, W. Zieglgänsberger² und G. Rammes²

¹ Klinik für Anästhesiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München

² Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Klinische Neuropharmakologie, München

Fragestellung

Der therapeutische Einsatz von Cannabinoiden weckt in der westlichen Medizin zunehmendes Interesse. Der Grund hierfür liegt in der Entdeckung eines Endocannabinoidsystems mit spezifischen Rezeptoren (Cannabinoid-1-Rezeptor, CB₁, vorwiegend im ZNS; Cannabinoid-2-Rezeptor, CB₂, vorwiegend peripher) und endogenen Liganden (Anandamid, 2-Arachidonoylglycerol) in Mensch und Tier (1). Cannabinoide entfalten eine Reihe zentraler Wirkungen, von denen in der Anästhesie und Schmerztherapie besonders die Analgesie und die Beeinflussung von Lern- und Gedächtnisprozessen interessieren. Die Amygdala besitzt eine hohe Dichte von CB₁-Rezeptoren. Sie gilt als eine zentrale Struktur für Cannabinoid-induzierte Analgesie (2) und die Konsolidierung aversiver emotionalgekoppelter Lernprozesse wie der Angstkonditionierung (3). Die vorliegende Arbeit befaßt sich daher mit den Effekten von Cannabinoiden auf die synaptische Transmission in dieser Hirnregion und der Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen.

Methodik

In koronalen Hirnschnittpräparaten von 6 - 8 Wochen alten Mäusen wurden Afferenzen in der externen Kapsel der Amygdala stimuliert und die entsprechenden synaptischen Antworten in der lateralen Amygdala gemessen. Mittels der „whole-cell patch-clamp“-Technik sowie extrazellulären Ableitungen wurde der Effekt des synthetischen selektiven CB₁-Agonisten WIN55,212 - 2 (2,5 - 5 µM) auf folgende Variablen erfaßt: evozierte exzitatorische postsynaptische Ströme (EPSCs), Summenaktionspotentiale (PSs), spontane EPSCs mit (mEPSCs) und ohne (sEPSCs) den Na⁺-Kanalblocker Tetrodotoxin (1 µM), synaptische Bahnung (Doppelpuls-Facilitation) und Membraneigenschaften der Zelle. Zur Differenzierung der intrazellulären Mechanismen erfolgte die Untersuchung von WIN 55,212 - 2 in Anwesenheit des CB₁-Rezeptorantagonisten SR141716A (5 µM), des G_{i/o}-Protein-Inhibitors Pertussistoxin (5 µg/ml) und des Proteinkinase-A (PKA)-Aktivators SP-cAMP (25 µM).

Zur Berechnung der Signifikanzen wurden nach Überprüfung der Normalverteilung der Student's t-Test (normalverteilte Daten) oder der Mann-Whitney-U-Test (nicht normalverteilte Daten) für verbundene Stichproben herangezogen.

Ergebnisse

WIN 55,212 - 2 führte zu einer Abnahme der Amplituden der EPSCs und der PSs auf $72 \pm 10\%$ ($n = 7$, $p < 0.05$) bzw. $52 \pm 6\%$ ($n = 7$, $p < 0.05$). Gleichzeitig bewirkte es eine Zunahme der Doppelpuls-Facilitation von 1.08 ± 0.2 auf 1.26 ± 0.3 ($n = 7$, $p > 0.05$) sowie eine deutliche Frequenzreduktion der sEPSCs und mEPSCs von jeweils 4.1 ± 1.1 Hz und 4.5 ± 0.9 Hz auf 1.4 ± 0.3 Hz ($n = 12$, $p < 0.05$) und 2 ± 0.7 Hz ($n = 6$, $p < 0.05$). Diese Ergebnisse deuten auf einen präsynaptischen Wirkmechanismus hin. SR141716A ($n = 5$), die Vorinkubation der Schnitte mit Pertussistoxin ($n = 6$) und die Applikation von SP-cAMP ($n = 6$) hoben die Effekte des Agonisten auf. WIN 55,212 - 2 führte zu einer Hyperpolarisation der Zellen von -60 ± 2 mV auf -69 ± 3 mV ($n = 6$, $p > 0.05$).

Interpretation

Die Ergebnisse zeigen, daß Cannabinoide die synaptische Transmission in der Amygdala deutlich hemmen. Dies geschieht offensichtlich nach Bindung an den G_{i/o}-Protein-gekoppelten CB₁-Rezeptor über präsynaptische Mechanismen. Wichtig scheint die Inhibierung der PKA zu sein, was gemeinsam mit dem hyperpolarisierenden Effekt auf eine Aktivierung von K⁺-Kanälen durch den Agonisten hindeutet. Die beobachteten Effekte sprechen dafür, daß Cannabinoide möglicherweise eine wichtige Rolle spielen bei der Modulation von Amygdala-assoziierten Prozessen wie Schmerz und Angst.

Literatur

- Porter AC, Felder CC: The endocannabinoid nervous system: unique opportunities for therapeutic intervention. *Pharmacol Therapeut* 90:45-60, 2001
- Rogan MT, Stäubli UV, LeDoux J: Fear conditioning induces associative longterm potentiation in the amygdala. *Nature* 390:604-607, 1997
- Martin WJ, Coffin PO, Attias E, Balinsky M, Tsou K, Walker JM: Anatomical basis for cannabinoid-induced antinociception as revealed by intracerebral microinjections. *Brain Res* 822:237-242, 1999.

Verminderte Desensibilisierung durch Phosphorylierung des Capsaicin-Rezeptors VR1 als Mechanismus erhöhter peripherer neuronaler Erregbarkeit im Rahmen des Entzündungsschmerzes

K. Kessebohm, D. P. Mohapatra, M. Hacker und C. Nau

Klinik für Anästhesiologie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen

Im Rahmen des Entzündungsschmerzes wird die Empfindlichkeit sensorischer Neurone gegenüber nozizeptiven Stimuli durch proinflammatorisches Prostaglandin E₂ (PGE₂) verstärkt (3). Dieses Phänomen wird z.T. der Aktivierung einer Signalkaskade zugeschrieben, an der cAMP und Protein-Kinase-A (PKA) beteiligt sind (2). Ein möglicher Kandidat für die direkte Phosphorylierung durch PKA ist der Capsaicin-Rezeptor VR1, ein nicht-selektiver Kationenkanal, der selektiv in sensorischen Neuronen exprimiert wird und als polymodaler Detektor und Integrator verschiedener nozizeptiver Stimuli fungiert. Die Aminosäuresequenz von VR1 läßt auf mindestens 3 mögliche PKA Phosphorylierungsstellen schließen. Die funktionellen Konsequenzen einer Phosphorylierung von VR1 durch PKA sind unbekannt.

Fragestellung

Wie verändern sich die Eigenschaften Capsaicin-aktivierter Ströme nach Phosphorylierung an den mutmaßlichen PKA Phosphorylierungsstellen T144, T370 oder S502 im Hinblick auf Empfindlichkeit gegenüber Capsaicin und Desensibilisierung?

Methodik

Mit Hilfe gerichteter Mutagenese wurden die Aminosäuren Threonin (T) in Positionen 144 und 370 und Serin (S) in Position 502 jeweils durch Aspartat (D) ersetzt, welches eine Phosphorylierung von Threonin- und Serinresten funktionell imitiert (1). VR1-Wild Typ (WT) und Mutationen wurden transient in HEK293t-Zellen exprimiert und mit

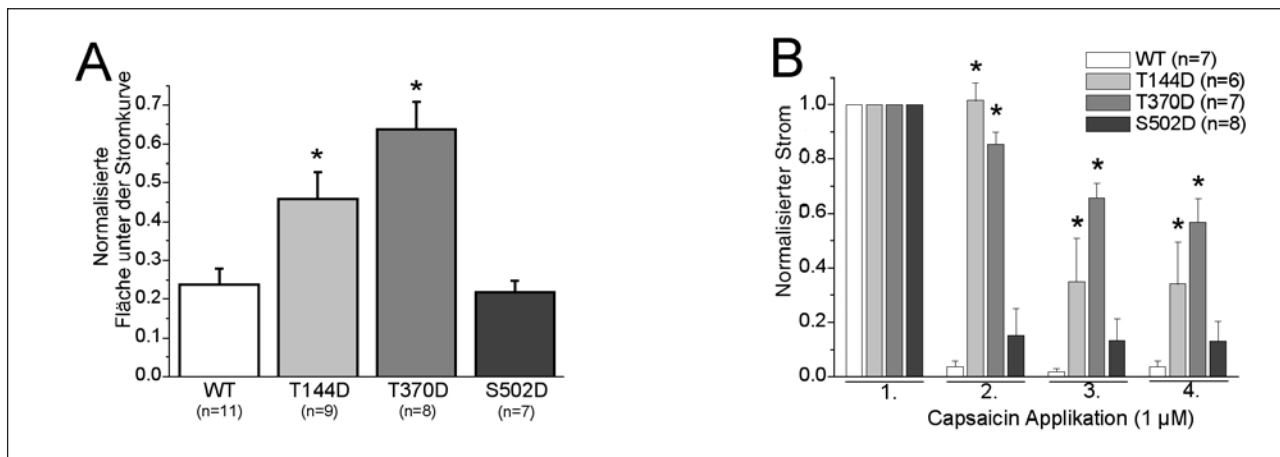


Abbildung 1: Desensibilisierung Capsaicin-aktivierter VR1-Ströme. **(A)** 30 s lange Applikation von 1 μ M Capsaicin. Die Fläche unter den gemessenen Stromkurven wurde bestimmt und jeweils normalisiert gegenüber einem idealisierten, nicht-desensibilisierenden Strom entsprechender Größe. **(B)** Wiederholte kurze Capsaicin-Applikation (2 s, 1 μ M, 2 min Intervall). Die Stromamplituden wurden jeweils normalisiert gegenüber der Stromamplitude bei 1. Applikation. Die Balken repräsentieren Mittelwerte \pm SEM. * zeigen statistisch signifikante Unterschiede im Vergleich zum WT (t-Test für unverbundene Stichproben, $p < 0.05$).

der Ganzzell-Konfiguration der Patch-Clamp Methode untersucht. Zur Bestimmung der konzentrationsabhängigen Aktivierung durch Capsaicin (a) wurden die Stromamplituden bei Applikation verschiedener Capsaicin-Konzentrationen (c) gemessen (in Ca^{2+} -freier Lösung zur Verhinderung der Desensibilisierung) und für jede Zelle normalisiert gegenüber der Amplitude des größten Stroms. Die halbmaximal-aktivierenden Capsaicin-Konzentrationen (EC_{50}) wurden durch nicht-lineare Kurvenanpassung der Gleichung $a(c) = c^h / (EC_{50}^h + c^h)$ an die Datenpunkte aus diesen Konzentrations-Wirkungs-Experimenten errechnet (h: Hill-Koeffizient). Zur Untersuchung der akuten Desensibilisierung wurden Ströme bei 30 s langer Applikation von Capsaicin (1 μ M) gemessen, die Flächen unter den Kurven bestimmt und jeweils normalisiert gegenüber einem idealisierten, nicht-desensibilisierenden Strom entsprechender Größe. Zur Untersuchung der Desensibilisierung bei wiederholter Applikation wurden Stromamplituden Capsaicin-aktivierter Ströme bei wiederholter kurzer Capsaicin-Applikation (2 s, 1 μ M, 2 min Intervall) gemessen und normalisiert gegenüber der Stromamplitude bei 1. Applikation.

Ergebnisse

Die EC_{50} -Werte für WT, T144D, T370D und S502D sind 245 ± 11 nM (n=13), 94 ± 4 nM (n=7), 223 ± 34 nM (n=7) und 137 ± 19 nM (n=7). Damit sind T144D und S502D ~3- bzw. ~2-fach empfindlicher gegenüber Capsaicin als der WT. Die Ergebnisse der Experimente zur Desensibilisierung sind in Abbildung 1A und 1B gezeigt. T144D und T370D zeigen eine signifikant verminderte Desensibilisierung sowohl bei langer als auch bei wiederholter kurzer Applikation von Capsaicin.

In Anwesenheit von Forskolin (10 μ M), einem Stimulator der Adenylatzyklase, nicht aber bei gleichzeitiger Anwesenheit von H89 (500 nM), einem in diesem Konzentrationsbereich selektiven PKA-Inhibitor, zeigt der WT ebenfalls eine signifikant verminderte Desensibilisierung bei wiederholter kurzer Applikation von Capsaicin.

Interpretation

Im Falle einer Phosphorylierung von VR1 durch PKA an Position T144 oder T370 als Folge einer Aktivierung der PGE_2 -cAMP Signalkaskade kommt es zu einer verminderten Desensibilisierung des Rezeptors, die zu der erhöhten peripheren neuronalen Erregbarkeit im Rahmen des Entzündungsschmerzes beitragen kann.

Literatur

1. Léger J, Kempf M, Lee G, Brandt R: Conversion of serine to aspartate imitates phosphorylation-induced changes in the structure and function of microtubule-associated protein tau. *J Biol Chem* 1997, 272:8441-8446
2. Lopshire JC, Nicol GD: The cAMP transduction cascade mediates the prostaglandin E2 enhancement of the capsaicin-elicited current in rat sensory neurons. *J Neurosci* 1998, 18:6081-6092
3. Southall MD, Vasko MR: Prostaglandin receptor subtypes, EP3C and EP4, mediate the prostaglandin E2-induced cAMP production and sensitization of sensory neurons. *J Biol Chem* 2001, 276:16083-16091.

Gefördert von der DFG (Emmy Noether-Programm NA350/2-1 und SFB353, A14, NA350/2-3).

Clonidin hemmt präsynaptische Ca^{2+} -Kanäle in der Amygdala - ein In-vitro-Korrelat für die sedative Wirkungskomponente von α_2 -Agonisten?

J. Kurz^{1*}, G. Hapfelmeier^{1*}, W. Zieglgänsberger², E. Kochs¹ und G. Rammes²

¹ Klinik für Anaesthesiologie der TU München, Klinikum rechts der Isar, München

² Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München

Fragestellung

Der α_2 -Rezeptor-Agonist Clonidin wird außer bei Hypertension auch zur Behandlung der Übererregbarkeit, wie sie häufig im Rahmen einer Alkoholentzugssymptomatik auftritt, eingesetzt. Es gibt tierexperimentelle Hinweise dafür, daß der sedierende Effekt von Clonidin über eine Beeinflussung synaptischer Vorgänge in der Amygdala zustande

kommt. Dieser Teil des limbischen Systems spielt sowohl in der Verarbeitung aversiver Reize als auch in der Steuerung vegetativer Prozesse

* beide Autoren trugen gleich viel zu der Arbeit bei

Abstracts

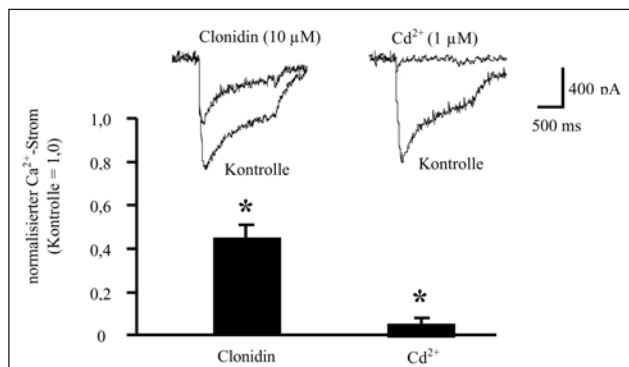


Abbildung 1: Stromantworten auf einen depolarisierenden rechteckförmigen Spannungssprung von -70 mV auf 0 mV Haltepotential. Unter Blockade von spannungsabhängigen Na^+ -Kanälen durch Tetrodotoxin ($1 \mu\text{M}$) und K^+ -Kanal-Blockade durch Tetraethylammonium (30 mM) und Cäsiummethylsulfat (100 mM) wurde der resultierende Ca^{2+} -Strom gemessen. Die postsynaptischen Ca^{2+} -Kanäle wurden durch Ni^{2+} ($50 \mu\text{M}$, T-Typ) und Nifedipin ($20 \mu\text{M}$, L-Typ) blockiert, so daß ausschließlich ein präsynaptischer Ca^{2+} -Strom resultierte. Clonidin ($10 \mu\text{M}$) reduzierte diesen Strom auf $45 \pm 8 \%$ ($n=9$, $p<0,05$). Der hochwirksame Ca^{2+} -Kanalblocker Cd^{2+} ($1 \mu\text{M}$) inhibierte ihn nahezu vollständig.

eine Rolle (1). In vergleichenden Untersuchungen an Hirnschnittpräparaten konnte gezeigt werden, daß die für eine Entzugssymptomatik typische Steigerung der neuronalen Entladungstätigkeit als Antwort auf afferente synaptische Stimulation ("kindling") in der Amygdala besonders ausgeprägt ist (2). In der vorliegenden Arbeit versuchten wir den Wirkungsmechanismus von Clonidin in der Amygdala weiter zu charakterisieren. Als Marker für synaptische Plastizität benutzten wir wie in früheren Untersuchungen (3) ein synaptisches Reizmuster, das eine Abnahme der neuronalen Erregbarkeit (Langzeitdepression; long-term depression, LTD) in der Amygdala auslöst.

Methodik

Mit Hilfe einer neuartigen Infrarotmikroskopietechnik wurden von visuell identifizierten Neuronen in einer $400 \mu\text{m}$ dicken In-vitro-Prä-

paration der Amygdala der Maus (d45 - 60) mittels Patch-Clamp-Technik (Whole-Cell-Konfiguration) exzitatorische postsynaptische Ströme (EPSC) abgeleitet. Durch niederfrequente Stimulation (900 Pulse; 1 Hz) wurde in diesen Neuronen LTD induziert. Zur Signifikanzbeurteilung der Clonidin-Effekte wurde der Student's t-Test für verbundene Stichproben eingesetzt.

Ergebnisse

Clonidin ($10 \mu\text{M}$) bewirkte eine Hyperpolarisation der Neurone von -60 ± 2 mV auf -71 ± 2 mV ($n=11$, $p<0,05$). Der im Current-Clamp-Modus gemessene Eingangswiderstand der Zellen erhöhte sich dabei von 382 ± 33 MW auf 458 ± 38 MW ($n=11$, $p<0,05$). Gleichzeitig wurde der transmembranäre Ca^{2+} -Einstrom unterdrückt. Eine pharmakologische Differenzierung der Ca^{2+} -Kanäle ergab, daß hierbei insbesondere die präsynaptischen W-Aga-Toxin- (P/Q-Typ) und W-Conotoxin- (N-Typ) sensitiven Ca^{2+} -Kanäle blockiert wurden (Abb.). Dies erklärt die beobachtete Hyperpolarisation und die unter Clonidin - trotz erhöhten Eingangswiderstands - unverminderte EPSC-Amplitude. Zudem wurde die Auslösbarkeit der LTD ($n=7$) inhibiert.

Interpretation

In der Amygdala bewirkt Clonidin eine Hemmung präsynaptischer Ca^{2+} -Kanäle und dadurch eine verminderte Freisetzung von Neurotransmittern. Obwohl ein durch Clonidin erhöhter neuronaler Eingangswiderstand zusammen mit einer Unterdrückung von LTD eher eine erhöhte neuronale Erregbarkeit bedeuten würde, könnte die Verminderung der Neurotransmitter-Freisetzung durch Hemmung präsynaptischer Ca^{2+} -Kanäle insgesamt überwiegen und somit die sedative Wirkung von Alpha2-Agonisten erklären.

Literatur

1. Rogan MT, Le Douarin JE: Emotion: systems, cells, synaptic plasticity. Cell 85:469-475, 1996
2. Loscher W, Ebert U, Wahnschaffe U, Rundfeldt C: Susceptibility of different layers of the anterior and posterior part of piriform cortex to electrical stimulation and kindling: a comparison with the basolateral amygdala and "area tempestas". Neuroscience 66:265-276, 1995
3. Rammes G, Steckler T, Kresse A, Schutz G, Ziegglängsberger W, Lutz B: Synaptic plasticity in the basolateral amygdala in transgenic mice expressing dominant-negative cAMP response element-binding protein (CREB) in forebrain. Eur J Neurosci 12:2534-2546, 2000.

Lidocaininduzierte spinale Antinozizeption: Vermittlung über die Glyzin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors?

U. Muth-Selbach, J.U. Stegmann, J. Kurdulija, P. Lipfert und H. Holthausen

Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

Fragestellung

Systemisch appliziertes Lidocain wirkt in niedrigen Dosierungen antihyperalgetisch. Der genaue Wirkmechanismus ist bisher noch unklar, doch deuten Beobachtungen aus elektrophysiologischen Experimenten darauf hin, daß spinale NMDA-Rezeptoren, speziell die Glyzin-Bindungsstelle des Rezeptors, daran beteiligt sein könnten. Um diese Hypothese zu prüfen, haben wir die Wirkung von D-Serin, das als Co-Aktivator des NMDA-Rezeptors an der Glyzin-Bindungsstelle ansetzt (1), auf die Lidocain-induzierte Antinozizeption in verhaltensphysiologischen Schmerzexperimenten an chronisch instrumentierten Ratten getestet (2).

Methodik

Mit Genehmigung der Bezirksregierung wurde bei narkotisierten Sprague-Dawley-Ratten ein intrathekaler Katheter über die Cisterna magna in den lumbalen Spinalraum sowie ein zentralvenöser Katheter in die rechte V. jugularis implantiert. Die antinozizeptive Wirkung von Lidocain wurde im Formalin-Test untersucht, wobei nur Tiere verwendet wurden, die 6 - 10 Tage nach Katheter-Implantation neurologisch

unauffällig waren. Insgesamt wurden 36 Ratten randomisiert folgenden 6 Gruppen á 6 Tieren zugeordnet: ① D-Serin i.t., ② D-Serin i.t. + Lidocain i.v.; ③ L-Serin i.t.; ④ L-Serin i.t. + Lidocain i.v., ⑤ NaCl 0,9% i.t. + Lidocain i.v., ⑥ NaCl 0,9% i.t., NaCl 0,9% i.v. Zunächst wurde D- oder L-Serin ($100 \mu\text{g}$) bzw. NaCl über den intrathekalen Katheter in den Spinalraum injiziert (je $10 \mu\text{l}$), 2 min später Lidocain (10 mg/kgKG in 3 min, danach $90 \mu\text{g/kgKGmin}(3)$) oder NaCl 0,9% intravenös appliziert. Nach weiteren 8 min wurde Formalin ($50 \mu\text{l}$, 5%) subkutan dorsal in die linke Hinterpfote injiziert. Die dadurch ausgelösten Zuckungen der Hinterpfote (sog. flinches) wurden über 60 min gezählt und alle 5 min gemittelt. Statistik: ANOVA mit nachfolgendem SNK-t-Test.

Ergebnisse

Alle Kontrolltiere zeigten den typischen biphasischen Verlauf des Flinching-Verhaltens, wobei Phase I (0-10 min) dem Akutschmerz und Phase IIa und IIb (20-40 min; 40-60 min) dem Entzündungsschmerz (Hyperalgesie) zugeordnet werden [3]. Als Ausdruck seiner antinozizeptiven, antihyperalgetischen Eigenschaft verminderte Lidocain die

Zahl der Flinches signifikant in Phase IIa ($p < 0.01$). Zusätzliche intrathekale Applikation von D-Serin, nicht jedoch Applikation des an der Glyzin-Bindungsstelle inaktiven Isomers L-Serin hob die antihyperalgische Lidocainwirkung komplett auf (Abb. 1). Kontrollen mit D-Serin und L-Serin zeigten keine Wirkung auf das Flinchingverhalten.

