

Abstracts der 19. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI*

Die Vorträge, deren Abstracts nachfolgend publiziert werden, wurden nach einem vorhergehenden gewichteten Auswahlverfahren auf den Wissenschaftlichen Arbeitstagen der DGAI vom **18. - 19.02.2005** 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. Die **Ausschreibung für die Wissenschaftlichen Arbeitstage 2006 und das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung** finden Sie diesmal auf der Seite 590.

Veränderung von Hämodynamik und kreislaufaktiven Hormonen bei Xenon- und Isofluran-basierten Formen der Allgemeinanästhesie

R.C.E. Francis¹, C. Höhne¹, G. Kaczmarczyk¹, M.S. Reyle-Hahn² und W. Boemke¹

¹ AG Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum

² Abteilung für Anästhesie und operative Intensivmedizin, Evangelisches Waldkrankenhaus Spandau, Akademisches Lehrkrankenhaus der Humboldt-Universität zu Berlin

Fragestellung

Xenonnarkose wird mit einer im Vergleich zu volatilen Anästhetika geringeren Depression des kardiovaskulären Systems und besserer Kreislaufstabilität in Verbindung gebracht [1, 3]. Es ist unklar, welche sympathoadrenalen oder hormonellen Kreislaufregulationsmechanismen hierbei von Bedeutung sind und welchen Stellenwert sie besitzen. Diese Untersuchung vergleicht die bei einer Xenon/Remifentanil, Isofluran/Remifentanil und Isofluran/Lachgas-Narkose auftretenden hämodynamischen und hormonellen Regulationsmechanismen.

Methodik

Nach Zustimmung der Tierversuchskommission (AZ G0424/99) wurden n=6 Beagle-Hündinnen (Körpergewicht: $13,4 \pm 1,3$ (S.D.) kg) in jeweils drei verschiedenen Protokollen (I-III) untersucht (18 Versuche). Zwischen den in radomisierter Reihenfolge durchgeführten Protokollen lagen für jedes Tier mindestens 14 Tage Pause. Dieses Ganztiermodell ist an anderer Stelle detailliert beschrieben [2]. Nach einer initialen 30-minütigen Wachphase wurde die Narkose mit $8-10$ mg/kg Propofol (Disoprivan® 1%) induziert. Die Tiere wurden sodann oropharyngeal intubiert (Woodbridge-Tubus, 34-36 Charrére) und kontrolliert maschinell beatmet (geschlossenes System, PhysioFlex™, Dräger Medical, Lübeck, Deutschland). Die Narkose wurde aufrechterhalten durch für Hunde annähernd äquianästhetische Kombinationen aus:

Protokoll I: Isofluran $1,2 \pm 0,03$ Vol% endtidal in 30% Sauerstoff (O_2) und 70% Lachgas (N_2O); Protokoll II: Isofluran $0,8 \pm 0,01$ Vol% endtidal in 30% O_2 und Remifentanil $0,5\mu g \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ intravenös; Protokoll III: Xenon 63 ± 1 Vol% endtidal in 30% O_2 und Remifentanil $0,5\mu g \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ intravenös.

Vor Induktion und eine Stunde danach wurden der arterielle Mitteldruck, das Herzzeitvolumen (Thermodilution) und die Herzfrequenz gemessen, die Hormone Angiotensin II, Vasopressin, Adrenalin und Noradrenalin bestimmt sowie der systemische ►

Tab. 1: Ergebnisse.

	Wach	Narkose	Wach	Narkose
Arterieller Mitteldruck, mmHg			Adrenalin, pg/ml	
Isofluran/ N_2O	86 ± 2	$65 \pm 2^{\text{**}}$	Isofluran/ N_2O	73 ± 19
Isofluran/Remifentanil	95 ± 2	$67 \pm 3^{\text{**}}$	Isofluran/Remifentanil	124 ± 62
Xenon/Remifentanil	96 ± 4	85 ± 6	Xenon/Remifentanil	159 ± 58
Herzzeitvolumen, l/min			Noradrenaline, pg/ml	
Isofluran/ N_2O	2.2 ± 0.1	$1.6 \pm 0.1^{\text{**}}$	Isofluran/ N_2O	166 ± 6
Isofluran/Remifentanil	2.3 ± 0.2	$1.2 \pm 0.1^{\text{**}}$	Isofluran/Remifentanil	83 ± 18
Xenon/Remifentanil	2.3 ± 0.2	$0.9 \pm 0.1^{\text{*}}$	Xenon/Remifentanil	114 ± 19
SVR, dyn·s·cm⁻⁵			VO₂, ml/min	
Isofluran/ N_2O	3025 ± 211	$3148 \pm 121^{\text{**}}$	Isofluran/ N_2O	68 ± 2
Isofluran/Remifentanil	3387 ± 309	$4443 \pm 369^{\text{**}}$	Isofluran/Remifentanil	68 ± 5
Xenon/Remifentanil	3282 ± 281	$7231 \pm 803^{\text{*}}$	Xenon/Remifentanil	76 ± 3
Angiotensin II, pg/ml			DO₂, ml/min	
Isofluran/ N_2O	8 ± 1	$51 \pm 5^{\text{**}}$	Isofluran/ N_2O	381 ± 39
Isofluran/Remifentanil	6 ± 3	$114 \pm 22^{\text{*}}$	Isofluran/Remifentanil	412 ± 52
Xenon/Remifentanil	10 ± 3	$105 \pm 18^{\text{*}}$	Xenon/Remifentanil	426 ± 43
Vasopressin, pg/ml			C_(a-v)O₂, ml/dl	
Isofluran/ N_2O	$0.5 \pm 0,1$	$21 \pm 15^{\text{**}}$	Isofluran/ N_2O	3.1 ± 0.3
Isofluran/Remifentanil	$0.2 \pm 0,0$	$11 \pm 3^{\text{**}}$	Isofluran/Remifentanil	2.8 ± 0.3
Xenon/Remifentanil	$0.6 \pm 0,1$	$71 \pm 16^{\text{*}}$	Xenon/Remifentanil	3.4 ± 0.2

Mittelwert \pm SEM, n=6; Werte wurden jeweils während einer 30 minütigen Wachphase und nach einer Stunde Narkose bestimmt.

