

ABSTRACTS

Abstracts der 17. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI

Die Vorträge, deren Abstracts nachfolgend publiziert werden, wurden nach einem vorhergehenden gewichteten Auswahlverfahren auf den Wissenschaftlichen Arbeitstagen der DGAI vom **14. - 15.02.2003** in Würzburg gehalten, anschließend diskutiert und die dazugehörigen Abstracts im Plenum der Arbeitstage hinsichtlich ihrer Publikationswürdigkeit abgestimmt. Sie erfüllen damit die Kriterien einer begutachteten Publikation als Abstract.

Rolle der Opiatrezeptoren bei der Morphin- und Lipopolysaccharid-induzierten späten Myokardprotektion

J. Fräßdorf, D. Obal, B. Preckel, J. Müllenheim und W. Schlack

Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Fragestellung

Ischämische Präkonditionierung ist ein endogener Protektionsmechanismus, bei dem kurze Myokardischämien (z.B. Angina pectoris) gegen die Folgen einer nachfolgenden längeren Ischämie schützen. Dabei unterscheidet man eine frühe Phase (early preconditioning) von einer späten Phase der Myokardprotektion (late preconditioning [LPC]), die erst nach 24 Stunden einsetzt und anschließend mehrere Tage anhält. LPC kann auch pharmakologisch, z.B. durch die Applikation von Opioidrezeptor(OR)-Agonisten, ausgelöst werden.

In der Signaltransduktionskette wird zwischen der Triggerphase, in der die Adaptationsvorgänge initiiert werden, und der Mediatorphase, in welcher nach 24 h die Kardioprotektion letztlich vermittelt wird, unterschieden. Wir untersuchten die Frage, in welcher der beiden Phasen die Aktivierung von OR eine Rolle spielt. LPC wurde pharmakologisch durch Gabe von Morphin (MO) [1] bzw. Lipopolysaccharid (LPS) [2] induziert. Die OR wurden durch Naloxon entweder während der Triggerphase oder aber 24 Stunden später während der Mediatorphase blockiert.

Methodik

Nach Genehmigung durch die Bezirksregierung Düsseldorf wurde bei 74 männlichen Wistar-Ratten unter S-Ketaminanästhesie zur Messung des arteriellen Blutdrucks eine A. carotis und zur Flüssigkeitssubstitution eine V. jugularis kanüliert. Alle Tiere wurden nach lateraler Thorakotomie einer 25-minütigen regionalen Myokardischämie gefolgt von zwei Stunden Reperfusion unterzogen. Am Ende der Reperfusion wurden die Herzen entnommen und durch Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung die Infarktgröße bestimmt.

LPC wurde durch MO 3 mg/kg intraperitoneal (i.p.) (Morphin, n = 11) bzw. durch 1 mg/kg LPS von E. coli i.p. (LPS, n = 9) induziert. Die Kontrollgruppe (Kontrolle, n = 7) erhielt stattdessen 5 mL NaCl 0,9% i.p.. Um die Bedeutung der Aktivierung der OR während der Triggerphase zu überprüfen, wurde 10 min vor der i.p.-Injektion von NaCl, LPS, oder MO jeweils 1 mg/kg KG Naloxonhydrochlorid (NAL) i.p. injiziert (NAL + NaCl/Trigger, n = 8; NAL + LPS/Trigger, n = 8; NAL + MO/Trigger, n = 7). Um den Einfluss in der Mediatorphase zu überprüfen, wurde NAL 24 h nach der Gabe von NaCl, LPS bzw. MO appliziert (NaCl+NAL/Mediator, n = 8; LPS+NAL/Mediator, n = 8; MO+NAL/Mediator, n = 8). Alle Daten sind als Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Statistik: Varianzanalyse mit Bon-ferroni-post-hoc-Test.

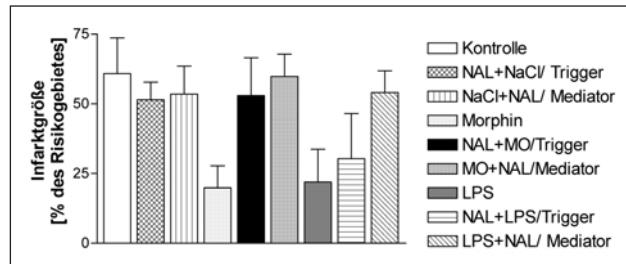


Abbildung 1: Infarktgrößen.

Ergebnisse

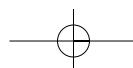
MO und LPS reduzierten die Infarktgröße (jeweils $P < 0.001$ vs. Kontrolle). NAL in der Triggerphase blockierte die MO - aber nicht die LPS-induzierte Infarktgrößenreduktion (NAL + MO vs. MO $P < 0.001$; NAL + LPS vs. LPS $P < 0.05$). In der Mediatorphase blockierte NAL sowohl die MO- (MO + NAL vs. MO $P < 0.001$) als auch die LPS-vermittelte Myokardprotektion (LPS + NAL vs. LPS $P < 0.001$).

Interpretation

Morphin und LPS induzieren pharmakologisch eine späte Myokardprotektion. Erstmals konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung von Opiodrezeptoren in der Mediatorphase sowohl bei der Morphin- als auch bei der LPS-induzierten späten Myokardprotektion entscheidend ist. Im Gegensatz zur LPS-induzierten späten Myokardprotektion ist bei der Morphin-induzierten späten Myokardprotektion zudem auch die Aktivierung von Opiodrezeptoren in der Triggerphase erforderlich.

Literatur

1. Fryer RM, Hsu AK, Eells JT, Nagase H, Gross GJ: Opioid-induced second window of cardioprotection: potential role of mitochondrial K_{ATP} channels. Circ. Res. 1999; 84:846-851
2. Rowland RT, Cleveland JC, Meng X, Ao L, Harken AH, Brown JM: A single endotoxin challenge induces delayed myocardial protection against infarction. J. Surg. Res. 1996; 63:193-198.



Abstracts

Auswirkungen der prophylaktischen oder therapeutischen Gabe der Hämoglobinlösung HBOC-200 auf die Infarktgröße nach kardialer Ischämie und Reperfusion bei der Ratte

M.-A. Burmeister, C. Rempf, T. Krause, S. Tuszinsky, Th. Standl und J. Schulte am Esch

Anästhesiologische Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Fragestellung

Nicht-herzchirurgische koronare Risikopatienten erleiden in etwa 3% perioperativ einen Myokardinfarkt [1]. Diese Patienten könnten möglicherweise von der Gabe zellfreier Sauerstoffträger wie Perfluorcarbonen oder Hämoglobinlösungen durch eine Erhöhung der Verfügbarkeit von Sauerstoff im Rahmen von Ischämie und Reperfusion profitieren. Es sollte nun erstmalig die Hypothese überprüft werden, ob die prophylaktische oder therapeutische Anwendung der Hämoglobinlösung HBOC-200 die Größe des myokardialen Infarktes an der „Area at Risk“ (AR) im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe nach akuter Ischämie und Reperfusions reduzieren kann.

Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzzkommission wurden 37 Sprague-Dawley-Ratten in die Studie eingeschlossen, von denen 24 (8 je Gruppe) den Versuch komplett durchliefen und ausgewertet werden konnten. Nach Anästhesieinduktion mittels S(+)-Ketamin und Midazolam i.m. erhielten die Tiere unter kontrollierter Beatmung ($\text{FiO}_2: 0,3$) nach Instrumentierung (Tracheotomie, ZVK, art. Kanüle) und Thorakotomie eine Ligatur der linken Koronararterie. Die Fortführung der Anästhesie erfolgte mit Midazolam und Fentanyl i.v. Entsprechend Randomisierung wurde den Tieren der Kontroll-Gruppe NaCl, Tieren der Prophylaxe-Gruppe bzw. Tieren der Therapie-Gruppe $0,4 \text{ g kg}^{-1}$ HBOC-200 (p50: 35 mmHg) vor bzw. nach der Koronarligatur intravenös appliziert. Die Ligaturzeit betrug 25 min, gefolgt von 120 min Reperfusions. Die Infarktgröße wurde nach „in vivo“-Darstellung der AR durch Patentblau-Injektion und Färbung der basisparallelen Schnitte mit Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid (TTC) verblindet planimetrisch quantifiziert. Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA und Dunett's post hoc Test ($\text{MW} \pm \text{SD}$).

Ergebnisse

Nach Gabe von HBOC-200 kam es zu einem kurzfristigen Anstieg des arteriellen Mitteldrucks. In den Behandlungsgruppen wurde ein freies Hb von $0,5\text{--}1,2 \text{ g dl}^{-1}$ erreicht. Darüber hinaus unterschieden sich die Gruppen in den gemessenen Parametern nicht. Die Infarktgrößen sind in Abb. 1 dargestellt, wobei sich insbesondere eine Reduktion in der Prophylaxe-Gruppe im Vergleich zur Kontrolle zeigt ($p = 0,025$).

Interpretation

Mit der prophylaktischen Applikation von HBOC-200 wurde im Gegensatz zur therapeutischen Gabe im Tierexperiment eine signifikante Reduktion der Infarktausdehnung nach regionaler kardialer Ischämie und Reperfusion erzielt. Dementsprechend scheint der potentielle Mechanismus von HBOC-200 bereits in der Ischämie anzusetzen. Die vorliegenden Ergebnisse lassen allerdings keine sichere Aussage zur Art des Wirkmechanismus zu. Möglicherweise könnte dieser aber in einer Reduktion der Leukozyten-Endothel-Interaktion bestehen [2], wie er

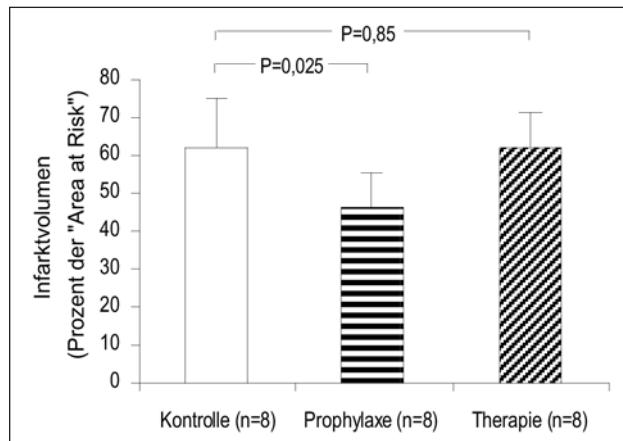
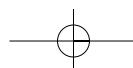


Abbildung 1: Darstellung des Infarktvolumens in Prozent ($\text{MW} \pm \text{SD}$) des Risikogebliebenen (AR) in den Behandlungsgruppen im Vergleich zur Positiv-Kontrolle.

auch für die therapeutische Applikation von Perfluorcarbonen am Herzen nachgewiesen werden konnte [3]. Grundsätzlich ergibt sich aus den Ergebnissen ein neuer experimenteller Ansatz zur Verringerung perioperativer Myokardinfarkte.

Literatur

1. Mangano DT, Browner WS, Hollenberg M, London MJ, Tubau JF, Tateo I: Association of perioperative myocardial ischemia with cardiac morbidity and mortality in men undergoing noncardiac surgery. The Study of Perioperative Ischemia Research Group. *N Engl J Med* 1990; 323(26):1781-8
2. Pickelmann S, Nolte D, Leiderer R, Schutze E, Messmer K: Attenuation of posts ischemic reperfusion injury in striated skin muscle by diaspisin-cross-linked Hb. *Am J Physiol* 1998; 275:H361-8
3. Bajaj AK, Cobb MA, Virmani R, Gay JC, Light RT, Forman MB: Limitation of myocardial reperfusion injury by intravenous perfluorochemicals. Role of neutrophil activation. *Circulation* 1989; 79(3):645-56.



Vorbehandlung durch hämbasierte Lösungen und organspezifische Stressgenexpression nach hämorrhagischem Schock

D. Kubulus¹, M. Paxian¹, T. Meisel¹, J.T. Thierbach¹, H. Redl², H. Rensing¹, M. Bauer¹ und I. Bauer¹

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

² Ludwig-Boltzmann-Institut für Exp. und Klin. Traumatologie, Wien (Österreich)

Fragestellung

Das in hämoglobinbasierten Sauerstoffträgern (HBOC) enthaltene azelluläre Hämoglobin gewährleistet einen blutgruppenunabhängigen Sauerstofftransport. Die unterschiedlich ausgeprägte Affinität der HBOC zu Stickstoffmonoxid führt jedoch zur Erhöhung des Gefäßwiderstandes [1], welcher über Mikrozirkulationsstörungen eine Zunahme des schockbedingten Organschadens hervorrufen kann. Demgegenüber weisen andere Hämverbindungen, wie z.B. Häminarginat, keine blutdrucksteigernde Wirkung auf. Beide Substanzklassen könnten über eine Konzentrationserhöhung des freien Häm's die Expression der Hämoxxygenase (HO)-1 induzieren, welche Häm zu äquimolaren Mengen von Kohlenmonoxid (Vasodilator), Biliverdin (Antioxidans) und Eisen abbaut. HO-1 wird durch eine Vielzahl von Stimuli, v.a. jedoch durch Häm, induziert [2] und könnte aufgrund der vasodilatierenden und antioxidativen Wirkung [3] zur Vorbehandlung vor Ischämie/Reperfusion-Ereignissen genutzt werden. Wir untersuchten deshalb (i) die Auswirkungen von Diaspirin-quervernetztem Hämoglobin (DCLHb) und Häminarginat auf die Expression von HO-1 sowie Hitzeschockprotein (HSP) 70 in Leber, Niere, Herz, Lunge und Aorta und (ii) den Effekt einer Vorbehandlung durch beide hämbasierte Lösungen auf den durch hämorrhagischen Schock (HS) und Reperfusion (H/R) hervorgerufenen Organschaden.

Methodik

Alle Untersuchungen wurden nach Genehmigung durch die Tierschutzbörde an narkotisierten, spontanatmenden Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Zu (i): 24 h nach i.v. Infusion von DCLHb (je 1,2 bzw. 3 g/kg KG) bzw. Häminarginat (5,25 bzw. 75 mg/kg KG) wurde die HO-1 und HSP 70 Genexpression in den Organen durch Western-Blot-Analyse untersucht. Unbehandelte Tiere dienten als Kontrolle. Zu (ii): Die i.v. Vorbehandlung erfolgte mit 1 bzw. 3 g/kg KG DCLHb bzw. 5 mg/kg KG Häminarginat. Nach 24 h wurden die Tiere einem 1- bzw. 2-stündigen HS (MAP: 35 - 40 mmHg) mit anschließender 5- bzw. 4-stündiger Reperfusions ausgesetzt. Gleichbehandelte Tiere, welche zum Zeitpunkt der Vorbehandlung 30 ml/kg NaCl erhielten, dienten als Kontrollen (Vehikel) (n = 5 - 10). Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA mit Post-hoc-Test oder Fischer-Exact-Test.

Ergebnisse

(i) DCLHb und Häminarginat induzierten dosisabhängig HO-1 in allen untersuchten Organen. Eine HSP 70 Genexpression zeigte sich dagegen nur nach Vorbehandlung mit 75 mg/kg KG Häminarginat vor allem in der Leber, wobei diese Dosierung zu generalisierten Krämpfen mit Todesfolge sowie zu einer makroskopischen Leberschädigung führte. (ii) Die Vorbehandlung mit Häminarginat (5 mg/kg) führte sowohl nach 1 als auch nach 2 Stunden HS zu einer Verminderung des schockbedingten Organschadens im Vergleich zu Vehikel oder Vorbehandlung mit DCLHb. Diese spiegelte sich in einem höheren Oxigenierungsindex am Ende der Schockperiode, im höheren Blutvolumen zur Erzeugung des HS und schliesslich in einer verbesserten Rekompensation nach Schockende wider. Im Gegesatz dazu trug die DCLHb-Vorbehandlung nicht zur Verbesserung der untersuchten Parameter bei; vielmehr resultierte eine Zunahme der Letalität. Nach Häminarginat-Vorbehandlung überlebten alle Versuchstiere das Stressereignis (Tab.).

Interpretation

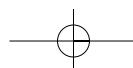
Beide untersuchten Substanzen DCLHb und Häminarginat führen zu einer Induktion von HO-1 in allen untersuchten Organensystemen ohne Auslösung einer generellen Stress-(Hitzeschock) Antwort. Ein protektiver Effekt bezüglich schockbedingtem Organschaden und schließlich Überleben nach H/R wurde jedoch nur durch Vorbehandlung mit Häminarginat erzielt. Demnach bietet die Vorbehandlung mit Häminarginat einen effektiven Schutz gegenüber einem potentiell schädlichen Stressereignis möglicherweise über die Induktion der HO-1-Genexpression.

Literatur

1. Vox Sang. 2000; 79:1-20
2. Antioxid Redox Signal. 2002; 4:749-58
3. Crit Care Med. 1999; 27:2766-75.

		1h Schock				2h Schock			
Zeitpunkt		Vehikel (30ml/kg NaCl)	DCLHb (1g/kg)	DCLHb (3g/kg)	Hämin arginat (5mg/kg)	Vehikel (30ml/kg NaCl)	DCLHb (1g/kg)	DCLHb (3g/kg)	Hämin arginat (5mg/kg)
pO ₂ /FiO ₂ [mmHg]	Ausgangs- wert	359±12	327±19	332±20	383±23	379±10	365±16	382±28	406±25
	Schock- ende	514±41	502±21	359±44	613±40 [#]	509±42	441±35	339±67	593±42 ^{#\\$}
Blutvolu- men [ml/kg]		33±3	40±6	32±4	46±3 ^{*#}	33±3	35±6	33±2	39±2 [#]
Letalität [%]		10	14	20	0 ^{#\\$}	10	16	83	0 ^{#\\$}

* p<0,05 vs. Vehikel; # p<0,05 vs. DCLHb (3g/kg); § p<0,05 vs. DCLHb (1g/kg); MW±SEM



Abstracts

Ein Peptid aus der Sequenz des Fibrins reduziert die myokardiale Entzündung und Infarktgröße nach Ischämie-Reperfusions durch Blockierung der VE-cadherin vermittelten Leukozytenmigration

K. Zacharowski¹, P. Zacharowski¹, S. Lechleitner² und P. Petzelbauer²

¹ Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinik Düsseldorf

² Klinik für Dermatologie, Universitätsklinik Wien (Österreich)

Fragestellung

Während Sepsis und Ischämie-Reperfusions von Organen werden Fibrinogen und verwandte Derivate aktiviert. Es folgt eine Triggerung der Entzündungskaskade mit Aktivierung von Adhäsionsmolekülen (z.B. vascular-endothelial (VE)-cadherin) mit vielfältigen Mechanismen der Zellschädigung [1]. Wir untersuchten, ob ein Peptid aus der N-terminalen Sequenz der β -Kette von Fibrin (B β 15-42) durch seine anti-inflammatorische Wirkung eine protektive Wirkung auf das Myokard in einem Ischämie-Reperfusionsmodell aufweisen kann. In einem weiteren Schritt beleuchteten wir die zugrundeliegenden Mechanismen.

Methodik

Männliche Wistar Ratten ($n = 7 - 8$ / Gruppe) wurden einer regionalen myokardialen Ischämie (25 min) und Reperfusion (2 h) zugeführt. 1 min vor Reperfusion, 1 und 60 min nach Ischämie wurden Kontrollpeptid oder Peptid B β 15-42 (je 3 x 0.8 mg/kg) i.v. appliziert. Das Infarktausmaß wurde mit der TTC-Methode bestimmt [2]. Mittels Histologie wurde die Zahl der Entzündungszellen im Herzen bestimmt. Zusätzlich führten wir eine Dosiswirkungsstudie in vivo durch (0.1 bis 2.4 mg/kg). In vitro wurden mittels ELISA die Interaktionen zwischen Peptid B β 15-42 (0 - 80 μ M) und VE-cadherin untersucht. Des Weiteren wurde die Migration von T-Zellen, Monozyten und Neutrophilen Granulozyten durch die Gefäßwand in einem Transmigrationsassay unter Verwendung von humanen Endothelzellen (HUVECs) oder Transfektanten (VE-cadherin oder PECAM-1) untersucht. Die Migration dieser Zellen wurde durch Fibrinfragmente (NDSK-II) induziert und der Effekt von Peptid B β 15-42 im Vergleich zu einem Kontrollpeptid untersucht [3].

Ergebnisse

(Mittelwert \pm SD, One-way ANOVA/T-Test + Dunnett; * $P < 0.05$ vs. Kontrolle). Myokardiales Risikogebiet (RG) in % des linken Ventrikels, Infarktausmaß (IA) in % des RG und Anzahl inflammatorischer Zellen (IZ) im reperfundierte Myokard.

Im ELISA bindet B β 15-42 konzentrationsabhängig an VE-cadherin und konkurriert mit Fibrinfragmenten um die Bindung an VE-cadherin. Im Migrationsassay neutralisiert Peptid B β 15-42 die pro-inflammatorischen Eigenschaften von Fibrinfragmenten (NDSK-II) (Abb. 1 + 2).

Interpretation

B β 15-42 reduziert die Myokardinfarktgröße und das Ausmaß der Entzündungsreaktion nach Ischämie/Reperfusions im Rattenmodell. Die in vitro Experimente identifizieren als Grundlage dieses Effekts die Fähigkeit von B β 15-42, die Interaktion zwischen Fibrinfragmenten und VE-cadherin zu blockieren. Dieser Mechanismus eröffnet neue Möglichkeiten in der Therapie von Entzündungen, z.B. Ischämie-Reperfusions oder Sepsis.

Tabelle 1: B β 15-42 reduziert die myokardiale Infarktgröße/Anzahl an Entzündungszellen.

	RG (%)	IA (%)	IZ (n)
Kontrollpeptid	50 \pm 4	38 \pm 3	460 \pm 213
B β 15-42	48 \pm 5	26 \pm 7*	272 \pm 107*

Tabelle 2: B β 15-42 reduziert dosisabhängig die Infarktgröße.

	Kontrolle	B β 15-42 (0.1 mg/kg)	B β 15-42 (0.3 mg/kg)	B β 15-42 (0.9 mg/kg)	B β 15-42 (2.4 mg/kg)
RG (%)	46 \pm 6	39 \pm 12	36 \pm 7	41 \pm 8	41 \pm 5
IA (%)	70 \pm 11	68 \pm 10	65 \pm 16	57 \pm 13*	42 \pm 9*

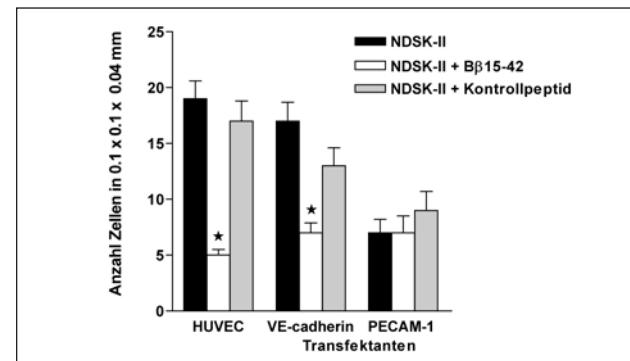


Abbildung 1

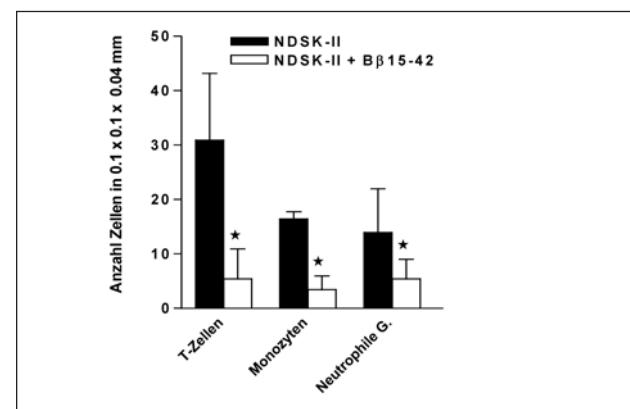
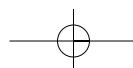


Abbildung 2

Literatur

- Coughlin SR: Thrombin signaling and protease-activated receptors. *Nature* 2000; 407:258-264
- Zacharowski K, Olbrich A, Piper J, et al.: Selective activation of the prostaglandin EP(3) receptor reduces myocardial infarct size in rodents. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19:2141-2147
- Halama T, Staffler G, Hoch S, et al.: PECAM-1 and VE-cadherin cooperatively regulate FGF-induced modulations of adherens junction functions. *J. Invest. Dermatol.* 2001; 116:110-117.



Sevofluran induziert eine lang anhaltende Cerebroprotektion gegen hypoxische Hirnschädigung: Rolle mitochondrialer K_{ATP}-Kanäle als Mediatoren und Effektoren

F. Kehl¹, R. S. Payne², N. Roewer¹ und A. Schurr²

¹ Klinik für Anaesthesiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

² Laboratory of Brain Attack, Department of Anesthesiology, University of Louisville (USA)

Fragestellung

Ein durch Isofluran und Halothan induziertes zweites Fenster der Präkonditionierung des Gehirns konnte vor kurzem nachgewiesen werden [1]. Es ist nicht bekannt, ob Sevofluran eine lang anhaltende Präkonditionierung induzieren kann. Wir testeten die Hypothese, dass 24 Stunden nach Sevofluranexposition *in vivo* eine hypoxische neuronale Schädigung im Hippocampus-Schnittpräparat *in vitro* reduziert werden kann.

Methodik

Alle experimentellen Protokolle waren durch die institutionelle Tierschutzkommision genehmigt. Männliche Sprague-Dawley-Ratten (250-350 g) wurden an 4 aufeinander folgenden Tagen für jeweils 30 Minuten mit 1 MAC (2.4 Vol.-%) Sevofluran anästhesiert. Am 5. Tag (24 Stunden nach der letzten Exposition) wurden die Ratten dekapitiert, das Gehirn entnommen und 400 mm dicke hippocampale Schnitte hergestellt. Die Hippocampusschnitte wurden in eine kombinierte Inkubations- und Ableitekammer gelegt und mit einem angefeuchteten Gasgemisch (95% O₂ / 5% CO₂) und künstlicher Liquorflüssigkeit umspült. Die Temperatur wurde konstant bei 34 ± 0.3°C gehalten. Nach 90-minütiger Äquilibrierungsphase wurden die Schnitte einer 13 Minuten langen Hypoxie (95% N₂ / 5% CO₂) ausgesetzt und anschließend 30 Minuten lang reoxygeniert und neurophysiologisch auf Funktionalität geprüft. Unter orthodromer bipolarer elektischer Stimulation (8 - 9 V, 0.1 ms, 1 Hz) der Schaffer-Kollateralen wurde die synaptische neuronale Funktion durch eine extrazelluläre Messung der Amplitude des evoked Populationsspikes der CA1 Neurone (Borosilikatmikropipette, 2 - 5 MΩ) in mV quantifiziert. Schnitte, die einen Populationsspike von unter 3.0 mV aufwiesen, wurden als geschädigt angesehen, basierend auf kumulativen Daten an Schnitten, die keiner Hypoxie ausgesetzt waren und in 99.9% einen CA 1 Populationsspike von größer 10 mV zeigten [2]. Die Daten wurden mittels ANOVA und Duncan-post-hoc-

Test auf Signifikanz (* P < 0.05) geprüft. Alle Daten sind Mittelwerte ± SEM. Jeder MW ≥ 3 Experimente mit jeweils 10 - 15 Hippocampus-schnitten.