Interpretation

Spinal appliziertes D-Serin antagonisiert die antinozizeptive Wirkung von systemisch appliziertem Lidocain. Diese Ergebnisse zeigen erstmals in Verhaltensexperimenten, daß die antinozizeptive Wirkung von Lidocain zumindest teilweise über die Glyzin-Bindungsstelle spinaler NMDA-Rezeptoren vermittelt wird.

Literatur

1. *Mohet JP, Parent AT, Wolosker H, Brady RO, Linden DJ, Ferris CD, Rogawski MA, Snyder SH*: D-Serine is an endogenous ligand for the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor PNAS 97 (2000) 4926-4931
2. *Dubuisson D, Dennis SG*: The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 4 (1977) 161-174
3. *Abram SE, Yaksh TL*: Systemic lidocaine blocks nerve injury-induced hyperalgesia and nociceptor-driven sensitization in the rat. Anesthesiology. (1994) 80:383-91.

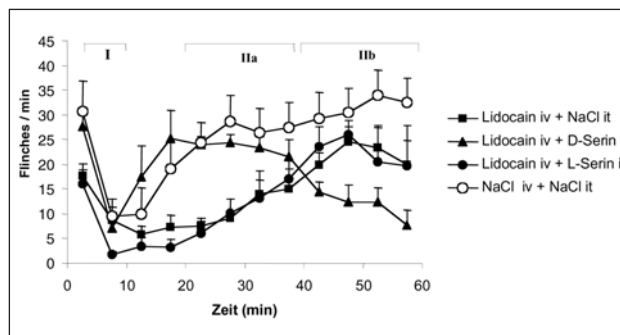


Abbildung 1: Wirkung von systemisch appliziertem (iv) Lidocain und intrathekal appliziertem (it) D- bzw. L-Serin im Formalin-Test an chronisch instrumentierten Ratten. Angegeben sind die über einen Zeitraum von jeweils 5 min gemittelten Flinches/min. Nicht abgebildet sind die Kontrollversuche mit D- und L-Serin ohne Lidocain, in denen keine Beeinflussung des Flinchingverhaltens beobachtet wurde (Mittelwerte \pm SEM, $n = 6$ pro Gruppe).

Charakterisierung von Spreading Depression nach traumatischer Rückenmarksverletzung

P. K. Zahn¹; E. M. Pogatzki²; E.-J. Speckmann³ und A. Gorji³

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesie und op. Intensivmedizin, Universitätsklinik Münster

² Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Johns Hopkins University, Baltimore; Institut für Physiologie, Universitätsklinik Münster

Fragestellung

Spreading Depression (SD) bezeichnet das Phänomen einer sich ausbreitenden neuronalen Depolarisationswelle gefolgt von einer zeitlich begrenzten, reversiblen Unterdrückung neuronaler Aktivität. SD kann durch eine Ischämie oder Traumatisierung des Gehirns ausgelöst und als ein Mechanismus für die Entstehung und/oder Vergrößerung des neuronalen Schadens angesehen werden. Weiterhin wird SD, bei dem es durch Freisetzung von Neurotransmittern und der Induktion von "immediate early genes" (z.B. c-fos) zu Sensibilisierung von trigemino-vaskulären Schmerzfasern kommen kann, mit der Entstehung von Migräneschmerzen in Zusammenhang gebracht (1). Nach Rückenmarksverletzungen entwickeln sich bei etwa 20 - 50% aller Patienten schwer therapierbare chronische Schmerzen (2), für deren Entstehung die Sensibilisierung dorsaler Rückenmarksneurone eine Rolle spielt. Ein möglicher Mechanismus der Sensibilisierung dorsaler Rückenmarksneurone könnte die Ausbildung von SD nach Rückenmarksverletzungen sein. Es liegen allerdings bisher keine eindeutigen Ergebnisse über Entstehung von SD in unverletztem (3) oder traumatisiertem Rückenmarksgewebe vor. Deshalb sollen folgende Fragen untersucht werden: A. Kann SD generell im Rückenmarksgewebe auftreten? B. Führt eine traumatische Rückenmarksverletzung zur Entstehung von SD? C. Steht SD mit der Ausbildung von zentraler Sensibilisierung in Verbindung?

Methodik

Für in vitro Untersuchungen wurden aus 21 - 28 Tage alten Ratten transversale lumbale Rückenmarksquerschnitte (500 - 800 μ m) mit anhängender Hinterhornwurzel präpariert. Lokale Feldpotentiale wurden an drei Positionen im ipsilateralen dorsalen Rückenmarkshorn abgeleitet. Die dorsalen Rückenmarksneurone wurden durch Stimulation der anhängenden Hinterhornwurzel mit einer konzentrischen bipolaren Elektrode aktiviert. In in vivo Untersuchungen wurden Ratten mit 1 - 2% Halothan anästhesiert, tracheotomiert und beatmet. Nach Fixierung in einer stereotaktischen Vorrichtung wurde eine lumbale Laminektomie (Th13 - L3) durchgeführt, das Rückenmark freipräpariert und 2 - 3 Feldpotentialelektroden 100 - 400 μ m tief in das dorsale Rückenmark eingebracht. Ein stumpfes spinale Trauma wurde durch Kompression (1 - 3 min) des dorsalen lumbalen Rückenmarks mit

einem 50 g schweren Gewicht erzeugt und Feldpotentiale bis zu 6 h nach dem spinalen Trauma aufgezeichnet.

Zur statistischen Auswertung wurde der zweiseitige verbundene und unverbundene t-Test ($P < 0.05$) sowie der Chi-Quadrat Test verwendet.

Ergebnisse

Die Applikation hoher Kaliumkonzentrationen führte in 20 von 24 lumbalen Rückenmarksquerschnitten und in 11 von 12 In-vivo-Experimenten zu spinaler SD. Das spinale Trauma erzeugte in allen Ratten ($n=6$) SD, die sich mit einer Geschwindigkeit von 6 - 8 mm/min fortbewegte. Die Amplitude von Feldpotentialen, ausgelöst durch Stimulation der anhängenden Hinterhornwurzel, wuchs nach Ablauf einer SD signifikant um 30 - 35% über die Ausgangswerte an (vor SD 1.9 ± 0.3 mV; nach SD 2.3 ± 0.1 mV; $p < 0.05$). Die durch Long Term Potentiation (LTP), einem Modell für neuronale Sensibilisierung, vergrößerte Amplitude von Feldpotentialen nahm durch Induktion von SD in 9 von 12 Rückenmarksschnitten signifikant zu (LTP+Kontrolle: $139 \pm 3.6\%$; LTP+SD: $166 \pm 5.3\%$; $p < 0.01$).

Interpretation

Diese Ergebnisse zeigen, daß in Rückenmarksgewebe SD durch ein stumpfes spinale Trauma erzeugt werden kann. Die durch SD verstärkte neuronale Erregbarkeit dorsaler Rückenmarksneurone ist vergleichbar mit einer Sensibilisierung spinaler Neurone nach traumatischer Rückenmarksverletzung, der eine große Bedeutung bei der Entstehung chronischer Schmerzen beigemessen wird. Weitergehende Untersuchungen sind notwendig, um die pathophysiologische Rolle von SD z.B. für die Ausbildung des spinalen Schocks oder chronischer Schmerzen nach einem spinalen Trauma aufzuklären und die für eine Ausbildung von spinalem SD zugrundeliegenden Mechanismen zu untersuchen.

Literatur

1. *Parsons AA*: Recent advances in mechanisms of spreading depression. Curr Opin Neurol 11 (1998) 227-231
2. *Siddall PJ*: Pain following spinal cord injury. Spinal Cord 39 (2001) 63-73
3. *Streit DS, Ferreira F, Martins-Ferreira H*: Spreading Depression in isolated spinal cord. J Neurophys 74 (1995) 888-890.

In-vivo-Diagnose der Malignen Hyperthermie-Disposition beim Menschen – erste Ergebnisse mit einem minimal-invasiven metabolischen Provokationstest

M. Anetseder, M. Hager, F. Schuster, R. Müller und N. Roewer

Klinik für Anaesthesiologie, Universität Würzburg

Bei der malignen Hyperthermie (MH) setzt eine unkontrollierte intramuskuläre Ca^{2+} -Freisetzung einen Hypermetabolismus mit exzessiver Kohlendioxid-Produktion in Gang. Im diagnostischen in-vitro Kontrakturtest wird diese Ca^{2+} -Freisetzung z. B. durch Koffein ausgelöst (1, 2). Wir nahmen an, daß die intramuskuläre Injektion von Koffein bei MH-suszeptiblen Individuen eine lokale und temporäre Stoffwechselsteigerung mit Anstieg des intramuskulären CO_2 -Partialdruckes (pCO_2) induziert.

Methodik

Mit Genehmigung der örtlichen Ethikkommission wurden 13 MH-suszeptible (MHS) und 9 gesunde (MHN) Probanden ambulant untersucht, die sich bei positiver Familienanamnese einem In-vitro Kontrakturtest unterzogen hatten. Über eine intramuskuläre Meßsonde im M. rectus femoris (Diametrics Medical, UK) wurde der pCO_2 konti-

nuierlich photometrisch gemessen. Nach Äquilibration und Kalibrierung wurden im Bereich dieser Meßsonde 500 μl Koffein 80 mmol/l injiziert. Herzfrequenz, arterieller Blutdruck und periphere pulsoximetrische Sättigung wurden intermittierend, venöse Blutgase 60 min. nach Koffein-Injektion sowie die Kreatinkinase (CK) im Serum vor und 24 h nach dem Experiment gemessen. Messwerte als $M \pm SD$. Statistische Auswertung mittels t-Test bei Normalverteilung sowie Mann-Whitney-U-Test bei nicht-normalverteilten Variablen mit $p < 0,05$ als signifikantem Unterschied.

Ergebnisse

Nach Koffein-Injektion lag der maximale pCO_2 in der MHS-Gruppe mit 71 ± 18 mmHg signifikant höher als in der MHN-Gruppe mit 47 ± 2 mmHg. Der pCO_2 stieg bei MHS-Probanden mit 88 ± 41 mmHg/h signifikant schneller an als bei MHN-Probanden mit 2 ± 3 mmHg/h. Die Ergebnisse beider Gruppen überlappten nicht. Innerhalb 60 min normalisierte sich der intramuskuläre pCO_2 auf physiologische Werte. Die CK lag 24 h nach Untersuchung in der MHS-Gruppe mit 213 ± 121 U/l signifikant höher als in der MHN-Gruppe mit 66 ± 31 U/l mit einem Maximum von 450 U/l bei einem Patienten. Hämodynamische und metabolische Parameter blieben im Normbereich.

Schlußfolgerung

Intramuskulär appliziertes Koffein steigert bei MH-suszeptiblen Probanden die intramuskuläre CO_2 -Produktion in Folge einer lokalen hypermetabolen Reaktion. Es kommt zu einer geringen lokalen Muskelschädigung vergleichbar einem chirurgischen Trauma. Systemische Nebenwirkungen treten nicht auf. Da Kohlendioxid als unmittelbarer Metabolit die Stoffwechselaktivität widerspiegelt, ermöglicht die minimal-invasive Messung des pCO_2 unter Stimulation mit Koffein einen neuen und einfachen Weg zur Diagnose einer MH-Veranlagung.

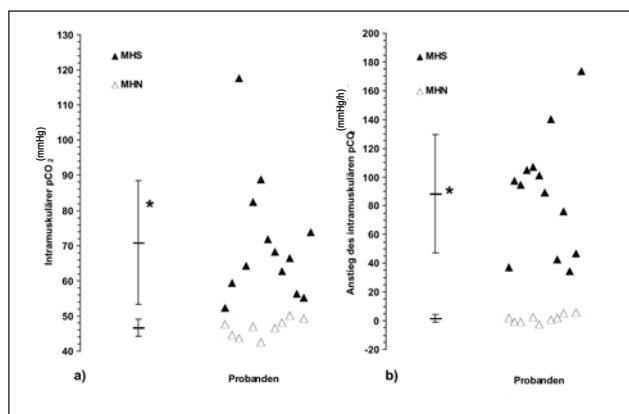


Abbildung 1: Maximaler intramuskulärer CO_2 -Partialdruck (a) und Anstieg des intramuskulären CO_2 -Partialdrucks (b) nach lokaler Injektion von Koffein in den M. rectus femoris von Probanden mit (MHS: $n = 13$) und ohne (MHN: $n = 9$) Veranlagung zur malignen Hyperthermie. Einzelwerte und $M \pm SD$. *: $p < 0,05$.

Literatur

1. The European Malignant Hyperpyrexia Group.: Br.J.Anaesth. 1984;56:1267-1269
2. Tong J, Oyamada H, Demarex N, et al.: J.Biol.Chem. 1997; 272: 26332-26339.

Das Propofol-Prodrug GPI 15715 zeigt eine andere Pharmakodynamik als Disoprivan®

J. Fechner, H. Ihmsen, D. Hatterscheid, C. Schiessl, H. Schwilden und J. Schüttler

Klinik für Anästhesiologie der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

Fragestellung

GPI 15715 ist ein wasserlösliches Prodrug (3) von 2,6-Diisopropylphenol, das vor allem intravasal durch alkalische Phosphatasen zu Propofol, einem Phosphatrest und Formaldehyd hydrolysiert wird. Mögliche Vorteile von Propofol als Prodrug sind der fehlende Injektionsschmerz, die fehlende Lipidbelastung und bei äquipotenter Dosierung eine bessere hämodynamische Stabilität im Tierversuch. Im crossover Design an Probanden haben wir anhand des EEG's die Pharmakodynamik von GPI 15715 versus Disoprivan® untersucht.

Methodik

Nach Zustimmung der Ethikkommission erhielten 9 männliche Probanden (70 - 86 kg, 19 - 35 Jahre) eine computergesteuerte Infusion

(TCI) von Disoprivan® (Prop1) und nach 14 Tagen eine entsprechende TCI mit GPI 15715 (Prop2). Als Zielspiegel wurde eine über 20 min linear auf 5 $\mu\text{g/ml}$ ansteigende Propofolplasmakonzentration gewählt. Von 20 bis 40 min wurde ein konstanter Zielspiegel von 3 $\mu\text{g/ml}$ und von 40 bis 60 min ein konstanter Zielspiegel von 1,5 $\mu\text{g/ml}$ angesteuert. Nach 60 min wurde die Infusion beendet. Bis zu 4 Stunden nach Infusionsende wurden regelmäßig die arteriellen Propofolkonzentrationen gemessen und daraus ein pharmakokinetisches Modell bestimmt. Durch laute Ansprache wurde alle 1,5 min auf Bewußtseinsverlust und Rückkehr des Bewußtseins getestet. Aus dem Powerspektrum der EEG-Ableitung $\text{O}_1\text{-C}_2$ wurde die EEG-Medianfrequenz als pharmakodynamischer Effektparameter bestimmt. Für jeden Probanden erfolgte die pharmakodynamische Modellbildung (Hill-Gleichung mit Effekt-

Kompartiment) anhand der EEG-Medianfrequenzen und der aus dem individuellen pharmakokinetischen Modell berechneten Propofol-Plasmakonzentrationen. Statistik: T-Test für gepaarte Stichproben, Mittelwert \pm Standardabweichung.

Ergebnisse

Bewußtseinsverlust trat bei Prop2 signifikant rascher (9.3 ± 2.3 min vs. 13.2 ± 2.5 min, $p < 0.005$) und bei signifikant geringeren Propofol-Effektkonzentrationen ein (1.9 ± 0.5 vs. 3.2 ± 1.0 $\mu\text{g/ml}$, $p < 0.005$). Die Rückkehr des Bewußtseins erfolgte bei Prop2 signifikant später (73 ± 13 min vs. 47 ± 10 , $p < 0.005$) bei signifikant niedrigeren Propofol-Effektkonzentrationen (1.8 ± 0.4 vs. 2.8 ± 0.8 $\mu\text{g/ml}$, $p < 0.005$). Die halbmaximale Effektkonzentration (EC50) war für Prop2 signifikant geringer (1.98 ± 0.52 vs. 2.97 ± 0.74 $\mu\text{g/ml}$, $p < 0.05$). Für Prop1 ergab sich ein k_{e0} von 0.21 ± 0.07 min^{-1} , während für Prop2 die Einführung eines Effektkompartiments nicht erforderlich war, d.h. Prop2 zeigte keine Hysterese (Abb.). Die SaO_2 fiel bei Prop1 nach 20 min maximal auf $95 \pm 3\%$ und bei Prop2 nach 22 min maximal auf $96.6 \pm 2.8\%$ ab. Der arterielle CO_2 -Partialdruck nach 20 min betrug für Prop1 48 ± 3 und für Prop2 51 ± 4 mm Hg.

Interpretation

Das aus der Prodrug GPI 15715 liberierte Propofol zeigte mit fehlender Hysterese und höherer hypnotischer Potenz ein deutlich anderes pharmakodynamisches Profil als Propofol in einer Lipidemulsion (Disoprivan®). Für lipidfrei formuliertes Propofol im Vergleich mit Disoprivan® fanden Dutta et al. (1, 2) bei Ratten ebenfalls eine höhere Potenz und einen signifikant höheren Hirn/Plasma-Verteilungskoeffizienten bei gemessen am EEG vergleichbarer Hysterese. Die Ursachen der pharmakodynamischen Unterschiede zwischen Propofol als Prodrug und Disoprivan® sollten in weiteren Studien untersucht werden.

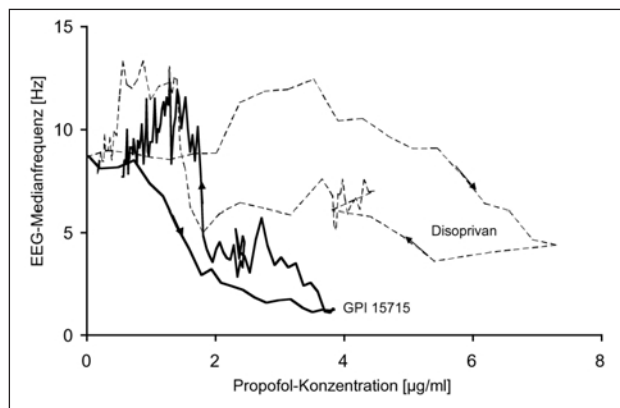


Abbildung: Verlauf der EEG-Medianfrequenz eines Probanden nach Disoprivan® und GPI 15715, aufgetragen gegen den gemessenen Propofolblutspiegel. Die Pfeile zeigen den zeitlichen Verlauf.

Literatur

1. Dutta S et al.: J Pharm Pharmacol 1998; 50:1-6
2. Dutta S et al., Anesthesiology 1998; 89:678-85
3. Krise JP. et al.: J Med Chem. 1999; 42 :3094-100.

Auswirkung der Angiotensin II- und/oder Endothelin-A-Rezeptor-Blockade auf hämodynamische und hormonelle Regulationsprozesse bei akutem Blutverlust

C. Höhne, R.C.E. Francis, G. Kaczmarczyk und W. Boemke

Experimentelle Anästhesie, Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Charité – Campus Virchow Klinikum, Berlin

Fragestellung

Die Studie vergleicht die hämodynamische und hormonelle Antwort auf einen akuten Blutverlust bei wachen Hunden, bei denen die vaso-konstriktorische Wirkung der Hormone Angiotensin II (Ang II) und Endothelin durch Angiotensin II- (Ang II) und/oder Endothelin A (ET_A) Rezeptorblockade ausgeschaltet wurde.

Methodik

Die Studie wurde von der Tierversuchskommission genehmigt (Az. G0242/99). Zehn wache Hunde wurden in vier Protokollen untersucht

(40 Experimente, randomisiert). Die Tiere wurden unter kontrollierten Umgebungsbedingungen gehalten und erhielten fünf Tage vor dem Versuch eine standardisierte Wasser- und Elektrolytzufuhr.

Versuchsdesign: Nach einer Kontrollstunde (Prä H) wurde den Hunden 20 ml/kg Körpergewicht (KG) Blut innerhalb von 5 min entnommen. Während der folgenden Stunde (Post-Hämorrhagie = Post H) wurden die hämodynamischen Parameter kontinuierlich gemessen und am Ende der Stunde die unten genannten Hormone bestimmt. Abschließend wurde das entnommene Blut retransfundiert. Dieses Versuchsprotokoll wurde unter vier Bedingungen durchgeführt:

Tabelle 1: Ergebnisse

PROTOKOLL	MAP (mm Hg)	HZV (l/min)	AngII (pg/ml)	ADH (pg/ml)	NA (pg/ml)	Adrenalin (pg/ml)
Kontrolle Prä H	90 \pm 2	2.1 \pm 0.1	9 \pm 1	0 \pm 0	208 \pm 37	134 \pm 22
60' Post H	70 \pm 2*	1.3 \pm 0.1*	28 \pm 9*	13 \pm 2*	257 \pm 30	426 \pm 74*
ABT Prä H	87 \pm 3	2.1 \pm 0.1	8 \pm 1	0.2 \pm 0	147 \pm 16	190 \pm 20
60' Post H	64 \pm 3*	1.3 \pm 0.1*	37 \pm 8*	22.2 \pm 6.1*	405 \pm 116*	268 \pm 38
LOS Prä H	80 \pm 3*	2.2 \pm 0.1	46 \pm 9§	0.2 \pm 0	201 \pm 29	114 \pm 17
60' Post H	51 \pm 3*§	1.3 \pm 0.1*	144 \pm 19*§	14.3 \pm 2.1*	209 \pm 46	429 \pm 170*
ABT+LOS Prä H	77 \pm 2	2.3 \pm 0.1	58 \pm 13§	0.3 \pm 0.1	161 \pm 23	250 \pm 27
60' Post H	48 \pm 3*§	1.4 \pm 0.1*	290 \pm 39*§	25 \pm 4*§	344 \pm 52*	247 \pm 29

Mittelwerte \pm SEM, * $p < 0,05$ vs. Prä H, § $p < 0,05$ vs. Kontrolle, GLM ANOVA.

Abstracts

1. Kontrolle: Kontrollgruppe, ohne Zugabe eines Rezeptorantagonisten.
2. ET_A Blockade (ABT): Infusion des ET_A Rezeptorantagonisten ABT-627 (Bolus von 1 mg/kg KG 30 min vor Beginn des Experiments, dann 0,01 mg·kg KG⁻¹·min⁻¹ i.v.).
3. Ang II Blockade (LOS): Infusion eines Ang II-AT1 Rezeptorantagonisten (Losartan 0,1 mg·kg KG⁻¹·min⁻¹, Start 30 min vor Versuchsbeginn).
4. Ang II + ET_A Blockade: Infusion beider Rezeptorantagonisten wie in Protokoll 2 und 3.