* p<0.05 vs. wach, ** p<0.05 vs. Xenon/Remifentanil mittels GLM ANOVA, post-hoc t-Test, α -Adjustierung nach Holm;

SVR – Systemischer vaskulärer Widerstand; VO₂ – Sauerstoffverbrauch; DO₂ – Sauerstoff delivery; C_(a-v)O₂ – arterio-gemischtvenöse Sauerstoffgehaltsdifferenz.

* Rechte vorbehalten

► vaskuläre Widerstand und die Sauerstoffverbrauchsparameter berechnet (Tab. 1).

Ergebnisse

Gegenüber dem arteriellen Mitteldruck (MAP) der wachen Tiere fiel der MAP unter Isofluran/Remifentanil und Isofluran/N₂O-Narkose ab. Unter Xenon/Remifentanil-Narkose blieb der MAP konstant. Es wurde stets eine Reduktion des Herzzeitvolumens beobachtet, die unter Xenon/Remifentanil-Narkose am stärksten ausgeprägt war. Gleichzeitig stieg der systemische vaskuläre Widerstand unter Xenon/Remifentanil um 120%, unter Isofluran/Remifentanil um 30% und unter Isofluran/N₂O um 4%. Der hohe Gefäßwiderstand unter Xenon/Remifentanil war mit einer Erhöhung der Adrenalin- und Noradrenalin-Plasmakonzentration vergesellschaftet, welche unter den Isofluran-Narkosen nicht auftrat. Es bleibt jedoch unklar, warum es unter solch hohen Katecholaminspiegeln nicht auch zu einem im Vergleich zu den Isofluran-Narkosen stärkeren Anstieg von Angiotensin II kommt. Der Anstieg der Plasmakonzentrationen von Vasopressin und Angiotensin II mag auch in den anderen Protokollen zu einer relevanten Vasokonstriktion und Erhöhung des Gefäßwiderstandes beigetragen haben.

Interpretation

Dem scheinbar günstigen Effekt eines konstanten Blutdrucks bei einer Xenon/Remifentanil-Narkose steht in diesem Ganztiermodell die vergleichsweise stärkste Aktivierung vasokonstriktorischer Hormone, insbesondere von Adrenalin und Noradrenalin, und das am stärksten reduzierte Herzzeitvolumen gegenüber. Dahingegen sind das höchste Herzzeitvolumen und der vergleichsweise starke Blutdruckabfall unter Isofluran/N₂O-Narkose zu erwarten.

Literatur

1. Boomsma F, Rupreht J, Man in 't Veld AJ, de Jong FH, Dzoljic M, and Lachmann B. Haemodynamic and neurohumoral effects of xenon anaesthesia. A comparison with nitrous oxide. *Anaesthesia* 1990; 45: 273-278
2. Höhne C, Vogler P, Frerking I, Francis RC, Swenson ER, Kaczmarczyk G, and Boemke W. Hemorrhage during isoflurane-nitrous oxide anesthesia: effects of endothelin-A or angiotensin II receptor blockade or both. *Anesthesiology* 2004; 100: 885-893
3. Rossaint R, Reyle-Hahn M, Schulte Am Esch J, Scholz J, Scherpereel P, Vallet B, Giunta F, Del Turco M, Erdmann W, Tenbrinck R, Hammerle AF, and Nagele P. Multicenter randomized comparison of the efficacy and safety of xenon and isoflurane in patients undergoing elective surgery. *Anesthesiology* 2003;98: 6-13.

Metoprolol blockiert die Desfluran-induzierte Präkonditionierung im In-vivo-Herzinfarktmodell des Kaninchens

M. Lange, T. Smul, J. Stumpner, A. Redel, N. Roewer und F. Kehl

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Fragestellung

Bei kardialen Risikopatienten wird die perioperative Gabe von Betablockern als Prophylaxe myokardialer Ischämien empfohlen [1]. Eine neuere, eventuell zusätzliche Option zur perioperativen Kardioprotektion ist die Anästhetika-induzierte Präkonditionierung (APC). Studien, die die Interaktion von Betablockern und APC untersuchen, liegen bisher aber nicht vor. Die Desfluran-induzierte Präkonditionierung verringert die Infarktgröße im Tierversuch [2] und wird, wie aus *in vitro* Versuchen bekannt ist, auch über β-Rezeptoren vermittelt [3]. Wir testeten daher die Hypothese, dass die Gabe des Betablockers Metoprolol die APC mit Desfluran im *in vivo* Herzinfarktmodell des Kaninchens blockiert.