Ergebnisse

Die Tiere wurden 5 verschiedenen Gruppen zugeordnet, und insgesamt wurden 311 Schnitte ausgewertet. Die repetitive Exposition der Tiere mit Sevofluran führte zu einer signifikanten Reduktion des hypoxischen neuronalen Schadens im Vergleich zu scheinbehandelten Kontrolltieren (64 ± 2%* gegenüber 51 ± 3% funktionaler Schnitte). Die Gabe von 50 μM 5-hydroxydecanoischer Säure (5-HD, mitochondrialer K_{ATP}-Kanal Blocker) zu Schnitten von Sevofluran exponierten Ratten während der Hypoxiephase (Effektorphase) blockierte den neuroprotektiven Effekt von Sevofluran vollständig (49 ± 4%), während die Gabe von 5-HD allein keinen Einfluss auf den Grad der hypoxischen Schädigung an nicht vorbehandelten Kontrollschnitten hatte (48 ± 3%). Die Gabe von 5-HD (160 mg/kg/ip) jeweils 15 Minuten vor der Sevofluranexposition der Tiere an jeweils vier aufeinander folgenden Tagen (Triggerphase) blockierte den neuroprotektiven Effekt ebenso vollständig (47 ± 4%).

Interpretation

Diese Resultate zeigen, dass eine Sevofluran-induzierte Präkonditionierung auch 24 Stunden später gegen eine Hypoxie im Hippocampus Schnittpräparat neuroprotektiv wirkt. Die Aktivierung mitochondrialer K_{ATP}-Kanäle scheint dabei kritisch während der Trigger- und Effektorphase beteiligt zu sein.

Literatur

1. Kapinya K J, Löwl D, Füllerer C et al: Stroke 2002; 33: 1889-1898
2. Schurr A, Payne R S, Tseng M T et al: Neuroscience Letters 2001; 307: 151-154.

Effekte spezifischer transgener anti-apoptotischer Interventionen nach einstündiger transienter fokaler zerebraler Ischämie bei der Maus

M. Kim¹, J. Vogel², P. Vogel¹, H. v.d. Putten³, Ch. Wiessner³ und B. W. Böttiger¹

¹ Klinik für Anaesthesiologie der Universität Heidelberg

² Institut für Physiologie und Pathophysiologie der Universität Heidelberg

³ Novartis Pharma Inc., Basel (Schweiz)

Fragestellung

Eine fokale zerebrale Ischämie ist mit einer erheblichen Morbidität und Mortalität assoziiert. Aktuelle experimentelle Untersuchungen weisen auf eine ursächliche Beteiligung der neuronalen Apoptose im Rahmen der Neurodegeneration nach fokaler zerebraler Ischämie hin [1]. Durch die Entwicklung transgener Tierstämme, die anti-apoptotische Proteine in ihren Neuronen exprimieren, besteht die Möglichkeit, das therapeutische Potential spezifischer anti-apoptotischer Interventionen zu analysieren [2]. In den vorliegenden Untersuchungen wurde der Einfluss der neuronalen exprimierten anti-apoptotischen Proteine Bcl-XL, Bcl-2, CrmA und P35 auf das Infarktvolumen und die neurologische Erholung nach experimenteller transienter Hirnischämie an der Maus evaluiert.

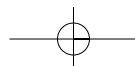
Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzkommision wurde bei 50 C57/BL6 Mäusen in Narkose (1,0 - 1,2 Vol% Halothan in 30% O₂/70% N₂O) für 1h eine transiente Hirnischämie durch Fadenokklusion des Abgangs der

rechten A. cerebri media induziert. Nach 24 h und 48 h wurde das neurologische Defizit mittels eines Neuroscores quantifiziert. Dann wurden in Narkose zum Ausschluss einer Subarachnoidalblutung 0,4 ml Evans Blau (2%) i.v. injiziert und die Tiere dekapitiert, die Gehirne entnommen und tiefgefroren. Im Kryomikrotom wurden alle 100 μm 20 μm dicke Schnitte gewonnen und zur Detektion des Infarktvolumens durch „silver infarct staining“ [3] angefärbt. Die mittels einer Thy-1 Kassette entwickelten transgenen Tierstämme (Bcl-XL, Bcl-2, CrmA, P35) wurden randomisiert und geblendet untersucht (6 - 7 transgene bzw. 6 - 7 nichttransgene Geschwistertiere (= Wildtyp-Kontrolle)). Die statistische Analyse erfolgte mit dem Wilcoxon bzw. Kruskal-Wallis Test (p < 0,05 = signifikant).

Ergebnisse

Bei keinem der Tiere war eine durch die Präparation induzierte Subarachnoidalblutung nachweisbar. Obwohl alle Tiere unmittelbar nach der transienten Ischämie neurologisch auffällig waren, wurde



Das neue Fachbuch aus dem DIOmed Verlag!

Michael Kugler:

Theorie & Praxis

Kurzlehrbuch - auch zur Vorbereitung auf die Prüfung "Spezielle Schmerztherapie" - mit praxisrelevanten Therapieanweisungen:

- Physiologie und Pathophysiologie des Schmerzes
- Allgemeine (Wirkmechanismus, Indikationen etc.) und spezielle Pharmakologie der Analgetika, Koanalgetika und Adjuvantien mit Dosierungsanleitung
- Spezielle Therapieverfahren in der Schmerztherapie mit Indikationsbereichen
- Pathophysiologie, Symptomatik, Diagnostik, Differentialdiagnostik relevanter Schmerzsyndrome mit konkreten und bewährten Therapieanweisungen
- Postoperative Schmerztherapiekonzepte
- Pharmakotherapie von Kindern und Schwangeren mit konkreten Therapieanweisungen
- Therapie von Krebserkrankungen (Tumorschmerztherapie, Prinzipien der Chemo- und Strahlentherapie, Therapie von Nebenwirkungen etc.)
- Sämtliche peripheren und zentralen Nervenblockaden
- Tabellenanhang mit z.B. Analgetikadosierungen, Opioidumrechnungstabelle, allgemeiner medikamentöser Stufentherapieplan, Auflistung der Pharmakotherapie spezieller Schmerzsyndrome etc.
- Anhang mit Anamnese-, Untersuchungs-, Verlaufs- und Aufklärungsbögen, Patienteninformationsbögen



Bestellung

Ja, ich bestelle: Expl. M. Kugler / Schmerztherapie, je 70,- € zzgl. Versandkosten*

per Fax an:

0 95 22 / 94 35 35

oder ausschneiden und senden an:

DIOmed Verlags GmbH

An der Lohwiese 38

97500 Ebelsbach
Deutschland

Name, Vorname

Zusatz

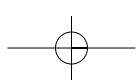
Straße / Postfach

PLZ / Ort:

Tel. für Rückfragen

Datum / Unterschrift

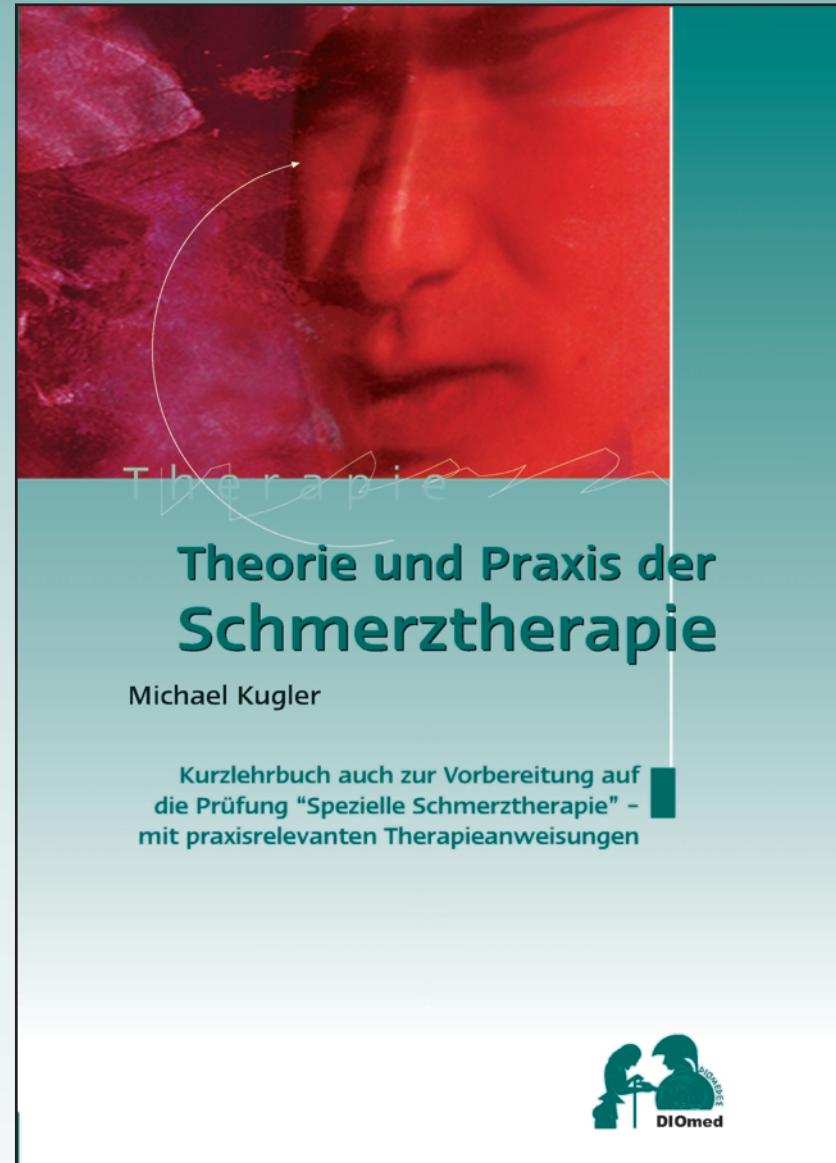
* Bruttopreis inkl. der gesetzl. MwSt. | Versandkosten: 3,50 €; ab 2 Expl. frei



NEU
Jetzt direkt beim
Verlag bestellen!

der Schmerztherapie

kompetent
umfassend
praxisnah



Dr. med. Michael Kugler
Oberarzt der Abteilung
für Anästhesiologie,
operative Intensivmedizin
und interdisziplinäre
Schmerztherapie und Leiter
der Schmerztherapie am
Klinikum Ludwigsburg

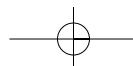
ISBN 3-9808331-7-8
Hardcover/ca. 340 S.

Preis: 70,- €

Achtung Autoren!

Der DIOmed Verlag sucht weitere kompetente Partner für Veröffentlichungen in seinem neuen Programm. Nehmen Sie Kontakt auf: info@diomed.de.





Abstracts

weder nach 24 h noch nach 48 h ein signifikanter Unterschied im Neuroscore zwischen den Gruppen detektiert (Tab. 1). Die Infarktvolumina der Wildtypmäuse unterschieden sich nach 48 h bei keiner der untersuchten Linien signifikant von denen der jeweiligen transgenen Geschwisterstämme. Zwischen den 4 Wildtypkontrollgruppen bestand ebenfalls kein Unterschied in den Infarktvolumina (Tab. 1; p = 0,697). Im Gegensatz dazu fand sich bei einem Vergleich der 4 transgenen Linien untereinander bei der P35 exprimierenden Linie ein signifikant größeres Infarktvolumen (Tab. 1; p = 0,005).

Interpretation

Die vorliegenden Daten zeigen erstmals den Einfluss einer transgenen anti-apoptotischen Intervention auf das Infarktvolumen und das neurologische Defizit nach transienter fokaler zerebraler Ischämie. Nach einstündiger Okklusion der rechten A. cerebri media mit nachweisbarem neurologischem Defizit hat eine neuronale Expression der anti-apoptotischen Proteine Bcl-XL, Bcl-2, CrmA und P35 keinen in diesem Modell detektierbaren Einfluss auf das neurologische Ergebnis sowie auf das Infarktvolumen nach 48 h. Dabei war eine relativ große Streubreite der Infarktvolumina zu beobachten. Zudem war bei einigen Tieren nach 48 h kein Infarkt mehr nachweisbar. Daher deuten die vorliegenden

Ergebnisse auch darauf hin, dass zur definitiven Bewertung der Frage, ob eine Blockade der neuronalen Apoptose eine therapeutische Option nach kurzfristiger transienter fokaler zerebraler Ischämie bei der Maus darstellt, in weiteren Untersuchungen größere Gruppen und ggf. auch längere Reperfusionszeiten Verwendung finden müssen.

Literatur

- Padosch SA, Vogel P, Böttiger BW. Neuronale Apoptose nach zerebraler Ischämie – Grundlagen, Pathophysiologie und Interventionsmöglichkeiten. *Anaesthetist* 2001; 50:905
- Wiessner C, Allegrini PR, Rupalla K, Sauer D, Oltersdorf T, McGregor AL, Bischoff S, Böttiger BW, van der Putten H. Neuron-specific transgene expression of Bcl-XL but not Bcl-2 genes reduced lesion size after permanent middle cerebral artery occlusion in mice. *Neurosci Let* 1999; 268:119
- Vogel J, Möbius C, Kuschinsky W. Early delineation of ischemic tissue in rat brain cryosections by high contrast staining. *Stroke* 1999; 30:1134.

Tabelle 1: **A.** Vergleich der Neuroscores bei den transgenen Mauslinien und ihren Wildtyp-Geschwistertieren 24 h und 48 h nach fokaler zerebraler Ischämie (MW + SEM; p = n.s.); **B.** Vergleich der Infarktvolumina bei den entsprechenden Untersuchungsgruppen (MW + SEM; p = n.s.)

	A. Neuroscores		B. Infarktvolumina	
	24h	48h	mm ³	p
Bcl-XL Wildtyp	(n = 6)	0,83 ± 0,48	0,50 ± 0,34	1,43 ± 1,19
	(n = 6)	1,17 ± 0,48	0,83 ± 0,54	0,00 ± 0,00 p = 0,394
Bcl-2 Wildtyp	(n = 6)	1,17 ± 0,48	1,00 ± 0,45	0,00 ± 0,00
	(n = 6)	1,67 ± 0,61	1,00 ± 0,45	5,37 ± 5,37 p = 0,699
CrmA Wildtyp	(n = 6)	0,67 ± 0,33	0,50 ± 0,34	0,08 ± 0,08
	(n = 6)	0,33 ± 0,33	0,33 ± 0,33	7,86 ± 7,56 p = 0,589
P35 Wildtyp	(n = 7)	1,29 ± 0,36	0,86 ± 0,46	7,61 ± 2,56
	(n = 7)	1,00 ± 0,38	0,57 ± 0,43	9,85 ± 7,54 p = 0,456

Hyperton/kolloidale Lösung verbessert das langfristige funktionelle und neurohisto-pathologische Outcome nach globaler zerebraler Ischämie bei Ratten

R. Noppens¹, M. Christ², I. P. Körner^{1,2}, O. Kempski² und A. M. Brambrink¹

¹ Klinik für Anästhesiologie der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

² Institut für Neurochirurgische Pathophysiologie der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Fragestellung

Nach einer zeitlich begrenzten Unterbrechung der Blutversorgung des Gehirns kommt es u.a. zu mikrozirkulatorischen Störungen („no“- bzw. „low-reflow“ Phänomene [1]), welche die neuronale Überlebensprognose verschlechtern. Durch die Gabe von hypertoner/kolloidaler Lösung (HKL) während Reanimation konnte im Tiermodell das No-reflow-Phänomen abgeschwächt werden [2]. Bei Patienten nach Schädel-Hirn-Trauma konnte durch den Einsatz hypertoner Kochsalzlösungen das langfristige neurologische Outcome verbessert werden [3]. Wir untersuchten daher, ob die Gabe von HKL zu verschiedenen Zeitpunkten nach temporärer zerebraler Ischämie die postischämische Hirndurchblutung sowie das funktionelle und neurohistopathologische Outcome verbessern kann.

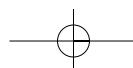
Methodik

Nach Zustimmung der zuständigen Behörde wurden 34 männliche Wistar-Ratten (230 - 330g) in eine von vier Versuchsgruppen randomisiert: HKL (HKL = NaCl 7,2% + HAES 6%, 4 ml/kg über 2 min) 1 Minute (HKL1, n = 6) bzw. 30 Minuten (HKL30, n = 9) nach Ischämie oder NaCl 0,9% zu den jeweils gleichen Zeitpunkten (Kontrolle,

n = 19). Die Tiere wurden narkotisiert, intubiert und beatmet. Die 15-minütige globale zerebrale Ischämie wurde mittels temporären bilateralen Karotisverschlusses und hypobarem Hypotension (MAD = 35 mmHg) induziert. Während des Insults und der frühen Reperfusionsphase (120 min nach Ischämie) wurden der regionale zerebrale Blutfluss überwacht (rCBF, Laser-Dopplerflowmetrie, 30 Messpunkte, Scanning-Technik). Während der postischämischen Erholung (10 Tage) wurden klinischer Status und neurologisches Defizit (spezieller Neuro-Score: Sensomotorik, Motorik, Aktivität, Verhalten, 0 - 100 Punkte: 0 = Hirntod, 100 = normal) überwacht; vorzeitig verstorbene Tiere wurden entsprechend der Randomisierung ersetzt. Die Tiere wurden anschließend transkardial perfundiert. Das neuronale Überleben wurde in ischämievulnerablen Hirnregionen (Hippokampus, Kortex) mittels Lichtmikroskopie in Hämatoxylin/Eosin-gefärbten Schnitten quantifiziert. Die statistische Analyse wurde mittels ANOVA bzw. ANOVA on Ranks (Bonferroni bzw. Dunn's post-hoc) durchgeführt.

Ergebnisse

Die frühzeitige Gabe von HKL (1 Minute) nach globaler zerebraler Ischämie erhöhte den rCBF [LD-Einheiten] im Vergleich zur Kontroll-



Wissenschaftliche Arbeitstage der DGAI

gruppe in den ersten 120 Minuten der Reperfusion (HKL1: $63,90 \pm 24,11$ vs. Kontrolle: $33,29 \pm 8,18$; Mittelwert \pm Standardabweichung, $p = 0,003$). Eine späte Applikation (30 min) hatte keinen Einfluss auf den rCBF (HKL30: $46,76 \pm 23,50$ vs. Kontrolle: $33,29 \pm 8,18$). Alle frühzeitig mit HKL behandelten Tieren überlebten die 10-tägige Beobachtungszeitdauer ($n = 6$), in den beiden anderen Gruppen verstarben 1/3 aller Tiere vor Abschluss der Untersuchung (Kontrolle: 8, HKL30: 3). Frühzeitig mit HKL behandelte Tiere zeigten im Vergleich zu den anderen Gruppen eine bessere funktionelle Erholung (Neuro-Score; Kontrolle: 81 [1.Q: 74, 3.Q: 82]; HKL1: 95 [1.Q: 94, 3.Q: 98]; HKL30: 92,5 [1.Q: 81,5, 3.Q: 96]; Median, [1. Quartil, 3. Quartil], $p < 0,05$) sowie ein signifikant besseres neuronales Überleben im Hippokampus (Abb. 1).

Interpretation

Die frühzeitige Gabe von hypertoner/kolloidaler Lösung nach globaler zerebraler Ischämie führt zu verbessertem funktionellen und histopathologischen Outcome. Der erhöhte rCBF in der frühen Reperfusionszeit könnte wesentlich an der beobachteten Wirkung beteiligt sein. Eine frühzeitige Gabe von HKL könnte zukünftig eine wichtige Rolle für die zerebrale Reanimation, z.B. nach Herz-Kreislaufstillstand, spielen.

Literatur

- Ames A III, Nesbett FB: Pathophysiology of ischemic cell death: I. Time of onset of irreversible damage; importance of the different components of the ischemic insult. Stroke 1983;14:219-226

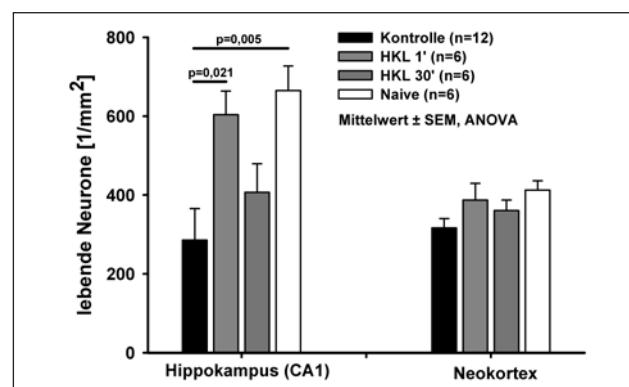


Abbildung 1: Überlebende Neurone 10 Tage nach globaler zerebraler Ischämie.

- Fischer M, Hossmann KA: Volume expansion during cardiopulmonary resuscitation reduces cerebral no-reflow. Resuscitation 1996; 32: 227-240
- Doyle JA, Davis DP, Hoyt DB: The use of hypertonic saline in the treatment of traumatic brain injury. J.Trauma 2001; 50:367-383.

Effekte der intrazerebroventrikulären Applikation von „brain-derived neurotrophic factor“ (BDNF) auf die zerebrale Erholung nach Herz-Kreislaufstillstand bei der Ratte

E. Popp¹, P. Vogel¹, W. R. Schäbitz², S. Schwab², E. Martin¹ und B. W. Böttiger¹

¹ Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Heidelberg

² Neurologische Klinik, Universitätsklinikum Heidelberg

Fragestellung

Nach einer transienten globalen zerebralen Ischämie aufgrund eines Herz-Kreislaufstillstandes kann eine verzögerte neuronale Degeneration mit charakteristischen Zeichen der Apoptose im Gehirn beobachtet werden [1]. Wie bereits im Rahmen einer fokalen zerebralen Ischämie gezeigt werden konnte, haben endogene Wachstumsfaktoren wie das zu den Neurotrophinen zählende BDNF potente neuroprotektive Eigenschaften [2]. Vor diesem Hintergrund erscheint die Untersuchung der Effekte der intrazerebroventrikulären Applikation von BDNF nach einer globalen zerebralen Ischämie von besonderem klinischen Interesse.

Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzzkommission wurde bei 48 männlichen Wistar-Ratten in Narkose (0,8 - 2,0 Vol% Halothan in 30% O₂/70% N₂O) durch Induktion von Kammerflimmern ein 6minütiger Herz-Kreislaufstillstand initiiert. Anschließend wurden die Tiere kardiopulmonal reanimiert [1] und auf zwei Gruppen (BDNF/Placebo) mit vier verschiedenen Reperfusionszeiten (6 h, 24 h, 72 h und 168 h; n = 6 pro Gruppe) randomisiert. Die intrazerebro-ventrikuläre Applikation von 1 µg/h BDNF bzw. 1 µg/h der Placebosubstanz Laktalbumin (jeweils in 0,1% BSA/ACSF) erfolgte verblindet ab 35 Minuten nach Herz-Kreislaufstillstand mittels osmotischer Minipumpen über den kompletten Reperfusionszeitraum. Die quantitative histologische Auswertung der degenerierten Neurone mittels TUNEL-Färbung wurde im Nucleus reticularis thalami, im Striatum und im CA-1 Sektor des Hippokampus an kryofixierten Gehirnschnitten durchgeführt. Am 1., 3. und 7. Tag wurde zusätzlich ein standardisierter Neuroscore erhoben (100% = maximales neurologisches Defizit). Die statistische Analyse erfolgte mittels Wilcoxon-Test (Signifikanzniveau $p < 0,05$).

Ergebnisse

In allen Gruppen konnte in den untersuchten Hirnarealen eine neuronale Degeneration mit kondensiertem Chromatin in der TUNEL-Färbung nachgewiesen werden. Es fanden sich zu keinem Zeitpunkt relevante signifikante Unterschiede zwischen den mit BDNF behandelten Tieren und der Placebo-Gruppe in Bezug auf die Anzahl der Tunel positiven Neurone und den Neuroscore (Abb. 1).

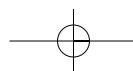
Interpretation

Trotz der potenzen neuroprotektiven Eigenschaften des Neurotrophins BDNF bei ischämisch induzierter neuronaler Degeneration und Apoptose nach fokaler zerebraler Ischämie konnten im Hinblick auf die zerebrale Erholung nach globaler zerebraler Ischämie keine relevanten Effekte nachgewiesen werden. Zur weiteren Aufklärung der hier fehlenden Protektion sind differenzierte Analysen der beteiligten Signalkaskaden unabdingbar.

Literatur

- Böttiger BW et al. J Cereb Blood Flow Metab 1998; 18:1077-1087
- Schäbitz WR et al. J Cereb Blood Flow Metab 1997;17: 500-506.

Dieses Projekt wurde durch die Forschungsförderung der Medizinischen Fakultät Heidelberg und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Bo 1686/1-1) gefördert.



Abstracts

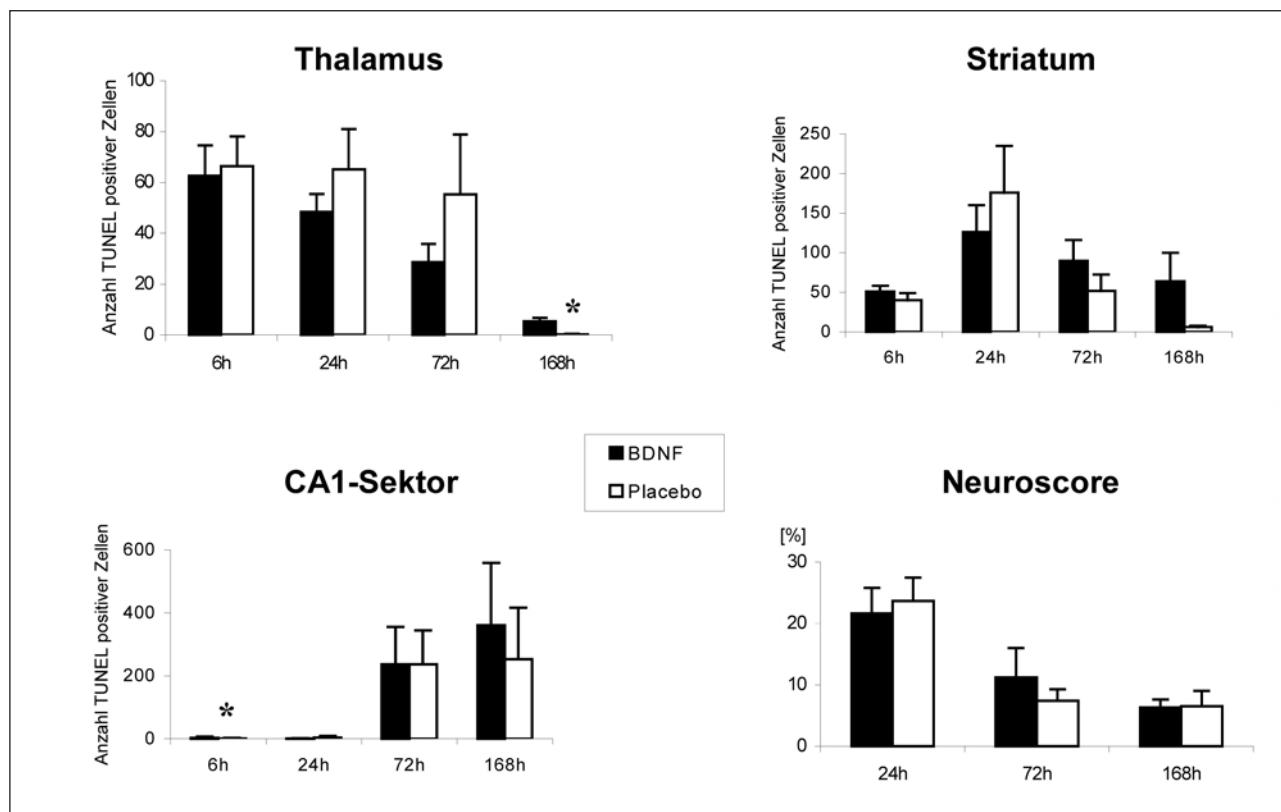


Abbildung 1: Anzahl TUNEL positiver Neurone in den untersuchten Gehirnarealen und zerebrale Erholung (Neuroscore) zu den verschiedenen Reperfusionszeiten. Mittelwert \pm SEM; * $p < 0,05$ versus BDNF.