Interpretation

Im Vergleich zur Kontrolle verstärkt die alleinige ET_A-Rezeptor-Blockade - anders als die Blockade des Ang II-Rezeptors - weder den Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) noch des Herzzeitvolumens (HZV) während akuten Blutverlusts. Bei Ang II- und kombinierter Ang II + ET_A-Blockade ist der Abfall des MAP während der Hämorrhagie am ausgeprägtesten. Das heißt, hinsichtlich der

Blutdruckregulation kann die Blockade des Ang II-Rezeptors anders als die des ET_A-Rezeptors akut nicht durch andere hormonelle oder nervale Regulationssysteme kompensiert werden. Bei ETA-Blockade wurde ein über den Abfall in der Kontrolle hinausgehender Blutdruckabfall durch einen starken Anstieg der Vasopressin- (ADH) und Noradrenalin-Konzentration (NA) und einen leichten Anstieg der Ang II-Konzentration kompensiert. Bei Ang II-Blockade ist der ADH Anstieg deutlich geringer, und im Gegensatz zur ET_A-Blockade steigt die Adrenalin-Konzentration anstelle von NA stark an. Bei der kombinierten Ang II- + ET_A-Blockade ähnelt das hormonelle Reaktionsmuster dem der alleinigen ET_A-Blockade, wobei der Anstieg der NA-Konzentrationen etwas geringer ausfällt. Letzteres mag ein Grund dafür sein, daß der Abfall des MAP nicht kompensiert werden konnte. Anders als der MAP-Abfall entspricht der Abfall des HZV während Hämorrhagie in allen Protokollen dem der Kontrolle. Eine teleologische Erklärung hierfür wäre, daß der Organismus während eines akuten Blutverlustes die Regulation des Blutflusses über die Regulation des Blutdrucks stellt um eine ausreichende Versorgung der lebenswichtigen Organe Herz und Gehirn mit Sauerstoff und Substraten sicherzustellen.

Thiopental hemmt die Aktivierung des nukleären Transkriptionsfaktors-κB und die Inhibitor-κBa-phosphorylierende Kinase in humanen T-Lymphozyten in vitro

T. Loop, M. Humar, A. Hoetzel, H. L. Pahl, K. Geiger und B. Pannen
Anaesthesiologische Universitätsklinik Freiburg

Fragestellung

Thiopental (THIO) wird nicht nur als Hypnotikum zur Einleitung einer Anästhesie, sondern auch zur Behandlung eines erhöhten Hirndruckes eingesetzt. Dies geht mit einer erheblichen Zunahme der Inzidenz nosokomialer Infektionen einher (1). Die molekularen Mechanismen dieser Immunsuppression durch THIO sind bisher nur unvollständig charakterisiert. In vorausgegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß THIO die Phagozytoseaktivität, die Chemotaxis und die Mediatorfreisetzung immunkompetenter Zellen hemmt (2). Der nukleäre Transkriptionsfaktor-κB (NF-κB) reguliert die Expression zahlreicher Zytokine, Adhäsionsmoleküle und Wachstumsfaktoren und ist von zentraler Bedeutung für die Kontrolle der Immunantwort (3). Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluß von THIO auf die Aktivierung von NF-κB in humanen T-Lymphozyten zu untersuchen.

Methodik

Jurkat-T-Lymphomzellen oder CD3⁺-T-Lymphozyten aus „Buffy Coats“ gesunder Spender wurden in vitro bei 37° C, 5 Vol.% CO₂ und 21% O₂ in RPMI-Medium mit verschiedenen Konzentrationen von THIO (400, 1000 µg/ml) inkubiert. Danach wurden die Zellen für 30 min mit humanem, rekombinanten TNF-α (1 ng/ml) stimuliert und anschließend die Gesamtproteine extrahiert. Die Analyse der DNA-Bindungsaktivität von NF-κB erfolgte mittels "Electrophoretic Mobility Shift Assay" (EMSA). In einer weiteren Versuchsserie wurden die Zellen mit THIO

und den GABA_A- und B-Antagonisten Bicucullin (B; 10 µM) und CGP (100 nM) inkubiert. Darüber hinaus wurden relative Veränderungen des Proteingehalts des NF-κB-Inhibitors IκBa bzw. Phospho-IκBa mittels "Western-Blot" untersucht. Zur Bestimmung der relativen Aktivität der IκBa-phosphorylierenden Kinase (IKKα) wurde IKKα zunächst durch eine Immunpräzipitation aus dem Proteinextrakt isoliert. Nach Substratzugabe in Gegenwart von 32P-markiertem ATP wurde dann die phosphorylierende Aktivität autoradiographisch ermittelt. Alle Experimente wurden mindestens viermal wiederholt. Die Autoradiographien wurden densitometrisch ausgewertet und die Ergebnisse statistisch mittels Varianzanalyse (ANOVA mit Student-Newman-Keuls-Post-Hoc-Test, Signifikanzniveau p < 0,05) verglichen.

Ergebnisse

THIO hemmte die TNF-induzierte Bildung von NF-κB-DNA-Komplexen sowie die Degradation von IκBa in humanen T-Lymphozyten. Die GABA_A- und B-Antagonisten B und CGP beeinflussten den inhibitorischen Effekt von THIO auf NF-κB nicht. Äquimolare Konzentrationen von THIO (4x10⁻³M) zeigten einen 6-fach stärkeren inhibitorischen Effekt (p < 0,05) als das Oxibarbiturat und Strukturanalogon Pentobarbital (PENTO). Die Phosphorylierung von IκBa wurde nach Inkubation mit 1000 µg/ml THIO zu 100% unterdrückt, während 400 µg/ml THIO die Phosphorylierung nicht signifikant beeinflusste. Die spezifische IKKα-Aktivität wurde durch 1000 µg/ml

Tabelle 1: Relative densitometrische Einheiten (RDE); Median (25/75% CI); *p < 0,05 vs. TNF-α alleine; #p < 0,05 vs. PENTO

TNF-α (1 ng/ml)	-	+	+	+
THIO (µg/ml)	-	-	400	1000
NF-κBa	63 (49 - 147)*	2589 (2027 - 2712)	2634 (1889 - 3045)	68 (17 - 148)*
IκBa	1109 (919 - 1594)*	84 (36 - 137)	61 (42 - 168)	879 (839 - 1550)*
IκBa ^P	41 (20 - 271)*	1805 (1468 - 2727)	1676 (1245 - 2474)	19 (17 - 102)*
IKKα	354 (228 - 623)*	1535 (1322 - 2252)	1170 (827 - 1671)	498 (483 - 789)*
			B/THIO (10µM)	CGP/THIO (100nM)
NF-κB	57 (56 - 104)*	3883 (2977 - 4227)	14 (13 - 19)*	48 (48 - 52)*
			THIO (4 x 10⁻³M)	PENTO (4 x 10⁻³M)
NF-κB	105 (58 - 158)*	3022 (1743 - 3883)	367 (190 - 834)*,#	2445 (1338 - 3271)

THIO um ca. 60% reduziert ($p < 0,05$ vs. TNF- α), während 400 $\mu\text{g/ml}$ zu keiner signifikanten Abnahme der IKK α -Aktivität führten.

Interpretation

Diese Untersuchungsergebnisse zeigen:

1. THIO hemmt die Aktivierung von NF- κ B in humanen T-Lymphozyten;
2. dieser Effekt wird nicht durch GABA-Rezeptoren vermittelt;
3. die Schwefelgruppe trägt zur inhibitorischen Wirkung bei;
4. aus dem Nachweis der Suppression der spezifischen IKK α -Aktivität durch THIO ergibt sich ein potentieller Mechanismus für die Hemmung der NF- κ B-Aktivierung durch diese Substanz.

Dieses Projekt wird durch die European Academy of Anaesthesiology unterstützt (Clinical Scholar Research Award 2001 für T. Loop und B. Pannen).

Literatur

1. Eberhardt KE, Thimm BM, Spring A, Maskos WR: Dose-dependent rate of nosocomial pulmonary infection in mechanical ventilated patients with brain oedema receiving barbiturates: a prospective case study. *Infection* 1992;20:12-8
2. Nishina K, Akamatsu H, Mikawa K, Shiga M, Maekawa N, Obara H, Niwa Y: The inhibitory effects of thiopental, midazolam, and ketamine on human neutrophil functions. *Anesth Analg* 1998;86:159-65
3. Baeuerle PA, Henkel T: Function and activation of NF- κ B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 1994;12:141-79.

Muskelschwäche und pathologische Muskelermüdung bei langzeitbeatmeten Patienten mit sepsisassoziiertem Multiorganversagen

M. Eikermann, G. Koch, M. Beiderlinden, M. Gerwig¹, S. Koeppen¹ und J. Peters

Abteilungen für Anästhesiologie und Intensivmedizin und Neurologie¹, Universitätsklinikum Essen

Fragestellung

Bei 70% der Patienten mit Sepsis und/oder Multiorganversagen (MOV) werden neurale, mit Problemen bei der Entwöhnung vom Respirator assoziierte Veränderungen ("critical illness neuropathy") beschrieben (1). Demgegenüber liegen bislang keinerlei Daten über Muskelkraft und -ermüdung vor. Wir untersuchten, ob Patienten mit Sepsis und Multiorganversagen eine verminderte Muskelkraft und/oder eine pathologische Muskelermüdung zeigen.

Methodik

Nach Votum der Ethikkommission wurden 15 beatmete (15 \pm 7 Tage) Patienten mit Sepsis- oder SIRS (2) bedingtem MOV (SOFA-Score 14,9 \pm 2,5) bei Erklärung des entsprechenden mutmaßlichen Patientenwillens durch die Angehörigen mit 15 postoperativ beatmeten Patienten (1. postoperativer Tag, kein Hinweis auf neuromuskuläre Funktionsstörung) verglichen. Nervenleitgeschwindigkeit (NLG) des N. ulnaris sowie Summenaktionspotential (SAP) und maximal generierbare Kraft (Kraftaufnehmer) des M. adductor pollicis wurden vor und nach evozierter Ermüdung gemessen und aufgezeichnet. Untersuchungsablauf:

1. Signalstabilisierung: 0,1 Hz-Single-Twitch-Stimulation über 15 Minuten.
2. Generierung einer Frequenz-Kraft-Beziehung: Kraftmessung nach tetanischer Stimulation (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 Hz) über jeweils 2 s (18 s Pause), Registrierung des SAP unter Kontrollbedingungen sowie während und nach Ermüdung).
3. Ermüdung: Stimulation über 6 s (4 s Pause) mit der zur halbmaximalen

len Muskelkraft führenden Frequenz in vier Zyklen a 5 min ("low frequency fatigue").

Statistik: Mittelwerte \pm σ , t-Test, ein- und zweifaktorielle ANOVA, post-hoc-Test (Scheffé), $p < 0,05$.

Ergebnisse

Bei Sepsis/MOV ist die Muskelkraft bei allen Stimulationfrequenzen gegenüber nachbeatmeten Kontrollpatienten signifikant und erheblich ($p < 0,01$) vermindert (Abb. 1). Die Muskelkraft steigt bei Sepsis/MOV mit der Neurostimulationsfrequenz nur bis zu einem Plateau von 22,8 \pm 16,8 N an gegenüber 35,9 \pm 18,8 N bei Kontrollpatienten ($p < 0,01$). Zudem sind zum Erreichen der halbmaximalen Muskelkraft höhere Stimationsfrequenzen erforderlich (30 \pm 11 vs. 13 \pm 3 Hz, $p < 0,01$). Auch die muskuläre Ermüdung ist bei Sepsis/MOV wesentlich stärker ausgeprägt (z.B. bei maximaler [80 Hz] Stimulation: 67 \pm 16% vs. 91 \pm 36% der Werte vor Ermüdung, $p < 0,03$, Abb. 2). Sowohl Kontraktionszeit als auch Halbrelaxationszeit sind bei Sepsis/MOV kürzer (30 \pm 7 vs. 42 \pm 10 ms, $p < 0,05$, bzw. 65 \pm 21 vs. 106 \pm 31 ms, $p < 0,01$). Während sich die NLG bei Sepsis/MOV nicht von der Kontrollgruppe unterschied (51 vs. 54 m/s), waren die SAP niedriger (3,1 vs. 7,1 mV, $p < 0,01$), veränderten sich jedoch nicht unter Ermüdung.

Interpretation

Sepsis und Multiorganversagen gehen mit stark verminderter Muskelkraft und pathologischer Muskelermüdung einher. Bei unveränderter Nervenleitgeschwindigkeit ist eine demyelinisierende Neuro-

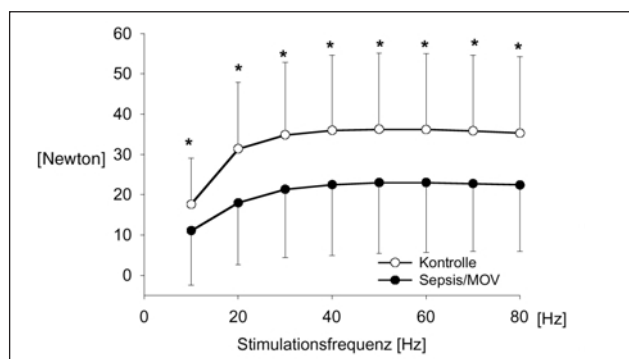


Abbildung 1: Muskelkraft vor Ermüdung.

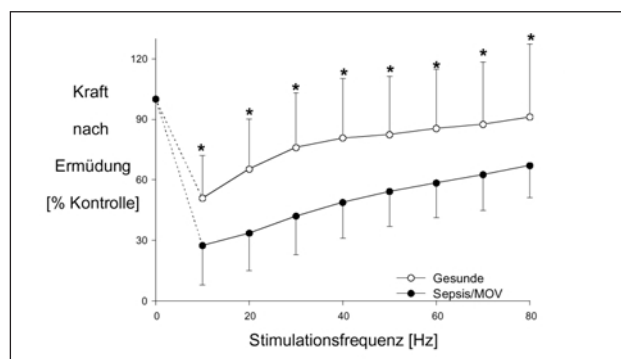


Abbildung 2: Effekte der Muskelermüdung.

Abstracts

pathie wahrscheinlich nicht ursächlich, vielmehr ist eine myopathische Veränderung zu vermuten. Verkürzung der Kontraktions- und Relaxationszeiten unter Ermüdung sprechen gegen einen primären Mangel an energiereichen Phosphaten, können jedoch, wie auch die Muskelschwäche, durch eine immobilisationsbedingte Muskelatrophie erklärt werden (3). Immobilisation des M. adductor pollicis führt jedoch nicht zu einer gesteigerten Ermüdbarkeit (3). Möglicherweise ist eine im Tiermodell bei Sepsis beschriebene, NO-vermittelte kontraktile Dysfunktion ein pathogenetischer Faktor der Muskelschwäche und der gesteigerten Ermüdbarkeit (4).

Literatur

1. *Leijten FSS, et al.*: Critical illness polyneuropathy in multiple organ dysfunction syndrome and weaning from the ventilator. *Intens Care Med* 22 (1996) 856
2. *Bone RC, et al.*: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 101 (1992) 1644
3. *Duchateau J, et al.*: Effects of immobilization on contractile properties, recruitment and firing rates of human motor units. *J Physiol* 422 (1990) 55
4. *Callahan LA, et al.*: Free Radical-Induced contractile protein dysfunction in endotoxin-induced sepsis. *Am J Resp Cell Mol Biol* 24 (2001) 210.

Perflubron vermindert die Lungen-Inflammation während einer Respiratory Syncytial Virus Infektion über verminderte Chemokin-Expression und NF- κ B-Aktivierung

H. A. Haeberle², F. Nesti¹, H.-J. Dieterich², Z. Gatalica¹ und R. P. Garofalo¹

¹ Departments of Pediatrics, Pathology, Microbiology and Immunology, The University of Texas Medical Branch, Galveston, TX, USA

² Abteilung Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

Fragestellung

Respiratory Syncytial Virus (RSV) ist eine der häufigsten Ursache für Pneumonien bei Kleinkindern und bei Patienten mit insuffizienter Immunabwehr (1). Die zelluläre Infiltration wird unter anderem durch Chemokine vermittelt, deren Produktion durch RSV in Lungenepithelzellen induziert wird (2). Dieser Prozess beruht auf der Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B. In anderen Modellen wurde gezeigt, daß Perflubron im Rahmen der "liquid ventilation" sowohl die Lungenfunktion als auch die Entzündung positiv beeinflusst (3). Die zu Grunde liegenden Mechanismen sind jedoch noch nicht geklärt.

Methodik

BALB/c-Mäusen (4 - 6 Wochen alt; insgesamt 9 - 12 Mäuse per Gruppe) wurde intranasal (i.n.) PBS (Kontrolle) oder RSV appliziert. 6 Stunden danach wurde Perflubron (Perflubron Gruppe) oder PBS (RSV Gruppe) einmal i.n. verabreicht (3ml/kg KG). Nach weiteren 18 Stunden (24h nach Infektion) wurde die Expression von Chemokinen mittels RNase Protektions-Assay (RPA) erfaßt. Dabei wurde ein Template verwendet, bei dem die mRNA Expression von 9 Chemokinen gleichzeitig erfaßt werden kann (Becton Dickinson/Pharming). Im weiteren wurde die Lungeninflammation in Hämatoxylin & Eosin gefärbten Paraffinschnitten von einem Pathologen (doppelblind) untersucht. Die Aktivierung von NF- κ B in der Lunge wurde mittels Elektrophoresis Mobility Shift Assay (EMSA) untersucht. Die Spezifität des EMSAs wurde im Vorhinein bestimmt, indem die fehlende Bindung von mutierter NF- κ B Sequenz oder nach Zugabe von nicht markierter Sequenz im Kompetitions Assay untersucht wurde.

Ergebnisse

Die einmalige Verabreichung von Perflubron 6 Stunden nach RSV Infektion reduzierte die Entzündungsreaktion in der Lunge signifikant (RSV : 31%; RSV+Perflubron: 18%; $p < 0,05$). Parallel dazu konnte eine verringerte Expression von mRNA für Chemokine festgestellt werden (RANTES ($p = 0,02$), MIP-1 ($p = 0,03$), MIP-1b ($p = 0,03$) and MIP-2 ($p = 0,04$)). Im Vergleich zu Tieren, denen kein Perflubron verabreicht wurde, kam es zu einer signifikant verringerten Aktivierung von NF- κ B in der Lunge. Perflubron hatte keinen Einfluß auf die virale Replikation (RSV + Perflubron: $5,3 \pm 0,05$ PFU/g vs RSV + PBS: $4,9 \pm 0,2$ PFU/g; $n = 3$ Mäuse pro Gruppe).

Interpretation

Die anti-inflammatorische Wirkung von Perflubron wurde bereits in vivo und in vitro beschrieben, jedoch war der zu Grunde liegende Mechanismus nicht bekannt. Bisher wurde eine Barrierefunktion des Perflubrons zwischen Pathogen und Immun/Epithelzellen diskutiert. Um diesen Einfluß zu eliminieren, wurde in der hier präsentierten Studie Perflubron zu einem Zeitpunkt appliziert, zu dem ein direkter Kontakt zwischen Virus und Epithelzellen bereits stattgefunden hatte

und die Expression von Chemokinen induziert wurde. In der vorliegenden Studie ist der anti-inflammatorische Effekt von Perflubron unter anderem über eine Inhibition von NF- κ B zu erklären. Durch die verminderte Translokation von NF- κ B in den Nucleus kommt es zu vermindeter Expression von Chemokinen. Chemokine sind chemotaktische Moleküle, die für das Herbeiführen von T Zellen, Makrophagen, Monozyten, Granulozyten, Eosinophilen, N κ -Zellen und dendritischen Zellen verantwortlich sind. Durch die verminderte Expression dieser Chemokine wird die Rekrutierung der entsprechenden inflammatorischen Zellen vermindert wie bereits zuvor beschrieben (4). Die dargestellten Ergebnisse weisen auf die Möglichkeit eines therapeutischen Einsatzes von Perflubron bei der viralen Pneumonie hin.

Literatur

1. *Falvey A R, Walsh E E*: Respiratory syncytial virus infection in adults. *Clin.Microbiol.Rev.* 2000, 13: 371
2. *Haeberle H A, Kuziel W A, Dieterich H J, Casola A, Gatalica Z,*

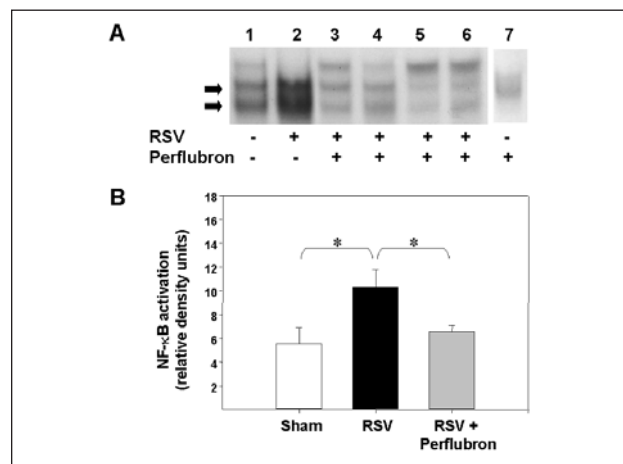


Abbildung 1: EMSA des NF- κ B Bindungskomplexes in RSV-infizierten Mäusen. (A) Autoradiogramm eines repräsentativen Experimentes. BALB/c-Mäusen wurde PBS (1 + 7) oder RSV i.n. verabreicht. 6 h später wurde PBS (2) oder Perflubron (3 - 7) i.n. inokuliert. 24 h nach Infektion wurden nukleäre Proteine aus dem Lungengewebe isoliert und für den EMSA verwendet. Pfeile markieren den NF- κ B Komplex. (B) Das Säulendiagramm zeigt die gemessene optische Dichte (9 Mäuse pro Gruppe; 3 unabhängige Experimente; Mittelwert \pm SEM). * $p < 0,05$.

Garofalo R P: Inducible expression of inflammatory chemokines in respiratory syncytial virus-infected mice: role of MIP-1alpha in lung pathology. *J Virol* 2001, 75: 878

3. Kawamae K, Pristine G, Chiumello D, Tremblay L N, Slutsky A S: Partial liquid ventilation decreases serum tumor necrosis factor-alpha

concentrations in a rat acid aspiration lung injury model. *Crit Care Med*. 2000, 28: 479

4. Smith T M, Steinhorn D M, Thusu K, Fuhrman B P, Dandona P: A liquid perfluorochemical decreases the in vitro production of reactive oxygen species by alveolar macrophages. *Crit Care Med*. 1995, 23: 1533.

Regionale Druck-Impedanz-Kurven der Lunge gemessen mit der elektrischen Impedanztomographie

J. Hinz, P. Neumann, G. Hahn, T. Dudykevych, H. Burchardi und G. Hellige

Zentrum Anästhesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin, Universität Göttingen

Fragestellung

Eine maschinelle Beatmung kann durch globale Druck-Volumen-Kurven der gesamten Lunge (PV_{global}) optimiert werden. Dies erfolgt anhand des unteren Inflektionspunktes zur Einstellung des PEEP um die Lunge offen zu halten. Der obere Inflektionspunkt dient der Begrenzung des Spitzendrucks um Lungenüberblähungen zu vermeiden. Amato zeigte, daß diese Technik zu einer erhöhten Überlebensrate von Patienten führt (1). Crotti zeigte jedoch in CT-Untersuchungen, daß die regional gemessenen unteren Inflektionspunkte verschiedener Lungenregionen und der dadurch erforderliche PEEP intraindividuell stark variieren können (2). Das Ziel dieser Studie war die bettseitige Messung von regionalen Inflektionspunkten aus Druck-Impedanz-Kurven (PV_{regional}) mittels elektrischer Impedanztomographie (EIT) und der Vergleich mit spirometrisch gemessenen PV_{global} .