Methodik

Die Tierversuchsgenehmigung der zuständigen Landesbehörde lag vor. Pentobarbital anästhesierte weiße Neuseeland Kaninchen ($n = 31$, 1.9 – 3.0 kg) wurden randomisiert in 4 Gruppen untersucht. Die Tiere wurden zur Messung folgender hämodynamischer Parameter instrumentiert: Herzfrequenz (HF), arterieller Mitteldruck (MAP) und Herzzeitvolumen (CO). Nach Thorakotomie im 4. ICR wurde ein prominenter Ast der linken Koronararterie (LAD) mit einer Ligatur umschlungen und eine Ischämie durch Okklusion des LAD (CAO) durchgeführt. Alle Tiere wurden einer CAO für 30 min mit anschließender dreistündiger Reperfusion unterzogen. Eine Stunde vor CAO erhielt die Gruppe DES 1.0 MAC Desfluran (Des) für 30 Minuten und die Gruppe METO 2.5 mg/kg Metoprolol (Meto) über 30 Minuten, wobei die Gabe beider Substanzen 30 Minuten vor CAO beendet wurde. In einer weiteren Gruppe (METO/DES) wurden Metoprolol und Desfluran kombiniert verabreicht; die Kontrollgruppe (CON) erhielt keine Medikation. Am Ende des Versuchsprotokolls wurden die Herzen entnommen, das

Ischämieareal (AAR) mit Patentblau und das Infarktareal (IS) mit Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid (TTC) angefärbt und die Infarktgröße (IS/AAR) gravimetrisch ermittelt. Statistik: ANOVA mit post-hoc Duncan-Test, Mittelwert \pm SEM, *P<0.05.

Ergebnisse

Während Baseline unterschieden sich die hämodynamischen Messparameter in den Untersuchungsgruppen nicht signifikant von den Kontrolltieren. Unter der Gabe von Des in den Gruppen DES und METO/DES fiel der MAP signifikant ab, kehrte aber vor Beginn der CAO auf Ausgangswerte zurück. Die HF sank nach Applikation von Meto in den Gruppen METO und METO/DES signifikant ab. Das CO blieb über den Verlauf der Untersuchung stabil (Tab. 1). Die AAR war in allen Gruppen gleich groß. Die Infarktgröße (IS/AAR) betrug in der Kontrollgruppe 59±4% ($n=8$). Die Applikation von Des (34 ± 2%, $n=8$) führte zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße, wobei die gleichzeitige Gabe von Meto (54 ± 4%, $n=8$) die Desfluran-induzierte APC blockierte. Die Gabe von Meto alleine führte zu einer Infarktgrößenreduzierung auf 38 ± 6% ($n=8$) (Abb. 1).

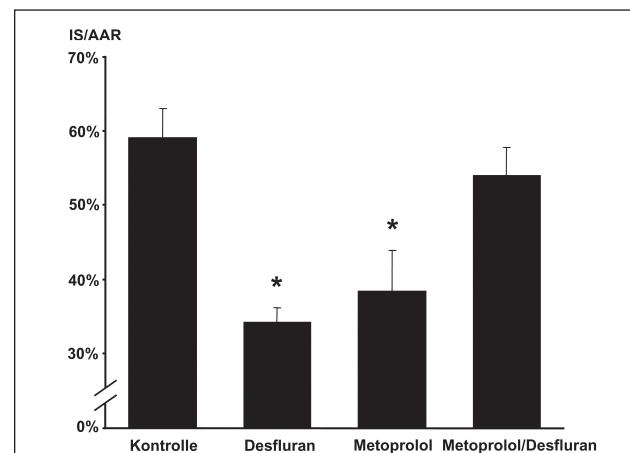


Abb. 1: Herzinfarktgröße (IS) im Verhältnis zur Größe des Ischämieareals (AAR) in Prozent. Mittelwert (IS/AAR) \pm SEM, *P<0,05 zur Kontrollgruppe.

Tab. 1

HF (1/min)	Baseline	Applikation	Memory	Okklusion	Reperf. 1h	Reperf. 2 h	Reperf. 3h
Kontrolle	251 ± 12	251 ± 12	251 ± 12	246 ± 13	235 ± 13	229 ± 10	221 ± 9
Desfluran	268 ± 9	246 ± 9	262 ± 9	249 ± 13	240 ± 12	223 ± 8	212 ± 8
Metoprolol	233 ± 9	192 ± 5**	189 ± 7**	196 ± 8**	197 ± 9*	189 ± 9*	184 ± 9*
Meto/Des	239 ± 7	191 ± 6**	200 ± 7**	208 ± 6**	207 ± 10*	203 ± 15*	198 ± 16*
MAP (mmHg)	Baseline	Applikation	Memory	Okklusion	Reperf. 1h	Reperf. 2 h	Reperf. 3h
Kontrolle	68 ± 6	68 ± 6	68 ± 6	60 ± 4	55 ± 4	52 ± 5	51 ± 5
Desfluran	89 ± 6	53 ± 7*	79 ± 9	73 ± 9	77 ± 8	71 ± 7	69 ± 8
Metoprolol	75 ± 3	65 ± 2	64 ± 2	61 ± 3	59 ± 4	57 ± 3	57 ± 3
Meto/Des	92 ± 5	51 ± 3*	77 ± 8	72 ± 5	64 ± 6	64 ± 5	59 ± 5
CO (ml/min)	Baseline	Applikation	Memory	Okklusion	Reperf. 1h	Reperf. 2 h	Reperf. 3h
Kontrolle	230 ± 25	230 ± 25	230 ± 25	175 ± 20	172 ± 20	164 ± 17	178 ± 8
Desfluran	205 ± 26	175 ± 29	202 ± 33	158 ± 34	171 ± 11	165 ± 4	155 ± 4
Metoprolol	179 ± 12	160 ± 4	162 ± 6	128 ± 18	130 ± 17	123 ± 17	110 ± 20
Meto/Des	219 ± 21	161 ± 23	216 ± 28	160 ± 23	169 ± 32	173 ± 25	159 ± 30
RPP							
(HF*MAP/1000)	Baseline	Applikation	Memory	Okklusion	Reperf. 1h	Reperf. 2 h	Reperf. 3h
Kontrolle	17.2 ± 1.9	17.2 ± 1.9	17.2 ± 1.9	14.8 ± 1.7	13.1 ± 1.5	12.2 ± 1.5*	11.2 ± 1.2*
Desfluran	23.9 ± 2.0	13.1 ± 1.8*	20.7 ± 2.5	18.6 ± 2.8	18.5 ± 2.1	15.7 ± 1.3*	14.5 ± 1.6*
Metoprolol	17.4 ± 1.1	12.5 ± 0.5*	12.1 ± 0.6**	11.9 ± 0.6*	11.5 ± 0.7*	10.7 ± 0.3*	10.3 ± 0.3*
Meto/Des	21.9 ± 1.4	9.7 ± 0.5**	15.5 ± 2.0*	15.0 ± 1.2*	13.3 ± 1.6*	13.1 ± 1.9*	11.9 ± 1.9*