Langzeiteffekt von Propofol auf nekrotischen und apoptotischen Zellschaden nach zerebraler Ischämie und Reperfusion

M. Pape¹, K. Engelhard¹, E. Eberspächer¹, C. Werner¹, U. Stegemann¹, K. Kellermann¹, P. Hutzler² und E. Kochs¹

¹ Klinik für Anaesthesiologie der Technischen Universität München, Klinikum rechts der Isar

² Institut für Pathologie der GSF, München

Fragestellung

Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass Propofol eine Reduktion des neurologischen Defizits und des nekrotischen Zellschadens drei Tage nach zerebraler Ischämie und Reperfusion herbeiführt [1]. Darüber hinaus supprimiert Propofol die Expression des pro-apoptotischen Proteins Bax vier Stunden nach neuronalem Schaden [2]. Unklar ist jedoch, ob diese anti-nekrotische als auch anti-apoptotische Wirkung von Propofol über einen längeren Zeitraum persistiert. Daher wurde in der vorliegenden Studie der Einfluss von Propofol auf den nekrotischen und apoptotischen Zellschaden bis zu 28 Tage nach zerebraler Ischämie untersucht.

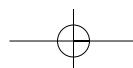
Methodik

Nach Genehmigung durch die Tierschutzkommision wurden 40 nüchtern männliche Sprague-Dawley-Ratten anästhetisiert, intubiert und mit 1,5 Vol% Isofluran in einem N₂O/O₂-Gemisch (FiO₂ = 0,33) beatmet. Die rechte A. und V. femoralis und die rechte V. jugularis wurden kateterisiert. Während der gesamten Untersuchung wurden die perikranielle Temperatur, die arteriellen Blutgase und der arterielle pH konstant gehalten. Nach Abschluss der Präparation wurde die Gabe von Isofluran beendet und die Tiere randomisiert einer der folgenden zwei Behandlungsgruppen zugeteilt. Gruppe 1 (n = 20, Kontrolle): 25 µg/kg/h Fentanyl i.v. und N₂O/O₂ (FiO₂ = 0,33); Gruppe 2 (n = 20, Propofol): 0,8-1,2 mg/kg/min Propofol und O₂ in Raumluft (FiO₂ = 0,33). Die zerebra-

le Ischämie wurde durch hämorrhagische Hypotension (arterieller Mitteldruck 40 mmHg) und Okklusion der rechten A. carotis über 45 min herbeigeführt. Anschließend wurden die Tiere randomisiert einem postischämischen Untersuchungszeitraum von 1, 3, 7 oder 28 Tagen zugewiesen (n = 5 pro Gruppe). Nach Beendigung des Beobachtungszeitraums wurden die Gehirne entnommen und bei -70°C eingefroren. In 7 µm Hirnschnitten wurde im Hippokampus der nekrotische Schaden mittels HE-Färbung bestimmt. Aktivierte Caspase-3 wurde als Marker des apoptotischen Zellschadens immunhistochemisch nachgewiesen. Zusätzlich wurde die Intensität des pro-apoptotischen Proteins Bax mittels Immunfluoreszenz gemessen. Die statistische Analyse erfolgte mittels 2-Wege-ANOVA und post-hoc Analyse mittels T-test ($p < 0,05$).

Ergebnisse

Über den gesamten Beobachtungszeitraum waren 20 - 30% der Neurone des Hippokampus in der Kontrollgruppe nekrotisch (eosinophil), mit einem Maximum am siebten postischämischen Tag. Die mit Propofol behandelten Tiere zeigten zu keinem Zeitpunkt nekrotische Neurone. Der Anteil Caspase-3 positiver Zellen (Apoptose-Marker) lag in beiden Gruppen bei ca. 1%. Die Proteinkonzentration von Bax war über den gesamten Beobachtungszeitraum in der Kontrollgruppe um 100% höher, verglichen mit dem Hirngewebe Propofol-anästhesierter Tieren.

**Interpretation**

Propofol kann über einen Zeitraum von einem Monat den nekrotischen Zellschaden nach zerebraler Ischämie reduzieren. Dies widerlegt die Annahme, dass Anästhetika den Zellschaden nur kurzfristig hinauszögern, jedoch nicht längerfristig verhindern können [3]. In Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen supprimiert Propofol zwar die Expression des pro-apoptotischen Proteins Bax [2], kann jedoch nicht den apoptotischen Zelluntergang verhindern (Anzahl der Caspase-3 positiven Zellen in beiden Gruppen gleich). Die Aussagefähigkeit bezüglich Apoptose wird allerdings durch den geringen Anteil apoptotischer Zellen in dem vorliegenden Ischämiedeck eingeschränkt. Die Ergebnisse legen nahe, dass Propofol langfristig über die Reduktion von Nekrose und nicht über anti-apoptotische Mechanismen neuroprotektiv wirkt.

Literatur

- Kochs E, Hoffman WE, Werner C, Thomas C, Albrecht RF, Schulte am Esch J: The effects of propofol on brain electrical activity, neurologic outcome, and neuronal damage following incomplete ischemia in rats. *Anesthesiology* 1992; 76: 245-252
- Engelhard K, Werner C, Eberspächer E, Bachl M, Hutzler P, Kochs E: The effect of propofol on apoptosis-regulating proteins after cerebral ischemia in the rat. *Anesth Analg* 2002; 94: S-176
- Kawaguchi M, Kimbro J, Drummond J, Cole DJ, Kelly P, Patel P: Isoflurane delays but does not prevent cerebral infarction in rats subjected to focal ischemia. *Anesthesiology* 2000; 92: 1335-13342.

Der 5-HT_{4α}-Rezeptor ist in der Ventralen Respiratorischen Gruppe juveniler Ratten nachweisbar, und seine Stimulierung erhöht die spontane respiratorische Aktivität

U. Guenther¹, T. Manzke², D. W. Richter² und D. Kettler¹

¹ Zentrum Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin, Georg-August-Universität Göttingen

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

Fragestellung

Serotonin (5-HT) übt über verschiedene Rezeptor-Subtypen und intrazelluläre Signalwege unterschiedliche Effekte auf Spontanatmung aus. Es sollte daher untersucht werden, ob der 5-HT_{4α}-Rezeptor im Pre-Boetzinger-Komplex (PBC) exprimiert wird. Der PBC ist ein Teil der ventralen respiratorischen Gruppe (VRG), der eine Schlüsselrolle bei der Generierung des Atemrhythmus zugeschrieben wird [1]. Um die physiologische Relevanz zu überprüfen, wendeten wir den selektiven 5-HT_{4α}-Agonisten BIMU-8 in einer perfundierten Hirnstamm-Rückenmark-Präparation an. Dieses Modell produziert eine spontane Atemaktivität (PN_{min}) und erlaubt die simultane Untersuchung nozizeptiver spinaler Reflexe [2].

Methodik

1. Es wurden unter Verwendung eines selbst hergestellten immunocytochemischen polyclonalen 5-HT_{4α}-R-Antikörpers [3] Dreifachfärbungen des Hirnstamms in Höhe des PBC angefertigt und mit Hilfe eines konfokalen Laserscannmikroskops analysiert.
 2. Unter Berücksichtigung der Tierschutzbestimmungen wurden neun Ratten (p21-28, 55-111g) unter Halothannarkose decerebriert und transaortal perfundiert (aCSF + Carbogen 5% CO₂ / 95% O₂, pH = 7.3 ± 0.05). Der N. medianus der linken Vorderpfote wurde mit einer bi-polaren Elektrode stimuliert (5-10V, 0.2ms, 0.1Hz über 200s) und die motorische Aktivität eines Asts des kontralateralen N. thoracodorsalis als spinaler C-Faser-Reflex (CFR) mit einer Saugelektrode abgeleitet und gemittelt. Parallel wurde als Maß für die Atmung die Aktivität des N. phrenicus (PN) als Fläche unter der Kurve des integrierten Signals über eine Minute (PN_{min}) erfasst. BIMU-8 wurde in steigenden Konzentrationen alle 20 min kumulativ dem Perfusionsbad zugegeben. PN_{min} wurde alle 15 min und CFR alle 18 min bestimmt.

Ergebnisse

5-HT_{4α}-R werden im Bereich des N. ambiguus und in respiratorischen Zellen des PBC exprimiert. BIMU-8 ab 0.3 μM erhöhte PN_{min} um 34.8 ± 13.3% (n = 6, MW ± SE, p < 0.05, t-Test). Ein Anheben der Konzentration verstärkte PN_{min} noch weiter (1 μM + 59.9 ± 19.7%, n = 9; 3 μM + 67.4 ± 19.5%, n = 8; 10 μM + 64.9 ± 19.5%, n = 9; alle p < 0.05 jeweils als Vergleich zum Ausgangswert). Gleichzeitig wurde der CFR durch BIMU-8 abgeschwächt (0.3 μM BIMU-8 -23.4 ± 6.1%, n = 6; 1 μM -29.7 ± 8.1%, n = 9; 3 μM -29.3 ± 9.3%, n = 8; 10 μM -36.0 ± 11.4%, n = 9; alle p < 0.05).

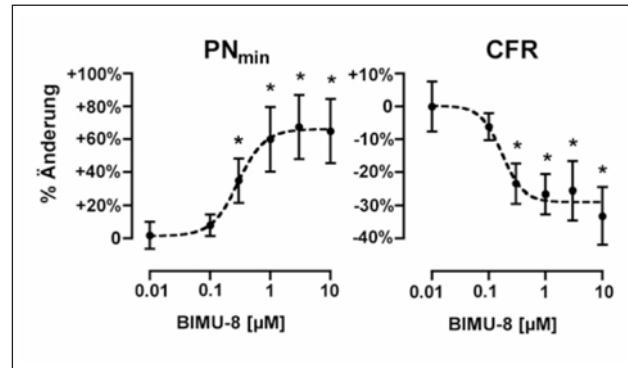


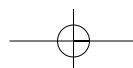
Abbildung 1

Interpretation

- Die vorliegenden Ergebnisse zeigen zum ersten Mal die Expression von 5-HT_{4α}-R im respiratorischen Netzwerk eines Säugetiers.
- Der Einsatz von BIMU-8 zeigt, dass die Aktivierung von 5-HT_{4α}-R zu einer ausgeprägten Stimulierung respiratorischer Spontanaktivität führt und dass 5-HT_{4α}-R offenbar eine Bedeutung im nozizeptiven System haben.
- Weitergehende Untersuchungen müssen die Rolle von 5-HT_{4α}-R im respiratorischen Netzwerk klären.

Literatur

- Smith, JC et al.: Pre-Boetzinger complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science* 1991; 254: 726-729
- Günther U et al.: Schwächen 5-HT1A-Agonisten die antinozizeptive Wirkung von Fentanyl ab? *Anästh. Intensivmed.* 2002; 43: 686
- Ponomaskin EG et al.: 5-Hydroxytryptamine 4(a) receptor expressed in Sf9 cells is palmitoylated in an agonist-dependent manner. *Biochem J* 2001; 353 (Pt 3) 627-634.



Abstracts

Wie beeinflusst Propofol die Sprachverarbeitung? Untersuchungen mit Hilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie

W. Heine¹, C. J. Fiebach², M. Meyer³, C. Schwarzbauer⁴, D. Olthoff¹ und K. Alter²

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universität Leipzig

² Max-Planck-Institut für neuropsychologische Forschung, Leipzig

³ Centre for Functional Imaging Studies, Institute for Adaptive and Neural Computation, University of Edinburgh, Scotland (UK)

⁴ MRC Cognition and Brain Sciences Unit, Cambridge (UK)

Fragestellung

Korrektes Sprachverständnis während einer Anästhesie ist ein seltenes, aber mögliches Phänomen [1]. Es setzt eine Reihe von Subprozessen, vermittelt in kortikalen Strukturen eines fronto-temporalen Netzwerks, voraus [2]. Die vorgelegte Studie soll klären, wie Anästhetika dieses Netzwerk beim Übergang vom Wachzustand zur Bewusstlosigkeit beeinflussen, sowie welche Netzwerkteile unter einer Anästhesie noch aktiv sein können.

Methodik

Wir untersuchten an 12 männlichen Probanden den Einfluss von Propofol auf die durch eine Sprachverarbeitungsaufgabe induzierte Hirnaktivierung mittels ereigniskorrelierter funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRI). Das Experiment bestand aus 3 Blöcken von je 10 Minuten: Wachzustand (Block 1), langsame Einleitung der Anästhesie mit 3 mg/kg/Körperfewicht Propofol (Block 2) und Aufrechterhaltung der Anästhesie mit 3 mg/kg/h Propofol (Block 3). Während des Experiments hörten die Probanden in zufälliger Reihenfolge normale Sätze und Pseudowortsätze. Aufgabe war es, beide Satztypen zu unterscheiden. Als Zeitpunkt des Bewusstseinsverlusts (BV) wurde das Ausbleiben der Reaktion auf die Sätze betrachtet. Da bei allen Probanden im Block 2 der BV auftrat, wurde dieser Block für die fMRI-Datenanalyse geteilt (Block 2 prä-BV; Block 2 post-BV).

Ergebnisse

Abbildung 1 zeigt die erwartete fronto-temporale Aktivierung im Wachzustand im Vergleich zu einer Ruhebedingung ($z > 3,1$; $p < 0,001$). Im Block 2 trat im Mittel nach 5,1 Min. der Bewusstseinsverlust ein. Vor dem Bewusstseinsverlust kam es in einer Region, dem frontalen Operculum rechts, zu einer signifikanten Abnahme der Aktivierung. Verlust

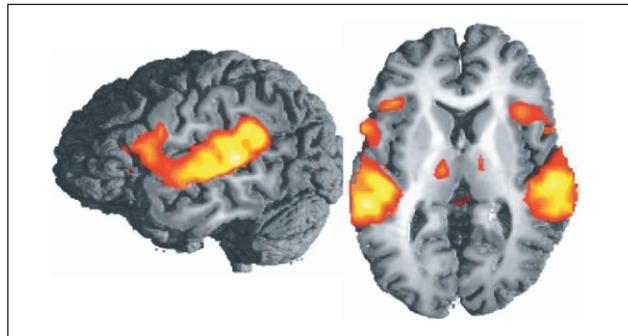


Abbildung 1: Block 1.

des Bewusstseins führte im gesamten Netzwerk zu einer deutlichen Reduktion der Aktivierung. Allerdings ließ sich auch nach dem Bewusstseinsverlust eine signifikante bilaterale Aktivierung im Gyrus temporalis superior (primär auditorischer Kortex beidseits, Planum temporale re.) nachweisen (Abb. 2). Im Block 3 fanden wir keine signifikante Aktivierung in Sprachnetzwerken. Abbildung 3 zeigt den zeitlichen Verlauf des Aktivierungsunterschieds zwischen der Sprachaufgabe und der Ruhebaseline (in arbiträren Kontrastwerten \pm Standardfehler, gemittelt über 12 Probanden) für fünf ausgewählte Regionen (Block 1: schwarze Säulen; Block 2 prä-BV: dunkelgraue Säulen; Block 2 post-BV: hellgraue Säulen; Block 3: weiße Säulen). Frontal kommt es im Block 2 bereits vor dem Bewusstseinsverlust zu einer Aktivierungsabnahme. Diese wird im auditorischen Kortex erst nach dem Bewusstseinsverlust signifikant.

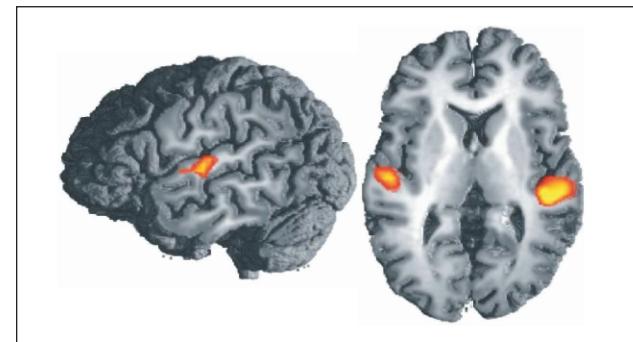


Abbildung 2: Block 2 post BV.

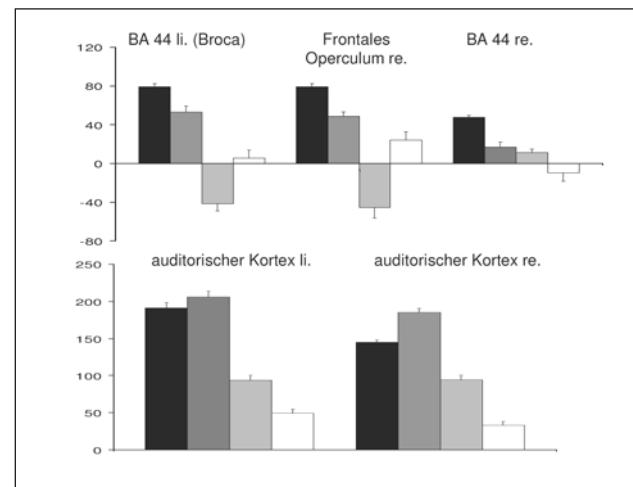


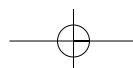
Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf des Aktivierungsunterschiedes.

Interpretation

- Nach dem Bewusstseinsverlust ist akustische Informationsverarbeitung in auditorischen Kortizes möglich.
- Propofolanästhesie führt zu einer sequentiellen Abnahme der funktionellen Aktivierung im untersuchten Netzwerk.
- Im Vergleich zum auditorischen Kortex reagieren frontale Anteile des Netzwerkes empfindlicher auf Propofol. Diesem Phänomen können sowohl unterschiedliche Empfindlichkeiten der neuronalen Prozesse als auch regionale hämodynamische Unterschiede in der Reaktion auf Propofol zugrunde liegen.

Literatur

- Schwender D, Kunze-Kronawitter H, Dietrich P, Klasing S, Forst H, Madler C: Conscious awareness during general anaesthesia: patients' perception, emotions, cognition and reactions. Brit J Anaesth 1998; 80:133-139
- Friederici AD: Towards a neural basis of auditory sentence processing. Trends Cogn Sci 2002; 6:78-84.



Unbewusste Wahrnehmung bei Patienten im Operationssaal unter Allgemeinanästhesie: Eine Studie mit Ereigniskorrelierten Potentialen

M.A.F. Groß¹, W. Nager², F. Schalk³, S.A. Piepenbrock¹, T.F. Münte³ und S. Münte¹

¹ Klinik für Anästhesiologie und Spezielle Schmerztherapie, Medizinische Hochschule Hannover

² Klinik für Neurologie mit Klinischer Neurophysiologie, Medizinische Hochschule Hannover

³ Institut für Psychologie II, Neuropsychologie, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Fragestellung

Das Phänomene der unbewussten Wahrnehmung und damit verbundener Gedächtnisleistungen wurde bereits mehrfach beschrieben [1]. Die Ableitung des Elektroenzephalogramms erlaubt unter bestimmten Voraussetzungen die Berechnung von Ereigniskorrelierten Potentialen (EKP). Eine Reihe von Komponenten des EKP konnten am wachen Probanden als Marker für spezifische Wahrnehmungsprozesse identifiziert werden [2]. Eine EKP-Komponente, die u.a. auch als Marker für eine unbewusste Verarbeitung akustischer Signale herangezogen werden kann, ist die „Mismatch negativity“ (MMN). Sie zeigt die automatische Detektion akustischer Signale an. Das Ziel dieser Studie war zu untersuchen, ob sich unter verschiedenen Narkoseformen im EEG eine MMN als Hinweis auf die unbewusste Verarbeitung akustischer Signale im Operationssaal findet.

Methodik

32 Patienten (ASA I o. II) ohne neurologische Vorerkrankungen, die sich einem traumatologischen Eingriff unterziehen mussten, wurden konsekutiv in 2 Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 erhielt eine Desfluran/Alfentanil Narkose, Gruppe 2 erhielt eine Propofol(TCI)/Alfentanil Narkose. Mittelwerte der Narkosemittel: Gruppe 1: Desfluran 5,96%, SD 0,168, Alfentanil 0,091 mg/kg, SD 0,028. Gruppe 2: Propofol 4,135 µg/ml, SD 1,054, Alfentanil 0,109 mg/kg, SD 0,03. Differenz des Analgetikaverbrauchs zwischen den Gruppen nicht signifikant ($p > 0,05$). EEG: 8 Ableitungspunkte nach 10/20-System. Die Präsentation der Stimuli (Standard: Sinuston 1500 Hz, 60 ms. Starke Abweichung: Dev+Freq 800 Hz, 60 ms, Dev+Dauer 1500 Hz, 15 ms, schwache Abweichung: Dev-Freq 1460 Hz, 60 ms, Dev-Dauer 1500 Hz, 30 ms, Frequenz der Abweichungen 20%, pro Abweichung 300 Stimuli) erfolgte über Kopfhörer. Akustische Stimulation und Ableitung des EEGs begannen mit Hautschnitt. Die Berechnung der MMN erfolgte im Anschluss an die Aufzeichnung der Daten.

Ergebnis

Die Analyse der Daten zeigt, dass eine MMN unter Propofolnarkose nachweisbar ist, jedoch nicht unter Desflurannarkose. Die Berechnung MMN erfolgte zunächst getrennt für die Stimulusgruppen Dev+Freq, Dev+Dauer, Dev-Freq und Dev-Dauer, wobei sich in beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede im Kurvenverlauf im Vergleich zu den Standard-Stimuli fanden. Bei Berechnung der MMN unter Einschluss aller stark abweichenden Stimuli (Dev+Freq, Dev+Dauer) zeigte sich eine MMN unter Propofolnarkose ($p(\text{Standard}/\text{Deviant}) < 0,05$). Für schwach abweichende Stimuli fanden sich keine signifikanten Effekte.

Schlussfolgerung

Elektrophysiologisch finden sich in dem vorhandenen Datensatz Hinweise für eine unbewusste Wahrnehmung unter Propofolnarkose. Unter Desflurannarkose fanden sich keine solchen Hinweise. Dieser Befund deckt sich mit klinischen Untersuchungen ohne EEG [3]. Weitere Untersuchungen zum Einfluss dieses Befundes auf Gedächtnisleistungen sowie der Abhängigkeit von Narkoseform und Dosis sind notwendig.

Literatur

1. Ghoneim MM, Block RI: Learning and memory during general anesthesia: an update. *Anesthesia* 1997; 87: 387-410
2. Rugg MD: ERP studies of memory. In Rugg, MD and Coles MGH (Ed). *Electro-physiology of Mind - Event-related Brain Potentials and Cognition*. Oxford University Press 1996
3. Münte S, Lüllwitz E, Leuwer M, Mitzlaff B, Münte TF, Hussein S, Piepenbrock SA: No implicit Memory for Stories played during isoflurane/alfentanil/nitrous oxide anesthesia: A reading speed measurement. *Anesth Analg* 2000; 90: 733-738.

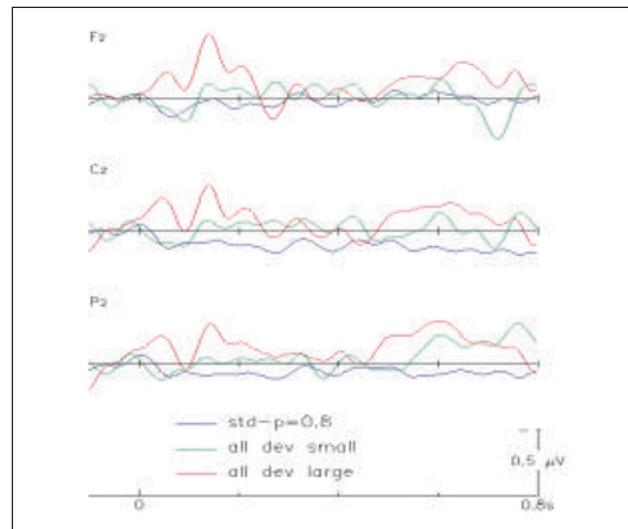


Abbildung 1: Gruppe 1: Desfluran.

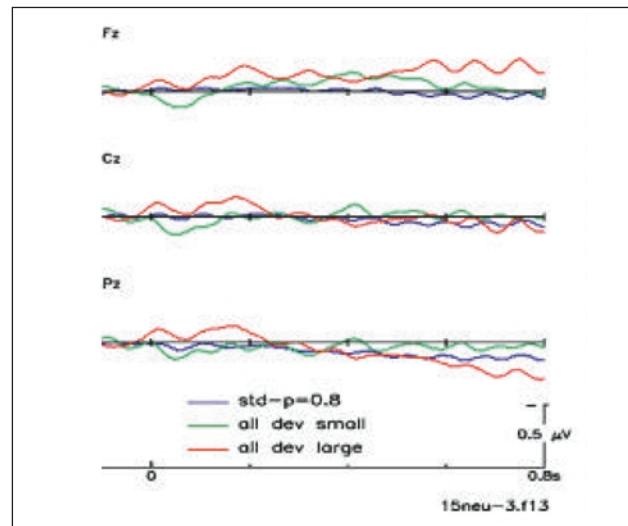
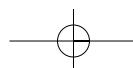


Abbildung 2: Gruppe 2: Propofol.



Abstracts

Minimal-invasiver Provokationstest mit Koffein und Halothan zur Diagnose einer Disposition zur Malignen Hyperthermie und mutationsspezifische Effekte*

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

Klinik für Anaesthesiologie der Universität Würzburg

Fragestellung

Koffein und Halothan steigern bei Patienten mit Veranlagung zur malignen Hyperthermie (MH) die sarkoplasmatische Ca^{2+} -Freisetzung [1] und induzieren mutationsspezifische Kontrakturen im in-vitro-Kontrakturtest [2]. Kürzlich stellten wir einen metabolischen Kohlendioxid-Provokationstest mit Koffein vor [3]. Dieses Verfahren wurde um die intra-muskuläre Laktatmessung mit lokaler Koffein- und Halothan-Applikation erweitert und validiert. Die maximalen Laktatkonzentrationen wurden abhängig von der amino-terminalen oder zentralen Lokalisation der MH-Mutation im Ryanodin-Rezeptor verglichen.