Methodik

Nach positiver Begutachtung durch das örtliche Ethikkomitee wurden maschinell beatmete Patienten in die Studie eingeschlossen. Während eines in einem Respirator (EVITA 4, Dräger, Lübeck, Germany) implementierten inspiratorischen Low-Flow-Manövers ($2 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$) untersuchten wir gleichzeitig PV_{global} und PV_{regional} . PV_{global} wurde durch Pneumotachographie (Fleisch No. 2, Fleisch, Lausanne, Schweiz) und Atemwegsdruckmessung bestimmt (Huba Control, Würenlos, Switzerland). PV_{regional} wurden aus lokalen Impedanzänderungen, die proportional zum regionalen Lungenvolumen sind, durch Einzelmessungen mit der EIT (Goe-MF, EIT-Group Göttingen, Deutschland) im 6. ICR parasternal (3) in Kombination mit Atemwegsdruckmessungen gewonnen. Anschließend verglichen wir die unteren und oberen Inflektionspunkte von PV_{global} und PV_{regional} .

Ergebnisse

Wir untersuchten neun Patienten (Gewicht 75 - 100 (85) kg, Grösse 162 - 185 (175) cm, Horowitz-Index 143 - 298 (260) mmHg Min-Max (Median), Lungendiagnosen: 5 Pneumonie, 4 Atelektase). Die Compliance des respiratorischen Systems und die Inflektionspunkte

sind in der Tabelle angegeben. Die Medianwerte der oberen und unteren Inflektionspunkte zeigen für PV_{global} und PV_{regional} eine gute Übereinstimmung ($r = 0,93$, $p < 0,05$), jedoch findet sich eine erhebliche intraindividuelle Variabilität der regional gemessenen Inflektionspunkte.

Interpretation

Global gemessene Druck-Volumen-Kurven mitteln Werte aus vielen Lungenregionen mit unterschiedlichster Atemmechanik. Dies führt zu einer Unterschätzung des PEEP-Niveaus, welches erforderlich ist, um einen expiratorischen Lungenkollaps zu vermeiden. In der Inspiration wird zudem der Atemwegsdruck unterschätzt, ab dem mit einer Lungenüberblähung gerechnet werden muß. Mittels EIT können PV_{regional} in bis zu 912 Regionen innerhalb eines Thoraxquerschnittes gemessen werden. Diese regionalen Druck-Impedanz-Kurven zeigen eine erhebliche Variabilität der Inflektionspunkte. Daher könnten regionale Druck-Impedanz-Kurven, die bettseitig durch EIT gemessen werden, sehr hilfreich sein, um Respiratoreinstellungen wie PEEP, Inspirationsdruck oder Tidalvolumen zu optimieren.

Literatur

1. Amato M, Barbas C, Medeiros D, Magaldi R, Schettino G, Lorenzi-Filho G, Kairalla R, Deheinzelin D, Munoz C, Oliveira R, Takagaki T, Carvalho C: Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N.Engl.J Med* 338 (1998) 347-354
2. Crotti S, Mascheroni D, Caironi P, Pelosi P, Ronzoni G, Mondino M, Marini J, Gattinoni L: Recruitment and derecruitment during acute respiratory failure: a clinical study. *Am.J Respir.Crit Care Med* 164 (2001) 131-140
3. Barber D, Brown B: Applied potential tomography. *J.Phys.E.Sci.Instrum.* 17 (1984) 723-33.

Tabelle

	Globale Druck-Volumen-Kurve			Regionale Druck-Impedanz-Kurve		
Compliance	37 - 111	(65) ml/mbar	(9 Pat.)			
Unterer Inflektionspunkt	3 - 11	(8) mbar	(8 Pat.)	1 - 20	(9) mbar	(9 Pat.)
Oberer Inflektionspunkt	30 - 35	(33) mbar	(2 Pat.)	24 - 41	(33) mbar	(7 Pat.)

Compliance, untere und obere Inflektionspunkte berechnet aus PV_{global} und PV_{regional} von neun maschinell beatmeten Patienten (Median und Range). Inflektionspunkte wurden bei PV_{global} für die gesamte Lunge und für PV_{regional} in bis zu 912 Regionen berechnet. In Klammern Patientenzahlen, bei denen Inflektionspunkte gefunden wurden.

Differenzierung von klinisch relevanten Bakterien mittels Echtzeit-PCR und Schmelzkurvenanalyse

S. Klaschik, LE. Lehmann, A. Raadts, A. Hoefft und F. Stüber

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und spezielle Intensivmedizin der Universität Bonn

Fragestellung

CpG-reiche bakterielle DNA konnte als potenter inflammatorischer Stimulus (1, 2) identifiziert werden. Die Detektion dieser bakteriellen DNA und die Identifizierung im Blut septischer Patienten – als möglicher Ersatz für Blutkulturen – stellt noch immer ein methodisches Problem dar. Es konnte gezeigt werden, daß bei Patienten mit Sepsis bakterielle DNA nachweisbar ist (3). In dieser Arbeit soll untersucht werden, inwiefern Bakterien mittels Polymerasekettenreaktion weiter klassifiziert werden können.

Methodik

Bei der quantitativen Polymerasekettenreaktion (PCR) mittels LightCycler (Roche) handelt es sich um eine Echtzeit-PCR, deren Messung mittels Fluoreszenzsignalen erfolgt. Bei dem Amplifikat handelt es sich um ein 187 bp großes Fragment der hochkonservierten 16S-DNA. Die genomische DNA von 17 klinisch relevanten Bakterien wurde in verschiedene Flüssigkeiten (Blut, Plasma und Wasser) dazugegeben und anschließend mittels MagnaPur (Roche) präpariert. Bei diesen Keimen handelt es sich um *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides fragilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Legionella pneumophila* und *Stenotrophomonas maltophilia*. Der PCR-Reaktion wurden 2 spezielle Hybridisierungssonden zugegeben, die spezifisch nur an grampositive oder gramnegative Keime binden und verschiedene Wellenlängen emittieren. Das Fluoreszenzsignal der jeweiligen Sonde kann mit dem LightCycler detektiert und eine Vordifferenzierung in grampositive/negative Keime vorgenommen werden.

Im Anschluß kann durch das Erstellen von Schmelzkurven des PCR-Produkts zusätzlich eine weitere Keimdifferenzierung erfolgen.

Ergebnisse

Die bakterielle DNA wurde nach Präparation aus verschiedenen biologischen Flüssigkeiten jeweils in allen 17 Proben detektiert. Auch wurden alle Keime korrekt nach grampositiv/gramnegativ unterschieden. Keiner der Keime zeigte mit der jeweils anderen gram-spezifischen Fluoreszenzsonde ein Signal. Im weiteren Verlauf konnten 15 der 17 Keime mittels Schmelzkurven weiter differenziert werden, lediglich 2 Keime (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*) konnten nicht anhand der Schmelzkurvencharakteristik unterschieden werden. Für die Hybridisierungs-Schmelzkurven betrug der Variationskoeffizient (VK) 0,068% intraassay und 0,35% interassay. Bei den Schmelzkurven im SYBR-Green-Format betrug der VK 0,039% intraassay und 0,085% interassay.

Interpretation

Bakterielle DNA läßt sich in verschiedenen biologischen Flüssigkeiten nachweisen. Als Schnelltest lassen sich Bakterien mittels PCR in grampositiv und gramnegativ unterscheiden. Zusätzlich können Keime bis zum endgültigen mikrobiologischen Nachweis spezies-spezifisch mittels Schmelzkurven vordifferenziert werden. Dies kann bei Patienten auf Intensivstationen einen deutlichen zeitlichen Vorsprung in der Therapie bedeuten und therapeutische Entscheidungen erleichtern.

Literatur

1. *Wagner H:* (1999) Bacterial CpG DNA activates immune cells to signal infectious danger. *Adv Immunol* 73: 329-368
2. *Sparwasser T, Miethke T, Lipford G, Borschert K, Hacker H, Heeg K, Wagner H:* (1997) Bacterial DNA causes septic shock: *Nature* 27;386(6623): 336-337
3. *Curons R, Jeyarajah E, Sleight J:* (1999) The use of polymerase chain reaction to detect septicemia in critically ill patients. *Crit Care Med* 27(5): 937-940.

Aktivierung der Transkriptionsfaktoren NF- κ B und AP-1 in der isoliert perfundierten Kaninchenlunge bei verschiedenen Beatmungsmustern

E. A. Kirchner, G. Hermle, G. Mols, J. Guttman, H. L. Pahl und K. K. Geiger

Anästhesiologische Universitätsklinik Freiburg

Fragestellung

Mechanische Beatmung steht im Zusammenhang mit der Induktion einer entzündlichen Reaktion in der Lunge. In bisherigen Studien war die Aktivierung inflammatorischer Signalkaskaden bei Beatmung mit unphysiologisch großen Atemhubvolumina bzw. endexpiratorischem Alveolarkollaps beobachtet worden (1). Wir untersuchten, ob die immunmodulatorischen Transkriptionsfaktoren nukleärer Faktor κ B (NF- κ B) sowie Aktivator-Protein-1 (AP-1) bei Beatmung mit kleinem Tidalvolumen in der nicht vorgeschädigten isolierten Kaninchenlunge aktiviert werden. Wir haben überprüft, ob diese Aktivierung bei Anwendung einer kürzlich vorgeschlagenen Beatmungsstrategie (2) vermindert ist. Dabei wurde der PEEP auf der Basis des mit der Slice-Methode (3) bestimmten intratidalen Compliance-Verlaufs eingestellt, um möglichst weitgehende alveoläre Rekrutierung zu erreichen.

Methodik

Nach Genehmigung durch das zuständige Regierungspräsidium wurden 24 isolierte, mit konstantem Fluss perfundierte Kaninchenlungen untersucht (150 mL/min, Krebs-Henseleit-HÄS-(200/0,5)-Puffer). Die Lungen wurden mit Raumluft unter Zusetzung von CO₂ (ca. 5%) mit

einem Tidalvolumen (V_T) von 6 mL/kg KG (Körpergewicht) und einer Atemfrequenz von 10/min beatmet. Für jede Lunge wurde nach einer initialen Stabilisierungsphase (PEEP 2 cmH₂O) eines von drei Beatmungsmustern per Los ausgewählt. B: Optimierte Beatmungsstrategie (CSlice) (3) durch wiederholte Anpassung des PEEP (n=9) (2). Z: Endexpiratorischer Alveolarkollaps bei ZEEP (EEP = 0 cmH₂O) (n=6). Ü: Endinspiratorische Überdehnung durch hohen PEEP mit Plateaudruck 20-25 cmH₂O (n=6). Zusätzlich wurde eine Positivkontrolle (P) mit unphysiologischem Beatmungsmuster untersucht: ZEEP, V_T 38 mL/kg KG (n=3). Nach 2 h wurden die Lungen in flüssigem Stickstoff pulverisiert und aufgearbeitet. Die Lungen der P-Gruppe wurden aufgrund auftretender Luft-Leckagen bereits nach 1 h aufgearbeitet. Die Aktivierung der Transkriptionsfaktoren NF- κ B und AP-1 wurde im Electrophoretic-Mobilityshift-Assay (EMSA) (4) untersucht und im Phosphorimager quantifiziert. Die statistische Datenauswertung der drei Gruppen B, Z und Ü erfolgte mittels ANOVA und Posthoc-Test nach *Tukey* (p<0,05).

Ergebnisse

Die DNA-Bindungsaktivität von NF- κ B und AP-1 war in allen

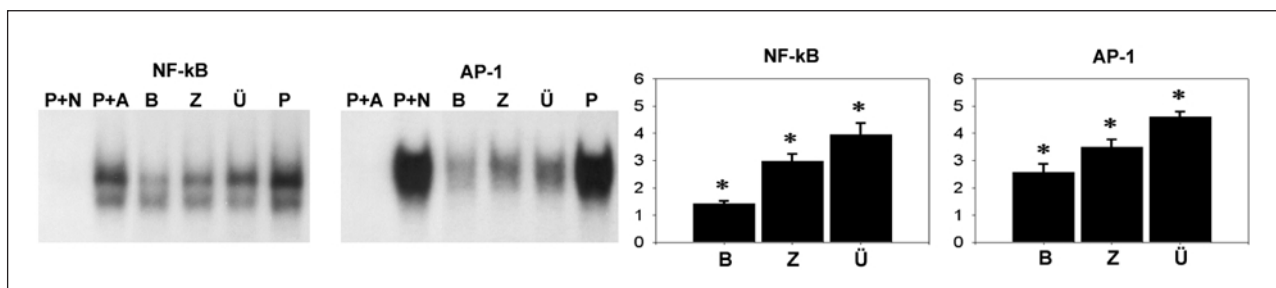


Abbildung 1: (links) Repräsentativer EMSA für NF- κ B und AP-1. B = Optimierte Beatmung (CSlice) (2;3), Z = ZEEP, Ü = Überdehnung, P = Positivkontrolle, Spezifitätskontrollen: P+N bzw. P+A = Zusätzliche Inkubation von P mit im Überschuss vorhandenen nicht radioaktiv markiertem NF- κ B- bzw. AP-1-Oligonukleotid. (rechts) Aktivierungsgrad von NF- κ B und AP-1 in arbiträren Einheiten: MW \pm SD, *: $p < 0,05$ vs. alle anderen Gruppen.

Gruppen im EMSA deutlich messbar ($P \gg \ddot{U} > Z > B$). Die Unterschiede zwischen den 3 Beatmungsmustern B, Z und Ü waren statistisch signifikant (s. Abb. 1).

Interpretation

Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Aktivierung von NF- κ B bzw. AP-1 und dem Beatmungsmuster. Im Vergleich zu einer Beatmung mit endinspiratorischer Überdehnung bzw. endexpiratorischem Alveolarkollaps ist die Transkriptionsfaktor-Aktivierung bei Beatmung gemäß einer kürzlich vorgestellten, nach dem intratidalen Compliance-Verlauf optimierten Strategie (2) reduziert. Dies entspricht einem protektiven Effekt in der isoliert perfundierten Kaninchenlunge.

Literatur

1. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro S P, Li J, Slutsky A S: Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest* 99 (1997) 944-52
2. Hermle, G., Mols, G., Zügel, A., Benzing, A., Lichtwark-Aschoff, M., Geiger, K., Guttmann, J.: The intratidal compliance-volume curve as an alternative basis to adjust PEEP: A study in isolated perfused rabbit lungs. *Crit Care Med* (2002) im Druck
3. Guttmann J, Eberhard L, Fabry B, Zappe D, Bernhard H, Lichtwark-Aschoff M, Adolph M, Wolff G: Determination of volume-dependent respiratory system mechanics in mechanically ventilated patients using the new SLICE method. *Technol Health Care* 2 (1994) 175-191
4. Mueller J M, Pahl H L: Assaying NF-kappa B and AP-1 DNA-binding and transcriptional activity. *Methods Mol Biol* 99 (2000) 205-16.

Zelluläre Mechanismen der Aktivierung respiratorischer Epithelzellen durch *Pseudomonas-aeruginosa*-Infektion in vitro

TH. Schroeder^{1,2}, MM. Lee², PW. Yacono², DE. Golan², K. Unertl¹ und GB. Pier²

¹ Abteilung für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

² Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Fragestellung

Pseudomonas aeruginosa gehört zu den häufigsten Auslösern nosokomialer Pneumonien kritisch kranker Patienten (2). Die Interaktion bakterieller Antigene mit eukaryoten Zellen geschieht durch die Bindung bakterieller Liganden an pattern-recognition-Moleküle (PRM), die auf der eukaryoten Zelloberfläche exprimiert werden. Das Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Protein (CFTR) auf der Oberfläche von respiratorischen Epithelzellen fungiert als Ligand des *P. aeruginosa* Lipopolysaccharids (LPS). Ziel dieser Studie war die Untersuchung der Aktivierung respiratorischer Epithelzellen durch die CFTR vermittelte Internalisierung von *P. aeruginosa* als Mechanismus zur Stimulation der körpereigenen Immunabwehr.

Methodik

Zelllinien: Respiratorische Epithelzellen (CFT-1), mit/ohne funktionellem CFTR Protein. Bakterien: *P. aeruginosa* PAO1, PAOalg::tet sowie *E. coli* DH5 α . In vivo Infektion: Wildtyp und transgene Mäuse (WT C3H/HeN, homozygote δ F508 cfr Mäuse) wurden mit Bakterien oder LPS nasal oder tracheal infiziert. Die Lungen wurden zu definierten Zeitpunkten (bis 45 Minuten) in situ mit 1% Paraformaldehyd fixiert und für die mikroskopischen Untersuchungen präpariert. Mikroskopie: Messung der LPS Extraktion aus planaren Bilayer-Präparationen (5%) durch Epithelzellen mittels konfokaler Mikroskopie (Meridian Ultima Laser Cytometer System). Für die konventionelle konfokale Mikroskopie zum Nachweis der NF- κ B Translokation (p65-Ak) wurde ein Bio-Rad MRC-1024 Mikroskop verwendet. Durchflußzytometrie: Respira-

torische Epithelzellen wurden mit LPS-FITC inkubiert. Die CFTR-LPS Interaktion wurde mit 10-mer Peptiden blockiert (AA 108-117 des CFTR) (FACSVantage, Becton Dickinson). Microarray-Versuche: Respiratorische Epithelzellen (mit/ohne CFTR) wurden mit *P. aeruginosa* infiziert (3 Stunden), danach wurde die mRNA isoliert. Die Microarray Platten enthielten 4600 cDNA Sequenzen.

Ergebnisse

LPS wurde aus der Membran von *P. aeruginosa* isoliert, mit Fluorochromen (FITC) markiert und in mobile planare Bilayer Membranen eingebracht. CFTR positive Epithelzellen extrahierten LPS aus planaren Bilayer-Membranen, während CFTR negative Epithelzellen nicht mit LPS interagierten (relative Fluoreszenzintensität: $48,9 \pm 2,3$ versus $4,2 \pm 0,3$ [Mittelwert \pm SEM]; $p < 0,001$ ANOVA). Mittels konfokaler Mikroskopie konnte gezeigt werden, daß LPS von respiratorischen Epithelzellen internalisiert wurde. Die spezifische LPS-CFTR Interaktion wurde durch Präinkubation mit 10-mer Peptiden (Sequenz 108-117 des CFTR Proteins) blockiert. Die mittlere relative Fluoreszenzintensität in der Durchflußzytometrie betrug für LPS-CFTR positive Epithelzellen: 264; für Zellen, blockiert mit nativen 10-mer Peptiden: 26; für Zellen, blockiert mit irrelevanten Kontroll-Peptiden: 248 (jeweils 2500 Zellen; $p < 0,001$ Kolmogorov-Smirnov Analyse). Die Interaktion zwischen Epithelzellen und LPS führte zu einer schnellen (5 - 15 Minuten) Translokation von NF- κ B aus dem Cytoplasma in den Zellkern in vitro und in vivo (Qualitative Fluoreszenzmikroskopie). Durch Mikroarray Versuche wurde die Epithelzellaktivierung durch

Abstracts

LPS untersucht. In CFTR positiven Epithelzellen stieg die Transkription der NF- κ B restringierten mRNA von ICAM-1, IL-6, IL-8 sowie Gro-1 > 2x an, während in CFTR negativen Zellen kein Anstieg NF- κ B restringierter Gene gemessen wurde.

Interpretation

Immunkompetente Individuen infizieren sich trotz konstanter Exposition nicht mit *P. aeruginosa*. CFTR fungiert als Ligand des *P. aeruginosa* LPS auf der Oberfläche von respiratorischen Epithelzellen (1). Durch Internalisierung werden die Bakterien aus dem Respirationstrakt eliminiert. Die gestörte Expression des CFTR führt zur Infektion bei diesen Patienten (3). Respiratorische Epithelzellen exprimieren Rezeptoren an der Zelloberfläche, die die Bindung und Internalisierung von intakten Mikroorganismen vermitteln. In dieser Studie wird gezeigt, daß Epithelzellen in der Lage sind, bakterielle Liganden von *P. aeruginosa* zu extrahieren und zu internalisieren. Die Interaktion zwischen CFTR und *P. aeruginosa* LPS führt zur Wirtszellaktivierung und könnte ein Mechanismus der körpereigenen

Immunabwehr gegen in den Respirationstrakt eingedrungene *P. aeruginosa* Bakterien sein.

Literatur

1. *Pier GB*: Role of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in innate immunity to *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 2000: 8822-8828
2. *Richards MJ, Edwards GA, Culver DH, Gaynes RP*: Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. *National nosocomial infections surveillance system. Crit Care Med* 27, 1999: 887-892
3. *Schroeder TH, Reiniger N, Meluleni G, Grout M, Coleman FT, Pier GB*: Transgenic cystic fibrosis mice exhibit reduced early clearance of *Pseudomonas aeruginosa* from the respiratory tract. *J Immunol* 166, 2001: 7410-7418.

Der Einfluß von Spontanatmung auf die pulmonale Belüftung bei experimentellem Lungenversagen im Schwein

H. Wrigge¹, P. Neumann², J. Zinserling¹, T. Muders¹, A. Magnusson³, C. Putensen¹ und G. Hedenstierna⁴

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Spezielle Intensivmedizin der Universität Bonn

² Zentrum für Anästhesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin der Universität Göttingen

³ Klinische Radiologie und

⁴ Klinische Physiologie der Universität Uppsala, Schweden

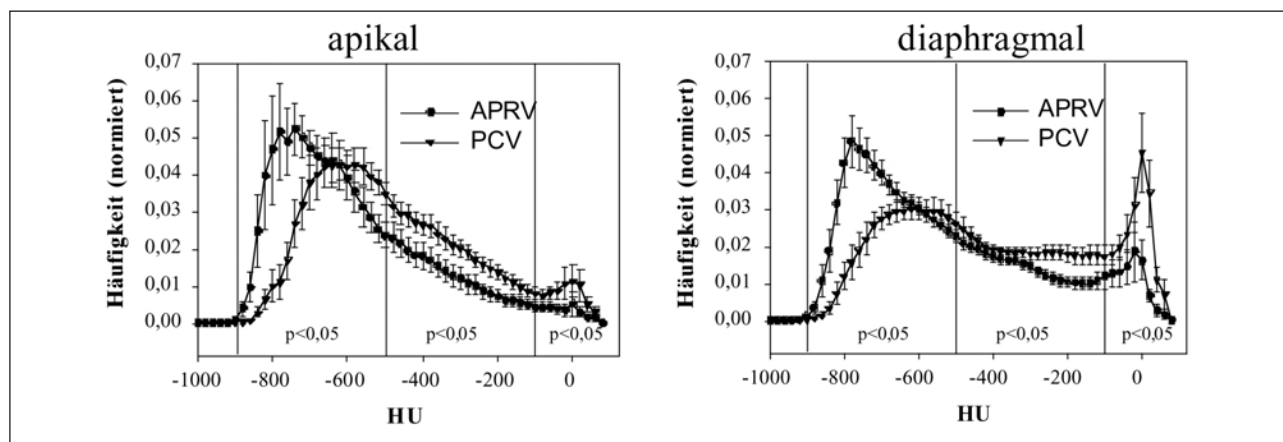
Fragestellung

Spontanatmung während zeitgesteuerter, drucklimitierter Beatmung mit "Airway Pressure Release Ventilation" (APRV) verbesserte im Vergleich zu reiner druckkontrollierter Beatmung ("Pressure Controlled Ventilation", PCV) bei akutem Lungenversagen in experimentellen und klinischen Studien die arterielle Oxygenierung über eine Abnahme der Ventilations-/Perfusions-Inhomogenität (1, 2). Der zu Grunde liegende Mechanismus für die Verbesserung des Gasaustausches durch Spontanatmung ist nicht ausreichend belegt. Wir untersuchten die Hypothese, daß Spontanatmung zu einer Verbesserung der Belüftung vorwiegend zwerchfellnaher Lungenabschnitte führt.