Systemische hämodynamische Parameter und Rate-Pressure-Product (RPP) an den verschiedenen Messzeitpunkten.
Ausgangswerte (Baseline), Applikationsphase der Medikamente (Applikation), Zwischenphase ohne Intervention (Memory), Okklusionsphase (Okklusion) und Reperfusionsphase nach einer, zwei und drei Stunden (Reperf. 1,2,3). Mittelwert ± SEM, * P<0,05 zu den Ausgangswerten (Baseline), **P<0,05 zur Kontrollgruppe am jeweiligen Messzeitpunkt.

► Interpretation

Nach den vorliegenden Ergebnissen spielen β -Rezeptoren eine wichtige Rolle in der Vermittlung der Desfluran-induzierten Präkonditionierung, da bei gleichzeitiger Gabe von Des und Meto die Desfluran-induzierte APC blockiert wird. Jeweils einzeln verabreicht wirken beide Substanzen eine Kardioprotektion, wobei bei gleichzeitiger Gabe eine Interaktion auftritt, die die erwünschten kardioprotektiven Effekte blockiert.

Literatur

- Poldermans D, Boersma E, Bax JJ, Thomson IR, van de Ven LL, Blankenstein JD et al.: The effect of bisoprolol on perioperative mortality and myocardial infarction in high-risk patients undergoing vascular surgery. Dutch Echocardiographic Cardiac Risk Evaluation Applying Stress Echocardiography Study Group. N Engl J Med 1999; 341:1789-942.
- Pirou V, Chiari P, Lhuillier F, Bastien O, Loufoua J, Raisky O et al.: Pharmacological preconditioning: comparison of desflurane, sevoflurane, isoflurane and halothane in rabbit myocardium. Br J Anaesth 2002;89:486-91.
- Hanouz JL, Yvon A, Massetti M, Lepage O, Babatasi G, Khayat A et al.: Mechanisms of desflurane-induced preconditioning in isolated human right atria in vitro. Anesthesiology 2002; 97: 33-41.

Desfluran induziert ein erstes und zweites Fenster der Präkonditionierung gegen Myokardinfarkt

T. Smul, J. Stumpner, M. Lange, N. Roewer und F. Kehl
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Fragestellung

Bei der ischämischen Präkonditionierung (IPC) induziert ein ischämischer Stimulus ein charakteristisches zeitliches Muster der Kardioprotektion gegen Myokardinfarkt: einer kurz anhaltenden (Stunden) Phase der Kardioprotektion (1. Fenster) folgt nach einer Zeitphase ohne Kardioprotektion nach 24 Stunden eine über einige Tage nachweisbare Phase der erhöhten Ischämietoleranz (2. Fenster), wobei diese nach 96 Stunden verloren geht [1]. Volatile Anästhetika induzieren eine Präkonditionierung (APC) nach 0.5 Stunden und nach 24 Stunden [2, 3], jedoch ist bisher unbekannt, ob die APC das charakteristische Zeitmuster der IPC nachahmt. Wir tes-

teten daher die Hypothese, dass eine 30-minütige Desfluran (1.0 MAC)-Gabe ein erstes und zweites Fenster der Präkonditionierung induziert, wobei diese durch eine Phase ohne Ischämietoleranz voneinander getrennt sind.