Methodik

Mit Genehmigung der Ethikkommission untersuchten wir 22 MH-veranlagte (MHS), 23 nicht MH-veranlagte (MHN) und 9 Kontroll-Probanden. Bei 14 MHS-Probanden wurde eine MH-spezifische Mutation (G1021A x 2, C1840T x 5, G6617T x 2, G7300A x 5) nachgewiesen. Mikrodialyse-(MD)-Sonden im M. rectus femoris wurden mit 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ Ringer-Lösung perfundiert. Nach Äquilibrierung wurden 250 μl Koffein 80 mM an die Spitze der ersten MD-Sonde injiziert. Die zweite MD-Sonde wurde mit Halothan 10 Vol% in Sojabohnen-Öl perfundiert. Im Dialysat wurde Laktat indirekt photometrisch analysiert. An einer intramuskulären pCO₂-Messsonde wurden nach Äquilibrierung 500 μl Koffein 80 mM injiziert. Hämodynamische (Puls, Blutdruck) und metabolische (pH_v, BE_v, pCO₂) Parameter sowie das Schmerzempfinden (VAS 1-10) wurden intermittierend gemessen. Myoglobin und Kreatinkinase (CK) wurden vor, unmittelbar nach und 24 h nach dem Experiment untersucht. Messwerte als Median und Quartile; statistische Auswertung mittels Kruskal-Wallis-Test und U-Test mit $p < 0,05$.

Ergebnisse

MHS-, MHN- und Kontroll-Gruppe unterschieden sich nicht in Alter, Größe und Gewicht. Bei vergleichbaren basalen Laktatwerten erhöhten Koffein und Halothan die intramuskuläre Laktatkonzentration bei MHS-Probanden signifikant stärker als bei MHN- und Kontroll-

Probanden (Tab. 1). In Kombination mit der intramuskulären pCO₂-Messung unter Koffein-Stimulation erreicht dieser metabolische Provokationstest eine Sensitivität und Spezifität von 95% bezogen auf den in-vitro-Kontrakturtest.

Bei Probanden mit MH-Mutationen am amino-terminalen Teil des RYR1 induzierte Koffein einen signifikant höheren Laktatanstieg als bei Mutationen in der Zentralregion, während Halothan einen signifikantem geringeren Anstieg auslöste (Tab. 2).

MHS-Probanden empfanden nach Triggerapplikation stärkere Schmerzen als MHN und Kontrollen. Die CK stieg nach 24 h bei MHS mit 204 (142 - 347) U/l stärker als bei MHN und Kontrollen mit 67 (40 - 96) U/l und 46 (36 - 53) U/l. Hämodynamische und metabolische Parameter unterschieden sich nicht.

Schlussfolgerung

Koffein und Halothan erhöhen die lokale Laktatkonzentration nach intramuskulärer Gabe bei MH-Veranlagten in Folge einer lokalen hypermetabolen Reaktion. Klinisch relevante Nebenwirkungen treten nicht auf. In Kombination mit der pCO₂-Messung [3] scheint ein minimal-invasiver Provokationstest zur Diagnose einer MH-Disposition in greifbarer Nähe, sobald multizentrische Untersuchungen diese Ergebnisse bestätigen. Unterschiedlich starke Laktatanstiege in Abhängigkeit von der Lokalisation der Mutation im amino-terminalen oder zentralen Teil des RYR1 bestätigen einen mutationsspezifischen Effekt. Dies könnte bei der Suche nach einer MH-spezifischen Mutation von Nutzen sein.

Literatur

- Tong J, Oyamada H, Demaurex N, et al: J.Biol.Chem. 1997; 272: 26332-26339
- Robinson RL, Brooks C, Brown SL et al: Hum Mut 2002; 20:88-97
- Anetseder M, Hager M, Müller CR, et al: Lancet 2002; 359:1579-80.

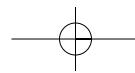
Tabelle 1: Maximale Laktatkonzentration nach intramuskulärer Applikation von Koffein bzw. Halothan und maximaler pCO₂-Anstieg nach Koffein-Applikation bei MHS-, MHN- und Kontrollprobanden. Median und Quartile. * MHS vs. MHN; # MHS vs. Kontrolle mit $p < 0,05$.

Diagnose	n	Laktat (mM) nach Koffein	Laktat (mM) nach Halothan	max CO ₂ -Anstieg (mmHg/h) nach Koffein
MHS	22	4,8*# (2,5 - 8,6)	3,4*# (2,5 - 5,2)	93*# (54 - 105)
MHN	23	1,5 (1,2 - 1,9)	1,9 (1,5 - 2,2)	4,5 (-0,5 - 8,9)
Kontrolle	9	1,9 (1,7 - 2,1)	1,4 (1,4 - 2,3)	1,9 (1,3 - 7,8)

Tabelle 2: Maximale Laktatkonzentration bei MHS-Probanden mit Mutation am Amino-Terminal (G1021A, C1840T) bzw. in der Zentralregion (G6617T, G7300A) des Ryanodin-Rezeptors nach intramuskulärer Applikation von Koffein bzw. Halothan. Median und Quartile. *Mutation_{Amino-Terminal} vs. Mutation_{Zentralregion} mit $p < 0,05$.

MH-Mutation	n	Laktat (mM) nach Koffein	Laktat (mM) nach Halothan
Mutation _{Amino-Terminal}	7	8,0* (6,0 - 9,2)	2,4* (2,3 - 3,3)
Mutation _{Zentralregion}	7	3,0 (1,9 - 4,8)	5,1 (3,2 - 5,7)

* Der Erstautor ist Gewinner des Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung.



"Ecstasy" kann eine Maligne Hyperthermie beim suszeptiblen Schwein auslösen

M. Fiege, F. Wappler, R. Weißhorn, M. U. Gerbershagen, M. Menge und J. Schulte am Esch
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg

Fragestellung

Hyperthermie, Muskelrigidität und metabolische Azidose sind typische Symptome einer akuten und potentiell letalen Intoxikation mit 3,4-Methylendioxymethamphetamin (MDMA, „Ecstasy“) [1]. Die Maligne Hyperthermie (MH) ist eine genetisch determinierte Myopathie, bei der durch Gabe von bestimmten Triggersubstanzen ein lebensgefährliches hypermetaboles Syndrom ausgelöst werden kann [2]. Aufgrund der ähnlichen klinischen Symptomatik wurde ein Zusammenhang zwischen der MDMA-Intoxikation und der MH vermutet [3]. In der vorliegenden Untersuchung wurde daher bei MH-suszeptiblen (MHS) und MH-normalen (MHN) Schweinen geprüft, ob MDMA ein Trigger der MH ist und Dantrolen eine effektive Therapie ermöglicht.

Methodik

Nach Genehmigung durch die Tierschutzkommision wurde bei 6 MHS- und 6 MHN-Schweinen eine MH-triggerfreie Allgemeinanästhesie durchgeführt. Die Anästhesie wurde durch intramuskuläre Gabe von 10 mg/kg Ketamin (Ketavet®, Pharmacia & Upjohn, Erlangen) eingeleitet und durch intravenöse Gabe von 10 mg/kg Propofol (Disopripan® 2%, Astra-Zeneca, Wedel) sowie 10 µg/kg Fentanyl (Fentanyl-Janssen®, Janssen-Cilag, Neuss) vertieft. Anschließend wurde die Anästhesie durch kontinuierliche Zufuhr von 10 mg/kg/h Propofol und 50 µg/kg/h Fentanyl aufrechterhalten.

Nach einer Stabilisierungsphase von mindestens 30 Minuten wurde den Tieren alle 20 Minuten MDMA in ansteigenden Dosierungen (0,5 – 1 – 2 – 4 – 8 – 12 mg/kg) injiziert. Die Diagnose einer MH-Krise wurde gestellt, wenn zwei von drei definierten Kriterien erfüllt waren: venöser CO₂-Partialdruck (pCO₂) ≥ 75 mmHg, venöser pH ≤ 7,20, Anstieg der Körpertemperatur ≥ 2,0 °C. Sobald bei den Tieren die MH-Kriterien erfüllt waren, wurde eine standardisierte Therapie mit Gabe von 5 mg/kg Dantrolen, 1 mmol/kg Natriumbikarbonat und Hyperventilation (zweifaches Atemminutenvolumen) mit einem FiO₂ von 1,0 durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte nach Prüfung auf Normalverteilung mittels Varianzanalyse und post-hoc-Test nach Scheffé sowie dem U-Test nach Mann und Whitney ($p < 0,05$).

Ergebnisse

Die Gabe von 8 mg/kg MDMA löste bei allen MHS-Schweinen eine MH-Krise entsprechend den definierten Kriterien aus (Tab. 1). Fünfzehn Minuten nach Therapiebeginn mit Dantrolen, Natriumbikarbonat und Hyperventilation hatten der pCO₂ und der pH wieder das Ausgangsniveau erreicht. Die MHN-Tiere zeigten nach Gabe von 8 mg/kg MDMA ebenfalls klinische Zeichen eines hypermetabolen Syndroms, diese waren jedoch im Vergleich zu den MHS-Tieren moderat (Tab. 1). Den MHN-Schweinen wurde daher 12 mg/kg MDMA injiziert, die Kriterien für eine MH-Krise wurden allerdings von keinem der MHN-Schweine erfüllt, eine standardisierte Therapie (s.o.) deshalb nicht durchgeführt.

Interpretation

In der vorliegenden Untersuchung wurde erstmals nachgewiesen, dass MDMA ein Trigger der MH beim suszeptiblen Schwein ist. Es ist daher zu vermuten, dass bei Patienten mit einem MDMA-induzierten hypermetabolen Syndrom in Einzelfällen eine MH vorliegen könnte. Daher sollten einerseits MHS-Patienten die Einnahme von MDMA strikt vermeiden und andererseits Patienten mit einem MDMA-induzierten hypermetabolen Syndrom in der Eigen- oder Familienanamnese einer MH-Diagnostik zugeführt werden. Dantrolen war in der Therapie der MDMA-induzierten MH wirksam, ein Therapieversuch mit Dantrolen bei Patienten mit MDMA-Intoxikation ist daher indiziert.

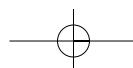
Literatur

- Kalant H: The pharmacology and toxicology of "ecstasy" (MDMA) and related drugs. CMAJ 2001; 165: 917-928
- Wappler F: Malignant hyperthermia. Eur J Anaesthesiol 2001; 18: 632-652
- Dar KJ, McBrien ME: MDMA induced hyperthermia: report of a fatality and review of current therapy. Intensive Care Med 1996; 22: 995-996.

Tabelle 1: MH-Kriterien vor und nach Gabe von MDMA bei 6 MHS- und 6 MHN-Schweinen und nach standardisierter Therapie bei 6 MHS-Schweinen.

	Ausgangswert		8 mg/kg MDMA		Therapie MHS
	MHS	MHN	MHS	MHN	
pCO ₂ (mmHg)	44,5 ± 1,4	44,6 ± 2,1	78,7 ± 1,8 *†	60,8 ± 4,7 †	47,4 ± 7,0 #
pH	7,44 ± 0,03	7,42 ± 0,02	7,19 ± 0,03 *†	7,28 ± 0,03 †	7,41 ± 0,07 #
Temperatur (°C)	38,6 ± 0,2	38,5 ± 0,2	40,3 ± 0,7 *†	39,2 ± 0,3 †	40,0 ± 0,7 †

Mittelwerte ± SD. * $p < 0,05$ vs. MHN, † $p < 0,05$ vs. Ausgangswert, # $p < 0,05$ vs. vor Therapie.



Abstracts

Eignet sich die Accelerometrie zur Prädiktion respiratorischer Effekte einer residualen neuromuskulären Blockade?

M. Eikermann, H. Groeben und J. Peters

Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Essen

Fragestellung

Eine postoperative residuale neuromuskuläre Blockade erhöht das Risiko pulmonaler Komplikationen [1], kann jedoch weder mit den Sinnen des Anästhesisten alleine noch unter Zuhilfenahme eines Nervenstimulators zuverlässig ausgeschlossen werden [2]. Wir testeten den prädiktiven Wert der Accelerometrie (ACM) des M.adductor pollicis im Hinblick auf Effekte der Relaxierung auf die respiratorische Funktion.

Methoden

Nach Zustimmung der Ethikkommission wurde bei 12 wachen Probanden Rocuronium ($0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} + 2 - 10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) injiziert und klinische Muskelfunktionstests (5 s Kopf heben, Mundstück des Spirometers abdichten, Schlucken) während 'steady state' Relaxierung (TOF-ratio: 0.5 und 0.8) durchgeführt. Zudem erfolgten alle 5 Minuten bis zur kompletten Erholung (TOF-Ratio = 1.0) spirometrische Messungen (FVC, FEV₁, FIV₁). Ein Quotient von maximalem ex- und inspiratorischen Fluss bei 50% der Vitalkapazität (MEF₅₀/MIF₅₀-ratio) von mehr als 1 wurde als obere Atemwegsobstruktion (OAO) definiert [3]. Statistik: Lineare Regression, McNemar-Test, $p < 0.05$.

Ergebnisse

Bei Relaxierung (TOF-Ratio: 0.5 ± 0.16 , $M \pm \alpha$) war der forcierte inspiratorische Fluss (FIV₁: $53 \pm 19\%$ des Ausgangswertes) stärker vermindert als der forcierte expiratorische Fluss (FEV₁: $75 \pm 20\%$). 11 von 12 Probanden konnten trotz Relaxierung den Kopf länger als 5 s heben und ein 'Fade' nach TOF-Stimulation des M.adductor pollicis war nur bei einem Probanden sichtbar. Demgegenüber traten bei den meisten Probanden sowohl eine OAO (MEF₅₀/MIF₅₀-Ratio: 1.18 ± 0.6) als auch Schluckstörungen auf, letztere waren auch bei minimaler neuromuskulärer Blockade (TOF-Ratio = 0.83 ± 0.06) nachweisbar (Tab. 1).

Wir errechneten, dass schon bei einer TOF-ratio von 0.56 [0.22 - 0.71] (MW [95%CI]) eine "akzeptable" (> 90% des Ausgangswertes) Erholung der forcierten Vitalkapazität (FVC) erwartet werden kann, die FIV₁ jedoch bis zu einer TOF-ratio von 0.95 [0.82 - 1.18] beeinträchtigt bleibt.

Eine TOF-Ratio von 1 verspricht eine 93%ige, 73%ige bzw. 88%ige Wahrscheinlichkeit einer adäquaten FVC, FIV₁ bzw. MEF₅₀/MIF₅₀-Ratio (negativer prädiktiver Wert).

Interpretation

Selbst ohne Anästhesieeffekte bestehen bei minimaler neuromuskulärer Blockade (TOF-Ratio = 0.8) häufig eine messbare Beeinträchtigung des inspiratorischen Flusses und eine OAO. Während bei einer TOF-Ratio von 1 mit hoher Wahrscheinlichkeit eine relevante neuromuskuläre Blockade ausgeschlossen werden kann, ist dennoch bei einzelnen Patienten mit einer Beeinträchtigung der respiratorischen Funktion zu rechnen.

Literatur

- Berg H, et al: Residual neuromuscular block is a risk factor for postoperative pulmonary complications. A prospective, randomised, and blinded study of postoperative pulmonary complications after atracurium, vecuronium, and pancuronium. *Acta Anaesth Scand* 1997; 41:1095-1103
- Pedersen T et al: Does perioperative tactile evaluation of the train-of-four response influence the frequency of postoperative residual neuromuscular blockade? *Anesthesiology* 1990; 73:835-9
- Melissant CF et al: Rigid external resistances cause effort dependent maximal expiratory and inspiratory flows. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:1709-12.

Tabelle 1: Muskelfunktion während neuromuskulärer Blockade, $n = 12$, $p < 0.05$ vs. TOF-Ratio 1.02 ± 0.01 .

TOF-Ratio	Kopf heben > 5 s beeinträchtigt	Abdichten Mundstück beeinträchtigt	Schlucken beeinträchtigt	"Fade"-Phänomen sichtbar	Obstruktion der oberen Atemwege
0.5 ± 0.16	1	11*	10*	1	8*
0.83 ± 0.06	0	5	7*	0	4
1.02 ± 0.01	0	1	1	0	1

Mechanismus der Hämoxxygenase-1-Induktion durch Isoflurane in der Leber der Ratte

A. Hoetzl, D. Leitz, R. Schmidt, T. Loop, M. Humar, K. Geiger und B. H. J. Pannen

Anästhesiologische Universitätsklinik Freiburg

Fragestellung

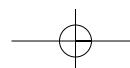
Das Enzym Hämoxxygenase (HO) katalysiert den Abbau von prooxidativ wirkendem Häm. Dabei entsteht neben Biliverdin, einem Antioxidans, freies Eisen, ein Regulator der hepatozytären Genexpression, sowie Kohlenmonoxid (CO), ein portalen Vasodilatator.

Dieses Enzym und seine Produkte sind für die Funktion der Leber von zentraler Bedeutung [1]. Unter pathologischen Bedingungen können durch Präinduktion der HO Organ dysfunktionen und Störungen der Zellintegrität verhindert werden. Wir konnten in einer vorausgegan-

genen Untersuchung zeigen, dass volatile Anästhetika spezifisch und differentiell die HO-Typ I in der Leber induzieren können und somit einen möglichen Weg der HO-1-Präinduktion und Organprotektion darstellen [2]. Ziel dieser Untersuchung war es, einen Mechanismus der HO-1-Regulation durch volatile Anästhetika zu identifizieren.

Methodik

Nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium wurden Ratten im ersten Abschnitt der Untersuchung in eine der folgenden Gruppen



Wissenschaftliche Arbeitstage der DGAI

(n = 7) randomisiert: Gruppe 1: Kontrollen (Pentobarbitalnarkose, Aqua ad injectabile, 3 x 1 ml/kg i.v.); Gruppe 2: Isofluranenarkose (1,8 MAC, Aqua ad injectabile, 3 x 1 ml/kg i.v.); Gruppe 3: Isofluranenarkose + Fortecortin (3 x 4 mg/kg i.v.) und Gruppe 4: Isofluranenarkose + Gadoliniumchlorid (Inhibitor der Kupffer Zellfunktion; 10 mg/kg i.v., je 48 h und 24 h vor Versuchsbeginn). Im zweiten Abschnitt wurden die Tiere in eine der folgenden Gruppen (n = 7) randomisiert: Gruppe 5 (wie Gruppe 1); Gruppe 6 (wie Gruppe 2); Gruppe 7: Isofluranenarkose + Chelerythrine (Inhibitor der Protein-kinase C; 3 x 5 mg/kg i.v.); Gruppe 8: Isofluranenarkose + Quinacrine (Inhibitor der Phospholipase A₂; 3 x 5 mg/kg i.v.).

Die Anästhesie wurde bei allen Versuchstieren zur Anlage einer Schwanzvenenkanüle inhalativ mit Isoflurane eingeleitet. Danach wurden die Tiere in Gruppe 1 und 5 mit repetitiven Pentobarbitalboli und in den restlichen Gruppen mit Isoflurane anästhetisiert, tracheotomiert und die Arteria carotis katheretisiert. Die Versuche wurden unter Spontanatmung mit einer FiO₂ von 0,3 durchgeführt, wobei PaO₂ und PaCO₂ in allen Gruppen vergleichbar waren. 6 Stunden nach Versuchsbeginn wurde der HO-1 mRNA Gehalt in der Leber durch 'Northern Blotting' analysiert [Relative densitometrische Einheiten; RDE]. Die Ergebnisse sind als Median [25% / 75% Konfidenzintervall] dargestellt. Die statistische Auswertung erfolgte durch einfaktorielle Varianzanalysen (ANOVA) und Student-Newman-Keuls Posthoc-Tests (Signifikanzniveau p < 0,05).

Ergebnisse

Isoflurane induzierte eine Akkumulation von HO-1 mRNA in der Leber (Tab. 1). Dieser induktive Effekt wurde sowohl durch die zusätzliche Applikation von Fortecortin als auch durch die Gabe von Gadoliniumchlorid vollständig blockiert (Tab. 1). Im zweiten Abschnitt der Studie konnte gezeigt werden, dass auch durch die Applikation von Chelerythrine und von Quinacrine die Isoflurane-vermittelte Induktion der HO-1 gehemmt wurde (Tab. 1).

Interpretation

Isoflurane induziert die HO-1-Genexpression in der Leber der Ratte.

Diese Induktion der HO-1 kann sowohl durch Fortecortin als auch durch einen Inhibitor der Kupffer Zellfunktion blockiert werden. Da Fortecortin eine antiinflammatorische Wirkung besitzt und proinflammatorische Stimuli durch die Aktivierung von Kupffer Zellen die HO-1-Expression in Hepatozyten induzieren können, legen diese Befunde den Verdacht nahe, dass der Isoflurane-vermittelten HO-1-Expression ein inflammatorischer Signaltransduktionsweg zugrunde liegt. Sowohl die Proteinkinase C als auch die Phospholipase A₂ haben in der Genregulation durch inflammatorische Reize eine zentrale Übertragungsfunktion [3]. Ihre Blockade inhibierte die HO-1-Induktion durch Isoflurane. Die Befunde dieser Untersuchung wären damit vereinbar, dass Isoflurane über einen inflammatorischen Signaltransduktionsweg durch Vermittlung von Kupffer Zellen in Abhängigkeit von der Protein-kinase C und der Phospholipase A₂ zur Expression des HO-1-Gens in der Leber führt.

Literatur

- Pannen BHJ, 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* 1998; 102: 1220 - 1228
- Hoetzl A, Geiger S, Loop T, Welle A, Schmidt R, Humar M, Pahl HL, Geiger KK, Pannen BH: Differential effects of volatile anesthetics on hepatic heme oxygenase-1 expression in the rat. *Anesthesiology* 2002; 97: 1318 - 1321
- Terry CM, Clikeman JA, Hoidal JR, Callahan KS: TNF-alpha and IL-1alpha induce heme oxygenase-1 via protein kinase C, Ca²⁺, and phospholipase A₂ in endothelial cells. *Am J Physiol* 1999; 276: H1493 - H1501.

Dieses Projekt wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt (Sachbeihilfe PA 533/4-1 für B. Pannen und A. Hötzl und Heisenberg-Stipendium für B. Pannen PA 533/3 - 1).

Tabelle 1: HO-1 mRNA. Median (25%/75%KI). ANOVA, *p<0,05 vs. Kontrollen, # p<0,05 vs. Isoflurane.

	Kontrollen	Isoflurane	Isoflurane + Fortecortin	Isoflurane + Gadoliniumchlorid
HO-1 (RDE)	2,4 (1,2/2,9)	4,8 (4,0/10,9) *	0,7 (0,5/1,9) #	2,2 (1,1/3,1) #
	Kontrollen	Isoflurane	Isoflurane + Chelerythrine	Isoflurane + Quinacrine
HO-1 (RDE)	2,3 (2,0/2,4)	6,7 (4,6/17,3) *	2,4 (1,9/4,0) #	3,8 (2,4/6,1) #

Die Stimulation der Hämoxxygenase (HO) wirkt – unabhängig von Stickstoffmonoxid (NO) – hepatoprotektiv im frühen Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)

C. Wunder¹, O. Eichelbrönnner¹, N. Roewer¹ und R. Potter²

¹ Klinik für Anaesthesiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

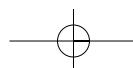
² Department of Medical Biophysics and Surgery, University of Western Ontario, London, Ontario (Kanada)

Fragestellung

Die Störung der Mikrozirkulation und die sinusoidale Leukozytenakkumulation tragen im SIRS zu einer Funktionseinschränkung der Leber bei. Eigene Untersuchungen mit Stimulation der HO (katalysiert den Abbau von Haem zu Kohlenmonoxid, Bilirubin und Fe⁺⁺) zeigten eine verbesserte Leberdurchblutung [1] und eine reduzierte Leukozyten-vermittelte Organschädigung im frühen SIRS [2]. Für die Leberdurchblutung und die Leukozytenaktivierung spielen aber auch NO und CO eine bedeutende Rolle. Ziel dieser Studie war es, mögliche synergistische Effekte der HO und NO auf die Mikrozirkulation und die Entzündungsreaktion im frühen SIRS zu untersuchen.

Methodik

C57BL/6 Mäuse (n = 42) wurden nach behördlicher Genehmigung mit Isofluran spontanatmend narkosiert (FiO₂: 0,4). Die linke A. carotis int. wurde zur Blutdruckmessung und die linke V. jug. ext. für die Infusionstherapie (0,4 ml/h NaCl 0,9%) zur Aufrechterhaltung eines normotensiven Blutdruckes kanüliert. Nach 60 min Ischämie beider Hinterläufe (Abbinden oberhalb des Trochanter major) folgte eine 3 h Reperfusionsphase. Die HO-Aktivität wurde durch Chromium Mesoporphyrin (CrMP; 2,5 µg/kgKG) kompetitiv gehemmt oder durch Haem (10 mg/kgKG) als Substrat induziert. Die NO-Bildung wurde mit N-Nitro-L-Arginin Methyl Ester (L-NAME; 5 mg/kgKG) gehemmt.



Abstracts

Nach der Reperfusion wurden mit der Intravitalvideomikroskopie die Rhodamine-6G markierten Leukozyten, die Gefäßdurchmesser und Blutflussgeschwindigkeiten in den Lebersinusoiden erfasst. Propidium Iodide (PI) markierte Hepatozyten dienten als Maß für die Leberzell-schädigung. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Varianzanalyse (ANOVA; $p < 0,05$; mean \pm SEM).

Ergebnisse

L-NAME nach Ischämie/Reperfusions (I/R) führte zu einer Reduktion der Leukozytenzahl in den Lebersinusoiden (Abb.1) und zur Reduktion des Leberzellenschadens (Abb.2). Der Gefäßdurchmesser blieb jedoch im Vergleich zu nur I/R behandelten Tieren unverändert (Abb. 3). Auch nach L-NAME + CrMP zeigte sich kein Unterschied in der Gefäßweite (Abb. 3), der Blutflussgeschwindigkeit (Abb. 4) und der Leukozytenzahl in den Sinusoiden (Abb. 1) sowie im Ausmaß des Leberzellenschadens im Vergleich zur CrMP Gruppe (Abb. 2).

Interpretation

Eine Steigerung der HO-Aktivität führt im normotensiven SIRS-Mausmodell zu einer Verbesserung der Leberdurchblutung, zur Reduktion der Leukozytenakkumulation und der Zahl der stagnierenden Leukozyten in den Sinusoiden sowie zu einer geringeren Organschädigung. NO scheint zu diesem Zeitpunkt (3 h I/R) keine wesentliche Rolle zu spielen. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Induktion der Hämoxigenase möglicherweise eine Option zur Prävention und Behandlung einer Leberschädigung im frühen SIRS darstellt.

Literatur

1. Nie G, McCarter S, Harris K, Lee P, Zhang X, Bihari A, Gray D, Wunder C, Potter R F: The role of endogenous heme oxygenase in the initiation of liver injury following limb ischemia / reperfusion. *J Hepatol* 2002; 36:624-630
2. Wunder C, Brock R W, McCarter S, Bihari A, Harris K, Eichelbrönn O, Potter R F: Inhibition of haem oxygenase activity increases leukocyte accumulation in the liver following limb ischemia-reperfusion in mice. *J Physiol* 2002; 540:1013-1021.

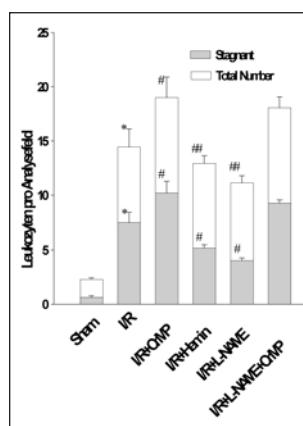


Abbildung 1: Leukozyten in Lebersinusoiden.