Methodik

Nach Genehmigung durch die lokale Tierversuchskommission wurden 24 Hausschweine anästhesiert, tracheotomiert und mit einem PEEP ("Positive End-Expiratory Pressure") von 5 cmH₂O und einer FIO₂ von 0,5 druckkontrolliert beatmet (Evita 4, Dräger Medizintechnik, Lübeck). Durch wiederholte zentralvenöse Ölsäuregaben von zunächst insgesamt 0,1 ml/kg Körpergewicht wurde ein akutes Lungenversagen

induziert. Die Ölsäuredosierung wurde bei Bedarf individuell erhöht, bis ein PaO₂/FIO₂ < 300 mmHg resultierte. Nach 2 Stunden wurden die Tiere bei unverändertem PEEP und FIO₂ randomisiert entweder weiterhin mit PCV oder APRV beatmet. Während PCV wurde eine Druckamplitude zur Erzielung eines Tidalvolumens von etwa 10 ml/kg Körpergewicht, ein Inspirations-/Expirationszeitverhältnis (I:E) von 1:1 und eine Atemfrequenz (AF) von 30/min gewählt. Die Einstellung von APRV erfolgte wie bei PCV, zur Induktion von Spontanatmung wurde die AF auf 15/min bei gleichem I:E-Verhältnis reduziert. Während PCV und APRV wurde im Falle einer zunehmenden Hyperkapnie (PaCO₂ > 65 mmHg) die AF zunächst bis maximal 40/min erhöht, dann bei Bedarf die Druckamplitude gesteigert. Nach 4 Stunden Beatmung mit dem jeweiligen Modus wurden thorakale Computertomogramme (CT, Somatom Plus 4, Siemens, Erlangen) im Multiscan Modus über 4,5 s mit einer Einzelaufnahmeauflösung von 0,1 s und 8 mm Schichtdicke in zwei transversalen Ebenen erstellt. Die apikale Schnittebene lag auf der halben Strecke der intrathorakalen Trachea, die diaphragmale Ebene 2 - 3 cm oberhalb der Zwerchfellkuppel. Im jeweils end-expiratorischen Bild wurde mit Hilfe einer Auswertungssoftware (OSIRIS,



Abbildung

Universität Genf) das Lungenareal markiert und die Hounsfield Einheiten (HU) für jedes Pixel ausgegeben. Nach der Einteilung von *Gattinoni et al.* (3) wurden überblähte (-1000 - -900 HU), normal ventilierte (-900 - -500 HU), schlecht ventilierte (-500 - -100 HU) und atelektatische Areale (Luftgehalt <10%, -100 - 100 HU) unterschieden. Zusätzlich wurden spirometrische Messungen und Blutgasanalysen durchgeführt. Die Ergebnisse wurden hinsichtlich ihrer statistischen Signifikanz mit ein- oder mehrfaktoriellen Varianzanalysen getestet.

Ergebnisse

12 Tiere der PCV Gruppe und 10 Tiere der APRV Gruppe waren auswertbar. Der PaO₂ war bei Randomisierung vergleichbar (APRV: 104 ± 41 mmHg versus 115 ± 31 mmHg, nicht signifikant), im Verlauf der 6 Stunden nach Randomisierung stieg der PaO₂ in der Spontanatmungsgruppe - nicht aber in der PCV Gruppe - signifikant an (APRV: 134 ± 60 mmHg versus 91 ± 50 mmHg, p<0,05). Bei vergleichbarem PEEP, vergleichbaren mittleren Atemwegsdrücken und PaCO₂-Werten waren die mittels CT bestimmten mittleren Dichten zwischen den Beatmungsformen signifikant verschieden (apikal: APRV -577 ± 90 HU versus PCV -466 ± 83 HU, p<0,05; diaphragmal: APRV -515 ± 86 HU versus PCV -381 ± 79 HU, p<0,05). Die kontinuierlichen end-expiratorischen Verteilungen der HU (Mittelwert ± Standardfehler) in den beiden untersuchten Ebenen sind in der Abbildung dargestellt.

Interpretation

In unserem Tiermodell führte Spontanatmung mit APRV im Gegensatz zu PCV zu weniger Atelektasen und einer besseren Belüftung sowohl apikaler als auch zwerchfellnaher Lungenabschnitte. Die verbesserte Belüftung perfundierter Lungenareale könnte ein wichtiger Mechanismus der Oxygenierungsverbesserung durch Spontanatmung beim akuten Lungenversagen sein.

Literatur

1. *Putensen C, Räsänen J, Lopez FA*: Effect of interfacing between spontaneous breathing and mechanical cycles on the ventilation-perfusion distribution in canine lung injury. *Anesthesiology* 81(1994) 921
2. *Putensen C, Mutz NJ, Putensen-Himmer G, Zinserling J*: Spontaneous breathing during ventilatory support improves ventilation-perfusion distributions in patients with acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159 (1999) 1241
3. *Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, Baglioni S, Rivolta M, Rossi F, Rossi G, Fumagalli R, Marcolin R, Mascheroni D*: Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. *Anesthesiology* 69 (1988) 824.

Der Einfluß unterschiedlicher PEEP-Niveaus auf die Oxygenierung und auf die inflammatorische Reaktion bei Ratten mit einseitiger Lungenschädigung

T. Schreiber, K. Schwarzkopf, B. Schmidt und W. Karzai
Klinik für Anaesthesiologie and Intensivtherapie der Universität Jena

Fragestellung

Die Auswirkungen von PEEP auf die inflammatorische Reaktion nach akuter Lungenschädigung sind nicht gut bekannt. Wir untersuchten daher die Effekte unterschiedlicher PEEP-Niveaus auf die Oxygenierung und die inflammatorische Reaktion nach einseitiger Lungenschädigung in einem Tiermodell.

Methodik

Bei männlichen Wistar-Ratten (350g) wurde entweder durch endobronchiale Instillation von 0,4ml HCL (pH1) eine linksseitige Lungenschädigung induziert oder eine Instillation von 0,4ml NaCl 0,9% endobronchial vorgenommen (Kontrollgruppe). 24 Stunden nach Behandlung wurden die Ratten anästhesiert und intravasale Katheter für Flüssigkeitssubstitution, weitere Anästhetikagabe und hämodynamisches Monitoring platziert. Dann wurden die Tiere tracheotomiert und randomisiert mit entweder ZEEP, PEEP 5mmHg oder PEEP 10mmHg und einem Tidalvolumen von 6ml (ca. 18 ml/kg/KG) über 4 Stunden beatmet (FiO₂ 0,4, Frequenz 40/min). Im Abstand von 30 Minuten erfolgten arterielle Blutgasanalysen. Nach 4-stündiger Beatmung wurde eine rechts- und linksseitige Lungenspülung zur Zellzählung und

Proteinbestimmung durchgeführt. Statistische Berechnungen erfolgten mittels Varianzanalyse (ANOVA).

Ergebnisse

Der PaO₂ in den PEEP-Gruppen war höher als in den ZEEP-Gruppen. Proteingehalt und Anzahl neutrophiler Granulozyten in der Lavageflüssigkeit beider Seiten war bei geschädigten Ratten höher als bei den Kontrolltieren. Die Zahl neutrophiler Granulozyten und der Proteingehalt in der Lavageflüssigkeit der geschädigten Lunge war unter PEEP deutlich geringer als unter ZEEP.

Interpretation

Steigender PEEP verminderte dosisabhängig die inflammatorische Reaktion der geschädigten Lunge (Leukozyteninfiltration) in unserem Tiermodell und verbesserte die Oxygenierung.

Literatur

1. *Ranieri VM, Suter PM, et al*: JAMA 282 (1999) 54-61
2. *Tremblay L, Valenza F, et al*: J Clin Invest 99 (1997) 944-952
3. *Imai Y, Nakagawa S, et al*: J Appl Physiol 91 (2001) 1836-1844.

Tabelle: Oxygenierung und inflammatorische Reaktion nach vierstündiger Beatmung.

	Lungenschädigung mit HCL			Kontrollgruppe		
	ZEEP	PEEP5	PEEP10	ZEEP	PEEP5	PEEP10
PaO ₂ nach 4h Beat. (mmHg) ¹	127 ± 26	193 ± 4	203 ± 10	138 ± 14	215 ± 10	197 ± 13
Protein linke Lunge (mg/l) ²	2841 ± 146	2867 ± 253	1970 ± 300	80 ± 11	62 ± 17	72 ± 17
Protein rechte Lunge (mg/l) ³	343 ± 69	212 ± 69	195 ± 43	69 ± 7	85 ± 13	92 ± 10
NG linke Lunge (ml-1) ²	4082 ± 503	2634 ± 530	1744 ± 453	158 ± 77	157 ± 34	85 ± 29
NG rechte Lunge (ml-1) ³	456 ± 98	449 ± 147	335 ± 148	155 ± 33	214 ± 56	185 ± 58

Mittelwert ± SEM; NG = neutrophile Granulozyten; Protein und NG: in Lavageflüssigkeit

¹ P < 0,05 für Effekte von PEEP

² P < 0,05 für die Faktoren Gruppe, PEEP und Interaktion

³ P < 0,05 für Unterschiede zwischen geschädigten Tieren und Kontrollgruppe

Die Rolle der PARS bei der Thrombozyten/Endothelzell-Interaktion in der pulmonalen Mikrozirkulation während einer endotoxininduzierten Lungenschädigung

R. Kiefmann, S. Schenkot¹, K. Heckel, M. Dörger¹ und AE. Goetz

Klinik für Anaesthesiologie und

¹ Institut für Chirurgische Forschung, Ludwig-Maximilians-Universität, München

Fragestellung

Für die während einer systemischen Entzündungsreaktion auftretenden akuten Lungenschädigungen wird eine schwere Störung der Mikrozirkulation verantwortlich gemacht. Diese wird durch Proteasen und Radikale hervorgerufen, die im Rahmen einer pulmonalen Einwanderung von Leukozyten und auch Thrombozyten freigesetzt werden. Letzteren scheint hierbei insofern eine Schlüsselrolle zuzukommen, als daß sie noch vor den Leukozyten in der pulmonalen Mikrostrombahn retiniert werden und durch ihre sekretorische Funktion die Adhäsion von Leukozyten mitinitiiieren können (2). Die pulmonale Retention der Thrombozyten wird durch eine Interaktion mit dem Endothel (T/E-I) hervorgerufen. Erstes Ziel war es, die Regulation der T/E-I durch die Adhäsionsmoleküle P- und E-Selektin zu untersuchen.

Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B und AP-1 können unter bestimmten Bedingungen zur Expression von P- und E-Selektin beitragen. Ferner scheint auch die Poly-(ADP-ribose)-Synthetase (PARS), ein nukleäres, Protein-modifizierendes Enzym, in der Expression von Adhäsionsmolekülen involviert zu sein (1, 3). Zweites Ziel war es, die Rolle der PARS bei der Regulation der Genexpression von P- und E-Selektin durch die Aktivierung von NF- κ B und AP-1 in der Lunge während einer Endotoxin-induzierten systemischen Entzündungsreaktion zu untersuchen.

Methodik

Nach Genehmigung durch die Tierschutzkommission wurden Weiße Neuseeländer-Kaninchen narkotisiert (Thiopental, α -Chloralose, Pirritamid) und druckgesteuert beatmet (Atemwegsspitzenruck: 8 cmH₂O, PEEP: 2 cm H₂O, FiO₂: 0,4). Die Makrohämodynamik wurde kontinuierlich registriert. Nach Implantation eines transparenten Fensters in die rechte Thoraxwand wurden zur Quantifizierung der Mikrohämodynamik und T/E-I die Fließgeschwindigkeiten der in vitro FITC-markierten Erythrozyten (vRBC) bzw. Rhodamin 6G-markierten Thrombozyten (vPLT) in subpleuralen Mikrogefäßen mittels Fluoreszenz-Videomikroskopie gemessen. Die Reinjektion der Thrombozyten erfolgte entsprechend der Versuchsgruppen 6h nach NaCl, Endotoxin (100 μ g + 20 μ g/(μ g \cdot h⁻¹·kg⁻¹·KG), E.coli 01111:B4) und/oder 3-Aminobenzamid, einem PARS-Inhibitor, (10 mg + 5 mg/(h^{*}kgKG)). Zur Differenzierung der Beteiligung der beiden Adhäsionsmoleküle wurden die Messungen nach Blockierung von P-Selektin mittels systemischer Applikation von Fucoidin wiederholt. Die Expression von P- und E-

Selektin wurde mittels RT-PCR, Western-Blot und Immunhistochemie untersucht. Die Aktivität von NF- κ B und AP-1 wurde mittels electromobility shift assay (EMSA) bestimmt. Werte sind angegeben als Mittelwert \pm SEM, p<0,05 vs. Kontrolle (ANOVA on ranks).

Ergebnisse

Der mittlere arterielle Blutdruck (75 \pm 2 mmHg) und v_{trc} (Arteriolen: 2276 \pm 206 μ m/s, Venolen: 2210 \pm 272 μ m/s) blieben konstant und unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen. LPS induzierte ein Rollen der Thrombozyten entlang des Endothels und somit eine Reduktion von vPLT in Arteriolen (861 \pm 304 μ m/s) und Venolen (735 \pm 195 μ m/s) zum Zeitpunkt 6h im Vergleich zu den NaCl-behandelten Tieren (Arteriolen: 2077 \pm 196 μ m/s, Venolen: 2160 \pm 408 μ m/s). Die immunhistochemisch überprüfte Blockierung von P-Selektin reduzierte v_{PLT} in der Endotoxingruppe nur teilweise (Arteriolen: 1462 \pm 365 μ m/s, Venolen: 1102 \pm 274 μ m/s), wohingegen die Vorbehandlung der Tiere mit 3-AB die Endotoxin-induzierte Abnahme von vPLT aufhob (Arteriolen: 2163 \pm 194 μ m/s, Venolen: 2873 \pm 289 μ m/s). In der Therapiegruppe konnte im Vergleich zur LPS-Gruppe eine Reduktion der Expression auf mRNA- und auf Proteinebene nur von E-Selektin nachgewiesen werden. Die Aktivität von NF- κ B war höher, von AP-1 niedriger in der Therapie, verglichen mit der LPS-Gruppe.

Interpretation

PARS scheint in der Initialphase einer Endotoxinämie v.a. die Expression von E-Selektin durch Aktivierung von AP-1 zu induzieren und somit Einfluß auf die T/E-I in der Lunge zu nehmen.

Literatur

1. Kameoka M, Ota K, Tetsuka T, Tanaka Y, Itaya A, Okamoto T, Yoshihara K: Evidence for regulation of NF-kappaB by poly (ADP-ribose) polymerase. *Biochem.J.* 2000, 346 Pt 3:641-649
2. Smith ME, Gunther R, Gee M, Flynn J, Demling RH: Leukocytes, platelets, and thromboxane A2 in endotoxin-induced lung injury. *Surgery* 1981, 90:102-107
3. Zingarelli B, Salzman AL, Szabo C: Genetic disruption of poly (ADP-ribose) synthetase inhibits the expression of P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ.Res.* 1998, 83:85-94.

Bedeutung des Implantationsortes für die Regeneration durchtrennter Baroafferenzen

M.F. Stevens, H. Hermanns, G.E.K. Novotny¹ und P. Lipfert

Klinik für Anaesthesiologie,

¹ Institut für Neuroanatomie der Universität Düsseldorf

Fragestellung

Einzelne Fasern regenerierter baroafferenter Nerven erlangen Mechanosensitivität, wenn sie nach Durchtrennung in verschiedene Gewebe implantiert wurden (1). Wir überprüften mit elektrophysiologischen, morphologischen und immunhistochemischen Methoden die Hypothese, ob und in welchem Ausmaß der Implantationsort (Arterie/Vene) die Ausbildung von funktionstüchtigen Nerven bzw. Rezeptoren generiert.

Methodik

Mit Genehmigung der Bezirksregierung wurde bei 19 narkotisierten (Pentobarbital) Kaninchen der N. depressor auf beiden Seiten durchtrennt und der distale Anteil reseziert. Auf der einen Halsseite wurde der proximale Nervenstumpf in die A. carotis com. (N. in Art.), auf der

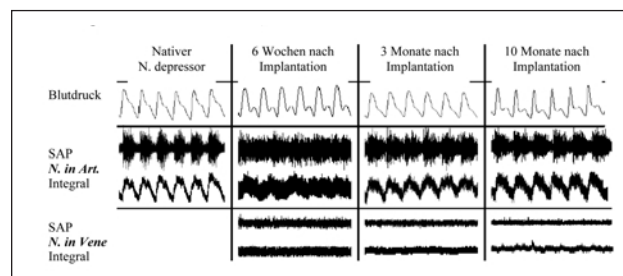


Abbildung 1

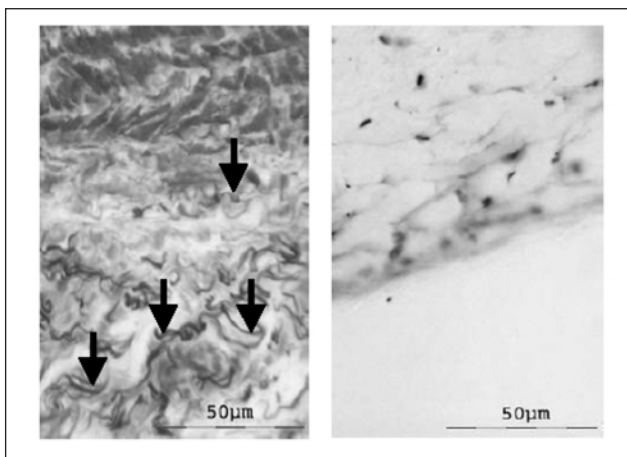


Abbildung: 2a

2b

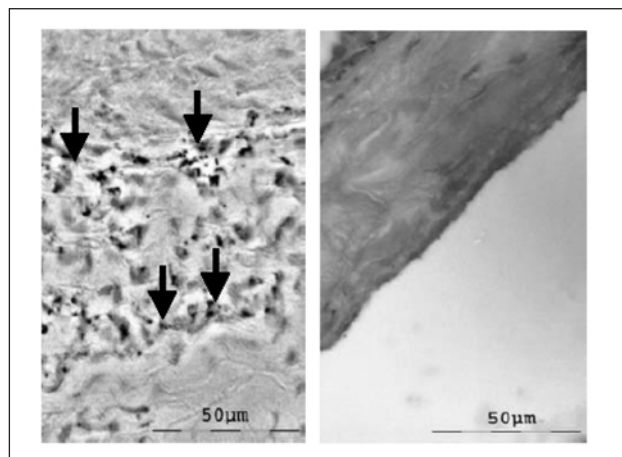


Abbildung: 3a

3b

anderen in die V. jugularis int. (N. in Vene) implantiert. Nach 6 Wochen, 3 und 10 Monaten wurden die Tiere in Narkose erneut untersucht. Es wurde das Summenaktionspotential (SAP) des Nerven abgeleitet sowie Nerv, Nervenendigungen und deren Interaktion mit der Gefäßwand morphologisch (Versilberung nach Novotny) und immunhistochemisch (Growth Associated Protein-43 (GAP-43), Tyrosin-Hydroxylase (TH)) untersucht.

Ergebnisse

12 von 18 Nerven, die in Arterien implantiert wurden, erlangten wieder pulssynchrone Baroaktivität (4 von 6 zu jedem Zeitpunkt), hingegen keiner der in Venen implantierten Nerven ($p = 0,001$; Fisher's exact test). Durch Druck oder Zug konnten nur an den Arterien, nicht an den Venen Entladungen der implantierten Nerven ausgelöst werden. Histologisch waren nach Versilberung an der Media-Adventitia-Grenze der Arterie zahlreiche Nervenfasern sichtbar (Pfeile in Abb. 2a), nicht in der Vene (Abb. 2b). Immunhistochemisch ließen sich GAP-43-positive und TH-negative Strukturen als Hinweis auf aussprossende, afferente Nervenfasern nur in der Arterie (Pfeile in Abb. 3a), nicht in der Vene (Abb. 3b) nachweisen.

Interpretation

Die Regeneration baroafferenter Nerven wird nur in Arterien, nicht in Venen generiert, d. h. der permanente pulsatile Kontakt zwischen Nerv und Gefäß scheint von zentraler Bedeutung. Derartige neurovaskuläre Kontakte spielen bei der neurogenen Hypertonie (2) sowie der Kompressionsneuralgie (3) des Menschen ursächlich eine Rolle.

Literatur

1. Arndt JO, Krossa M, Samodelov LF: (1981) Regeneration of baro-sensitivity in the aortic nerve of cats when severed and transposed on various vessels in the neck. *J Physiol (Lond.)* 311: 453-61
2. Naraghi R, Geiger H, Crnac J, Huk W, Fahlbusch R, Engels G, Luft FC: (1994) Posterior fossa neurovascular anomalies in essential hypertension. *Lancet* 344: 1466-70
3. Jannetta PJ: (1977) Observations on the etiology of trigeminal neuralgia, hemifacial spasm, acoustic nerve dysfunction and glossopharyngeal neuralgia: definitive microsurgical treatment and results in 117 patients. *Neurochirurgia* 20: 145-54.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Ste 983/1-1).

Homer1 α -Überexpression ist neuroprotektiv und verbessert die funktionelle Erholung nach globaler zerebraler Ischämie bei der Maus*

A. M. Brambrink^{1,2}, B. Hey², A. Schneider³, P. Worley⁴ und O. Kempfski²

¹ Klinik für Anästhesiologie und

² Institut für Neurochirurgische Pathophysiologie, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz;

³ Axaron-Bioscience AG, Heidelberg

⁴ Department of Neuroscience, The Johns Hopkins Univ., Baltimore, USA

Fragestellung

Ein unkontrollierter Anstieg der intrazellulären Kalzium(Ca^{2+})-Konzentration nach reversibler zerebraler Ischämie gilt als wichtiger Auslöser des verzögerten neuronalen Zelltods. Über Glutamatrezeptoraktivierung werden neben dem Ca^{2+} -Einstrom von extrazellulär auch intrazelluläre Ca^{2+} -Speicher (z. B. im ER) eröffnet. Dabei kommt dem Homer1-Protein, daß dem metabotropen Glutamatrezeptor (mGluR) assoziiert ist, möglicherweise eine zentrale Rolle zu (1). Die Hochregulation des Gegenspielers Homer1 α (ein Immediate Early Gen) moduliert vermutlich die Öffnung intrazellulärer Ca^{2+} -Speicher (2). Mittels transgener Mäuse untersuchten wir, ob eine erhöhte Homer1 α -Expression mit verbesserter Langzeiterholung nach globaler zerebraler Ischämie assoziiert ist.