Methodik

Die Tierversuchsgenehmigung der zuständigen Landesbehörde lag vor. Weiße Neuseeland Kaninchen (N=54) wurden randomisiert acht Gruppen zugeteilt und unter Pentobarbitalnarkose einer 30-min Coronararterienokklusion (CAO) und einer 3-h Reperfusion unterzogen. Die Tiere wurden zur Messung hämodynamischer Parameter instrumentiert: Herzfrequenz (HF), aortaler Mitteldruck (MAP), Herzzeitvolumen (HZV) und links-ventrikulärer Druck. Die Gruppen erhielten entweder 0.0 oder 1.0 MAC Desfluran für 30 min. Die Desfluran-Gabe wurde 0.5h, 2h, 12h, 24h, 48h, 72h und 96h vor CAO beendet. Tiere der Gruppen 0.5h und 2h erhielten Desfluran nach Instrumentierung unter Pentobarbitalnarkose. Die anderen Gruppen wurden nach intravenöser Sedierung mit Pentobarbital einer Maskennarkose mit Desfluran unterzogen. ►

► Das Ischämieareal (AAR) wurde mit Patentblau und das Infarktareal (IS) mit Triphenyltetrazoliumchlorid gefärbt und gravimetrisch ermittelt. Die statistische Analyse wurde mittels ANOVA und posthoc Duncan-Test durchgeführt. Angegeben sind Mittelwert \pm SEM, *P<0.05.

Ergebnisse

Die AAR und die hämodynamischen Parameter während Baseline und CAO waren nicht signifikant verschieden. Die Infarktgröße (IS/AAR) der Gruppen 12h und 96h unterschied sich mit 71 \pm 3% (N=7), bzw. 66 \pm 2% (N=7) nicht signifikant von der Infarktgröße mit 63 \pm 5% (N=7) bei Kontrolltieren. Desfluran reduzierte die Infarktgröße signifikant in den Gruppen 0.5h, 2h, 24h, 48h und 72h auf 35 \pm 2% (0.5h; N=7), 35 \pm 4%* (2h; N=7), 31 \pm 3%* (24h; N=7), 30 \pm 5%* (48h; N=6) und 38 \pm 2%* (72h; N=6).

Interpretation

Eine frühe Präkonditionierung ist im ersten Fenster mindestens 2h nach einer kurzzeitigen Desfluran-Gabe nachweisbar. Bei 12h nach Desfluran-Gabe ist jedoch kein kardioprotektiver Effekt mehr messbar. Eine einmalige kurzzeitige Desfluran-Gabe induziert auch ein zweites Fenster der Präkonditionierung bei 24h, 48h und 72h, wogegen nach 96h keine Kardioprotektion mehr nachweisbar ist. Die Daten zeigen, dass der zeitliche Verlauf der Anästhetika-induzierten Präkonditionierung dem charakteristischen Muster der ischämischen Präkonditionierung folgt.

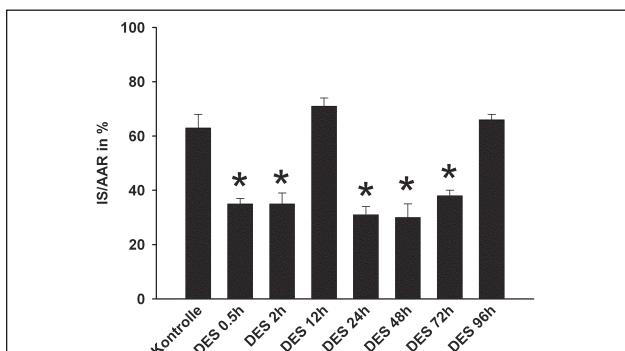


Abb. 1: Infarktgröße (IS) in Prozent des ischämischen Areals (AAR). Angegeben sind Mittelwert \pm SEM, *P<0.05.

Literatur

- Baxter GF, Goma FM, Yellon DM: Characterisation of the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: timecourse and dose-dependency studies in rabbit myocardium. Basic Res Cardiol 1997; 92:159-67.
- Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR: Is isoflurane-induced preconditioning dose related? Anesthesiology. 2002; 96:675-80.
- Tanaka K, Ludwig LM, Krolikowski JG, Alcindor D, Pratt PF, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC: Isoflurane produces delayed preconditioning against myocardial ischemia and reperfusion injury: role of cyclooxygenase-2. Anesthesiology. 2004;100:525-31.

Wirkung von Insulin auf die myokardiale Depression durch L-Bupivacain am isolierten Rattenherzen

S.N. Stehr¹, A. Pexa², S. Hanack¹, A. Heintz¹, A. Heller¹, A. Deussen², M. Hübler¹ und T. Koch¹

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

² Institut für Physiologie, TU Dresden

Fragestellung

Kausale therapeutische Ansätze zur Behandlung kardiotoxischer Effekte von Lokalanästhetika fehlen bislang. In zwei kürzlich veröffentlichten Studien wurden *in vivo* positive Effekte von Insulin auf die myokardialen Nebenwirkungen von Bupivacain nachgewiesen [1, 2]. Insulin wirkt *in vivo* auch indirekt positiv-inotrop über eine adrenale Katecholaminausschüttung. In der Literatur wird eine verbesserte myokardiale Fettsäureaufnahme durch Insulin diskutiert.

Studienhypothese war, dass Insulin unabhängig von der myokardialen Depression durch L-Bupivacain eine positiv-inotrope Wirkung entfaltet. Gleichzeitig untersuchten wir den Einfluss des Insulins auf den Adeninnukleotid-Gehalt des Herzens.