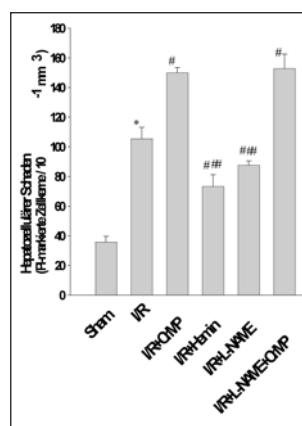


Abbildung 2: Leberzell-schaden.

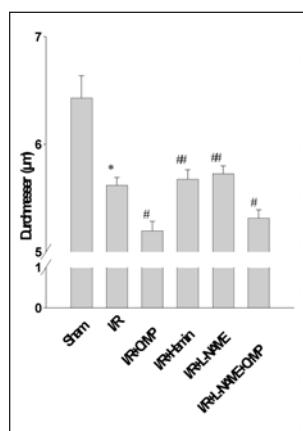


Abbildung 3: Durchmesser der Sinusoide.

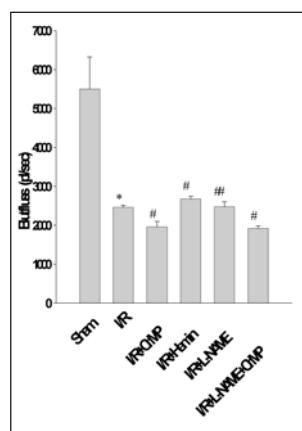


Abbildung 4: Blutfluss in den Sinusoiden.

Für alle Abbildungen gilt: n = 7/Gruppe *p < 0,05 vs. Sham; #p < 0,05 vs. I/R; ##p < 0,05 vs. I/R+CrMP.

Induktion Leukozyten-vermittelter Entzündungsreaktionen durch verminderte Scherkraft

B. Nohé, T. Johannes, M. Kampmann, C. Zanke, K. Unertl und H. J. Dieterich
Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

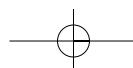
Fragestellung

Die Akkumulation von Leukozyten in der Mikrozirkulation trägt bei Schockgeschehen maßgeblich zu nachfolgenden Gewebebeschäden bei [2]. Da die im Blutstrom vorherrschenden Scherkräfte der Interaktion von Leukozyten und Endothel entgegenwirken, wird eine Aktivierung endothelialer Adhäsionsmoleküle durch Mediatoren oder Hypoxie als Vorbedingung für eine gesteigerte Adhäsion angesehen. Hämodynamische Störungen gehen im Schock jedoch oftmals den Entzündungsprozessen voran. Wir untersuchten die Effekte reduzierter Scherkräfte und deren funktionelle Folgen für Leukozyten-Endothel-Interaktionen *in vitro*.

Methodik

Endothel aus humanen Nabelschnurvenen (HUVEC) wurde auf Kollagen-beschichteten Kulturträgern angezüchtet und in einer mikroskopierbaren Flusskammer unter verschiedenen Scherkräften (shear stress 0,25 - 2 dyn/cm²) mit Granulozyten (PMN) oder Monozyten (MO) (10⁶/ml in Medium 199) perfundiert. Die Leukozyten wurden mittels Dichtegradientenzentrifugation und magnetischer Separation

(MACS®, Miltenyi Biotec) aus frischem Vollblut gewonnen [1]. Um alleinige Effekte der Scherkräft zu untersuchen zu können, perfundierte wir unstimulierte Leukozyten über unstimulierte HUVEC. Als Kontrollwert wurde die Adhäsion nach Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS 100 ng/ml, 4 h) bei einem normalen postkapillären shear stress von 2 dyn/cm² herangezogen. Ferner inkubierten wir HUVEC für 4 h mit Leukozyten, die der Adhäsion bei 0,25 dyn/cm² entsprachen. Anschließend bestimmten wir die Expression von ICAM-1 (CD54) und E-Selektin (CD62E) im Durchflusszytometer und untersuchten die sekundäre Adhäsion bei normalisierten Scherkräften durch erneute Perfusion mit Calcein-markierten Granulozyten bei 2 dyn/cm². Zur Blockade der verschiedenen Adhäsionsmoleküle und monozytären Mediatoren wurden monoklonale Antikörper gegen CD62E, CD62L, CD18 und Brefeldin A eingesetzt. Die Auswertung der Perfusionsexperimente erfolgte anhand digitalisierter Videosequenzen mit Hilfe einer selbst entwickelten Software (CellTracker, C. Zanke). Für die statistische Analyse wurden der t-Test und die Varianzanalyse (ANOVA) verwendet; die Ergebnisse sind als Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle angegeben.

**Ergebnisse**

Nach Reduktion des shear stress von 2 auf 0,25 dyn/cm² stieg die Adhäsion von Granulozyten und Monozyten auf unstimulierten HUVEC um das 4 - 20-fache an (PMN 42 ± 33 auf 997 ± 92/mm²; MO 24 ± 3 auf 107 ± 35/mm²) und erreichte Werte wie nach LPS-Stimulation (PMN 1032 ± 186/mm²; MO 431 ± 211/mm²; p < 0,01). Die Bindungen, die bei 0,25 dyn/cm² aufgebaut worden waren, konnten durch anschließende Steigerung des shear stress nicht wieder gelöst werden. Als Folge der Monozytenadhäsion stieg die Expression (mittlere Fluoreszenzintensität MFI) von CD54 und CD62E nach 4 h Cokultur um das 7 - 40-fache an (CD54 59 ± 27 auf 436 ± 133 MFI; CD62E 3,9 ± 1,4 auf 156 ± 57 MFI; p < 0,01). Eine erneute Perfusion dieser Cokulturen mit Granulozyten bei 2 dyn/cm² führte zu einer 100-fachen Steigerung der sekundären Adhäsion (1.103 ± 150/mm²), so dass die Granulozyten-adhäsion nun auch bei normalisiertem shear stress den Werten auf LPS-stimulierten HUVEC entsprach (1.575 ± 191/mm²; p < 0,01). Die Inkubation mit monoklonalen Antikörpern zeigte, dass die sekundäre Adhäsion zu 88% von Selektinbindungen und zu 84% von Integrinbindungen vermittelte wurde. Die sekundäre Endothelaktivierung war von der Freisetzung monozytärer Mediatoren abhängig, da sie durch Adhäsion von Granulozyten, Lymphozyten oder Brefeldin-behandelter Monozyten nicht ausgelöst werden konnte.

Interpretation

Eine Reduktion intravasaler Scherkräfte durch Verringerung der Flussgeschwindigkeit resultiert in einer drastisch gesteigerten Adhäsion von Granulozyten und Monozyten. Die Akkumulation ist nach Normalisierung der Flussgeschwindigkeit nicht reversibel, sondern führt durch Freisetzung monozytärer Mediatoren zu einer sekundären Entzündungsreaktion des Endothels, die ihrerseits eine weitere Leukozytenakkumulation zur Folge hat. Sollten diese Ergebnisse in vivo bestätigt werden können, wäre die gezielte Aufrechterhaltung der postkapillären Scherkräfte ein mögliches Therapieziel zur Minderung schockbedingter Gewebeschäden.

Literatur

1. Nohé B, Zanke C, Johannes T, Kiefer T, Dieterich HJ: Effects of magnetic cell separation on monocyte adhesion to endothelial cells under flow. APMIS 2002; 110: 299-308
2. Vedder NB, Winn RK, Rice CL, Chi EY, Arfors KE, Harlan J: A monoclonal antibody to the adherence-promoting leukocyte glycoprotein, CD18, reduces organ injury and improves survival from hemorrhagic shock and resuscitation in rabbits. J Clin Invest 1988; 81: 939-44.

Eine Hypothermie-induzierte Hyperinflammation in septischen Ratten wird durch Prophylaxe mit Granulozyten-Kolonie-stimulierendem Faktor (G-CSF) verbessert

A. Torossian², S. Rühlmann², H. Wulf¹, M. Middeke¹, W. Lorenz¹ und A. Bauhofer²

¹ Klinik für Anästhesie und Intensivtherapie, Philipps Universität Marburg

² Institut für Theoretische Chirurgie, Philipps Universität Marburg

Fragestellung

Über den Einfluss einer Hypothermie auf den septischen Verlauf ist wenig bekannt. Wir untersuchten die Effekte einer postoperativen Hypothermie (32°C) in septischen Ratten und testeten, ob eine Prophylaxe mit G-CSF das Überleben, die Zytokinfreisetzung sowie die Phagozytoseaktivität von neutrophilen Granulozyten (PMN) beeinflussen kann.

Methodik

Mit Genehmigung randomisierten wir 60 männliche Wistaratten: Alle wurden in Fentanyl/DHB-Sedierung nach i.v. Antibiotikaprophylaxe (Cefuroxim/Metronidazol 10/3,5 mg/kg) laparotomiert und mit einer standardisierten humanen Stuhlsuspension peritoneal infiziert (PCI, 1) und dann entweder normotherm (38°C) gehalten oder gleich nach OP auf 32°C gekühlt (1 h, anschließend wiedererwärm't) oder gekühlt und mit 20 µg/kg G-CSF (Filgrastim, Amgen) behandelt: 12 h vor und 12 h und 36 h nach OP. Primärer Endpunkt war die 120-Stunden-Überlebensrate, sekundäre Endpunkte die Plasmazytokinspiegel von TNF-α, MIP-2 und IL-6 (ELISA) sowie die Phagozytositätigkeit von PMN (Flowzytometrie).

Ergebnisse

Nur 4 von 20 Tieren mit postinfektiöser Hypothermie überlebten 120 Stunden (in Normothermie: 10/20 Tiere). Mit G-CSF Prophylaxe jedoch konnte die Überlebensrate auf 12/20 Tieren erhöht werden (p < 0,05, Abb. 1). Die postoperative TNF-α-Freisetzung war in den Gruppen ähnlich; jedoch waren die postoperativen IL-6 und MIP-2-Spiegel bei den Tieren mit G-CSF signifikant niedriger als bei den Tieren, die nur gekühlt wurden: Die MIP-2-Konzentration betrug 67 ± 12 pg/ml in Normothermie, 240 ± 43 pg/ml in Hypothermie und 178 ± 21 pg/ml mit G-CSF. Die MIP-2-Werte waren in Hypothermie signifikant höher als in Normothermie (p < 0,001, Abb. 2). Die IL-6-Konzentration betrug 100 ± 26 pg/ml in Normothermie, 511 ± 104 pg/ml in Hypothermie und 247 ± 52 pg/ml mit G-CSF (p < 0,001, Abb. 2). Nur die IL-6-Konzentration war mit G-CSF signifikant niedriger als in Hypothermie allein (# p < 0,05), jedoch unterschied sie sich nicht signifikant von den Werten in Normothermie. Die Leukozytenzahl stieg nach G-CSF Stimulation signifikant an (p < 0,01). Der PMN-Anteil nach Infektion betrug mit G-CSF 3,2 G/l, in Hypothermie allein 3,4 G/l und in Normo-

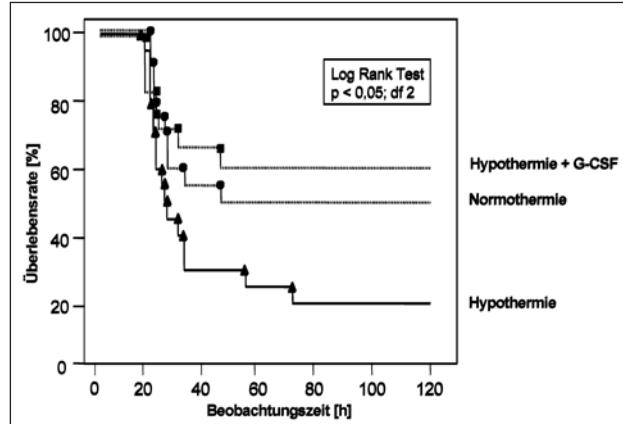


Abbildung 1

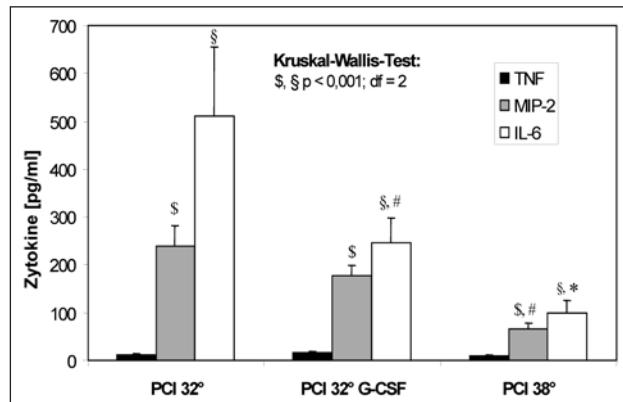
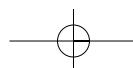


Abbildung 2



Abstracts

thermie 2,0 G/l. Die Phagozytoseaktivität von Granulozyten wurde durch G-CSF Prophylaxe nicht verbessert.

Interpretation

Überträgt man die deletären, hyperinflammatorischen Effekte der postoperativen Hypothermie bei chirurgisch abdominaler Infektion auf die klinische Situation, so sollten Patienten in der Abdominalchirurgie perioperativ normotherm gehalten werden. Ist jedoch im Einzelfall eine Hypothermie indiziert, so scheint eine G-CSF Prophylaxe zur Verbesserung der Immunantwort auf eine bakterielle Peritonitis ein überprüfenswerter Ansatz zu sein.

Literatur

1. Lorenz W, Reimund K.-P, Weitzel F, Celik I, Kurnatowski M, Schneider C, Mannheim W, Heiske A, Neumann K, Sitter H, Rothmund M: Granulocyte colony-stimulating factor prophylaxis before operation protects against lethal consequences of postoperative peritonitis. *Surgery* 1994;116: 925-934.

Mechanismen der CO₂-induzierten koronaren Gefäßdilatation

A. Heintz¹, M. Damm², Th. Koch¹ und A. Deussen²

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, TU Dresden

² Institut für Physiologie, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, TU Dresden

Fragestellung

Die hyperkapnisch-induzierte koronare Gefäßdilatation ist eine bekannte Reaktion, deren molekulare Mechanismen aber bis heute nicht verstanden sind [1]. In vorangegangenen Untersuchungen an Meerschweinchenherzen (MS) wurde die Bedeutung von Stickstoffmonoxid (NO) für die hyperkapnische Flussantwort unter besonderer Berücksichtigung der Flusskinetik untersucht. In dieser Folgestudie wurden die erhobenen Ergebnisse mit der hyperkapnischen koronaren Gefäßdilatation von eNOS-Knockout-Mäusen [2, 3] (KN) und der von Wildtypieren (WT) verglichen.

Methodik

Isolierte, isovolumetrisch arbeitende Herzen wurden mit Krebs-Henseleit-Pufferdruckkonstant bei 54 mmHg (MS; n = 18) bzw. 90 mmHg (WT/KN; n = 8) perfundiert. Nach 30 min normokapnischer Perfusion wurde für 10 min auf hyperkapnisches Perfusat (P_{CO_2} = 588 mmHg, pCO_2 = 60 mmHg, pH = 7,16) umgestellt. L-NAME (0,1 mmol/l) und Glibenclamid (3 μ mol/l) wurden zur Hemmung der endothelialen NO-Synthase bzw. von K⁺ATP-Kanälen infundiert. Im venösen Effluat wurde die freigesetzte cGMP-Menge als Index der endothelialen NO-Freisetzung mittels ELISA bestimmt (MS).

Ergebnisse

Die hyperkapnische Flussantwort ist biphasisch mit einem frühen, schnellen Anstieg (max. 60 s), der von einem langsamen, anhaltenden Flussanstieg (22% nach 10 min) gefolgt wird. L-NAME unterdrückt spezifisch die späte, langsame Flussantwort (ANOVA, $p < 0,01$). Glibenclamid reduziert die Flussantwort auf Perfusionsstop (20 s), nicht aber die hyperkapnische Flussantwort. Die basale cGMP-Freisetzung

(0,7 ± 0,3 pmol/min/g Ventrikel) war innerhalb der initialen Flussantwort erhöht (1,13 ± 0,47 pmol/min/g Ventrikel nach 60 s; $p = 0,01$; ALM). Unter L-NAME war die basale Freisetzung erniedrigt (0,4 ± 0,23 pmol/min/g Ventrikel), und es kam zu keinem Anstieg unter Hyperkapnie. (WT/KN):WT und KN zeigen eine ähnliche hyperkapnische Flussantwort (47 vs. 52%). L-NAME reduzierte sowohl den basalen koronaren Fluss (52 ± 3,7%) als auch die hyperkapnische Flussantwort der WT-Herzen (81 ± 9,9%; $p = 0,054$ ALM), aber nicht in KN-Herzen (0,4 ± 9,5% bzw. 34 ± 15%).

Zusammenfassung und Interpretation

Die hyperkapnische koronare Flussantwort zeigt in Meerschweinchen und Mäusen eine ähnliche Kinetik. Die später einsetzende, anhaltende Gefäßdilatation ist abhängig von einer intakten NO-Produktion. Die fehlende endotheliale NO-Produktion in eNOS-defizienten Mäusen kann durch andere Mechanismen kompensiert werden, die noch genauer zu definieren sind.

Literatur

1. Aalkjaer C, Peng H-L: pH and smooth muscle. *Acta Physiol Scand* 1997;16: 557-566
2. Flögel U, Decking U K M, Gödecke A, Schrader J: Contribution of NO to ischemia reperfusion injury in the saline-perfused heart: a study in endothelial NO synthase knockout mice. *J Mol Cell Cardiol* 1999;3: 827-836
3. Gödecke A, Decking U K M, Ding Z, Hirchenhain J, Bidmon H-J, Gödecke S, Schrader J: Coronary hemodynamics in endothelial NO synthase knockout mice. *Circ Res* 1998; 82: 186-94.

Anwendung einer alternativen Methode zur Bestimmung des unteren Infektionspunktes (P_{LIP}) der Druck-Volumen-Beziehung bei Patienten mit schwerem ARDS

H.J. Lohbrunner, St. Weber-Carstens, M. Deja, K. J. Falke und U. Kaisers

Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Charité Campus Virchow, Humboldt-Universität zu Berlin

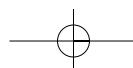
Fragestellung

Die exakte Bestimmung der Druck-Volumen-Beziehung wird beim Patienten mit schwerem ARDS zur Festlegung des geeigneten PEEP-Niveaus empfohlen. Die für eine exakte Bestimmung des P_{LIP} unter klinischen Bedingungen bisher notwendige Beatmung mit ZEEP ist jedoch gerade beim schweren ARDS wegen der resultierenden gefährlichen Hypoxämie nicht möglich. Durch die hier vorgelegte Untersuchung soll gezeigt werden, ob mittels einer Kombination bereits eta-

blierter Messverfahren ("PEEP-Welle" und "SCASS") eine schnelle, sichere und zuverlässige Bestimmung des P_{LIP} zur Einstellung des lungemechanisch günstigsten PEEP-Niveaus beim Intensivpatienten möglich ist.

Methodik

Mit Genehmigung der zuständigen Ethikkommission und nach Einwilligung durch die Angehörigen bzw. die richterlich bestellten Betreuer



Wissenschaftliche Arbeitstage der DGAI

untersuchten wir in einer prospektiven klinischen Untersuchung 12 ARDS-Patienten eines universitären Behandlungszentrums, sobald sie nach Aufnahme aus der zuweisenden Klinik hämodynamisch stabilisiert waren. Alle Patienten waren orotracheal intubiert und maschinell beatmet (Evita 2-76, Dräger AG, Lübeck, pcSIMV, PEEP $\geq 15 \text{ cmH}_2\text{O}$, FiO₂ 1.0). Im Rahmen dieser Untersuchung wurden die Patienten zunächst in diesem Modus mit PEEP 20 cmH₂O für 10 min beatmet (PIP resultierend aus einem V_T = 6 ml/kg KG). Mittels computergesteuerter volumenabhängiger Okklusion des inspiratorischen Gasflusses konnte die resultierende Druck-Volumen-Beziehung in 50-ml-Schritten erstellt werden (Software: Dräger AG). Nach jeder Messung wurden Hämodynamik und Gasaustausch bestimmt. Der PEEP wurde dann schrittweise in 4 Stufen bis auf minimal 8 cm H₂O gesenkt. Der PIP wurde so angepasst, dass ein konstantes V_T resultierte. Nach weiteren 10 min wurde die PV-Kurve aufgezeichnet, wobei der obere Teil der PV-Kurve nahezu linear verläuft und mit schrittweiser Senkung des PEEP zur 0 hin sichtbar abflacht. Der Druck, an dem sich die Steigung der Kurve ändert, kann graphisch einfach im Sinne eines P_{LIP} identifiziert werden. Nach einem signifikanten Einfluss der verschiedenen PEEP-Stufen auf die Hämodynamik wurde mittels One Way ANOVA (for repeated measurements) gesucht.

Ergebnisse

Bei allen untersuchten Patienten konnte ein P_{LIP} identifiziert werden ($16.3 \pm 3.7 \text{ cm H}_2\text{O}$, MW \pm SD). Der arterielle und pulmonalarterielle Blutdruck, HZV, HF und PCWP wurden durch die angewendeten Messmanöver im interindividuellen Vergleich nicht signifikant verändert. In keinem Fall mussten die Katecholamin- oder Volumetherapie nach klinischen Kriterien adaptiert werden. Auch pH und PaCO₂ blieben unbeeinflusst. Der PaO₂ sank bei Reduktion des PEEP von 20 auf 8 cmH₂O im Mittel um $26 \pm 14\%$ (226 ± 59 vs. $167 \pm 23 \text{ mmHg}$, p < 0.01).

Interpretation

Die Kombination von PEEP-Welle und SCASS erlaubt es, bei ARDS-Patienten mit extrem eingeschränktem Gasaustausch auswertbare PV-Kurven zu generieren, die atemmechanische Kriterien zur Optimierung des PEEP-Niveaus aufzuzeigen. Die angewandten Messverfahren führten zu keiner klinisch relevanten Beeinträchtigung von Hämodynamik und Gasaustausch bei unseren kritisch kranken Patienten. Das Verfahren zeigte sich in unserer Studie einfach anwendbar und eindeutig interpretierbar. Weitere Untersuchungen zur Evaluation der Methode in einem größeren Patientenkollektiv sind notwendig.

Gefördert durch DFG Fa 139/4-3

Vergleich von Tidalvolumenverläufen gemessen mit der Spirometrie und der elektrischen Impedanztomographie bei spontan atmenden Probanden

O. Moerer, J. Hinz, A. Kuhlmann, T. Dudykevych, P. Neumann, C. P. Criée und G. Hellige
Zentrum Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin, Georg-August-Universität Göttingen

Fragestellung

Die elektrische Impedanztomographie (EIT) ermöglicht die nicht invasive Beurteilung der regionalen Lungenfunktion [1]. Ein neues, optimiertes Gerät liefert eine zeitliche Auflösung von 13 Messungen pro Sekunde [2]. Damit können die Verläufe von schnellen Atemmanövern, wie z.B. forcierte Exspiration, regional untersucht werden. Ziel dieser Studie war deshalb bei gesunden Probanden der Vergleich von Tidalvolumenverläufen, die mit der Spirometrie und der EIT gemessen wurden.

Methodik

Nach positiver Begutachtung durch die Ethikkommission wurden zehn gesunde, spontan atmende Probanden (Alter ≥ 18 Jahre) bei Ruheatmung, forcierten Expiration und einem Vitalkapazitätsmanöver in sitzender Position mit der Spirometrie und der EIT untersucht. Mit einem neuen, optimierten Gerät (Goe-MF, EIT-Group Göttingen) wurde die EIT in einem transversalen Thoraxquerschnitt im 6. ICR parasternal mit 13 Hz durchgeführt. Hierfür wurden über 16 Oberflächenelektroden kleine Wechselströme eingespeist und die resultierenden Oberflächen-

spannungen gemessen. Aus den Oberflächenspannungen wurde in 912 Regionen des Thoraxquerschnitts die regionale Impedanz mit Hilfe eines modifizierten back-projection Algorithmus berechnet. Impedanzänderungen $> 20\%$ der maximalen Impedanz wurden als lungenspezifisch gewertet. Es konnte früher gezeigt werden, dass die regionalen Impedanzen proportional zu regionalen Lungenvolumen sind [3]. Aus wiederholten EIT-Messungen mit einer Frequenz von 13 Hz wurden die Verläufe der regionalen (EIT_{regional}) und globalen (EIT_{global}) Impedanz bestimmt. Zeitgleich wurde mit der Spirometrie (Pneumotachographie) der Verlauf der Tidalvolumina (VT_{Spirometrie}) untersucht. EIT_{regional}, EIT_{global} und VT_{Spirometrie} wurden auf die jeweilige Vitalkapazität normalisiert und eine Regressions- und Bland-Altman-Analyse durchgeführt (Abb. 1 und 2).

Ergebnisse

Bei zehn untersuchten männlichen Probanden (Gewicht: 74 - 102 kg, Alter 22 - 45 Jahre) fand sich eine gute Korrelation zwischen EIT_{global} und VT_{Spirometrie} sowohl bei Ruheatmung ($y=1,08x-7,42$, $R^2=0,91$) als auch während des Vitalkapazitätsmanövers ($y=1,06x-7,40$, $R^2=0,96$)

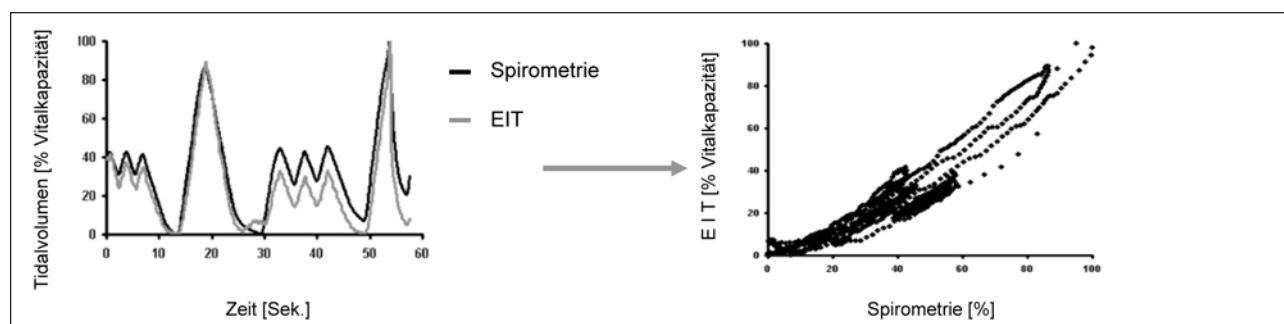
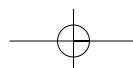


Abbildung 1: Links: Beispiel eines Tidalvolumenverlaufs, gemessen mit der Spirometrie und elektrischen Impedanztomographie (EIT) bei Ruheatmung, einem Vitalkapazitätsmanöver und forciertem Expiration.
Rechts: Lineare Korrelation des Tidalvolumenverlaufes ($y=0,96x-2,08$, $R^2=0,99$).