Methodik

Mit Zustimmung der regionalen Ethikkommission für Tierschutzfragen (Bezirksregierung Rheinhessen-Pfalz, D-67433 Neustadt) wurden anästhesierte (Ketamin, Xylazin, Midazolam (0,3 mg / 0,04 mg / 0,125

mg / 10 g Maus)) und beatmete männliche C57/Bl6 Mäuse (25 - 35g KG, Wildtyp (WT) n=10, Homer1 α -Transgen (TG) n=9) einer 12-minütigen globalen zerebralen Ischämie ausgesetzt (bilateraler Karotisverschluss). Während Insult und früher Erholungsphase wurde der regionale zerebrale Blutfluß (rCBF, Laser-Doppler-Flowmetrie (LDF)) gemessen um Ischämie und Reperfusion zu verifizieren und Tiere ohne vollständigen zerebralen Zirkulationsstillstand (rCBF > 7 LDF-Units) ausschließen zu können. Die Überprüfung der postschämischen Erholung (7 Tage) umfasste klinischen Status, Körpergewicht und neurologisches Defizit (spezieller Score: Hirnstammfunktionen, Sensomotorik, Motorik, Aktivität, Verhalten, 0-100 Punkte). Die Tiere wurden abschließend transkardial perfundiert (4% Paraformaldehyd) und das Gehirn wurde histopathologisch ausgewertet (Paraffinschnitte (4 μ m), H&E-Färbung,

* Der Erstautor ist zusammen mit Herrn P. Kienbaum, Essen, Gewinner des Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung.

Abstracts

Tabelle 1: Neurologisches Defizit (0-100; * = p < 0,05; TG n=7 ab Tag 2, WT n=8 ab Tag 3)

Beobachtungstag	1	2	3	4	5	6	7
Wildtyp (n=9)	40 ± 12	34 ± 9	27 ± 7	26 ± 9	24 ± 7	23 ± 7	19 ± 5
Homer1a-TG (n=8)	28 ± 7*	24 ± 8*	24 ± 6	23 ± 9	17 ± 5*	19 ± 9	17 ± 10

Lichtmikroskopie, Auszählen der überlebenden Neurone in Hippocampus (CA1, CA2, CA3, CA4), Neokortex (parietal), Striatum). Als Referenz dienten weitere scheinoperierte (keine Ischämie; WT n=4, TG n=4) bzw. vollständig unbehandelte Tiere (WT n=3, TG n=3). Es bestanden keine Unterschiede im Phänotypus zwischen Wildtyp- und Homer1a-Tieren, insbesondere zeigten sich keine Verhaltensauffälligkeiten. Nach Bestätigung der Normalverteilung wurden die Daten mittels Student-t-Test bzw. Rank-Sum-Test (neurologisches Defizit) auf mögliche Unterschiede zwischen den Gruppen untersucht (SigmaStat® 2.0, Signifikanzniveau = p<0,05).

Ergebnisse

Bei Homer1a-transgenen Tieren zeigte sich eine bessere funktionelle Erholung (signifikant an Tagen 1, 2 und 5, p<0,05, Tabelle 1) sowie eine signifikant geringere neuronale Schädigung in Hippocampus (CA1, CA4) und Neokortex (p<0,05, Tabelle 2). Nach 4 - 6 Std. bzw. nach 2 - 3 Tagen verstarb je 1 Tier pro Versuchsgruppe (Mortalität ca. 20%). Beim Wildtyp entsprachen neurologisches Defizit, neuronale Zellschädigung sowie Mortalität früheren Beobachtungen bei der Entwicklung des hier verwendeten Ischämie-modells (3).

Interpretation

Die Milderung der funktionellen und histologischen Schädigung bei Homer1a-überexprimierenden Mäusen deutet auf eine wesentliche Rolle der intrazellulären Ca²⁺-Freisetzung via Homer-Signaltransduktion während der Reperfusion nach globaler zerebraler Ischämie hin. Die Ergebnisse identifizieren einen möglichen Ansatzpunkt für die Entwicklung therapeutischer Verfahren zur Neuroprotektion.

Literatur

1. Xiao B, Tu CJ, Worley PF (2000) Homer: a link between neural activity and glutamate receptor function. *Curr Opin Neurol* 10: 370-374.
2. Brakeman PR, Lanahan AA, O'Brien R, Roche K, Barnes CA, Hagan RL, Worley PF (1997) Homer: a protein that selectively binds metabotropic glutamate receptors. *Nature* 386: 284-288
3. Brambrink AM, Hey B, Kempinski O: (2001) A novel model of global cerebral ischemia in mice. *Soc. Neurosci. Abstr.*, Vol. 27, Program No. 436.6.

Tabelle 2: Überlebende Neurone 7 Tage nach globaler zerebraler Ischämie (/mm², * = p<0,05)

Hirnregion	CA 1	CA 2	CA 3	CA 4	Neokortex
Wildtyp (n=8)	1765 ± 287	1933 ± 319	1871 ± 171	1208 ± 161	658 ± 145
Homer1a-TG (n=7)	2174 ± 336*	2094 ± 351	1985 ± 310	1309 ± 241*	758 ± 148*

Hypoxie induziert NO-vermittelt die Tyrosinhydroxylase-Transkription in Phäochromozytomzellen PC12

M. Henrich^{1,2}, A. Sell², B. Höhler², H. Tastan², Y. Yamamoto², G. Hempelmann¹ und W. Kummer²

¹ Abteilung für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen

² Institut für Anatomie und Zellbiologie, Justus-Liebig-Universität Gießen

Fragestellung

Ein generelles Schutzsystem gegen Hypoxie stellen Paraganglien wie das Glomus caroticum dar. Diese bewirken eine Herz-Kreislaufaktivierung, vermittelt über nervale Reflexbögen und über Katecholamin-ausschüttung. Dieser protektive Mechanismus ist sowohl im Prä- als auch im Postnatalekreislauf wichtig. Parallel zur Katecholaminausschüttung wird in den Paraganglien die Expression des Schrittmacher-enzym der Katecholaminsynthese, Tyrosinhydroxylase (TH), gesteigert. Eine Modellzelllinie für Paraganglien ist die Phäochromozytomzelllinie (PC12) der Ratte. In diesen Zellen konnte eine vermehrte Freisetzung von 'Reaktiven Sauerstoffspezies' (ROS) unter Hypoxie gemessen werden, die aber nicht die Expression der TH-mRNA vermitteln (1). In der vorliegenden Studie untersuchten wir, ob die NO-Produktion in PC12 Zellen unter Hypoxie ansteigt und anstatt der ROS die Hypoxie-induzierte TH-mRNA-Expression triggert und ob auch im Glomus caroticum der Ratte ein Hypoxie-induzierter NO-Anstieg festzustellen ist.

Methodik

Mit dem NO-sensitiven Fluoreszenzindikator DAF-2DA (100 µM) (2) wurden vitale Schnitte des Glomus caroticum (100 µm) und PC12-Zellen beladen und anschließend für 60 min unter normoxischen (21% O₂ in der Gasphase über dem Medium) oder hypoxischen (1% O₂) Bedingungen inkubiert. Die Fluoreszenz wurde anschließend quantitativ mit dem Laser Scanning Mikroskop (LSM) auf einer Grauwertskala zwischen 0 und 255 ermittelt. Mittels 'slot blot' und densitometrischer

Auswertung wurde die Veränderung der TH-mRNA Menge in PC12 Zellen nach 6-stündiger Inkubation gemessen. Die Inhibition der NO-Synthese erfolgte mit L-NMMA (100 µM). Unter Anwendung der ROS-Scavenger Superoxiddismutase, NBT, Katalase und Dimethylthioharnstoff sowie durch Hemmung der mitochondrialen Translation durch Thiamphenicol wurde der Einfluß der ROS auf die Expression der TH untersucht. Statistik: Es wurde zuerst der Test nach Kruskal-Wallis angewandt, anschließend der Mann-Whitney-Test (NO-Freisetzung) für unverbundene Stichproben und der Wilcoxon-Test ('slot blot' Densitometrie) (3) für verbundene Stichproben (SPSS Software).

Ergebnisse

In PC12 Zellen (n=11, je 320 Zellen) und in Glomuszellen Typ 1 (n=6 Organschnitte), die unter Hypoxie inkubiert wurden, kam es zu einem signifikanten Anstieg der NO-Produktion (p<0,001). Nach 6-stündiger Inkubation konnte in PC12 Zellen ein signifikanter Anstieg der TH-mRNA gemessen werden (n=37, p<0,001). Die Zugabe von ROS-Scavenger und die Hemmung der mitochondrialen ROS-Produktion beeinflussten nicht die Transkription der TH-mRNA. Der hypoxische Anstieg der TH-mRNA wurde aber vollständig durch die Hemmung der NO-Produktion mittels L-NMMA unterdrückt.

Interpretation

Unsere Ergebnisse zeigen, daß NO in PC12 unter Hypoxie vermehrt freigesetzt wird und der Hypoxie-induzierte TH-mRNA Anstieg NO-

abhängig ist. Da NO unter Hypoxie auch im Glomus caroticum in Glomuszellen Typ I freigesetzt wird, legt dies nahe, daß dieser Mechanismus auch in vivo relevant ist.

Literatur

1. Höhler B, Lange B, Holzapfel B, Goldenberg A, Hänze J, Sell A, Tastan H, Möller W, Kummer W: Hypoxic upregulation of tyrosine hydroxylase gene expression is paralleled, but not induced, by increased

generation of reactive oxygen species in PC12 cell. FEBS Lett., (1999); 457: 53-56

2. Kojima H, Nakatsubo N, Kikuchi K, Kawahara S, Kirino Y, Nagoshi H, Hirata Y, Nagano T: Detection and imaging of nitric oxide with novel fluorescent indicators: diamino fluoresceins. Anal. Chem. (1998); 70: 2446-2453

3. Bortz, J. und Lienert, G.A.: Kurzgefasste Statistik für die klinische Forschung. pp. 142-158, Springer, (1998); Berlin.

Expression des apoptoseinduzierenden "Todesrezeptors" Fas/CD95 und seines Liganden FasL in selektiv vulnerablen Hirnarealen nach globaler zerebraler Ischämie bei der Ratte

S.A. Padosch, E. Popp, P. Vogel, J.J. Krumnikl, P. Teschendorf, E. Martin und B.W. Böttiger
Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Heidelberg

Fragestellung

Nach transients globaler zerebraler Ischämie kommt es in selektiv vulnerablen Gehirnanaren zu verzögerten Nervenzelluntergängen, die Charakteristika der Apoptose zeigen (1). Aktuelle Daten belegen dabei die funktionelle Beteiligung des Apoptose-induzierenden "Todesrezeptors" Fas/CD95 sowie seines Liganden FasL nach fokaler zerebraler Ischämie (2). Um die mögliche Bedeutung des Fas/CD95-FasL-Systems nach globaler zerebraler Ischämie zu beurteilen, wurde das Expressionsmuster von Fas/CD95 und FasL in Thalamus und Hippokampus in der Frühphase nach globaler zerebraler Ischämie an der Ratte untersucht.

Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzkommission wurde bei männlichen Wistar-Ratten in Narkose (0,8 - 1 Vol% Halothan in 30% O₂/70% N₂O) durch Kammerflimmern ein Kreislaufstillstand initiiert. Nach 6 min wurden die Tiere kardiopulmonal reanimiert (1). Nach 3h, 6h und 24h Reperfusion (n=3 Tiere pro Gruppe bzw. Schein-OP) wurden die Hippokampi und Thalami einer Hemisphäre mittels Immunoblotting für Fas/CD95 und FasL untersucht. Die integrierte optische Dichte (IOD) der jeweiligen Banden wurde mittels semiquantitativer Densitometrie ermittelt. Die Gehirnschnitte der korrespondierenden Hemisphären wurden mittels Immunhistochemie untersucht. Die statistische Analyse erfolgte nach Kruskal-Wallis-Vortestung mit dem Wilcoxon-Test (MW ± SEM; p<0,05 = signifikant).

Ergebnisse

Das Immunoblotting zeigte für die Expression von Fas/CD95 im Hippokampus (Schein-OP IOD=49,6 ± 0,2) keine signifikanten Veränderungen, im Thalamus (Schein-OP IOD=96,8 ± 14,1) fand sich eine Verminderung von Fas/CD95 nach 24h (IOD=72,7 ± 7,8; p<0,05; Tab.). FasL fiel im Hippokampus (Schein-OP IOD=79,4 ± 14,6) nach 3h (IOD=64,5±19,4; p<0,05) und 6h (IOD=61,7±13,8; p<0,05) ab. Im Thalamus zeigte sich bereits nach 3h eine Induktion von FasL (Abb., Tab.). Insgesamt wurde Fas/CD95 im Thalamus zu allen Zeitpunkten stärker exprimiert als im Hippokampus, FasL zeigte im Hippokampus generell

eine höhere Expression. Die Immunhistochemie dokumentierte eine vorwiegend neuronale Expression.

Interpretation

Die vorliegenden Daten zeigen erstmals den Verlauf der Expression des Apoptoseinduzierenden "Todesrezeptors" Fas/CD95 und seines Liganden FasL in selektiv vulnerablen Hirnarealen nach globaler zerebraler Ischämie. Nach 6minütigem Herz-Kreislaufstillstand kommt es im Thalamus zur einer verminderten Expression des Fas/CD95 "Todesrezeptors", die Ausdruck einer postischämischen Stressreaktion sein könnte. Während die Expression von FasL im Hippokampus ebenfalls reduziert ist, wurde im Thalamus nach 3h eine signifikante Induktion von FasL nachgewiesen. Insbesondere vor dem Hintergrund der hohen Fas/CD95 Rezeptordichte im Thalamus könnte eine derartige Induktion des spezifischen Liganden zu einer ausgeprägten Aktivierung der Fas/CD95 induzierten apoptotischen Signalkaskaden führen. Eine therapeutische Blockade des Fas/CD95-FasL-Systems stellt somit eine neue therapeutische Option zur Verminderung der neuronalen Schädigung in der Frühphase nach Herz-Kreislaufstillstand dar.

Literatur

1. Böttiger BW, Schmitz B, Wiessner C, Vogel P, Hossmann KA: Neuronal stress response and neuronal cell damage after cardiocirculatory arrest in rats. J Cereb Blood Flow Metab 18 (1998) 1077
2. Martin-Villalba A, Hahne M, Kleber S, Vogel J, Falk W, Schenkel J, Krammer PH: Therapeutic neutralization of CD95-ligand and TNF attenuates brain damage in stroke. Cell Death Differ 8 (2001) 679.

Dieses Projekt wurde gefördert durch die Pinguin-Stiftung (Fa. Henkel KGaA, Düsseldorf) und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Bo 1686/1-1).

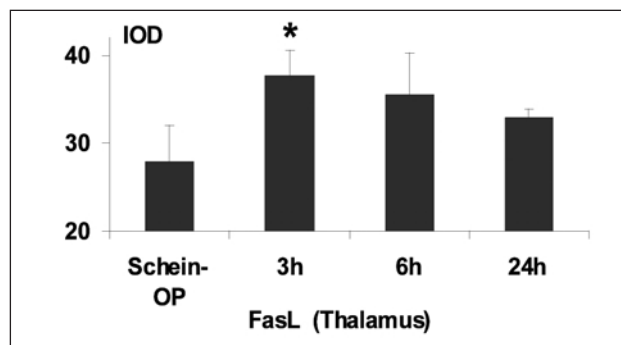


Abbildung: Zeitlicher Verlauf der Expression von FasL im Thalamus während der postischämischen Frühphase nach globaler zerebraler Ischämie (6 Minuten). Bereits nach 3 Stunden wurde eine signifikante Hochregulierung des "Todesrezeptor"-Liganden detektiert, die nach 24 Stunden immer noch deutlich über dem Ausgangsniveau lag. IOD, integrierte optische Dichte; *p<0,05.

Tabelle:

	Fas/CD95	FasL
Hippokampus	=	∅
Thalamus	∅	≠

Zusammenfassung der Ergebnisse aus der semiquantitativen Densitometrie von Western-Blotting-Untersuchungen an Rattengehirnen zur Expression des Apoptose-induzierenden "Todesrezeptors" Fas/CD95 und seines Liganden FasL in Thalamus und Hippocampus nach experimentellem 6-minütigem Herz-Kreislaufstillstand mit globaler zerebraler Ischämie. =, Expression unverändert; ∅, Expression vermindert; ≠, Expression gesteigert (im Vergleich zum Ausgangsniveau der Proteinexpression).

Schwächen 5-HT_{1A}-Agonisten die antinozizeptive Wirkung von Fentanyl ab?

U. Günther¹, D.W. Richter² und D. Kettler¹

¹ Zentrum Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin und

² Zentrum Physiologie und Pathophysiologie, Abt. Neurophysiologie, Georg-August-Universität Göttingen

Fragestellung

Über 5-HT_{1A}-Agonisten sind sowohl pro- als auch analgetische Effekte beschrieben worden (1, 2). Da für diese Substanzen ein atemstimulierender Effekt bei opioidinduzierter Atemdepression gezeigt werden konnte (3), überprüften wir den Einfluß eines 5-HT_{1A}-Agonisten (8-OH-DPAT) auf einen C-Faser vermittelten Reflex (CFR) an einem juvenilen, perfundierten Hirnstamm-Rückenmark-Präparat.

Methodik

Unter Einhaltung der Tierschutzbestimmungen wurden 20 Sprague-Dawley-Ratten (22 bis 29 Tage, 47-103g) decerebriert und transaortal perfundiert (aCSF + Carbogen 5% CO₂ / 95% O₂, pH=7.3 ± 0.05), die Perfusionsflüssigkeit wurde rezirkuliert. An der linken Vorderpfote wurde der N. medianus freigelegt und mit einer bipolaren Elektrode stimuliert (5 - 10 V, 0.2ms, 0.1Hz über 200s). Als Reflex wurde die motorische Aktivität eines Astes des kontralateralen N. thoracodorsalis, als Maß für die Respiration die des N. phrenicus (PN) mit Saugelektroden abgeleitet.

Fentanyl wurde dem Perfusionsbad beigegeben (2 - 6nM, n=10) bis sich eine PN-depressive Wirkung einstellte. Anschliessend wurde 8-OH-DPAT zugegeben (0.1µM), dann der 5-HT_{1A}-Antagonist WAY 100 635 (1 - 3µM) und schliesslich Naloxon (1µM). In einer zweiten Messreihe wurden steigende Dosen von 8-OH-DPAT (1nM, 9nM, 90nM und 900nM) ohne Fentanyl kumulativ appliziert (n=10). Diese Experimente wurden mit der Gabe von WAY 100 635 (1 - 3µM) beendet. Als Maß für den CFR wurde die Amplitude des aus 20 Aufnahmen gemittelten Signals gewertet und jeweils als Differenz vom Ausgangswert in Prozent berechnet.

Ergebnisse

Alle Ergebnisse waren normalverteilt (Kolmogorov-Smirnov-Test), die statistischen Analysen erfolgten mit dem t-Test für verbundene Stich-

proben. Fentanyl reduzierte den CFR um 60.4 ± 6.57% (Mittelwert ± SEM, p<0.01, Abb. 1). Dies wurde weder durch 8-OH-DPAT (-61.1 ± 6.42%) noch durch WAY 100635 (-51.7 ± 7.89%) signifikant verändert. Durch Naloxon stieg der CFR wieder an (-28.6 ± 9.33%).

8-OH-DPAT (1nM) ohne Fentanyl steigerte den CFR um 20.1 ± 8.25% (p<0.05, Abb. 2). Eine Erhöhung der Konzentration verursachte aber eine Abschwächung des CFR. So war der CFR bei 10nM bei +12.0 ± 10.02%, bei 100nM +3.0 ± 10.79% und bei 1µM -9.0 ± 12.47%. WAY 100 635 führte wieder zu einer Verstärkung des CFR (+8.9 ± 16.13%).

Interpretation

In niedriger Konzentration kann 8-OH-DPAT den CFR erhöhen. Die widersprüchlichen Angaben in der Literatur zur analgetischen Wirkung von 5-HT_{1A}-Agonisten lassen sich sehr wahrscheinlich auf nicht vergleichbare Dosierungen zurückführen.

Die Aufhebung einer fentanylinduzierten Atemdepression geht offenbar nicht mit einer Aufhebung der antinozizeptiven Wirkung von Fentanyl einher.

Literatur

1. Clarke *et al.*: Enhancement and depression of spinal reflexes by 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin in the decerebrated and spinalized rabbit: involvement of 5-HT_{1A}- and non-5-HT_{1A}-receptors. *Brit J Pharmacol* 122 (1997) 631-638
2. Millan *et al.*: Attenuation of opioid induced antinociception by 5-HT_{1A} partial agonists in the rat. *Neuropharmacol* 29.3 (1990) 315-218
3. Günther *et al.*: Einfluß von 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten auf die opioidinduzierte Atemdepression am isoliert-perfundierten Hirnstamm. *Anästh. Intensivmed.* 42 (2001) 860.

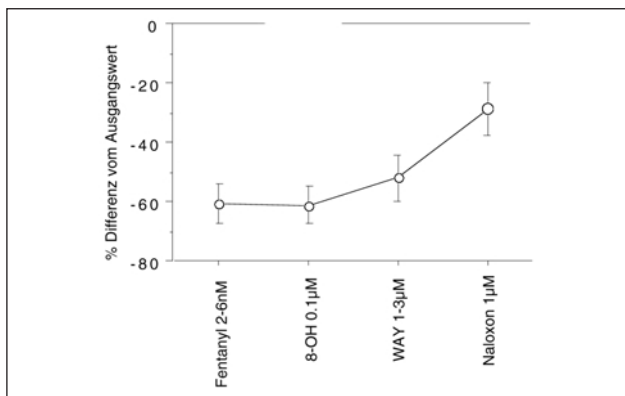


Abbildung 1: C-Faser-Reflex (CFR)

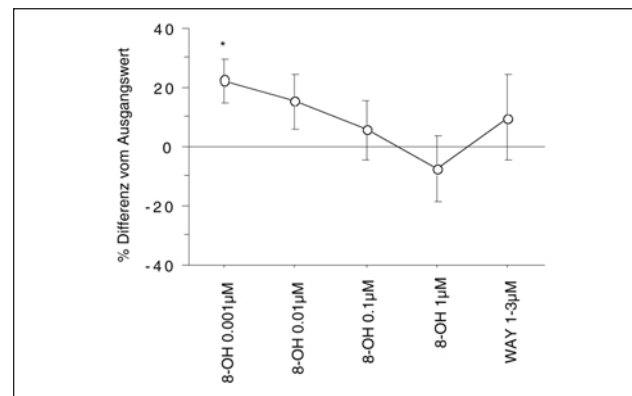


Abbildung 2: C-Faser-Reflex (CFR)

Lokalanästhetika hemmen die Stimulation von humanen rekombinant exprimierten NMDA-Rezeptor-Untereinheiten im *Xenopus-laevis*-Modell

K. Hahnenkamp, J. Nollet und C. Hönemann

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Münster

Fragestellung

Die Stimulation von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptoren wird für die Entstehung von Hyperalgesie, akuter Opioidtoleranz und für das "wind up"-Phänomen verantwortlich gemacht (1). Es zeigte sich, dass spinal applizierte oder auch niedrig dosiert systemisch verabreichte Lokalanästhetika (LA) die Entstehung einer Hyperalgesie verhindern können (2, 3). Möglicherweise inhibieren LA die Stimulation von NMDA Rezeptorkanälen. Dies bietet eine Erklärung für die positiven Effekte von LA auf den postoperativen Schmerz. Wir untersuchten am *Xenopus laevis*-Modell, ob Bupivacain die Stimulation durch physiologische Agonisten an rekombinant exprimierten humanen NMDA Untereinheiten inhibiert. Zusätzlich wurde untersucht, ob der Wirkort von LA am NMDA Rezeptor intrazellulär oder extrazellulär liegt.