Methodik

Die Versuche wurden nach Genehmigung durch die zuständige Tierschutzbehörde an 35 weiblichen Wistaratten durchgeführt. An druckkonstant-perfundierten, isolierten Herzen (nach LANGENDORFF) wurden kontinuierlich Herzfrequenz (HF), linksventrikulärer Druck, Druckanstiegsgeschwindigkeit (+dP/dt), koronarer Fluss, PR- und QRS-Zeit gemessen sowie intermittierend venöse und arterielle Proben entnommen. Die isolierten Herzen wurden in sieben Gruppen (jeweils fünf Herzen) randomisiert. In den drei Kontrollgruppen KTR₁₀, KTR₁₅ und KTR₂₀ wurden die Herzen nach 10, 15 bzw. 20 min schockgefroren. In den L-Bupivacain (L-Bupi)-Gruppen wurde dem Perfusat nach 10 min L-Bupi (Endkonzentration 5 µg/ml) zugefügt. 15 min (L-Bupi₁₅) bzw. 20 min

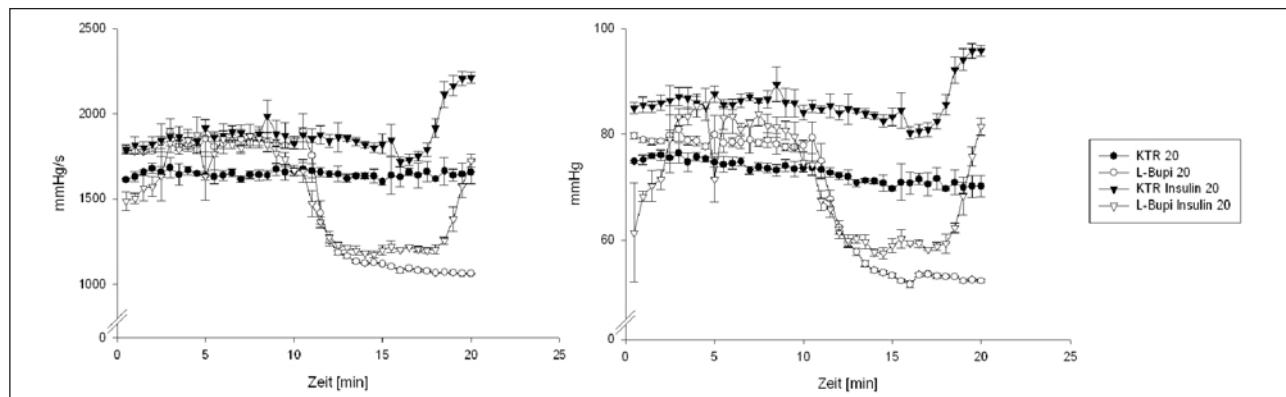


Abb. 1: links +dP/dt, rechts systolischer Druck.

Tab. 1: Basalwerte und prozentuale Veränderung der Parameter in Relation zu den jeweiligen Werten bei 10 min (=100%).

Parameter	Basalwerte	KTR ₂₀	L-Bupi ₂₀	KTR _{Insulin20}	L-Bupi _{Insulin20}
Herzfrequenz	307 ± 33 [min-1]	92 ± 5 ^{*,†}	69 ± 8	100 ± 5 ^{*,†}	51 ± 12 [*]
+dP/dt	1752 ± 357 [mmHg/s]	97 ± 12 [*]	59 ± 9	126 ± 27 [*]	103 ± 10 [*]
systolischer Druck	80 ± 16 [mmHg]	92 ± 8 [*]	67 ± 11	113 ± 15 [*]	106 ± 18 [*]
koronarer Fluss	12,7 ± 2,1 [ml/min]	90 ± 4 ^{*,†}	52 ± 4	100 ± 3 ^{*,†}	60 ± 6
PQ	25 ± 1 [ms]	100 ± 3 ^{*,†}	162 ± 11	97 ± 5 ^{*,†}	161 ± 21
QRS	64 ± 6 [ms]	104 ± 8 ^{*,†}	143 ± 9	97 ± 4 ^{*,†}	134 ± 21

* signifikant vs. L-Bupi₂₀ ($p<0,05$); † signifikant vs. L-Bupi_{Insulin20} ($p<0,05$)

► (L-Bupi₂₀) nach Versuchsbeginn wurden die Herzen schockgefroren. Herzen der Gruppen KTR_{Insulin20} und L-Bupi_{Insulin20} erhielten nach 15 min 10 IE/l Insulin und wurden nach 20 min schockgefroren. Nach Gefriertrocknung wurde mittels HPLC-Analyse der gewichtskorrigierte Adeninnukleotid-Gehalt bestimmt. Gruppenvergleiche erfolgten mit ANOVA für Messwiederholungen und BONFERRONI-Adjustierung.

Ergebnisse

Die Applikation von L-Bupi führte nach 5 min zu einer signifikanten Abnahme der HF, der +dP/dt, des systolischen Drucks, des koronaren Flusses und zu einer Zunahme der PR- und QRS-Zeit (+dP/dt und sys. Druck siehe Abb. 1). Die arterielle und venöse Sauerstoff-Partialdruck Differenz war zum Zeitpunkt 15 min zwischen KTR und L-Bupi unverändert (510 ± 66 vs. 465 ± 73 [mmHg]). Signifikant veränderte sich MvO₂: KTR 229 ± 41, L-Bupi 150 ± 62 [μ l/min/g]. L-Bupi und Insulingabe bewirkte sowohl in den Kontrollen als auch in den L-Bupi Herzen eine Zunahme der +dP/dt und des systolischen Drucks (Tab. 1). Insulin hatte in kei-

ner der Gruppen eine Wirkung auf Koronarfluss bzw. PQ- und QRS-Zeit. Tendenziell zeigte sich im Zeitverlauf eine geringere Abnahme des Adeninnukleotid-Gehaltes in beiden Insulin-Gruppen: KTR10 3384 ± 739, KTR15 3027 ± 1115, L-Bupi15 2874 ± 601, KTR20 2855 ± 526, L-Bupi20 2457 ± 486, KTRInsulin20 3357 ± 749, KTRL-Bupi20 3252 ± 487 (alle Werte in nmol/g Trocken-gewicht).