Abstracts

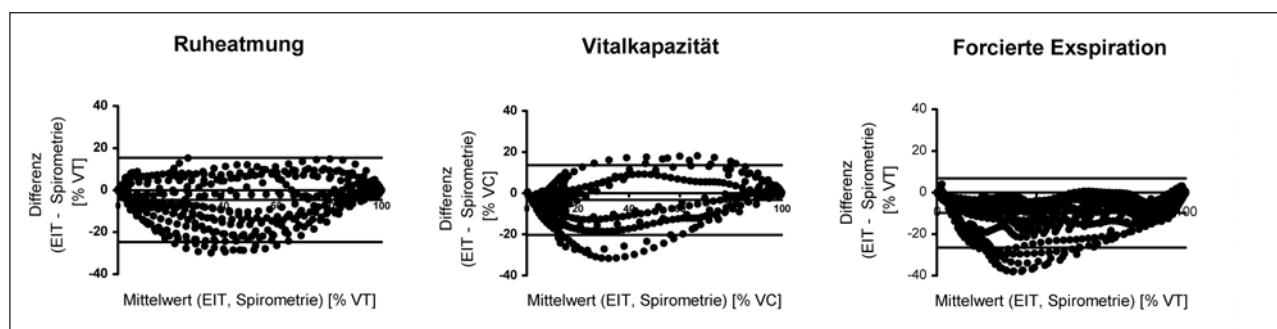


Abbildung 2: Bland-Altman-Analyse der Tidalvolumenverläufe bei Vitalkapazitätsmanöver, forciert Expiration und Ruheatmung. EIT = Elektrische Impedanztomographie, VC = Vitalkapazität, VT = Tidalvolumen.

(Abb. 1) und der forcierten Expiration ($y=0,95x-0,59$, $R^2=0,95$). Für den Vergleich von EIT_{regional} und der VT_{Spirometrie} fanden wir bei Ruheatmung eine lineare Korrelation von $y=0,96x-2,08$, $R^2=0,99$, beim Vitalkapazitätsmanöver $y=0,96x-2,08$, $R^2=0,99$ und der forcierten Expiration $y=1,01-0,03$, $R^2=0,98$.

Interpretation

Wir fanden eine gute Korrelation zwischen den spirometrisch ermittelten Tidalvolumenverläufen und den Verläufen von globalen und regionalen Impedanzveränderungen während Ruheatmung, Vitalkapazitätsmanöver und forciert Expiration. Die elektrische Impedanztomographie ermöglicht jedoch im Gegensatz zur Spirometrie eine regionale Darstellung der Tidalvolumenverläufe und könnte hilfreich sein bei der Untersuchung von Lungenerkrankungen.

Literatur

- Barber DC and Brown BH: Applied potential tomography. J Phys E Sci Instrum 1984; 723-733
- Hahn G, Thiel F, Dudykevych T, et al.: Quantitative evaluation of the performance of different electrical tomography devices. Biomed Tech 2001; 46: 91-959
- Frerichs I, Hinz J, Herrmann P, Weisser G, Hahn G, Dudykevych T, Quintel M, Hellige G: Detection of local lung air content by electrical impedance tomography compared with electron beam CT. J Appl Physiol 2002; 93(2):660-6.

Vergleich unterschiedlicher Beatmungsstrategien während experimenteller kardiopulmonaler Reanimation mittels ultraschneller PaO₂-Messung und dynamischer Computertomographie

K. Markstaller, A. Herweling, J. Karmrodt, HW. Gervais, H-U. Kauczor, M. Thelen, WF. Dick und B. Eberle
Kliniken für Anästhesiologie und Radiologie der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Fragestellung

Es existieren derzeit nur wenige, kontrovers diskutierte Studien zur Auswirkung unterschiedlicher Beatmungsstrategien während kardiopulmonaler Reanimation (CPR). Es wird die Notwendigkeit einer aktiven Beatmung während Ersthelfermaßnahmen (BLS) überhaupt in Frage gestellt und es werden verschiedene Beatmungsmuster während erweiterter lebensrettender Maßnahmen (ACLS) diskutiert. Ziel dieser Studie ist es, unter Anwendung neuer zeitlich und örtlich hochauflösender Messmethoden die Lungenbelüftung, die Atelektasenbildung und den arteriellen PO₂ in experimentellen CPR-Untersuchungen zu analysieren und hiermit die Effekte verschiedener Beatmungsinterventionen während CPR zu vergleichen.

Methodik

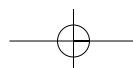
Mit Zustimmung der örtlichen Tierschutzkommission wurden 19 Schweine (26 ± 1 kg) randomisiert den folgenden Versuchsgruppen zugeteilt: (1) volumenkonstante Beatmung (VCV; 12/min, PEEP = 5, Tidalvolumen mit dem Ziel der Normokapnie), (2) Unterlassung einer aktiven Beatmung während BLS (NV) durch Diskonnektion des Endotrachealtubus vom Beatmungsgerät und (3) Aufrechterhaltung eines kontinuierlichen positiven Atemwegdruckes (CPAP; 35 mbar) während ACLS. Ein Kreislaufstillstand wurde durch Kammerflimmern induziert und für 3 Minuten ohne therapeutische Maßnahmen beibehalten. Es folgte ein BLS-Zyklus ($\text{FIO}_2 = 0,21$; Thoraxkompression (100/min)) für 5 Minuten gefolgt von ACLS-Maßnahmen für 4 Minuten (Adrenalin als Bolus 45 µg/kg, $\text{FIO}_2 = 1,0$) und nach weiteren 3 Minuten maximal drei biphasische Defibrillationsversuche. Nach Wiedereinsetzen eines spontanen Kreislaufes (ROSC) wurde die Beatmung mit einer F_1O_2 von 1,0 und Beatmungsparametern wie in der Kontroll-

gruppe für weitere 15 Minuten fortgeführt. War kein ROSC zu erreichen, wurde der ACLS-Zyklus bis zu 5 mal wiederholt.

Messwerterfassung: Vor Induktion des Herz-Kreislaufstillstandes, nach 4 Minuten BLS, nach jeweils 3 Minuten ACLS und 15 Minuten nach ROSC wurden folgende Messparameter erhoben: invasive Drücke, Blutgas- und Säure-Basenstatus, Organblutfluss mittels fluoreszierender Mikrosphären und dynamische Computertomografieaufnahmen über 15 Sekunden Dauer [1, 2]. Während des gesamten Versuches erfolgte die kontinuierliche Erfassung des PaO_2 (zeitliche Auflösung 20 ms) mittels optischem Fluoreszenz Quenching Verfahren [3]. Ein Vergleich zwischen den Gruppen erfolgte mittels Kruskal-Wallis-Test mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

Ergebnisse

ROSC erfolgte in 4/6 Tieren der VCV-Gruppe, 4/7 der NV-Gruppe und 6/6 der CPAP-Gruppe. In der VCV-Gruppe (Kontrollgruppe) zeigte sich ein zyklischer Alveolarcollaps und Rekrutierung von Atelektasen, der sich in synchronen Oszillationen des arteriellen PO_2 widerspiegelte. In der NV-Gruppe war während BLS die anteilige Atelektasenfläche am Lungenquerschnitt signifikant größer als bei der Kontrollgruppe (48 [22-64] % vs. 18 [10-32] %, Median [Min-Max], $p < 0,009$), begleitet von einem signifikant niedrigeren PaO_2 (17 [6-30] mmHg vs. 51 [35-64] mmHg, $p < 0,001$) und niedrigeren mittleren arteriellen Druck (42 [29-49] mmHg vs. 56 [36-64] mmHg, $p < 0,01$). CPAP erzeugte den schnellsten und höchsten Anstieg des PaO_2 bei geringster Atelektasenfläche. Ein zyklischer Kollaps von Alveolarbezirken konnte unter CPAP vollständig vermieden werden, ohne dass sich Unterschiede im Atemwegsspitzen-Druck zeigten (CPAP: 50 [46-59] vs. VCV: 52 [50-58], $p = 0,2$).



Wissenschaftliche Arbeitstage der DGAI

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen hinsichtlich des zerebralen oder myokardialen Blutflusses.

Interpretation

Dynamische CT-Aufnahmen und ultraschnelle Messung des PaO_2 erlauben neue Einblicke in die Gasaustauschfunktion der Lunge während kardiopulmonaler Reanimation. Die Unterlassung einer Beatmung während BLS führt nicht nur zu extremer Atelektasenbildung und rascher Hypoxämie, sondern auch zu einem reduzierten arteriellen Mitteldruck. Ein kontinuierlich positiver Atemwegsdruck von 35 mbar während zyklischer Thoraxkompression erlaubt eine effektivere Lungenbelüftung und verhindert einen zyklischen Alveolarkollaps, der zu Hypoxämie und im weiteren Postreanimationsverlauf zu einer Lungenschädigung führen kann.

Literatur

- Markstaller K, Karmrodt J, Doebrich M, Wolcke B, Weiler N, Kauczor HU, Dick W, Eberle B. Dynamic Computed Tomography: A useful technique for investigation of ventilatory strategies during CPR in animal experiments. *Resuscitation* 2002; 53(3):307-13
- Markstaller K, Arnold M, Dobrich M, Heitmann K, Karmrodt J, Weiler N, Uthmann T, Eberle B, Thelen M, Kauczor HU. Software zur automatischen Quantifizierung von Belüftungszuständen bei akutem Lungenversagen in dynamischen CT-Aufnahmen der Lunge. *Röntgen Fortschr* 2001; 173: 830-5
- Baumgardner JE, Markstaller K, Pfeiffer B, Doebrich M, Otto CM. Effects of respiratory rate, plateau pressure, and PEEP on PaO_2 Oscillations after Saline Lavage. *Am J Resp Crit Care Med* 2002; 166: 1556-62.

Veränderungen im Proteom alveolärer Typ-II-Epithelzellen bei Beatmung mit erhöhtem Tidalvolumen

J. Hirsch^{1,3}, K. C. Hansen², J. A. Frank¹, X. Fang¹, R. J. Chalkley², A. L. Burlingame² und M. A. Matthay¹

¹ Cardiovascular Research Institute, University of California, San Francisco (USA)

² Mass Spectrometry Facility, Dept. of Pharmaceutical Chemistry (UCSF)

³ Abteilung Anaesthesiologie, Operative Intensivmedizin, Schmerztherapie, Universitätsklinikum Gießen

Fragestellung

Die Rolle des Tidalvolumens in der Pathogenese des Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) wird aktuell diskutiert; so ist durch Beatmung mit hohem Tidalvolumen die Induktion einer Lungenschädigung in der Ratte möglich [1]. Fortschritte in Massenspektrometrie, Proteinseparierung und Bioinformatik ermöglichen Identifizierung und Quantifizierung eines größeren Teils des Proteingehaltes von Zellen (Proteom) in einem Experiment [3]. Ziel der Untersuchung war die Evaluierung der Anwendung dieser Methoden auf alveolare Typ II Zellen (ATII) von Ratten nach Beatmung mit erhöhtem Tidalvolumen.

Material und Methodik

Männliche Sprague-Dawley-Ratten (300 - 350 g) wurden für 4 Stunden mit moderat erhöhtem Tidalvolumen [1]: (20 ml/kg KG ohne PEEP, Frequenz 40/min, F_1O_2 0,21) kontrolliert beatmet ($n = 2$). Zur Untersuchung der so erzielten Lungenschädigung wurden ATII nach bronchoalveolärer Lavage isoliert und mit ATII nicht beatmeter Ratten ($n = 2$) verglichen. Je 20×10^6 Zellen wurden durch Ultraschall lysiert und mit Ultrazentrifugation fraktioniert. Nach Kationen-Austausch-Chromatographie wurden die Zysteinresiduen in beiden Gruppen mittels "Isotope coded affinity tagging" (ICAT) [2] markiert und gepoolt. Die Proteine wurden durch Trypsin gespalten, zysteinhaltige Peptide mit Biotin markiert und durch eine Avidinsäule extrahiert. Die Proteinidentifizierung erfolgte durch HPLC, Electrospray Massenpektrometrie

und Proteinsequenzierung (ESI-qTOF). Die resultierenden Peptidspektra wurden mittels der MASCOT-Identifizierungssoftware (Matrix Science Inc., London, UK) mit der NCBI-Proteindatenbank abgeglichen.

Ergebnisse

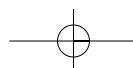
Das erhöhte Tidalvolumen führte im Vergleich zu Ratten ohne Beatmung zu einem Lungenödem, makroskopisch sichtbaren Lungenvänderungen und zur Induktion einer Neutrophilie in der bronchoalveolären Lavage. Die Quantifizierung zeigte eine unterschiedliche Expression von insgesamt 61 Proteinen (Auszug siehe Tabelle).

Interpretation

Mit der vorgestellten Methodik konnten Zeichen einer inflammatorischen Reaktion mit Steigerung von Zellstoffwechsel, intrazellulärem Transport, Synthese von Mediatoren und Rezeptoren nachgewiesen werden. Durch die gleichzeitige Messung kann ein solcher Ansatz Rückschlüsse auf Zusammenhänge in der Expression von Proteinen ermöglichen. Absolute Konzentrationsangaben und Vergleiche der Quantifizierung verschiedener Proteine sind mit dieser Methodik nicht möglich. Auf die möglichen Auswirkungen anderer Beatmungsmodi kann aus den vorgelegten Daten aufgrund der Auswahl der Kontrollgruppe nicht geschlossen werden. Die Ergebnisse bedürfen noch der Bestätigung durch eine größere Fallzahl.

Tabelle 1:

	Ratio Beatmet / Nicht beatmet	Standardabweichung der Peptide	Zahl der Peptide pro Protein
Defensine			
• β -Defensin 2 precursor	3,0		1
• α -Defensin NP-1	5,9		1
• α -Defensin NP4	29,5	11,9	3
• α -Defensin R2	23,4	4,4	2
Lysozyme			
• lysozyme 1 precursor	4,21	1,1	2
• Lysozyme C, 2 precursor	2,5	0,9	8
ATPasen			
• Na^+/K^+ -ATPase,	2,94		1
• Ca^{++} -ATPase	2,29		1
Proteininkinasen			
• Pyruvate kinase	2,9	0,64	2
• Calmodulin-domain protein kinase	2,3		1



Abstracts

Fortsetzung Tabelle 1:

	Ratio Beatmet / Nicht beatmet	Standardabweichung der Peptide	Zahl der Peptide pro Protein
<i>Ribosomale Proteine</i>			
• ribosomal protein L3	2,4	0,4	2
• ribosomal protein L6	2,3		1
• Ribosomal protein L14	3,1		1
• ribosomal protein L28	2,6		1
• ribosomal protein S2	2,3		1
• ribosomal protein S6	2,5		1
• ribosomal protein S26	3,5		1
• ribosomal protein S27 isoform	4,1		1
<i>Myosine</i>			
• myosin heavy chain	1,5	0,12	3
• myosin non-muscle	4,3	0,4	2
<i>Cytochrom p450b</i>			
• Cytochrom p450b (CYP I-III)	4,3	1,2	
• Cytochrom p450b (CYPIVB1)	4,3	1,2	6
• Cytochrom p450b (CYPIVB1)	3,1		1
<i>Andere</i>			
• Clathrin heavy chain	2,6	0,5	2
• ICAM-1	2,8		1
• Selenium binding protein 2	2,2		1
• Vimentin	2,27		1

Literatur

- Frank JA, Pittet JF, Lee H, Godzich M, Matthay MA: High tidal volume ventilation induces NOS2 and impairs cAMP-dependent airspace fluid clearance. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2003; Elektronische Publikation vor Drucklegung
- Gygi SP, Rist B, Gerber SA, Turecek F, Gelb MH, Aebersold R: Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags. Nat Biotechnol 1999; 17:994-9
- Mann M, Hendrickson RC, Pandey A: Analysis of proteins and proteomes by mass spectrometry. Annu Rev Biochem 2001; 70:437-73.

Gefördert von der DFG HI 810/1 (JH) und den NIH HL 69900 (JAF), NIH HL5 1856 (MAM) and NCRR 01614 (ALB).

Einfluss des Transpulmonalen Drucks auf Gasaustausch und Hämodynamik während Beatmung mit Biphasischem positivem Atemwegsdruck (BIPAP) beim experimentellen Lungenversagen

D. Henzler, R. Dembinski, R. Bensberg, N. Hochhausen, R. Rossaint und R. Kuhlen

Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Aachen

Fragestellung

Ein Ventilations-Perfusions (\dot{V}_A/\dot{Q})-Missverhältnis ist die Ursache für schwere Oxygenierungsstörungen beim akuten Lungenversagen. Es hat sich gezeigt, dass eine Rekrutierung abhängiger, atelektatischer Lungenbezirke bei erhaltener Zwerchfellaktivität unter Beatmung mit biphasischem positivem Atemwegsdruck (BIPAP) möglich ist [3]. Andererseits ist die Rekrutierung direkt vom vertikalen Gradienten des transpulmonalen Drucks (P_{TP}) abhängig [1], der einen wesentlich höheren Atemwegsdruck in den abhängigen Regionen erforderlich macht. Wir haben daher untersucht, ob die (\dot{V}_A/\dot{Q})-Verhältnisse während unsynchronisierter Spontanatmung mit BIPAP auf einer effektiven Erhöhung des P_{TP} beruhen und denen während druckkontrollierter Beatmung (PCV) mit gleichem P_{TP} entsprechen.

Methodik

Nach Genehmigung durch die Bezirksregierung Köln wurde bei acht sedierten, intubierten und beatmeten Schweinen ein akutes Lungenversagen durch multiple Lavagen der Lunge induziert, definiert als PaO_2/FiO_2 Quotient < 100 für 1 h. Danach wurden die Tiere in unterschiedlicher Reihenfolge nacheinander mit BIPAP, druckkontrollierter Beatmung mit gleichem Atemwegsdruck (PCV_{AW}) und gleichem P_{TP} beatmet (PCV_{TP}). Der P_{TP} wurde definiert als Atemwegsdruck + ΔP_{ES} , der Druckänderung im Ösophagus, gemessen mittels eingelegter Ballonsonde. Untersucht wurden die Effekte auf Hämodynamik,

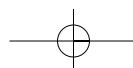
Gasaustausch und (\dot{V}_A/\dot{Q})-Verhältnisse, bestimmt mittels der multiplen Gaseliminationstechnik (MIGET).

Ergebnisse

Während BIPAP betrug der intrapulmonale Shuntfluss $32 \pm 11\%$ (MW \pm Stabw.), unter PCV_{AW} $39 \pm 10\%$, und unter PCV_{TP} $36 \pm 14\%$ ($p = 0,49$). Das Tidalvolumen war unter PCV_{TP} am höchsten ($11,7 \pm 2,1$ ml/kg), verglichen mit $8,1 \pm 0,5$ ml/kg unter BIPAP und $7,4 \pm 1,0$ ml/kg unter PCV_{AW} ($p < 0,0001$), obwohl der P_{TP} unter PCV_{AW} ($27,5 \pm 4,5$ mbar) und BIPAP ($26,6 \pm 3,3$ mbar) annähernd gleich war. Das Herzzeitvolumen sank unter PCV_{TP} signifikant auf $3,4 \pm 0,6$ l*min⁻¹ (BIPAP $4,8 \pm 0,8$ und PCV_{AW} $3,8 \pm 0,7$, $p < 0,024$). Das Sauerstoffangebot war am höchsten unter BIPAP mit 492 ± 83 ml*min⁻¹, 342 ± 71 ml*min⁻¹ unter PCV_{AW} und 305 ± 70 ml*min⁻¹ unter PCV_{TP} ($p < 0,002$).

Interpretation

Der Hypothese, dass Verbesserungen des (\dot{V}_A/\dot{Q})-Verhältnisses unter erhaltener Spontanatmung auf Zwerchfellbewegungen zurückzuführen sind, steht entgegen, dass unter druckunterstützter Beatmung diese Effekte nicht zu beobachten waren [2]. Andererseits addiert sich ein negativer Pleuradruck während einer aktiven Inspiration auf den Atemwegsdruck auf und erhöht so den effektiven transpulmonalen Druck in den abhängigen Lungenregionen [1]. Wir schlussfolgern daher, dass der Hauptmechanismus für eine Verbesserung der Oxygenierung unter



BIPAP ein Anstieg des transpulmonalen Drucks, generiert durch die erhaltene diaphragmale Spontanatemaktivität, ist, ohne Anhebung von Atemwegsdruck und Tidalvolumen. Der gleiche transpulmonale Druck während kontrollierter Beatmung resultiert in einer ähnlichen Verteilung von Ventilation und Perfusion, um den Preis eines reduzierten Herzzeitvolumens und Sauerstoffangebotes.

Literatur

- Pelosi P, Goldner M, McKibben A, Adams A, Eccher G, Caironi P et al.: Recruitment and derecruitment during acute respiratory failure: an experimental study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:122-130
- 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* 1999; 159:1241-1248
- Putensen C, Rasanen J, Lopez FA: Ventilation-perfusion distributions during mechanical ventilation with superimposed spontaneous breathing in canine lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:101-108.

Interaktion von Etomidat mit α_2 -Adrenozeptoren

A. Paris¹, M. Philipp², P. H. Tonner¹, M. Lohse², J. Scholz¹ und L. Hein²

¹ Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

² Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Fragestellung

Das carboxylierte Imidazolderivat Etomidat weist strukturelle Ähnlichkeiten mit spezifischen α_2 -Adrenozeptoragonisten vom Imidazolintyp wie z.B. Dexmedetomidin auf [1]. Die Interaktionen von Etomidat mit α_2 -Adrenozeptoren wurden daher *in vivo* und *in vitro* untersucht.

Methodik

Die sedativ-hypnotischen Eigenschaften von Etomidat wurden in Wildtyp-Mäusen (WT) sowie Mäusen mit Deletionen des α_{2A} -Adrenozeptor-Subtyps (α_{2A} -KO) untersucht. Dazu wurde die Zeit bis zum Verlust des Richtungsreflexes (VRR) sowie die Zeit bis zur Restitution des Richtungsreflexes (RRR) gemessen ($n = 5$ pro Genotyp). In weiteren Untersuchungen wurden die kardiovaskulären Effekte von Etomidat an WT sowie Mäusen mit Deletionen des α_{2B} -Adrenozeptor-Subtyps (α_{2B} -KO) oder des α_{2A} - und des α_{2B} -Adrenozeptor-Subtyps (α_{2AB} -KO) untersucht. Bei Tribromoethanol-anästhetisierten Mäusen wurde der aortale und linksventrikuläre Druck nach Einführung eines 1,4F Katheters über die A. carotis interna gemessen. An Membranen aus HEK293-Zellen wurde nach Transfektion mit den drei murinen α_2 -Adrenozeptor-Subtypen die Verdrängung des spezifischen α_2 -Adrenozeptorantagonisten [³H]-RX821002 durch Etomidat gemessen.

Ergebnisse

Sowohl die Zeit bis zum VRR als auch bis zur RRR nach Injektion von Etomidat (30 mg/kg i.p.) sind nicht signifikant unterschiedlich zwischen WT und α_{2A} -KO. Etomidat (2 mg/kg i.v.) verursacht in WT einen schnellen und transienten Anstieg des systolischen (16 ± 3 mm Hg) und diastolischen (17 ± 3 mm Hg) Blutdrucks ($MW \pm SEM$). Im Gegensatz dazu führt Etomidat weder in α_{2B} -KO noch α_{2AB} -KO zu signifikanten Änderungen des Blutdrucks (Abb. 1). In vitro verdrängt Etomidat den spezifischen α_2 -Adrenozeptorantagonisten [³H]-RX821002 konzentrationsabhängig mit höherer Potenz von murinen α_{2B} -Adrenozeptoren (K_i 26 μ M; Konfidenz-Intervall 15 - 46 μ M) und α_{2C} -Adrenozeptoren (K_i 56 μ M; 36 - 90 μ M) als von α_{2A} -Adrenozeptoren (K_i 208 μ M; 134 - 321 μ M).

Interpretation

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass Etomidat mit α_2 -Adrenozeptoren interagiert und *in vivo* an anästhetisierten WT-Mäusen einen transienten Blutdruckanstieg über eine Interaktion mit peripheren α_{2B} -Adrenozeptoren hervorruft wie bereits für spezifische α_2 -Adrenozeptorantagonisten beschrieben [2].

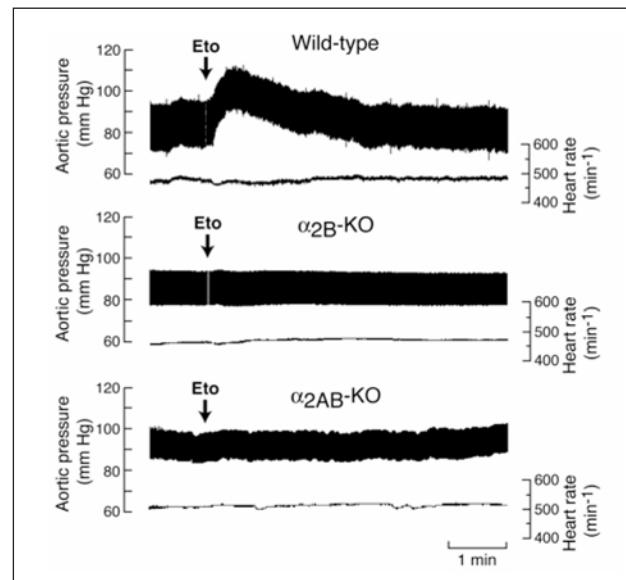
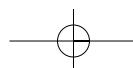


Abbildung 1: Repräsentative Aufzeichnungen des aortalen Blutdrucks. Etomidat führt zu einem transienten Blutdruckanstieg in WT, nicht aber in α_{2B} -KO und α_{2AB} -KO.

Literatur

- Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM: α_2 and imidazoline receptor agonists. Their pharmacology and therapeutic role. *Anaesthesia* 1999; 54: 146-165
- Link RE, Desai K, Hein L, Stevens ME, Chruscinski A, Bernstein D, Barsh GS, Kobilka BK: Cardiovascular regulation in mice lacking α_2 -adrenergic receptor b and c. *Science* 1996; 273: 803-805.



Abstracts

Retigabine antagonisiert die Wirkung von Bupivacain auf humane KCNQ2/Q3-Kanäle

M. A. Punke und P. Friederich

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Fragestellung

KCNQ2- und KCNQ3-Kanäle bilden das physiologische Korrelat des M-Stroms, der entscheidend die elektrische Erregbarkeit von Neuronen reguliert [1]. Mutationen in den Genen dieser Kanäle führen durch die Unterdrückung von KCNQ2/Q3-Strömen um bereits 25% zu einer familiären Form der Epilepsie [1]. Eine Unterdrückung dieser Kanäle durch Bupivacain um 25% könnte damit ebenfalls zu Krampfanfällen beitragen. Für diese schwere neurotoxische Nebenwirkung fehlt bisher eine kausale Therapie. Da KCNQ2/Q3-Kanäle die molekulare Zielstruktur des neuen Antikonvulsivums Retigabine sind [2], könnte dieses Medikament eine neue Therapieoption in der Behandlung von Lokalanästhetika-induzierten Krampfanfällen darstellen. Ziele der Studie waren deshalb, die Wirkung von Bupivacain auf KCNQ2/Q3-Kanäle erstmals zu untersuchen und zu untersuchen, ob Retigabine die Wirkung von Bupivacain antagonisiert.