Methodik

Humane NR1A/2A Untereinheiten des NMDA-Rezeptors wurden rekombinant in *Xenopus laevis*-Oozyten exprimiert. Nach einer Inkubation von 48h - 72h wurden die Zellen mit einer modifizierten Mg^{2+} and Ca^{2+} freien Tyrodes-Lösung (150 mM NaCl, 5 mM KCl, 1,8 mM BaCl₂, 10 mM Dextrose and 10 mM Hepes, pH = 7.4) in einem Wasserbad (0,5 ml) umspült (5 ml/min). Alle Messungen (2 Mikroelektroden Spannungsklemm-Technik) wurden bei einem Membranpotential von -70mV durchgeführt, die Bariumspitzenströme in μA wurden gemessen. 50 μl der EC₅₀ der physiologischen Agonisten (Glutamat 7.9 μM / Glycin 12 μM) wurden mit einer Pipette appliziert. Nach 10-minütiger Inkubation der Oozyten mit LA wurden die Agonisten nochmals appliziert. Getestet wurden 10^{-9} - 10^{-3} M Bupivacain; 500 μM des Lidocainanalogs QX314 (positiv geladen, kann die Zellmembran nicht passieren); 5 mM Benzocain (bei physiologischem pH ungeladen). Weiterhin wurde 500 μM QX314 (in 150 mM KCl) intrazellulär über eine dritte Elektrode injiziert.

Ergebnisse

Nicht injizierte Oozyten reagieren nicht auf Glutamat/Glycin Applikation. Mit NR1A/2A NMDA mRNA injizierte Oozyten antworten konzentrationsabhängig (EC₅₀ Glutamat 7.9 μM / Glycin 12 μM). Bupivacain inhibiert konzentrationsabhängig die Antworten auf die Agonistenstimulation ($p < 0.05$ für Bupivacain 10^{-3} M - 10^{-6} M, t-Test für verbundene Stichproben). Intrazellulär injiziertes QX314, gelöst in 150 mM KCl, inhibiert die Antwort auf 56% der Kontrolle, extrazelluläres QX314 zeigt keinen Effekt. Benzocain inhibiert die Antwort auf 33% der Kontrolle. Intrazellulär injiziertes KCl hat keinen Effekt.

Interpretation

Bupivacain inhibiert konzentrationsabhängig die Stimulation von humanen NMDA-Rezeptoren. Dieser Effekt kann möglicherweise die verminderte Hyperalgesie und Opioidtoleranz nach Lokalanästhetikaapplikation erklären (1, 2). Der Wirkort von LA am NMDA-Rezeptor liegt intrazellulär. Da Benzocain ungeladen ist (und damit die Membran frei passieren kann, ist keine Aussage über eine extra- oder intrazelluläre Wirkweise möglich. Jedoch nur das intrazellulär applizierte QX314 (geladen, nicht membrangängig), nicht aber das extrazelluläre QX314 hemmt die Rezeptorantwort. Weitere Studien zur exakten Bestimmung des Wirkortes von LA an NMDA sind notwendig.

Literatur

1. Célérier E, Laulin JP, Larcher A, LeMoal M, Simonnet G: Brain Res 847 (1999)18-25
2. Garry MG, Jackson DL, Geier HL, Southam M, Hargraeves KM: Pain 82 (1999)49-55 3. Koppert W, Ostermeier N, Sittl R, Weidner C, Schmelz M: Pain 85 (2000)217-224.

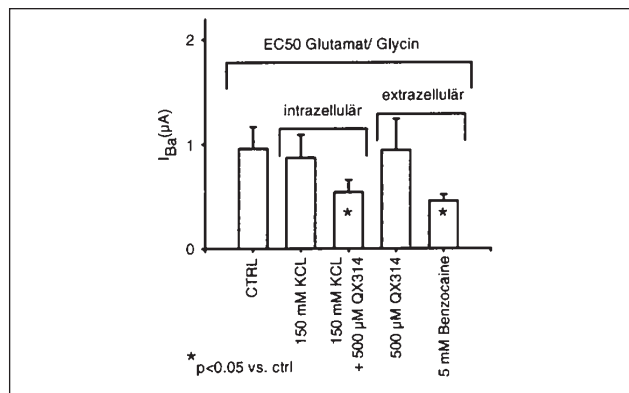


Abbildung 1

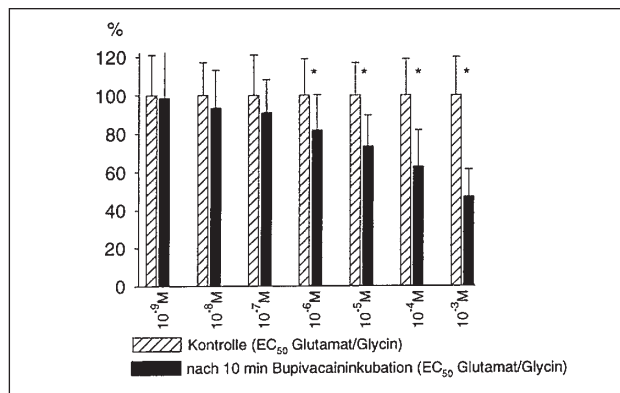


Abbildung 2: Bupivacain hemmt konzentrationsabhängig die NMDA Rezeptorantwort * = < 0.05.

Untersuchungen zur zeitabhängigen Inhibition der Signalübertragung G-Protein-gekoppelter Rezeptoren durch Lokalanästhetika in *Xenopus* Oozyten und humanen Neutrophilen

M.W. Hollmann^{1,2}, S. Herroeder¹, C.W. Hoenemann³, B.M. Graf¹, E. Martin¹ und M.E. Durieux²

Kliniken für Anästhesiologie der Universitäten Heidelberg¹, Münster² und Maastricht³

Fragestellung

Effekte von Lokalanästhetika (LA) (z.B. deren anti-thrombotische oder anti-inflammatorische Wirkung) sind nicht vollständig über eine

Blockade von Na⁺-Kanälen zu erklären. Ein alternativer Wirkort für LA ist die Signalübertragung G-Protein-gekoppelter Rezeptoren (GPCRs). Wohingegen in vitro protektive Effekte von LA lediglich in Konzentra-

Abstracts

tionen deutlich höher als im Plasma oder nur nach prolongierter Exposition zum LA beschrieben wurden, zeigten in vivo Untersuchungen (bei kontinuierlicher Applikation) positive Effekte bereits in klinisch relevanten Konzentrationen der LA (1-10 μM) (1). Unsere Hypothese war, daß die Signalübertragung GPCRs zeitabhängig durch LA inhibiert wird.

Methodik

Die Untersuchungen wurden nach Zustimmung der zuständigen Tierschutz-/Ethikkommission in *Xenopus* Oozyten und humanen Neutrophilen (hPMNs) durchgeführt. Zur Bestimmung der Aktivität von GPCRs in *Xenopus*-Oozyten wurden Agonist (LPA, TXA_2)-induzierte (mit zuvor bestimmter EC_{50}) Ca^{++} -abhängige Chlorid-Einwärtsströme ($\text{I}_{\text{Cl}(\text{Ca})}$) zu verschiedenen Zeitpunkten (10min bis 48h) mit Hilfe der 2-Elektroden Voltage Clamp-Technik gemessen. Die Cytochrome C Reduktionsmethode (2) wurde zur Bestimmung der Aktivität der Signalübertragung GPCRs in "geprimten" und aktivierten hPMNs herangezogen. Durch spezifische Degradierung mittels Injektion einer DNA-Antisense (Anti- $\text{G}\alpha_q$) (3) und über den Einsatz von Inhibitoren verschiedener Proteine aus dem Signalübertragungsweg des jeweiligen Rezeptors versuchten wir den Wirkort und-mechanismus der zeitabhängigen Inhibition durch LA weiter einzugrenzen. Daten sind als MW \pm SD angegeben. Statistik: Ein-Weg ANOVA mit Dunnett-Korrektur. $P < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

Ergebnisse

Sowohl in Oozyten als auch in hPMNs wurde die Signalübertragung GPCRs zeitabhängig und reversibel (nach 36h vollständige Reversibilität) durch unterschiedliche LA gehemmt. Nach 48-stündiger Inkubation hemmte 1/10 der IC_{50} von Bupivacain die LPA-Signalübertragung in Oozyten komplett und Lidocain auf $19 \pm 3\%$ der Kontrollantwort. LPA- oder Plättchenaktivierungsfaktor (PAF)-induziertes "Priming" in hPMNs wurde beispielsweise nach 6-stündiger Inkubation in 100 nM Bupivacain (1/10 der IC_{50}) auf $40 \pm 1\%$ respektive $47 \pm 1\%$ der Kontrollantwort reduziert. Zur Bestimmung des Wirkortes injizierten wir QX314, ein permanent geladenes Lidocain-Analog, in Oozyten und fanden einen ähnlichen zeitabhängigen Effekt

wie zuvor für die anderen LA bestimmt (Abb.). Extrazelluläre Applikation dieser Substanz oder intrazelluläre Injektion in Abwesenheit des G_q -Protein (Abb.) zeigte dagegen zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Inhibition. Dies macht das G_q -Protein als Wirkort sehr wahrscheinlich. Bei der Untersuchung des Wirkmechanismus fanden wir, daß eine Blockade der Proteinkinase C (PKC)- oder Phosphatase-Aktivität keinen Einfluß auf die zeitabhängige Inhibition der LA hat. Auch $\text{GTP}\gamma\text{S}$ oder AIF-induzierte $\text{I}_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ in Oozyten zeigten eine zeitabhängige Inhibition durch Bupivacain, was eine Interaktion mit dem GDP-GTP Austausch als Erklärung für den zeitabhängigen Effekt der LA unwahrscheinlich macht.

Interpretation

Die Ergebnisse zeigen, daß sowohl in *Xenopus* Oozyten als auch in hPMNs die Signalübertragung GPCRs reversibel und zeitabhängig durch LA inhibiert wird. Dieser Effekt erfordert die Abwesenheit des G_q Proteins und resultiert nicht aus einer Interaktion mit dem GDP-GTP Austausch. Darüber hinaus konnten wir zeigen, daß weder PKC noch Phosphatase-Aktivität für diesen LA Effekt erforderlich sind. Klinische Effekte, die auf einer G_q Protein-vermittelten Signaltransduktion basieren (z.B. Priming von hPMNs), könnten somit effektiver durch eine kontinuierliche Applikation von LA gehemmt werden.

Literatur

- Hollmann MW, Durieux ME: (2000) Local anesthetics and the inflammatory response: a new therapeutic indication? *Anesthesiology* 93 858-875;
- Hollmann MW, Gross A, Jelacin N, Durieux ME: (2001) Local anesthetic effects on priming and activation of human neutrophils. *Anesthesiology* 95: 113-22;
- Hollmann MW, Berger A, Wiczorek K, Durieux ME: (2001) Local anesthetic inhibition of lysophosphatidate signaling is mediated by interference with G_q protein function. *Mol Pharmacol* 59 294-301.

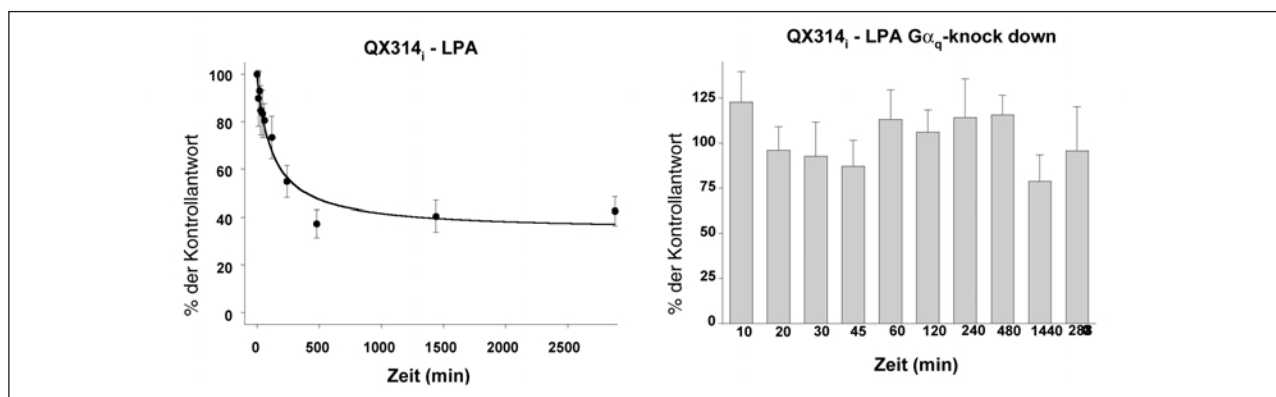


Abbildung: Die Abbildung zeigt die zeitabhängige Inhibition der LPA-Signalübertragung durch intrazellulär injiziertes QX314 (42 μM , 1/10 der IC_{50}) links in An-, rechts in Abwesenheit des G_q Proteins.

Bupivacain und L-Bupivacain unterdrücken humane TREK-1-Kanäle

M. A. Punke^{1,2}, T. Licher², O. Pongs² und P. Friederich^{1,2}

¹ Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

² Zentrum für Molekulare Neurobiologie, Universität Hamburg

Fragestellung

TREK-1-Kanäle gehören zu einer kürzlich entdeckten Familie von Kalium-Kanälen, die durch vier transmembranäre Segmente und zwei Porendomänen charakterisiert sind. Diese nicht spannungskontrollierten Kanäle sind für die Regulierung des Membranpotentials von neuro-

nalen Zellen wesentlich (1). Ihre pharmakologische Beeinflussung durch Lokalanästhetika könnte sowohl für Wirkungen als auch Nebenwirkungen dieser Medikamente wichtig sein. Die Studie hatte deshalb folgendes Ziel: Klionierte humane TREK-1-Kanäle sollten funktionell exprimiert werden, um erstmals die Wirkung von Bupivacain und L-Bupivacain auf diese Kanäle in Säugtierzellen zu untersuchen.

Methodik

Der gesamte offene Leserahmen des humanen KCNK2-Gens (GenBank Acc.No.AF004711) wurde in den pcDNA-6-Transfektionsvektor kloniert. Die Transfektion dieses Konstruktes erfolgte in CHO K1-Zellen. Die Effekte der Lokalanästhetika wurden mittels Patch-Clamp-Messungen im Whole-Cell und im Current-Clamp-Modus in Lösungen mit physiologischen Elektrolyten untersucht (Kalium intrazellulär: 160 mM; extrazellulär: 5 μ M). Als Pulsprotokoll wurde ein Rampenprotokoll verwendet (Haltepotential von -80 mV, Depolarisation innerhalb 1s von -80 mV auf +60 mV, Serienwiderstandskompensation bei 80 %). Die Anästhetika wurden über ein hydrostatisches Perfusionssystem auf die Zellen gegeben. Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardabweichung; n steht für die Anzahl der Experimente, statistischer Vergleich mit Student t-Test.

Ergebnisse

Humane TREK-1 Kanäle exprimierten funktionell in CHO-K1-Zellen. Das Membranpotential der Zellen wurde durch TREK-1 Kanäle von -33 ± 13 mV (n=5) auf -78 ± 4 mV (n=8) hyperpolarisiert und ist abhängig von der extrazellulären Kaliumkonzentration (n=40). Die mittlere Stromdichte betrug bei 0 mV 63 ± 36 pA/pF (n=5). Bupivacain unterdrückte konzentrationsabhängig und reversibel TREK-1 Kanäle (Abb.). Die Kanalinhibition wurde als Integral der Stromkurve zwischen -80 mV und 0 mV als Ladungsreduktion quantifiziert. Die Daten der konzentrationsabhängigen Reduktion durch Bupivacain wurden mathematisch mittels Hill-Funktion beschrieben (Abb.). Der IC_{50} -Wert war 370 μ M und der Hill-Koeffizient betrug 1,8 (n=51). Der Vergleich der Inhibition von Bupivacain und L-Bupivacain bei einer Konzentration von 300 μ M ergab keinen Hinweis auf eine stereospezifische Interaktion (39 ± 8 %, n=10; versus 44 ± 13 %, n=13; $p > 0,05$). Die Inhibition der TREK-1 Kanäle durch Bupivacain bewirkte eine konzentrationsabhängige und reversible Depolarisation der

Zellen. Die konzentrationsabhängige Depolarisation konnte ebenfalls mittels Hill-Funktion beschrieben werden. Der IC_{50} -Wert war 890 μ M und der Hill-Koeffizient betrug 2,3 (n=22).

Interpretation

Bupivacain unterdrückte konzentrationsabhängig und reversibel TREK-1-Kanäle, die in CHO K-1 Zellen stabil exprimiert wurden. Die Unterdrückung dieser Kanäle durch Bupivacain führte zu einer Depolarisation des Membranpotentials dieser Zellen. Der Unterschied in den IC_{50} -Werten von Ladungsreduktion und Membrandepolarisation deutet auf eine spannungsabhängige Inhibition von TREK-1-Kanälen hin. Bupivacain und L-Bupivacain sind im klinischen Gebrauch äquivalent in ihrer analgetischen Potenz (2), sollen sich jedoch auf Grund ihrer Chiralität deutlich in ihrem Nebenwirkungsprofil unterscheiden (3). Der fehlende Unterschied zwischen Racemat und S(-)Enantiomer auf die Inhibition von TREK-1-Kanälen läßt darauf schließen, daß diese Kanäle ein möglicher neuronaler Wirkort von Bupivacain sind. Auf Grund ihrer physiologischen Bedeutung sollte die Inhibition von TREK-1-Kanälen zur Leitungsblockade in peripheren Nerven beitragen.

Literatur

1. Patel AJ, Honore E: Properties and modulation of mammalian 2P domain K⁺ channels. Trends Neurosci 24 (2001) 339-346
2. Cox CR, Faccenda KA, Gilhooly C, Bannister J, Scott NB, Morrison LM: Extradural S(-)-bupivacaine: comparison with racemic RS-bupivacaine. Br J Anaesth 80 (1998) 289-293
3. Huang YF, Pryor ME, Mather LE, Veering BT: Cardiovascular and central nervous system effects of intravenous levobupivacaine and bupivacaine in sheep. Anesth Analg 86 (1998) 797-804.

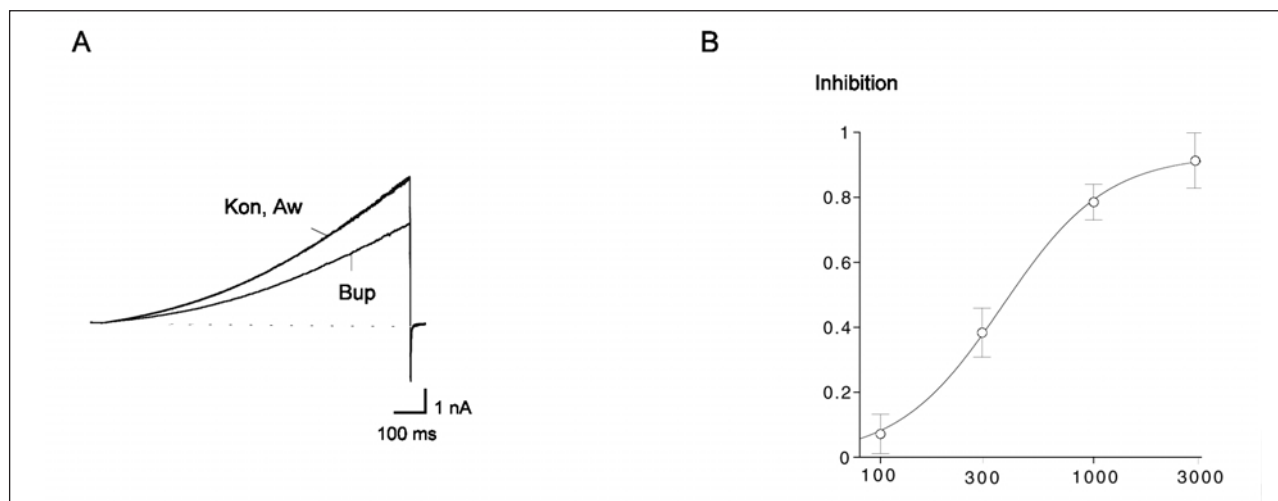


Abbildung: A zeigt die Originalstromspuren der TREK-1-Inhibition durch 300 μ M Bupivacain (Bup) mit Kontrolle (Kon) und Auswaschung (Aw) der Testsubstanz; B zeigt die Konzentrations-Wirkungskurve der TREK-1 Inhibition durch Bupivacain.

Akute Hyperglykämie und alloxaninduzierter Diabetes mellitus blockieren die Myokardprotektion nach später ischämischer Präkonditionierung beim Kaninchen

D. Ebel¹, J. Müllenheim², B. Preckel², V. Thämer¹ und W. Schlack²

¹ Institut für Physiologie I und

² Klinik für Anästhesiologie

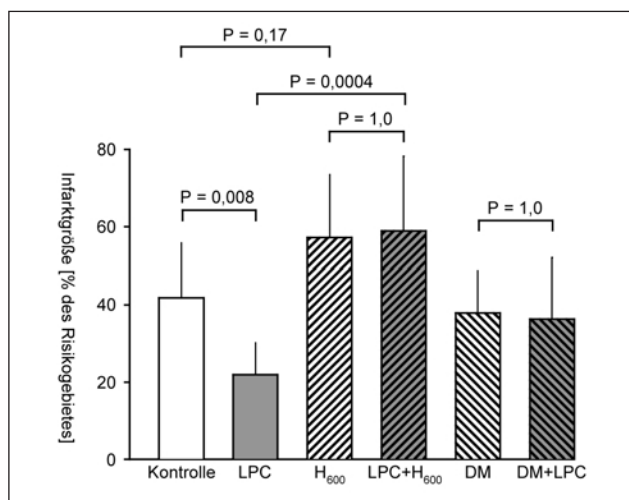
Universitätsklinikum Düsseldorf

Fragestellung

Eine Hyperglykämie geht bei diabetischen und nicht-diabetischen Myokardinfarktpatienten mit einer erhöhten Letalität einher (1).

Hyperglykämie und Diabetes mellitus können den ATP-sensitiven Kaliumkanal am Myokard blockieren (2) und die Myokardprotektion durch frühe ischämische Präkonditionierung verhindern (3). Da der

Abstracts



Abbildung

ATP-sensitive Kaliumkanal auch bei der endogenen Myokardprotektion durch die späte ischämische Präkonditionierung (LPC) eine wichtige Rolle spielt (4), haben wir den Einfluß einer akuten Hyperglykämie bei nicht-diabetischen Kaninchen und bei Kaninchen mit Diabetes mellitus (DM) auf die Myokardprotektion durch LPC untersucht.

Methodik

Nach Genehmigung der Studie durch die Aufsichtsbehörde wurde 38 Kaninchen ein Koronarokkluder (Umstechung eines Astes der linken Koronararterie) chronisch implantiert. Alle Tiere wurden in Narkose 30 min Ischämie gefolgt von 120 min Reperfusion unterzogen. Die Größe des resultierenden Infarktes wurde mittels TTC-Färbung bestimmt. Kontrolltiere (n=10) blieben darüber hinaus unbehandelt. Neun Tiere wurden durch eine 5-minütige Koronarokklusion 24 h vor der 30-min Ischämie ischämisch präkonditioniert (LPC). In zwei weiteren Gruppen infundierten wir Glukose 50% über den Zeitraum 30 min vor der infarkt auslösenden Ischämie bis Beginn der Reperfusion. Dadurch induzierten wir eine Hyperglykämie mit einem Blutzucker von ca. 600 mg dl⁻¹ (H₆₀₀, n=10; LPC+H₆₀₀, n=9). Die LPC+H₆₀₀-Gruppe wurde zusätzlich wie oben beschrieben zuvor ischämisch präkonditioniert.