Interpretation

Insulin wirkt am isolierten Herzen unabhängig von der Anwesenheit von L-Bupi positiv-inotrop. Indirekte fettsäureabhängige Mechanismen können wir im isolierten, fettsäurefrei perfundierten Modell ausschließen.

Literatur

1. Cho HS, Lee JJ, Chung IS, Shin BS, Kim JA, Lee KH. Insulin reverses bupivacaine-induced cardiac depression in dogs. Anesth Analg 2000;91:1096-102.
2. Kim JT, Jung CW, Lee KH. The effect of insulin on the resuscitation of bupivacaine-induced severe cardiovascular toxicity in dogs. Anesth Analg 2004;99:728-33.

Hat Lachgas alleine oder in Kombination mit Isofluran einen kardioprotektiven Effekt auf das Rattenherz in vivo?

N.C. Weber, O. Toma, S. Awan, B. Preckel und W. Schlack

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

Fragestellung

Sowohl volatile Anästhetika als auch das Edelgas Xenon präkonditionieren das Rattenherz in vivo [1]. Diese pharmakologische Präkonditionierung (PC) wird durch die Protein Kinase C Isoform epsilon (PKC-ε) vermittelt [1]. Auf das Rattengehirn scheint Xenon, im Gegensatz zu dem inhalativen Anästhetikum Lachgas, außerdem neuroprotektive Eigenschaften zu haben [2]. Kardioprotektive Effekte von Lachgas (N₂O) bzw. eine Interaktion mit den kardioprotektiven Effekten volatiler Anästhetika sind bislang nicht bekannt.

Wir untersuchten am Rattenherzen in vivo ob Lachgas

1. das Herz präkonditioniert
2. die Phosphorylierung und Translokation der PKC-ε an einer Kardioprotektion beteiligt ist und
3. ob die Isofluran-induzierte PC durch Lachgas beeinflusst wird.

Methodik

Nach Genehmigung durch die örtliche Behörde wurde bei 36 männlichen Wistar-Ratten (S-Ketamin/Chloralose-Anästhesie) zur Messung des arteriellen Blutdrucks eine A. carotis und zur Flüssigkeitssubstitution eine V. jugularis kanüliert. Nach lateraler Thorakotomie wurden die Tiere einer 25 min regionalen Myokardischämie, gefolgt von zwei Stunden Reperfusion, unter-

zogen. Am Ende der Reperfusion wurden die Herzen entnommen und nach Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung wurde die Infarktgröße bestimmt. Die Kontrolltiere (n=7) erhielten keine weitere Intervention. Lachgas-Präkonditionierung (N₂O-PC) wurde durch eine 3 x 5 minütige Inhalation von 60% N₂O (0.4 MAC), gefolgt von einer 10 minütigen Auswaschphase, induziert (n=7). In weiteren Gruppen wurde eine Isofluran bzw. Isofluran/N₂O Präkonditionierung durch 3 x 5 minütige Inhalation von 1.38% Isofluran (1 MAC, n=7) bzw. Isofluran/N₂O (n=7) ausgelöst. Zusätzlich wurden Herzen (je n=4 pro Gruppe) mit oder ohne N₂O-PC unmittelbar vor der infarktinduzierenden Ischämie entnommen und nach erfolgter Gewebefraktionierung (Zytosol- und Membranfraktion) auf Phosphorylierung und Translokation der PKC-ε im Western blot untersucht. a-Tubulin diente als interner Standard. Alle Daten sind Mittelwerte ± Standardfehler des Mittelwertes. Statistik: Student's t-Test mit Bonferroni-Korrektur für den Mehrfachvergleich.

Ergebnisse

N₂O-PC hatte keinen Einfluss auf die Infarktgröße (51.1 ± 4.1% in den Kontrollen gegenüber 59.1 ± 5.7% in Lachgas behandelten Tieren, p=0.84, Abb. 1). Isofluran alleine, ebenso wie die Kombination von Isofluran und Lachgas, reduzierten signifikant die Infarktgröße (30.9±3.9%, bzw. 28.7±4.5% vs. Kontrollen, Abb. 1). Lachgas bewirkte keine gesteigerte Phosphorylierung der PKC-ε (average light intensity [AVI], 2.5±0.3% in Kontrollen vs. 2.3±0.3% nach N₂O, Abb. 2A). Die kombinierte Gabe von Iso/N₂O jedoch führte zu einem signifikanten Anstieg der PKC-ε Phosphorylierung (5.4±0.4% vs. 2.7±0.2%, p<0.001, Abb. 2B). Es konnte keine Translokation der PKC-ε von der Zytosol zur Membran-Fraktion durch N₂O nachgewiesen werden (6.5±1.1% vs. 6.4±1.2% in den Kontrollen, Abb. 3).