Methodik

Plasmide mit cDNA des humanen KCNQ2- und KCNQ3-Gens (GenBank Acc.No. AF110020, AF033347) wurden in CHO (Chinesische Hamster Ovarien) Zellen transfiziert. Die elektrophysiologischen Messungen erfolgten mit der Patch-Clamp-Methode. Als Pulsprotokoll diente ein Rampenprotokoll (Abb.). Die konzentrationsabhängige Veränderung der Kanalaktivität wurde als Veränderung des Ladungstransfers durch KCNQ2/Q3-Kanäle quantifiziert. Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardabweichungen; n steht für die Anzahl der Experimente, statistische Vergleiche erfolgten mit einer Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen, Student-Newman-Keuls-Test und Student-t-Test.

Ergebnisse

CHO Zellen exprimierten funktionell humane KCNQ2/Q3-Kanäle. Retigabine (10 μ M) verschob den Aktivierungsmittelpunkt der Kanäle von -28 ± 6 mV um -21 ± 3 mV in hyperpolarisierende Richtung (n = 5; p < 0,01) und führte zu einer Stimulation des Ladungstransfers um den Faktor $2,1 \pm 0,2$ im Vergleich zur Kontrolle (n = 5; p < 0,01). Bupivacain unterdrückte konzentrationsabhängig und reversibel den Ladungstransfer durch KCNQ2/Q3-Kanäle mit einem IC₅₀-Wert von 174 μ M und einem Hill-Koeffizient von 1,4 (n = 37). Die alleinige Applikation von Bupivacain (100 μ M, Abb.) führte im Vergleich zur Kontrolle zu einer Reduktion des Ladungstransfers um $24 \pm 8\%$ (n = 5; p < 0,05). Bei gleichzeitiger Applikation von Retigabine (10 μ M) und Bupivacain (100 μ M) konnte die Reduktion des Ladungstransfers durch Bupivacain antagonisiert werden und es kam zur Stimulation des Ladungstransfers um den Faktor $1,9 \pm 0,2$ (n = 5; p < 0,01). Die Antagonisierung der Wirkung von Bupivacain durch Retigabine war konzentrationsabhängig und war bereits bei einer Retigabinkonzentration von 300 μ M nachweisbar (n = 6; p < 0,01).

Interpretation

Das Ausmaß der Inhibition von humanen KCNQ2/Q3-Kanälen durch

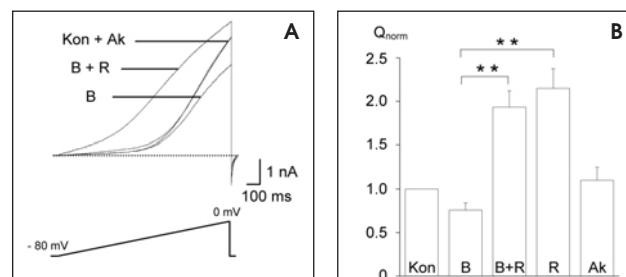


Abbildung A: Stromspuren von KCNQ2/Q3-Kanälen aktiviert durch ein Rampenprotokoll. Inhibition durch Bupivacain (B, 100 μ M) und Antagonisierung des Effektes durch Retigabine (R, 10 μ M) mit Kontrolle (Kon) und Auswaschkontrolle (Ak).

Abbildung B: Ladungstransfer unter Kontroll-(Kon) und Auswaschkontrollbedingungen (Ak), sowie dem Einfluss von Bupivacain (B, 100 μ M), Bupivacain und Retigabine (B, 100 μ M + R, 10 μ M) und Retigabine (R, 10 μ M). Normalisiert auf den Ladungstransfer unter Kontrollbedingungen (n = 5; ** = p < 0,01).

Bupivacain bei toxischen Konzentrationen [3] könnte zu den prokonvulsiven Nebenwirkungen dieses Lokalanästhetikums beitragen. Retigabine hob die Inhibition dieser Kanäle durch Bupivacain vollständig auf. Die Ergebnisse unserer Studie deuten darauf hin, dass mit Retigabine ein neuer und kausaler therapeutischer Ansatz für die Behandlung von Bupivacain-induzierten Krampfanfällen entwickelt werden könnte.

Literatur

1. Jentsch T: Neuronal KCNQ potassium channels: physiology and role in disease. *Nature Rev Neurosci* 2000; 1:21-30
2. Tatulian L, Delmas P, Abogadie FC, Brown DA: Activation of expressed KCNQ potassium currents and native neuronal M-type potassium currents by the anti-convulsant drug retigabine. *J Neurosci* 2001; 21:5535-5545
3. Friederich P, Benzenberg D, Urban BW: Bupivacaine inhibits human neuronal Kv3 channels in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Br J Anaesth* 2002; 88:864-866.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (GRK 255). Retigabine wurde von der Viatris GmbH, Radebeul, zur Verfügung gestellt. Wir danken Herrn Prof. O. Pongs, Direktor, Institut für Neurale Signalverarbeitung, Zentrum für Molekulare Neurobiologie Hamburg, für seine großzügige Unterstützung.

Assoziation des Interleukin-6-Promoter-Polymorphismus (-174 G/C) mit systemischem Interleukin-6-Anstieg und Überlebensrate nach kardiopulmonalem Bypass

M. Scharte¹, B. Schlüter², S. P. Wirtz¹, H. Van Aken¹, M. A. Große Hartlage¹, M. Erren² und E. Berendes¹

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Münster

² Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum Münster

Fragestellung

Interleukin (IL)-6 weist eine enge Korrelation mit dem Schweregrad einer systemischen inflammatorischen Reaktion, z.B. nach kardiopulmonalem Bypass (CPB), auf. Ein in der Genpromotorregion lokalisierter bialler Polymorphismus (-174 G/C) scheint eine wichtige Funktion bei der IL-6-Antwort auf entzündliche Prozesse zu spielen: Patienten des Genotyps -174 GG zeigen einen geringeren systemischen Anstieg von IL-6 nach koronarerarterieller Bypass-Operation (CABG) [1]. In der Sepsis weisen Patienten dieses Genotyps eine signifikant höhere Überlebensrate auf [2]. Wir untersuchten den Effekt des IL-6-Polymorphismus (-174 G/C) auf die systemischen IL-6-Spiegel und auf die Überlebensrate bei herzchirurgischen Patienten nach CPB.

Methodik

Nach Zustimmung der örtlichen Ethikkommission und Einwilligung der Patienten wurden 120 Patienten prospektiv in die Studie eingeschlossen. Eine Kontrollgruppe mit gleicher Geschlechtsverteilung umfasste gesunde Erwachsene gleichen ethnischen Ursprungs. Venöse Blutnahmen zur IL-6-Plasmaspiegelbestimmung mittels ELISA erfolgten präoperativ sowie 20 Minuten nach Beginn des CPB und 4, 8, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Aufnahme auf die Intensivstation. Die Genotypierung der Leukozyten-DNA erfolgte mit Hilfe der mutagen-separierten Polymerase-Kettenreaktion (MS-PCR) nach Rust [3].

Ergebnisse

120 Patienten (92m/28w; Alter: $64 \pm 9,7$; 85 CABG; 35 Klappenersatz) wurden untersucht. Innerhalb von 2 Jahren nach Operation verstarben 14 Patienten. Die Verteilung der Genotypen und die Allelfrequenzen unterschieden sich nicht signifikant zwischen Patienten und Kontrollen. Ebenso fand sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der präoperativen IL-6-Plasmakonzentrationen in Patienten mit verschiedenen Genotypen. Im Gegensatz dazu wiesen -174GG Homozygote geringere initiale IL-6-Plasmaspiegelanstiege ($p = 0,02$; GG versus GC/CC; Abb. 1) und eine höhere 2-Jahres-Überlebensrate (OR 0,13 (0,02-1,0); $p = 0,049$; Abb. 2; Logranktest der Überlebenskurven: $p = 0,024$) auf als Träger des -174C Allels (Genotypen -174 GC und -174 CC). Die Analyse der Genotypfrequenzen und der Überlebenswahrscheinlichkeit erfolgte mit dem Chi-Quadrat-Test bzw. mithilfe des Logranktests der Kaplan-Meier-Überlebenskurven, die des IL-6-Anstiegs mit dem Kruskal-Wallis-Test. Weitere klinische Parameter wurden bei der statistischen Analyse nicht berücksichtigt.

Schlussfolgerung

Der IL-6-Promoter-Polymorphismus (-174 G/C) ist mit dem systemischen IL-6-Anstieg nach CPB assoziiert. Die Ergebnisse der Studie weisen auf eine Assoziation dieses Polymorphismus mit der Überlebensrate der Patienten nach CPB hin. Patienten mit dem GG homozygoten Genotyp scheinen eine höhere Überlebenswahrscheinlichkeit und eine geringere inflammatorische Antwort nach CPB als die übrigen Genotypen zu haben.

Literatur

- Brull DF, Montgomery HE, Sanders J et al: Interleukin-6 Gene -174G > C and -572G > C Promoter Polymorphisms are strong predictors of plasma Interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001; 21:1458-1463
- Schlüter B, Raufhake C, Erren M et al: Effect of the interleukin-6

Initialer IL-6 Anstieg nach CPB

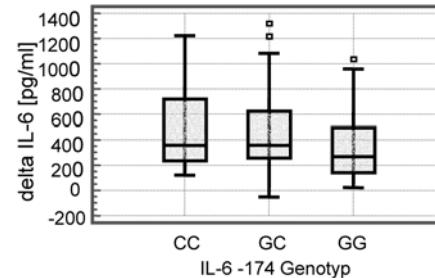


Abbildung 1: IL-6-Plasmaanstieg nach CPB in Abhängigkeit vom IL-6 -174 Genotyp.

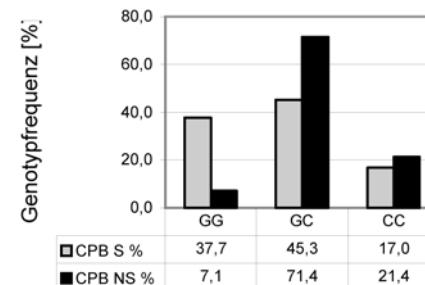


Abbildung 2: Überlebensrate in Abhängigkeit vom IL-6 -174 Genotyp (S: Überlebende; NS: Verstorbene).

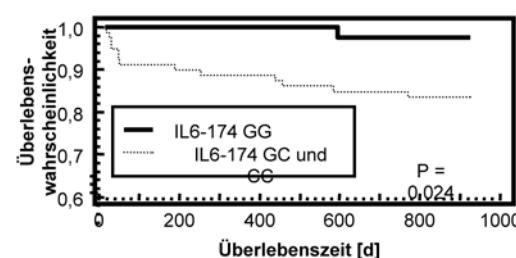
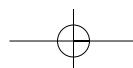


Abbildung 3: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit vom IL-6 -174 Genotyp.

- promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. Crit Care Med 2002; 30:32-37
- Rust S, Funke H, Assmann G: Mutagenically separated PCR (MS-PCR): A highly specific one step procedure for easy mutation detection. Nucleic Acids Res 1993; 21:3623-3629.



Abstracts

Die hochthorakale Epiduralanästhesie reduziert das Ausmaß von Myokardischämien in der Koronarchirurgie

M. A. Große Hartlage¹, S. P. Wirtz¹, C. Schmidt¹, H. Van Aken¹, H. H. Scheld², T. Möllhoff³ und E. Berendes¹

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Münster

² Klinik und Poliklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie, Universitätsklinikum Münster

³ Abteilung für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Marienhospital Aachen

Fragestellung

Die hochthorakale Epiduralanästhesie (hTEA) bewirkt neben einer effektiven Analgesie auch eine kardiale Sympathikolyse. Die antiischämische Wirkung beim akuten Koronarsyndrom [1] sowie eine Reduktion der postoperativen Myokardinfarktrate bei nicht kardiochirurgischen Patienten [2] sind gut belegt. Diese Studie untersuchte prospektiv die Effekte der hTEA auf die linksventrikuläre (LV) Funktion, das Auftreten von Myokardischämien sowie die Langzeitüberlebensrate nach koronarchirurgischen Eingriffen.

Methodik

Nach positivem Votum der Ethikkommission und schriftlicher Einwilligung erhielten 73 Patienten mit Koronarer Herzkrankheit und einer Ejektionsfraktion $\geq 50\%$ randomisiert entweder eine Allgemeinanästhesie (GA) mit Propofol und Sufentanil ($n = 37$) oder eine GA kombiniert mit hTEA ($n = 36$) zur elektiven myokardialen Revaskularisation. Die beiden Gruppen unterschieden sich nicht hinsichtlich demographischer Parameter und präoperativer Komorbidität. Ein epiduraler Katheter wurde am Tag vor dem Eingriff auf Höhe C7/Th1 nach mediale Punktation unter Anwendung der Technik des hängenden Tropfens gelegt. Präoperativ wurden 4 - 8 ml Bupivacain 0,5% und 15 - 25 µg Sufentanil sowie intraoperativ 2 ml Bupivacain 0,75%/h in den Epiduralspace injiziert. Das Verfahren wurde bis zum 5. postoperativen Tag als PCEA kombiniert mit 4 x 1g Paracetamol pro Tag fortgesetzt. Die Schmerztherapie der Patienten mit alleiniger GA umfasste eine bedarfsadaptierte intravenöse Opiatgabe ebenfalls in Kombination mit Paracetamol. Prä- und postoperativ wurde die Serumkonzentration des kardialen Troponin I (cTnI) bestimmt. Mittels transösophagealer Echokardiographie wurden nach Anästhesieeinleitung und nach Aufnahme auf die Intensivstation die globale und regionale LV-Funktion anhand der Fractional Area Change (FAC) und des Wall Motion Index (WMI) sowie die Nachlast durch die endsystolische meridionale Wandspannung des LV (σ) evaluiert. Die Letalität wurde bis zum 730. post-

operativen Tag erfasst. Statistik: Wilcoxon-matched-pair-rank-Test und Mann-Whitney-U-Test; Signifikanzniveau = $p < 0,05$.

Ergebnisse

Die hTEA-Anlage war bei allen Patienten komplikationslos (Blockade-niveau: T1-T7 $\pm 1,2$ Segmente). Die postoperative regionale LV-Funktion war in der hTEA-Gruppe signifikant besser als bei den Patienten mit alleiniger GA. Darüber hinaus hatten diese Patienten um bis zu 70% niedrigere cTnI-Spiegel (Abb.). FAC und σ unterschieden sich nicht. In beiden Gruppen wurde eine hohe Patientenzufriedenheit in Bezug auf die postoperative Schmerztherapie erzielt. Die 2-Jahres-Letalität lag in der Gruppe mit hTEA bei 2,6% (1 Verstorbener) und in der Gruppe mit alleiniger GA bei 8,1% (3 Verstorbene).

Interpretation

Im Vergleich zur alleinigen GA führt die Kombination einer GA mit einer hTEA bei koronarchirurgischen Patienten zu einer signifikant besseren regionalen LV-Funktion sowie zu einer signifikanten Reduktion von Myokardischämien. Als Erklärungshypothese wird die induzierte kardiale Sympathikolyse angesehen, die der sympathikusvermittelten Vasokonstriktion arteriosklerotisch veränderter Koronararterien entgegenwirkt. Die antiischämische Wirkung der hTEA beruht damit im Wesentlichen auf einer positiven Beeinflussung dynamischer Koronarstenosen.

Literatur

- Olausson K, Magnusdottir H, Lurje L, et al.: Anti-ischemic and anti-anginal effects of thoracic epidural anesthesia versus those of conventional therapy in the treatment of severe unstable angina pectoris. Circulation 1997; 96:2178-2182
- Beattie WS, Badner NH, Choi P: Epidural analgesia reduces post-operative myocardial infarction: a meta-analysis. Anesth Analg 2001; 93:853-858.

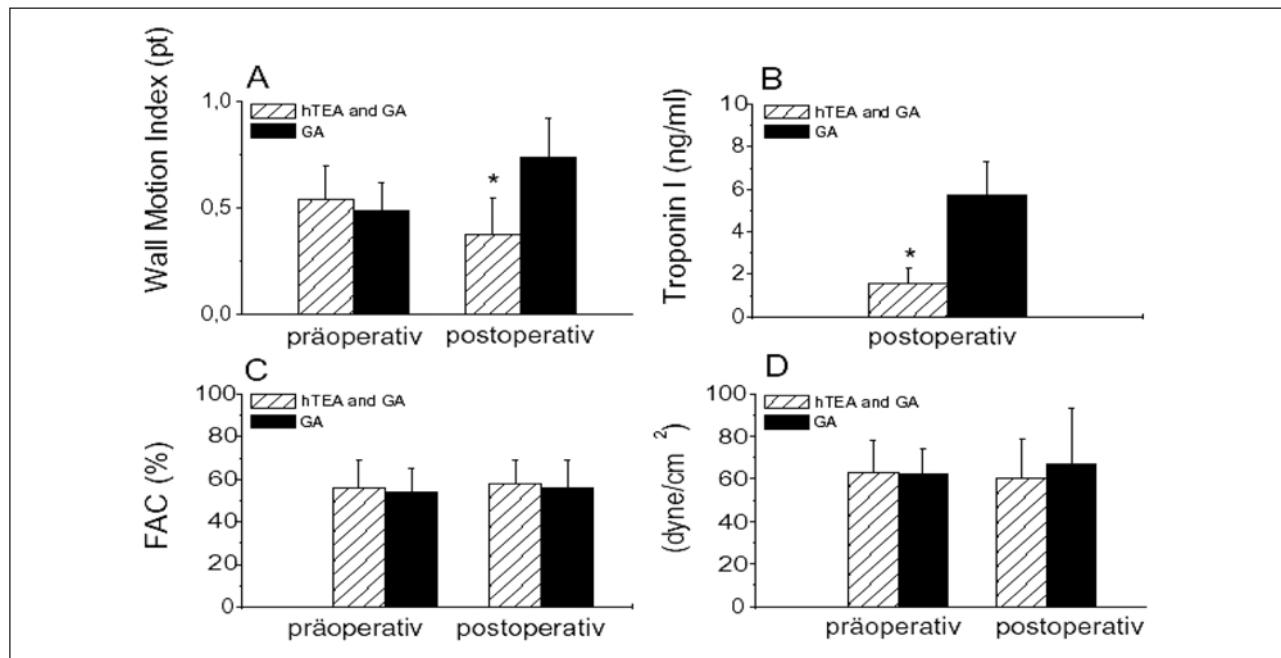
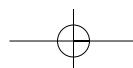


Abbildung: Prä- und postoperative Werte des LV Wall Motion Index (A), des kardialen Troponin I (B), der LV Fractional Area Change (C) und des LV endsystolischen meridionalen Wall Stress (σ) (D) bei Patienten mit Allgemeinanästhesie ohne (GA) und mit hTEA. (Mittelwerte \pm SD; * $p < 0,05$).



Kardiomyozytäre Kontraktilität und gramnegative Sepsis – Die Bedeutung des Toll-Like-Rezeptors-4

G. Baumgarten¹, P. Knuefermann¹, C. Grohé³, A. Hoeft¹ und R. Meyer²

¹ Klinik für Anästhesiologie und spezielle Intensivmedizin, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

² Physiologisches Institut II, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

³ Medizinische Klinik und Poliklinik II, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Fragestellung

Im Rahmen einer schweren gramnegativen Sepsis kommt es regelhaft zu einer kardialen Dysfunktion, die lebensbegrenzend sein kann. Diese beruht unter anderem auf einer myokardialen Expression der inflammatorisch und kardiodepressiv wirkenden Mediatoren TNF α und Interleukin 1 β (IL-1 β), deren Expression ihrerseits durch den Toll Like Rezeptor 4/CD14 Komplex vermittelt wird (1, 2, 3). Die funktionelle Relevanz des Toll Like Rezeptors 4 (TLR4) für die kardiomyozytäre Kontraktilität im Rahmen einer gramnegativen Sepsis ist jedoch bislang nicht geklärt.

Ziel unserer Experimente war es daher, die Bedeutung des TLR4 für die kardiomyozytäre Kontraktilität unter Lipopolysaccharid (LPS) Stimulation zu untersuchen.

Methodik

Hierzu wurden Kardiomyozyten aus TLR4-defizienten (C3H/HeJ) und Wildtyp-Mäusen (C3H/HeN) mit Kollagenase isoliert. Ein präkonditionierender Effekt durch eine mögliche LPS Verunreinigung der Kollagenase wurde mittels Polymyxin B während der Isolation unterbunden. Nachfolgend wurden die isolierten Zellen jeder Mauslinie in drei Gruppen geteilt: Eine Kontrollgruppe wurde in Tyrode gehalten, zwei weitere für 6 Stunden in "Dulbeccos MEM" mit und ohne LPS (10 mg/ml). Pro Messpunkt wurden > 5 Zellen extern stimuliert und jeweils 5 konsekutive Sarkomer verkürzungen bei den Stimulationsfrequenzen 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 und 10 Hz ausgelöst und in Tyrode bei 36 C° vermessen. Zwischen den Stimulationsperioden wurden Pausen von 30 Sekunden eingehalten. Zur statistischen Analyse wurde ein ANOVA verwendet. Die Tierversuche sind durch die Bezirksregierung Köln gemäß § 8 Tierschutzgesetz genehmigt.

Ergebnisse

Nach Applikation von LPS zeigten Kardiomyozyten der Wildtypmäuse im Vergleich zu TLR4-defizienten Kardiomyozyten bei verschiedenen Stimulationsfrequenzen signifikante Veränderungen der Sarkomer verkürzungen (Abb. 1; p ≤ 0.05 bei 0.5, 1, 2, 4, 8 und 10 Hz, n > 5 pro Stimulationsfrequenz). Die Analyse der Verkürzungsgeschwindigkeit, -amplitude und der Relaxationsgeschwindigkeit ergab ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und TLR4-defizienten Kardiomyozyten bei verschiedenen Stimulationsfrequenzen. Während hoher Stimulationsfrequenzen war die Verkürzungsdauer der Kontrollkardiomyozyten nicht statistisch vergleichbar mit den Daten der TLR4-defizienten Kardiomyozyten, da viele Zellen der Kontrolltiere nach LPS-Behandlung nicht in der Lage waren, den hohen Stimulationsfrequenzen zu folgen.

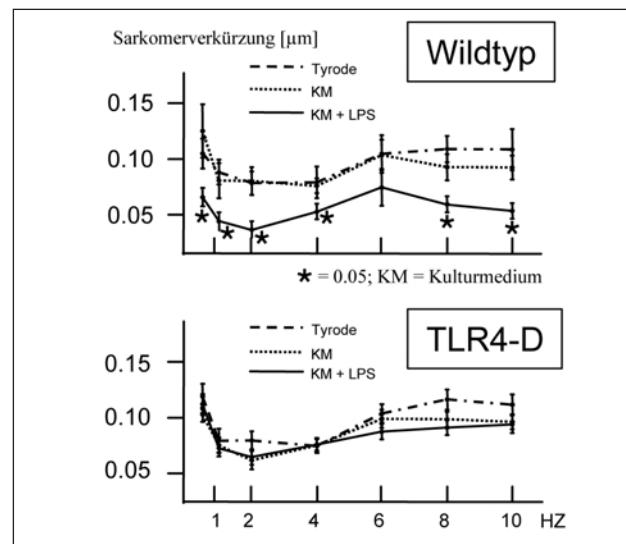


Abbildung 1

Interpretation

In einem In-vitro-Modell der septischen Kardiomyopathie wird die kardiomyozytäre Kontraktilität durch TLR4 abhängige Signale der Kardiomyozyten signifikant beeinträchtigt.

Literatur

- Cain BS, Meldrum DR, Dinarello CA, Meng X, Joo KS, Banerjee A, Harken AH: Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 β synergistically depress human myocardial function. Crit Care Med. 1999; 27: 1309-18
- Baumgarten G, Knuefermann P, Nozaki N, Sivasubramanian N, Mann DL, Vallejo JG: In vivo expression of proinflammatory mediators in the adult heart after endotoxin administration: the role of toll-like receptor-4. J Infect Dis. 2001; 183: 1617-24
- Nemoto S, Vallejo JG, Knuefermann P, Misra A, Defreitas G, Carabello BA, Mann DL: Escherichia coli LPS-induced LV dysfunction: role of toll-like receptor-4 in the adult heart. Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol 2002; 282: H2316-H2323.

Chemokin- und Wachstumsfaktor-induzierte Rekrutierung opioidhaltiger Granulozyten und Inhibition von Entzündungsschmerz

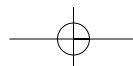
A. Brack, H. L. Rittner, H. Machelska, D. Labuz, M. Schäfer und C. Stein

Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Freie Universität Berlin

Fragestellung

Opioidhaltige Immunzellen spielen eine wesentliche Rolle in der endogenen postoperativen Analgesie beim Menschen [1]. Im Tiermodell der Freund's Complete Adjuvans (FCA) induzierten Entzündung wandern diese Zellen in die Pfote ein, setzen nach Stressreizen oder corticotropin releasing factor (CRF) Opioidpeptide frei und erzeugen eine lokale

Analgesie [2]. Mit zunehmender Entzündungsdauer steigt die Zahl opioidhaltiger Zellen an und parallel dazu verstärkt sich die endogene Schmerzinhibition (Analgesie) [3]. In der frühen Entzündung sind die meisten opioidhaltigen Zellen Granulozyten [3]. Um vermehrt Granulozyten an den Ort einer Entzündung zu bringen, können entweder Wachstumsfaktoren oder granulozytenspezifische Chemokine ein-



Abstracts

gesetzt werden. Da in den ersten Stunden nach FCA-Gabe nur wenige Immunzellen vorhanden sind und die endogene Analgesie gering ausgebildet ist, sollte zu diesem frühen Zeitpunkt untersucht werden, ob die Rekrutierung opioidhaltiger Zellen in die Pfote i) durch Wachstumsfaktoren und ii) durch ein Chemokin gesteigert wird und ob iii) eine vermehrte Rekrutierung zu einer verstärkten Analgesie führt.

Methodik

Wistar-Ratten ($n = 7$ je Gruppe) wurde $150\mu\text{l}$ FCA intraplantar (i.pl.) injiziert. Nach 2 Stunden wurden Zellsuspensionen der entzündeten Pfote mittels Durchflusszytometrie mit Antikörpern gegen Granulozyten (RP-1) und Opioidpeptide (3E7) analysiert. Die Ptotendruckschwelle (PPT) wurde vor (Baseline; BL) bzw. nach Injektion von CRF (8 ng s.c.) oder nach Kaltwasserschwimmstress (CWS) bestimmt. Eine Granulozytose wurde durch s.c. Gabe von G-CSF (granulocyte colony stimulating factor, $100\mu\text{g}/\text{kg}$) und SCF (stem cell factor, $50\mu\text{g}/\text{kg}$) über 5 Tage induziert (Kontrolle: $100\mu\text{l}$ Glukose s.c.). Zur lokalen Rekrutierung wurde das Chemokin MIP-2 (macrophage inflammatory protein-2) in Dosen von 1, 3 und $10\mu\text{g}$ (Kontrolle: $100\mu\text{l}$ NaCl) i.pl. injiziert, unmittelbar gefolgt von FCA.