Im zweiten Teil der Studie induzierten wir bei 17 Kaninchen durch die Gabe von 50-100 mg kg⁻¹ Alloxan i.v. einen diabetische Stoffwechsellage. Sechs Wochen später wurde diesen Tieren, wie oben beschrieben, ein Koronararterienokkluder implantiert. Auch diese Tiere wurden 30 min infarktinduzierender Ischämie gefolgt von 120 min Reperfusion unterzogen. Eine Gruppe wurde 24 h vorher ischämisch präkonditioniert (DM + LPC, n=8), die zweite blieb unbehandelt (DM, n=9). Statistik: Student's t-test mit Bonferroni-Korrektur.

Ergebnisse

Die Blutglukosekonzentration betrug vor und während der infarktinduzierenden Ischämie in der Kontroll- und der LPC-Gruppe 201 ± 75 bzw. 182 ± 32 mg dl⁻¹ (MW±SD), in der H₆₀₀- und der H₆₀₀+LPC-Gruppe 647 ± 126 bzw. 633 ± 69 mg dl⁻¹ und in der DM- und der DM+LPC-Gruppe 446 ± 74 bzw. 511 ± 61 mg dl⁻¹. LPC reduzierte die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrolle um 48 % (siehe Abbildung). Im Gegensatz dazu führte LPC weder bei den hyperglykämischen noch bei den diabetischen Tieren zu einer Infarktgrößenreduktion.

Interpretation

Sowohl eine akute Hyperglykämie von 600 mg dl⁻¹ vor und während einer Myokardischämie als auch ein DM blockieren beim Kaninchen die durch LPC induzierte Myokardprotektion. Eine solche Blockade der endogenen Myokardprotektion nach LPC könnte die schlechte Prognose von Infarktpatienten mit erhöhten Blutzuckerwerten erklären.

Literatur

1. Jalesoff N E, Feinglos M, Granger C B, Califf R M: Outcomes of diabetic patients following acute myocardial infarction: a review of the major thrombolytic trials. *Coron Artery Dis* 7 (1996) 732-743
2. Kersten J R, Montgomery M W, Ghassemi T, Gross E R, Toller W G, Pagel P S, Warltier D C: Diabetes and hyperglycemia impair activation of mitochondrial KATP channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280 (2001) H1744-H1750
3. Kersten J R, Toller W G, Gross E R, Pagel P S, Warltier D C: Diabetes abolishes ischemic preconditioning: role of glucose, insulin, and osmolality. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278 (2000) H1218-H1224
4. Müllenheim J, Schlack W, Fräßdorf J, Preckel B, Thämer V: Additive protective effects of late and early ischaemic preconditioning are mediated by opening of KATP channels in vivo. *Eur J Physiol Pflügers Arch* 442 (2001) 178-187.

Werden sympathische Baroreflexe während spontaner Blutdruckschwankungen und nitroprussidinduzierter arterieller Hypotension vergleichbar reguliert?*

P. Kienbaum und J. Peters

Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Essen

Fragestellung

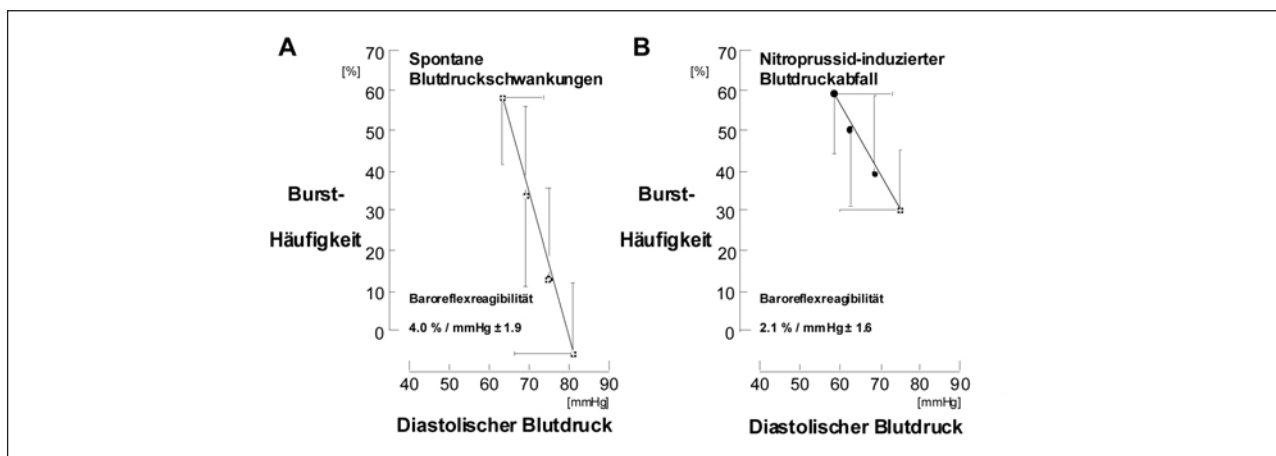
Die sympathische Baroreflexreagibilität wird konventionell als Abhängigkeit zwischen diastolischem Blutdruck (P_{DIA}) und efferenter Muskelsympathikusaktivität (MSA) während induzierter Hypotension charakterisiert (1). Dabei werden vasoaktive Pharmaka (z.B. Natrium-Nitroprussid, NPN) angewendet, die einerseits den arteriellen Blutdruck aus dem physiologischem Gleichgewicht bringen, andererseits aber als Kotransmitter sowohl zentral als auch peripher direkten Einfluß auf die sympathische Signalverarbeitung nehmen mögen (2). Eine auf spontane Blutdruckschwankungen beschränkte Evaluation der sympathischen Baroreflexreagibilität könnte dieses Methodenproblem ausschließen (3). Wir testeten die These, daß die während spontaner Blutdruckschwankungen bestimmte Baroreflexreagibilität mit der unter Hypotension bestimmten vergleichbar ist.

Methodik

Nach Votum der Ethikkommission wurde bei 15 gesunden Probanden

(Alter 29 ± 5 Jahre) die MSA im N. peroneus mikroneurographisch abgeleitet und der arterielle Blutdruck kontinuierlich volumenplethysmographisch gemessen. In Ruhe wurden über 5 Minuten während spontaner Blutdruckschwankungen alle P_{DIA}-Werte in Intervallen von 1 mmHg gruppiert und die Bursthäufigkeit für jedes Intervall bestimmt. Die Steigung der individuellen Regressionsgeraden der Korrelation zwischen Bursthäufigkeit und mittlerem P_{DIA} pro Blutdruckklasse ist dabei ein Maß für die sympathische Baroreflexreagibilität (3). Danach wurden vor und unter Hypotension (NPN, 2 - 3 µg kg⁻¹ i.v.) das Verhältnis von Bursthäufigkeit (Anzahl der MSA-Bursts pro 100 Herzzyklen) zu PDIA gebildet (1) und die Ergebnisse beider Methoden

* Der Erstautor ist zusammen mit Herrn A.M. Brambrink, Mainz, Gewinner des Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung.



Abbildung

verglichen. Statistik: Mittelwerte \pm s, lineare Regression, Fisher-Test, t-Test, $p < 0.05$.

Ergebnisse

Die MSA Bursthäufigkeit betrug in Ruhe 28 ± 10 Bursts/100 Herzzyklen bei einem PDIA von 71 ± 11 mmHg. Die Baroreflexreagibilität während spontaner Blutdruckschwankungen betrug 4.0 ± 1.9 % pro mmHg Abnahme des PDIA (Abb. A). Während NPN-induziertem Blutdruckabfall war die Baroreflexreagibilität mit 2.1 ± 1.6 % pro mmHg Abnahme des PDIA signifikant ($p < 0.001$) geringer (Abb. B). Darüber hinaus korrelierten die während spontaner Blutdruckschwankungen ermittelten Werte für die Baroreflexreagibilität nicht ($r = 0.1$, $p = 0.8$) mit denen während arterieller Hypotension.

Interpretation

Die während spontaner Blutdruckschwankungen ermittelte Baroreflexreagibilität zeigt im Mittel eine größere Empfindlichkeit als bei NPN-induzierter Hypotension. Es kann somit nicht von der Reagibilität unter

Ruhebedingungen auf die bei induziertem Blutdruckabfall geschlossen werden. Möglicherweise zeigen die sympathischen Baroreflexe unter Ruhebedingungen und induzierter Hypotension unterschiedliche Charakteristika. Dazu mögen atembedingte Änderungen der kardialen Füllung ebenso beitragen wie Effekte des von Nitroprussid freigesetzten Stickstoffmonoxids (2).

Literatur

1. Kienbaum P, Heuter Th, Michel MC, et al.: Racemic ketamine decreases muscle sympathetic activity but maintains the neural response to hypotensive challenges in humans. *Anesthesiology* 92 (2000) 94-101
2. Zanzinger J: Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular function. *Cardiovasc Res* 43 (1999) 639-649
3. Kienbaum P, Karlsson T, Sverrisdottir YB, et al.: Two sites for modulation of human sympathetic activity by arterial baroreceptors? *J Physiol* 531 (2001) 861-869.

Bedeutung des LPS-Rezeptors CD14 für die Entstehung einer myokardialen Entzündungsreaktion und linksventrikulären Dysfunktion bei gram-negativer Sepsis

P. Knuefermann^{1,3}, S. Nemoto¹, S. M. Goyert², D. L. Mann¹, A. Hoeff³ und J. G. Vallejo¹

¹ Departments of Medicine and Pediatrics, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA

² North Shore University Hospital, Manhasset, NY, USA

³ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Spez. Intensivmedizin, Universität Bonn

Fragestellung

Die akute septische Kardiomyopathie stellt eine schwerwiegende Komplikation der gram-negativen Sepsis dar. Proinflammatorische Mediatoren (TNF- α , IL-1 β) spielen eine wichtige Rolle für die Pathogenese einer LPS-induzierten linksventrikulären (LV) Pumpfunktionsstörung (1). Die molekularen Signaltransduktionswege, die zur Produktion von TNF- α und IL-1 β im Herzen bei einer gram-negativen Sepsis führen, sind dagegen nur unzureichend untersucht. Eine wichtige Komponente des LPS-Rezeptor-Komplexes ist CD14, das inzwischen im Herzen nachgewiesen werden konnte. (2). Ziel dieser Studie war es, die Bedeutung von kardialen CD14 für die Zytokinantwort und die linksventrikuläre Dysfunktion bei einer gram-negativen Sepsis zu untersuchen.

Methodik

Wildtyp (WT) und CD14-defizienten (CD14-D) Mäusen wurde intra-peritoneal LPS (25mg/Kg E. coli 0111:B4) injiziert. Sämtliche Untersuchungen wurden durch die Tierversuchskommission des Baylor College of Medicine, Houston, Texas genehmigt. Die myokardiale TNF- α und IL-1 β Genexpression und Proteinkonzentration wurde mittels RNase Protection Assay bzw. ELISA bestimmt. Die NF κ B-

Aktivierung im Herzen wurde mit Hilfe eines Bandenshiftassays (EMSA) untersucht. Kardiales cGMP wurde mittels eines Radioimmunoassays bestimmt. Weiterhin wurde die Expression von CD14 und TLR4 im Herzen mittels Western-Blot-Analyse untersucht. Die LV-Pumpfunktion wurde vor und 6h nach LPS-Gabe mittels 2D-Echokardiographie bestimmt wie anderswo beschrieben (3). Sämtliche Ergebnisse sind als MW \pm SEM angegeben.

Ergebnisse

Bei WT-Mäusen führte die Gabe von LPS innerhalb von 0,5h zu einem deutlichen Anstieg der myokardialen mRNA-Expression von TNF- α und IL-1 β ($n = 3$). Im Gegensatz dazu setzte die Zytokinantwort in den CD14-D-Mäusen verzögert ein und war signifikant vermindert ($n = 3$; Zwei-Weg ANOVA). Die TNF- α Expression war 1h nach LPS in den WT-Mäusen acht mal größer als in den CD14-D-Mäusen (Tab. 1). Die TNF- α -Proteinspiegel waren in den WT-Mäusen größer (31,1 pg/mg vs. 3,85 pg/mg) und früher nachweisbar (1h vs. 2h) als in den CD14-D-Mäusen ($n = 3$; Zwei-Weg ANOVA). Der EMSA zeigte einen deutlichen Anstieg der NF κ B-Aktivität im Herzen 0,5h nach LPS-Gabe in den WT-Mäusen, nicht aber in CD14-D-Mäusen. Mittels Western-Blot-Analyse wurde die Expression von TLR4 und CD14 im Herzen von

Abstracts

Tabelle 1: TNF- α -mRNA-Expression (relative Einheiten (TNF- α / L32)); MW \pm SEM

	vor LPS	LPS 0,5h	LPS 1h	LPS 2h	LPS 4h	LPS 12h
WT	0,0074 \pm 0,002	0,2282 \pm 0,0491	0,2054 \pm 0,0690	0,0775 \pm 0,0109	0,0392 \pm 0,0059	0,0068 \pm 0,0006
CD14-D	0,0016 \pm 0,0006	0,0008 \pm 0,0001	0,0031 \pm 0,0007	0,0689 \pm 0,0095	0,0554 \pm 0,0084	0,0317 \pm 0,0088

Tabelle 2: Verkürzungsfraktion (%) vor und nach LPS-Gabe (MW \pm SEM)

	vor LPS-Gabe	6h nach LPS-Gabe
Wildtyp-Mäuse	31,6 \pm 1,2%	14,7 \pm 0,7%
CD14-defiziente Mäuse	31,3 \pm 2,7%	28,3 \pm 2%

WT-Mäusen nachgewiesen; CD14 Protein war dagegen im Herzen von CD14-D-Mäusen nicht vorhanden. In den WT-Mäusen waren die kardialen cGMP Spiegel nach LPS-Gabe (6h) 5fach höher als vor LPS-Gabe (n=5). 6 Stunden nach LPS-Gabe wurde bei WT-Mäusen im Gegensatz zu CD14-D-Mäusen eine signifikante Verschlechterung der kardialen Pumpfunktion beobachtet. WT-Mäuse hatten einen deutlich größeren end-systolischen Durchmesser als CD14-D-Mäuse (3,02 \pm 0,05mm vs. 2,48 \pm 0,2mm; p<0,05). CD14-D-Mäuse zeigten eine deutlich größere Verkürzungsfraktion als WT-Mäuse (n=5; 28,3 \pm 2% vs. 14,7 \pm 0,7%; p<0,05) nach LPS-Gabe (6h) (n=5; ungepaarter t-Test) (Tab. 2).

Interpretation

Diese Studie zeigt, daß die kardiale Expression von CD14 wichtig für die Induktion der proinflammatorischen Antwort und für die Entwicklung einer LV-Dysfunktion bei einer gram-negativen Sepsis ist. Daher ist denkbar, daß CD14 ein potentielles Zielprotein für die Therapie der septischen Kardiomyopathie darstellt.

Literatur

1. Kumar A, Thota V, Dee L, Olson J, Uretz E, Parrillo JE: Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum. *J Exp Med* 1996; 183:949-958
2. Cowan DB, Poutias DN, Del Nido PJ, McGowan FX: CD14-independent activation of cardiomyocyte signal transduction by bacterial endotoxin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279:H619-29
3. Scherrer-Crosbie M, Steudel W, Ullrich R, Hunziker PR, Liel-Cohen N, Newell J, Zaroff J, Zapol WM, Picard MH: Echocardiographic determination of risk area size in a murine model of myocardial ischemia. *Am J Physiol* 1999; 277:H986-92.

Isofluran präkonditioniert das Myokard von Kaninchen durch Radikalfreisetzung

J. Müllenheim¹, D. Ebel², J. Fräßdorf¹, B. Preckel¹ und W. Schlack¹

¹ Klinik für Anästhesiologie und
² Institut für Herz- und Kreislaufphysiologie
 Universitätsklinikum Düsseldorf

Fragestellung

Kurze Ischämie-Episoden (Angina pectoris) schützen das Herz gegen die Folgen einer sich anschließenden längeren Myokardischämie (ischämische Präkonditionierung). Bei dieser Form der Präkonditionierung ist die Freisetzung von freien Radikalen ein entscheidender Schritt in der Signaltransduktionskette (1).

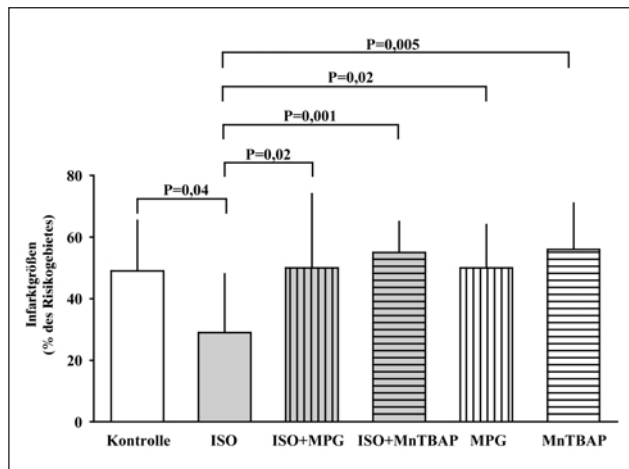


Abbildung: Infarktgrößen in Prozent des Risikogebietes; ISO=Isofluran; MPG=(N-(2-mercaptopropionyl) glycin; MnTBAP=Mn(III)tetrakis(4-Benzolsäure) porphyrinchlorid.

Die kurzzeitige Inhalation von Isofluran vor einer Ischämie bewirkt ebenfalls eine deutliche Kardioprotektion (2). Wir untersuchten nun die Rolle der freien Radikale unter den speziellen Bedingungen der Anästhetika-induzierten Präkonditionierung.

Methodik

Mit Genehmigung der örtlichen Behörde wurden 61 Kaninchen mit α -Chloralose anästhesiert, thorakotomiert und zur Messung von linksventrikulärem Druck (LVD, Katheterspitzenmanometer) und Herzzeitvolumen (HZV, Ultraschallflußmeßkopf) instrumentiert. Alle Tiere wurden einer 30 minütigen Okklusion eines Hauptastes der linken Koronararterie (pO₂>400mmHg, Temperatur 38,5°C, BZ 250 mg/dl), gefolgt von 120 min Reperfusion unterzogen. Tiere der Isoflurangruppe (ISO, n=12) wurden zuvor durch eine 15 minütigen inhalative Gabe von Isofluran (1 MAC endtidal), gefolgt von einer 10 minütigen Auswaschphase präkonditioniert. Die Tiere von zwei weiteren Gruppen wurden ebenfalls mit Isofluran präkonditioniert, erhielten aber zudem für 10 min vor, während und für 10 min nach der Isoflurangabe jeweils einen von zwei strukturell unterschiedlichen Radikalfängern [N-(2-mercaptopropionyl)glycin (MPG, 1 mg/kg/min), ISO+MPG, n=11; Mn(III)tetrakis(4-Benzolsäure)porphyrinchlorid (MnTBAP, 100 μ g/kg/min), ISO+MnTBAP, n=9]. Die Tiere der MPG- (n=11) und MnTBAP-Gruppe (n=7) erhielten den Radikalfänger ohne Isofluranpräkonditionierung. Die Kontrollgruppe (KON, n=11) wurde nicht vorbehandelt. Nach Versuchsende wurde die Infarktgröße (Triphenyltetrazoliumchloridfärbung) bestimmt.

Statistik

Varianzanalyse mit Dunnett's post hoc Test, Mittelwert \pm SD.

Ergebnisse

Die hämodynamischen Variablen waren unter Ausgangsbedingungen [Herzfrequenz (HF): 259 ± 33 Schläge/min, LVD: 97 ± 17 mmHg, HZV: 228 ± 61 ml/min], während der 30 minütigen Ischämie und auch nach 120 min Reperfusion (HF: $93 \pm 10\%$ des Ausgangswertes, LVD: $83 \pm 20\%$, HZV: $86 \pm 23\%$) in allen Gruppen gleich. Die Präkonditionierung durch Isofluran senkte die Infarktgröße von $49 \pm 17\%$ (KON) auf $29 \pm 19\%$ des Risikogebietes ($P=0,04$) (siehe Abbildung). MPG und MnTBAP selbst veränderten die Infarktgröße nicht (MPG: $50 \pm 14\%$; MnTBAP: $56 \pm 15\%$), blockierten aber jeweils die durch die Isoflurangabe induzierte Kardioprotektion (ISO+MPG: $50 \pm 24\%$, $P=0,02$ vs. ISO; ISO+MnTBAP: $55 \pm 10\%$, $P=0,001$ vs. ISO).

Interpretation

Wir konnten zeigen, daß der Präkonditionierungseffekt durch Isofluran ausblieb, wenn zugleich Radikalfänger appliziert wurden. Demnach ist

die Radikalfreisetzung wahrscheinlich ein entscheidender Schritt in der Signaltransduktionskette der Präkonditionierung durch Isofluran.

Literatur

1. Pain T, Yang XM, Critz SD, Yue Y, Nakano A, Liu GS, Heusch G, Cohen MV, Downey JM: Opening of mitochondrial KATP channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circ Res* 87 (2000) 460-466
2. Kersten JR, Schmeling TJ, Hettrick DA, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Mechanism of myocardial protection by isoflurane. *Anesthesiology* 85 (1996) 794-807.

Einladung

zur Beteiligung an den 17. Wissenschaftlichen Arbeitstagen der DGAI

Die nächsten Wissenschaftlichen Arbeitstage der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (DGAI) werden vom 14. - 15.02.2003 in Würzburg, Festung Marienberg, Hofstuben, veranstaltet.

Nach Maßgabe der Statuten* der Wissenschaftlichen Arbeitstage werden hiermit Interessenten, die Mitglieder der DGAI sind, eingeladen, ihre Teilnahme durch elektronische Einsendung eines Abstracts an die u. a. Anschrift anzumelden. Die angenommenen Arbeiten nehmen an dem Auswahlverfahren für das Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung teil.

Einsendeschluß: 07.01.2003

Nähere Informationen: <http://www.anaesthesie.uni-wuerzburg.de/wat>
E-Mail: wat@mail.uni-wuerzburg.de

Anschrift:

Klinik für Anaesthesiologie der Universität Würzburg (Sekretariat Frau A. Schubert),
Direktor: Prof. Dr. N. Roewer, Josef-Schneider-Straße 2, D-97080 Würzburg,
Tel.: 0931 / 20130121, Fax: 0931 / 20130444.

* siehe: *Anästh Intensivmed* 2001, 42: 805-807

Personalia

Prof. Dr. Dr. h.c. *Gunter Hempelmann*, Direktor der Abteilung Anaesthesiologie, Intensivmedizin, Schmerztherapie, Universitätsklinikum Gießen, wurde am 03.10.2002 in Varna im Rahmen der Jahrestagung der Bulgarischen Gesellschaft für Anästhesiologie zum Ehrenmitglied ernannt.

Im Rahmen des Deutschen Schmerzkongresses 2002 (25. - 29.09.2002) in Aachen erhielt Dr. rer. biol. hum. *Michael Pfingsten*, Zentrum Anästhesiologie, Universität Göttingen, in der Kategorie Klinische Forschung den 1. Preis mit dem Thema "Angstmotiviertes Vermeidungsverhalten als Chronifizierungsfaktor bei Rückenschmerzen".