Ergebnisse

i) Die durchflusszytometrische Analyse der Zellen in der entzündeten Pfote zeigt, dass die Anzahl von RP-1⁺ Granulozyten und 3E7⁺ opioidhaltigen Zellen in G-CSF + SCF behandelten gegenüber Kontrolltieren signifikant ansteigt (RP-1: 272 ± 26 vs. $177 \pm 18 \times 10^3$ Zellen und 3E7: Abb. A, beide $p < 0.05$; Mittelwerte + SEM, t-Test). ii) Die i.pl. Injektion von MIP-2 führt dosisabhängig zu einem Anstieg der Granulozyten und der 3E7⁺ Zellen (RP-1: Kontrolle: 162 ± 15 ; $1\mu\text{g}$: 383 ± 57 ; $3\mu\text{g}$: 920 ± 122 ; $10\mu\text{g}$: $591 \pm 62 \times 10^3$ Zellen, 3E7: Abb. A, beide $p < 0.001$; ANOVA on ranks). iii) Der Anstieg der Ptotendruckschwelle (PPT) nach CWS

ist in G-CSF + SCF bzw. MIP-2 behandelten Tieren gegenüber den jeweiligen Kontrollen (Glukose bzw. NaCl) unverändert (Abb. B, beide $p > 0.05$; two way ANOVA). Nach CRF-Injektion tritt ebenfalls keine signifikante Erhöhung der PPT Anstiege auf (G-CSF + SCF: 20.9 ± 2.9 vs. Glukose: $18.8 \pm 2.1\%$ MPE, $p > 0.05$ t-Test).

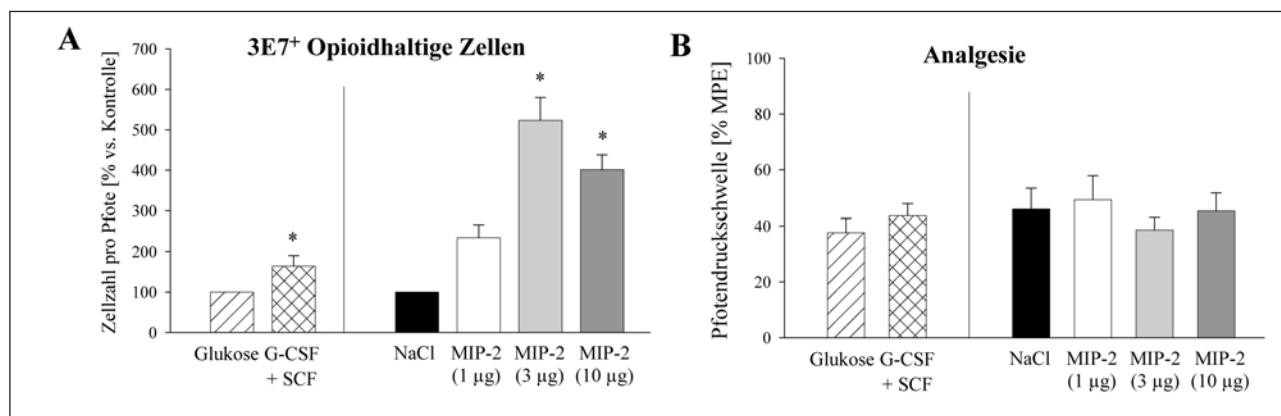
Interpretation

Die Anzahl opioidhaltiger Immunzellen in der entzündeten Pfote lässt sich durch Induktion einer systemischen Granulozytose oder durch lokale Gabe eines Chemokins steigern. Die verstärkte Rekrutierung opioidhaltiger Zellen führt jedoch nicht zu einer gesteigerten CRF bzw. Stress-induzierten Analgesie. Vermutlich ist das Ausmaß der peripheren Analgesie nicht durch die Menge an Liganden (Opioidpeptide), sondern durch die im frühen Entzündungsstadium geringe Anzahl oder ineffektive Signaltransduktion der Opioidrezeptoren begrenzt.

Literatur

- Stein C, Hassan HA, Lehrberger K, et al: Local analgesic effect of endogenous opioid peptides. Lancet 1993; 342:321-324
- Machelka H, Mousa SA, Brack A, et al: Opioid control of inflammatory pain regulated by intracellular adhesion molecule-1. J Neurosci 2002; 22:5588-96
- Rittner HR, Brack A, Machelka H, et al: Opioid peptide expressing leukocytes - Identification, recruitment and simultaneously increasing inhibition of inflammatory pain. Anesthesiology 2001; 95:500-508.

Gefördert von der DFG (Klinische Forschergruppe KFO 100/1, TP 2: Brack/Rittner).



D-Serin antagonisiert die Lidocain-vermittelte spinale Antinozizeption bei neuropathischen Schmerzen

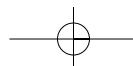
J. U. Stegmann, P. Lipfert, K. Kollosche, H. Holthusen und U. Muth-Selbach
Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

Fragestellung

Systemisch appliziertes Lidocain wirkt bei akutem Entzündungsschmerz antihyperalgetisch. Wir konnten zeigen, dass an diesem Effekt die Glyzinbindungsstelle des spinalen NMDA-Rezeptors beteiligt ist [1]. Unklar ist, ob glyzinerge Mechanismen auch an der schmerzlindernden Wirkung des Lidocain bei chronischen, neuropathischen Schmerzen beteiligt sind [2]. Um diese Frage zu klären, haben wir an chronisch instrumentierten Ratten die Wirkung von D-Serin, einem Co-Aktivator am NMDA-Rezeptor mit Bindung an der Glyzinbindungsstelle [3] sowie seinem inaktiven Isomer L-Serin auf experimentell erzeugte neuropathische Schmerzen untersucht.

Methodik

Mit Genehmigung der Bezirksregierung wurden bei narkotisierten Wistar-Ratten neuropathische Schmerzen (thermale Hyperalgesie) durch lockere Ligaturen des rechten Nisschiadicus induziert (CCI = chronic constriction injury, nach Bennett). Darüber hinaus wurden 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 auf die thermale Hyperalgesie wurde 7 - 10 Tage nach der Operation untersucht. Zunächst wurden die Hitzeschmerzschwellen der operierten rechten Hinterpfote und zur Kontrolle der nicht operierten linken Hinterpfote



bestimmt und dazu die Latenzen bis zum Wegziehen der jeweiligen Pfote auf einen definierten Hitzereiz gemessen (Plantaralgesiometer, Ugo Basile). Insgesamt wurden 36 Ratten mit deutlicher thermaler Hyperalgesie folgenden 6 Gruppen à 6 Tieren randomisiert 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..

D-Serin, L-Serin (je 100 µg) oder NaCl 0,9% wurden anschließend über den intrathekalen Katheter in den Spinalraum injiziert (je 10 µl) und 2 Minuten später Lidocain (10 mg/kgKG in 3 Minuten) oder NaCl 0,9% intravenös appliziert. Unmittelbar danach wurden erneut die Hitze-schmerzschwellen beider Hinterpfoten bestimmt. Statistik: Mittelwert ± Standardfehler, t-Test bzw. gepaarter t-Test.

Ergebnisse

Als Ausdruck der antinozizeptiven Eigenschaft von Lidocain stiegen die Latenzen bis zum Wegziehen der Pfote auf der operierten Seite signifikant an ($19,2 \text{ sek} \pm 0,3$ vs. $8,7 \text{ sek} \pm 0,3$, $p < 0,001$; gepaarter t-Test). Zusätzliche intrathekale Applikation von D-Serin, nicht jedoch des an der Glyzin-Bindungsstelle inaktiven Isomers L-Serin verminderte signifi-

fikant die antinozizeptive Lidocainwirkung im Vergleich zur Lidocaingruppe ($14,5 \text{ sek} \pm 0,6$ bzw. $20,1 \text{ sek} \pm 0,3$ vs $19,2 \text{ sek} \pm 0,3$, $p < 0,05$, t-Test). Kontrollen mit D-Serin und L-Serin ohne Lidocain zeigten keinen Effekt.

Interpretation

Spinal appliziertes D-Serin antagonisiert die antinozizeptive Wirkung von systemisch appliziertem Lidocain. Diese Ergebnisse zeigen erstmals in Verhaltensexperimenten, dass an der antinozizeptiven Wirkung von Lidocain bei chronischem, neuropathischem Schmerz die Glyzin-Bindungsstelle spinaler NMDA-Rezeptoren beteiligt sein könnte.

Literatur

1. Muth-Selbach U, Stegmann JU, Kurdulija J, Lipfert P, Holthusen H: Lidocain-induzierte spinale Antinozizeption: Vermittlung über die Glyzin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors? Anästhesiologie und Intensivmedizin 2002; 43:670-671
2. Satoh O, Omote K: Roles of monoaminergic, glycinergic and GABAergic inhibitory systems in the spinal cord in rats with peripheral mononeuropathy. Brain Res 1996; 728:72-36
3. Mothet 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 2000; 97:4926-4931.

Lidocain hemmt die Generierung von Aktionspotentialen in spinalen Hinterhornneuronen

M. Wolff¹, A. Olschewski¹, A. Scholz² und G. Hempelmann¹

¹ Abteilung Anaesthesiologie, Operative Intensivmedizin, Schmerztherapie, Universitätsklinikum Gießen

² Physiologisches Institut, Justus-Liebig-Universität Gießen

Fragestellung

Während der Spinalanästhesie sind die Hinterhornneurone des Rückenmarks ein wichtiger Angriffspunkt der applizierten Pharmaka. Elektrophysiologisch lassen sich die Neurone der Laminae I und II anhand ihrer Reaktion auf einen Dauerreiz in drei Zelltypen aufteilen [2]: Typ-I-Neurone generieren Serien von Aktionspotentialen (AP's) und verarbeiten Afferenzen aus Nozi- und Thermorezeptoren [1]. Typ-II-Neurone generieren adaptierende Serien von AP's (Nozizeption). Typ-III-Neurone generieren lediglich 1 - 2 AP's (Koinzidenzdetektoren). Ziel dieser Arbeit war es, die funktionellen Auswirkungen von Lidocain, welches Na^+ - und K^+ -Kanäle blockiert [3], auf die Generierung von AP's in den verschiedenen Zelltypen zu untersuchen und mit den Effekten des spezifischen Na^+ -Kanalblockers Tetrodotoxin (TTX) zu vergleichen.

Methodik

Mittels Whole-cell-patch-clamp-Technik wurden Experimente an Schnitten des lumbalen Rückenmarks (200 µm; L3 - L6) junger Ratten (6 - 11 Tage) bei Raumtemperatur (21 - 23 °C) im Current-clamp-Modus durchgeführt. Zur Beurteilung der Erregbarkeit wurde mit 500 ms langen Dauerreizen die Fähigkeit der Neurone, Serien von AP's zu generieren, getestet. Nach den Ergebnissen dieser Experimente wurden die Neurone den Typen I-III zugeordnet. Durch fünf repetitive Impulse

(1 ms Dauer) mit variablem Abstand wurde die maximal mögliche Frequenz bestimmt, mit der die Neurone einzelne AP's generieren können. Lidocain (100 µM) und TTX 10 (nM) wurden in der jeweiligen IC₅₀ für Na^+ -Ströme verwendet. Die Daten sind als Mittelwerte ± Standardfehler des Mittelwertes angegeben und stammen von 60 Neuronen der Laminae I und II des Rückenmarks. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Wilcoxon-Signed-Rank-Test ($p < 0,05$; *).

Ergebnisse

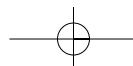
Bei Dauerreizen zeigten Typ-I Neurone durch TTX (n = 11) eine geringe Reduktion ihrer Feuerrate, verloren jedoch unter Lidocain (n = 13) die Fähigkeit, Serien von AP's zu generieren (Tab.). Unter Gabe von Lidocain (n = 12) und TTX (n = 11) wurde die Anzahl der AP's in Typ-II-Neuronen deutlich reduziert (Tab.). Typ-III-Neurone zeigten keine Änderung in ihrem Feuerverhalten bei Gabe von Lidocain oder TTX (n = 13). Fünf Impulse mit variablem Abstand konnten in allen Experimenten AP's generieren, die maximal mögliche Frequenz wurde unter Lidocain und TTX geringgradig reduziert (Tab.).

Interpretation

Es konnte gezeigt werden, dass die beiden Substanzen nur wenig Effekt auf einzelne AP's hatten (Typ-III-Neuron). Unter Gabe von Lidocain generierten Typ-I- und -II-Neurone deutlich weniger AP's, Typ-I-Neu-

Tabelle: Lidocain und TTX hemmen die Erregungsbildung; Signifikanzniveau: $p < 0,05$ (*)

Neuron	Reiz	Parameter	Kontrolle	Lidocain	Kontrolle	TTX
Typ I	Dauerreiz	Anzahl AP's	$14,5 \pm 1,3$	$3,6 \pm 0,5^*$	$19,7 \pm 2,3$	$14,1 \pm 1,4^*$
	5 repetitive Reize	Frequenz Max. Frequenz	$29,8 \pm 2,7 \text{ Hz}$ $148 \pm 13 \text{ Hz}$	keine $114 \pm 13 \text{ Hz}^*$	$38,5 \pm 3,5 \text{ Hz}$ $183 \pm 15 \text{ Hz}$	$29,8 \pm 2,7^*$ $170 \pm 15 \text{ Hz}$
Typ II	Dauerreiz	Anzahl AP's	$6,2 \pm 1,0$	$1,5 \pm 0,2^*$	$5,4 \pm 0,7$	$1,8 \pm 0,3^*$
	5 repetitive Reize	Max. Frequenz	$121 \pm 11 \text{ Hz}$	$85 \pm 14 \text{ Hz}^*$	$96 \pm 8 \text{ Hz}$	$76 \pm 12 \text{ Hz}^*$



Abstracts

rone verloren die Fähigkeit, Serien von AP's zu generieren. Dieser Effekt trat bei selektiver Na^+ -Kanalblockade nicht auf, dennoch ließen sich alle Neurone nach Blockade mit Lidocain repetitiv stimulieren. Die zusätzliche Blockade von A-Typ K^+ -Kanälen durch Lidocain (3) könnte die stärkere erregungsdämpfende Wirkung von Lidocain gegenüber TTX bei Dauerreizen erklären und somit einen wesentlichen Beitrag zur lokalanästhetischen Wirkung von Lidocain leisten. Mit unserer Arbeit zeigen wir, dass Lidocain in einer Konzentration, die einzelne AP's nur wenig beeinflusst, bereits eine ausgeprägte Hemmung der Schmerzweiterleitung in Hinterhornneuronen bewirkt.

Literatur

- Han ZS, Zhang ET, Craig AD: Nociceptive and thermoreceptive lamina I neurons are anatomically distinct. *Nat Neurosci* 1998; 1: 218-25
- Lopez-Garcia JA, King AE: Membrane properties of physiologically classified rat dorsal horn neurons in vitro: correlation with cutaneous sensory afferent input. *Eur J Neurosci* 1994; 6: 998-1007
- Olszewski A, Vogel W, Hempelmann G, Safronov BV: Blockade of Na^+ and K^+ currents by local anesthetics in the dorsal horn neurons of the spinal cord. *Anesthesiology* 1998; 88: 172-80.

Die vermehrte Internalisierung von μ -Opioidrezeptoren verhindert die Entstehung von Toleranz unter Entzündungsbedingungen

C. Zöllner, M. Shaqura, S. Mousa, C. P. Bopaiha, C. Stein und M. Schäfer

Klinik für Anästhesiologie, Freie Universität Berlin

Fragestellung

Die analgetische Effizienz einer chronischen Applikation von μ -Opioidrezeptor (MOR)-agonisten (z.B. Morphin) ist limitiert durch eine Toleranzentwicklung. Der Wirkungsverlust bei der Toleranz entsteht durch Phosphorylierung von MOR und Entkopplung des G-Proteins vom Rezeptor. Durch Internalisierung des MOR können diese Vorgänge wieder rückgängig gemacht werden. Das Toleranzpotential von Morphin ist möglicherweise auf eine fehlende Internalisierung des MOR nach Morphinbindung zurückzuführen [1]. In-vitro-Studien haben jedoch gezeigt, dass die gleichzeitige Gabe eines Opioidpeptids mit Morphin eine ausgeprägte Internalisierung auslöst [2]. In der vorliegenden Arbeit konnten wir in einem Tiermodell nachweisen, dass die Morphinapplikation bei einer chronischen Entzündung, die mit der Freisetzung endogener Opioidpeptide wie β -Endorphin (END) einhergeht, zu einer verminderten analgetischen Toleranz führt. Unsere Untersuchungen lassen auf ein verändertes Internalisierungs- und G-Protein-Kopplungsverhalten als mögliche Ursache schließen.

Methodik

HEK293 Zellen, stabil mit FLAG markierten MOR transfiziert, und humane Neuroblastomzellen (SHSY5Y) wurden mit Morphin (5 μM) oder Morphin (5 μM) / END (0.1 μM) inkubiert. Die Rezeptorinternalisierung und G-Protein-Kopplung wurde mittels Bindungs- bzw. [^{35}S] GTP γS -Assays bestimmt. Opiodtoleranz wurde durch die s.c. Gabe von Morphin ($2 \times 10 \text{ mg/kg KG/die}$) in Kontrollratten und Tieren mit Freund's Complete Adjuvanz (FCA)-induzierter Entzündung hervorgerufen. Die Toleranzentstehung wurde durch Bestimmung der analgetischen Pfotendruckschwelle (PPT) untersucht. Die Spinalganglien (DRG) wurden entnommen und die MOR-Internalisierung bzw. G-Protein-Kopplung bestimmt. Immunhistochemische Untersuchungen mit dem Nachweis von END $^+$ -Zellen in DRG wurden durchgeführt.

Ergebnisse

Verglichen mit unbehandelten Zellen kommt es bei HEK293 und SHSY5Y-Zellen zu einer ausgeprägten Abnahme der MOR (Internalisierung) nach Präinkubation mit Morphin/END, nicht jedoch nach alleiniger Morphingabe (Tab.). Bei Morphin-toleranten Tieren mit FCA-induzierter Entzündung konnte eine signifikante, 70%ige Abnahme der MOR-Bindungsstellen auf DRG nachgewiesen werden (Anova, $p < 0.05$) und lediglich eine 8%ige, nichtsignifikante Abnahme bei den Morphin-toleranten Kontrolltieren. Die G-Protein-Kopplung war bei entzündeten Tieren mit Toleranz stärker reduziert. Im Pfotendrucktest kam es zu einer signifikant geringeren Toleranzentwicklung bei den Tieren mit FCA-Entzündung (t -test, $p < 0.05$) (Abb.). Im Gegensatz zu den Kontrolltieren konnten wir bei Tieren mit FCA in immunhistochemischen Untersuchungen END $^+$ -Zellen in DRG nachweisen.

Interpretation

MOR auf SHSY5Y- und HEK293-Zellen können durch die gleichzeitige Inkubation mit Morphin und END, nicht jedoch Morphin allein, internalisiert werden. Diese Divergenz konnte auch unter Entzündungsbedingungen im Tiermodell nachgewiesen werden. Bei Morphin-toleranten Ratten kommt es nur bei Tieren mit Entzündung zur ver-

Tabelle: MOR (% Kontrolle) nach Internalisierung.

	HEK293	SHSY5Y
Kontrolle	100	100
Morphin	92 ± 4	88 ± 9
Morphin + END	33 ± 7*	62 ± 7*

* signifikant unterschiedlich zur Kontrolle (Anova, $p < 0.05$)

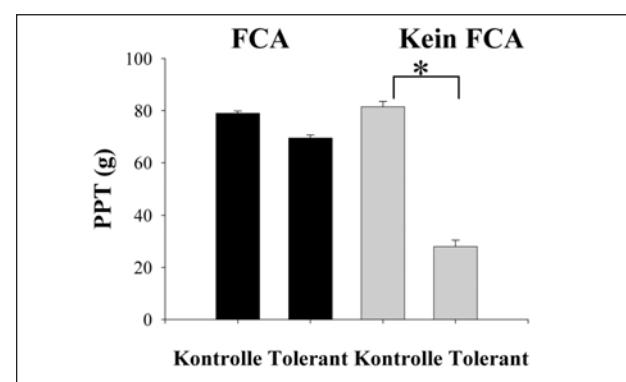


Abbildung: PPT bei Morphin-toleranten Ratten mit und ohne FCA-Entzündung.

mehrten Internalisierung von MOR auf DRG. Diese Veränderungen gehen gleichzeitig mit einer verminderten analgetischen Toleranzentwicklung unter Entzündungsbedingungen einher. In Übereinstimmung mit einer Rekrutierung opioid-haltiger Zellen in der entzündeten Pfote konnten auch im DRG unter Entzündungsbedingungen END $^+$ -Zellen nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass körpereigene Mechanismen während einer Entzündung die Entstehung von Toleranz durch Morphin verzögern können. Hieraus könnte sich ein interessantes klinisches Konzept ergeben, bei dem die gleichzeitige Gabe von Morphin und einem Opioidpeptid zu einer verminderten Toleranzentwicklung bei der Behandlung chronischer Schmerzen führt.

Literatur

- Whistler JL, Chuang HH, Chu P, et al.: Functional dissociation of mu opioid receptor signaling and endocytosis: implications for the biology of opiate tolerance and addiction. *Neuron* 1999; 23:737-46
- Finn AK, Whistler JL: Endocytosis of the μ -opioid receptor reduces tolerance and a cellular hallmark of opiate withdrawal. *Neuron* 2001; 32:829-39.

Diese Arbeit wurde gefördert von der DFG (Klinische Forschergruppe KFO100/1).

Die Myelinisierung eines peripheren Nerven ändert sich mit dem Implantationsort

M. F. Stevens¹, H. Hermanns¹, G. E. K. Novotny² und P. Lipfert¹

¹ Klinik für Anaesthesiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf

² Institut für Neuroanatomie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Fragestellung

Baroafferente Nervenfasern können nach Durchtrennung in Abhängigkeit vom Implantationsort (Arterie oder Vene) wieder neue Rezeptoren ausbilden [1]. Wir prüften die Hypothese, ob und inwieweit das Endorgan die Myelinisierung dieser Nerven beeinflusst.

Methodik

Methode
Mit Genehmigung der Bezirksregierung wurde an sieben 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., auf der anderen in die V. jugularis int. implantiert. Nach 3 Monaten wurden die implantierten Nerven elektrophysiologisch und morphologisch untersucht und der proximale Stumpf nach Durchtrennung in das jeweils andere Gefäß implantiert. Nach weiteren drei Monaten wurden die Nerven erneut untersucht. Die Nervensegmente wurden in SPURR eingebettet, 1 µm dicke Nervenquerschnitte angefertigt, mit Phenylendiamin gefärbt und digital morphometriert. Die Anzahl myelinisierter Fasern wurden mit dem Vorzeichenetest, die Axonflächen mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen (Median mit Perzentilen).

Ergebnisse

Ergebnisse
 Von den in Arterien implantierten Nerven erlangten 9 von 13 wieder ihre ursprüngliche pulssynchrone Aktivität, hingegen keiner von den in eine Vene implantierten Nerven. Nach der ersten Durchtrennung nahm die Zahl der myelinisierten Fasern in allen Nerven ab (Abb. 1, Abb. 2). Wurde der Nervenstumpf jedoch zunächst in eine Vene und dann in eine Arterie implantiert, so remyelinisierten die Fasern der Nerven wieder (Abb. 2 links). Die Myelinfläche blieb bei allen Nerven unverändert, wohingegen die Axonfläche der myelinisierten Fasern nach Durchtrennung variierte in Abhängigkeit vom Implantationsort (Abb. 3).

Interpretation

Die Myelinisierung eines Nerven ändert sich in Abhängigkeit von dessen Implantationsort. Da die Aktivität eines Nerven per se keinen Einfluss auf dessen Faserzusammensetzung hat [2], spielen offensichtlich Eigenschaften des Implantationsortes für die Myelinisierung eine Rolle, z.B. die Elastizität der Gefäßwand. In Übereinstimmung damit nimmt die Myelinisierung baroaffenter Nerven bei Hypertonie ab [3].

Literatur

1. Stevens MF, Hermanns H, Novotny GEK, Lipfert P: Bedeutung des Implantationsortes für die Regeneration durchtrennter Baroafferenzen. Anaesth Intensivmed 2002; 43: 682-3
 2. Stevens MF, Novotny GE, Lipfert P: Inactivation of baroafferents leads to loss of barosensitivity without changes in nerve morphology. J Auton Nerv Syst 1998; 68: 125-34
 3. Fazan VPS, Júnior RF, Salgado HC, Barreira AA: (1999) Morphology of aortic depressor nerve myelinated fibers in normotensive Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. J Auton Nerv Syst 1999; 77: 133-9.

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

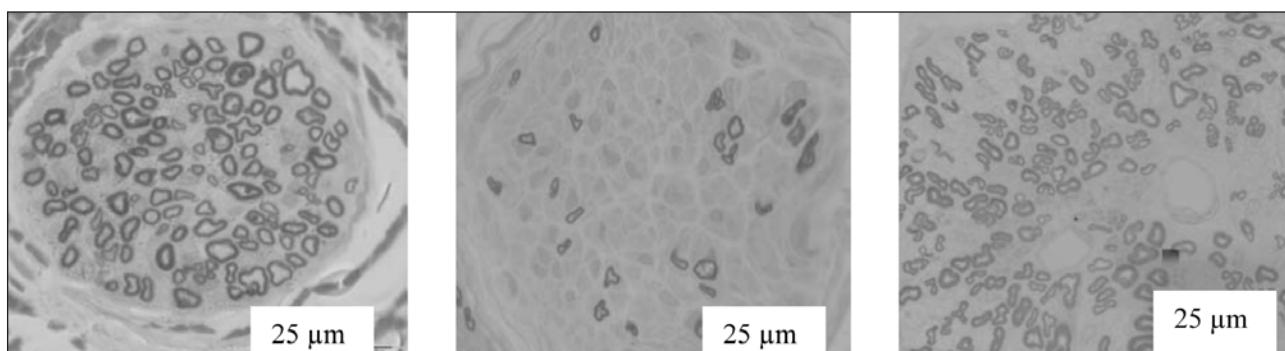


Abbildung 1: Nativer Nerv

Nerv in Vene

Nerv in Arterie

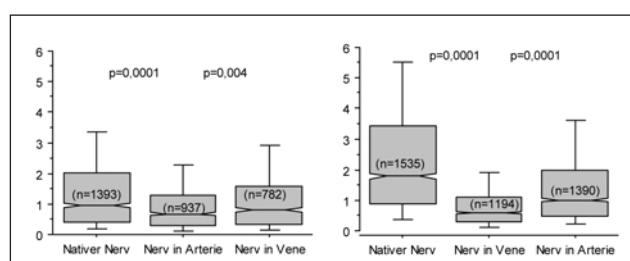
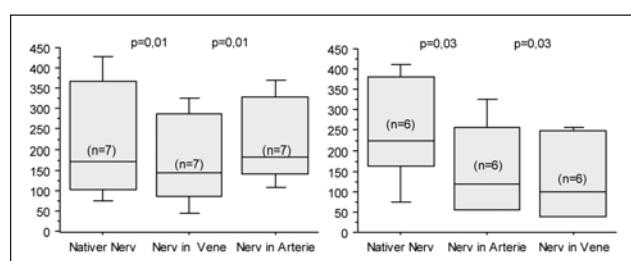


Abbildung 2: Anzahl myelinisierter Fasern des N. depressor

Abbildung 3: Axonfläche (um)