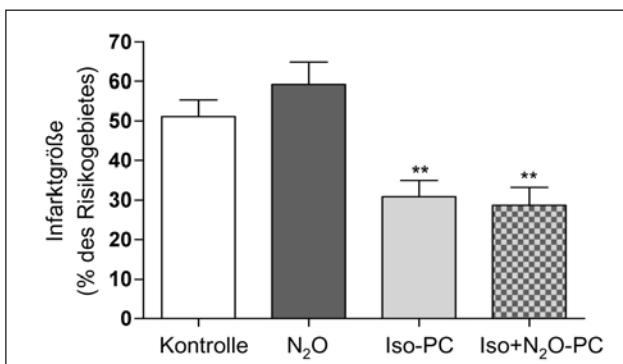


Abb. 1

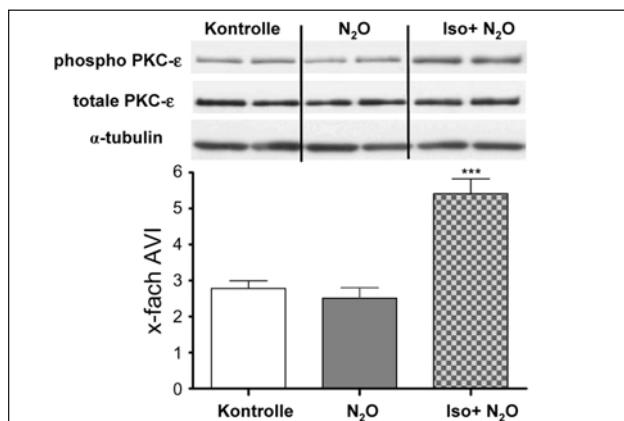


Abb. 2b

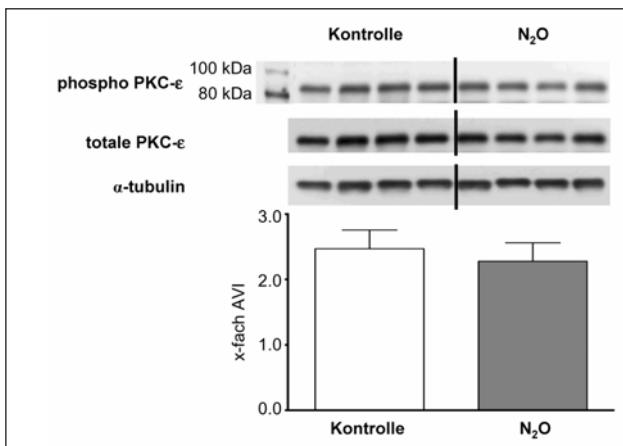


Abb. 2a

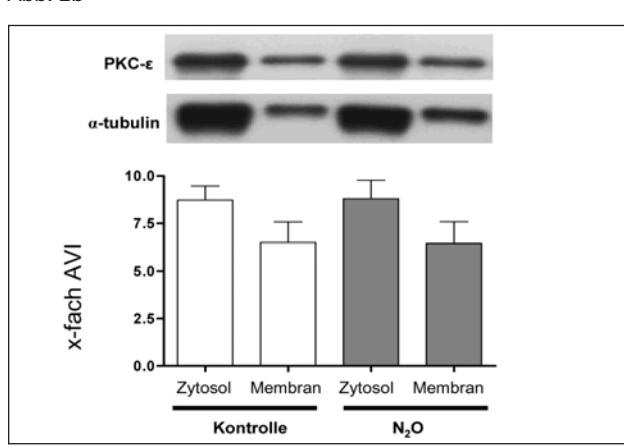


Abb. 3

► Interpretation

Im Gegensatz zu allen anderen inhalativen Anästhetika bewirkt Lachgas (0.4 MAC) keine Myokardprotektion im Sinne einer pharmakologischen Präkonditionierung. Die PKC-ε, ein wichtiges Schlüsselenzym der pharmakologischen Präkonditionierung, wird durch Lachgas nicht beeinflusst. N₂O beeinträchtigt die Isofluran-induzierte Myokardprotektion und PKC-ε Phosphorylierung jedoch nicht.

Literatur

- Weber NC, Toma O, Wolter JI, Obal D, Müllenheim J, Preckel B, Schlack W: The noble gas Xenon induces pharmacological preconditioning in the rat heart in vivo via induction of PKC-ε and p38 MAPK-, Br J Pharmacol. 2005 Jan;144(1):123-32.
- Ma D, Wilhelm S, Maze M, Franks NP: Neuroprotective and neurotoxic properties of the 'inert' gas, xenon, Br J Anaesth. 2002, Nov; 89(5):739-46.

Eingeschränkte Autoinhibition der Adrenalinfreisetzung erhöht die Mortalität von heterozygoten α_{2c} -„knockout“-Mäusen nach chronischer Druckbelastung des Herzens

M. Brede¹, C. Gerstner², N. Roewer¹ und L. Hein³

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

² Institut für Pharmakologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

³ Institut für Pharmakologie, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Fragestellung

Adrenerge Rezeptoren stellen das Bindeglied zwischen dem sympathischen Nervensystem und den verschiedenen Organsystemen des Körpers dar. Katecholamine werden von den sympathischen Nervenendigungen bzw. den Zellen des Nebennierenmarks als

endogene Überträgerstoffe freigesetzt. Die Freisetzung von Noradrenalin wird vornehmlich durch α_{2A} -adrenerge Rezeptoren, die von Adrenalin durch α_{2C} -adrenerge Rezeptoren inhibiert [1].

Die Arbeitsgruppe von Liggett konnte zeigen, dass ein Deletionspolymorphismus des humanen α_{2C} -adrenergen Rezeptors (α_{2C} -Del) mit einem erhöhten Risiko assoziiert ist, eine chronische Herzinsuffizienz zu entwickeln [2]. Aufgrund dieser Daten wollten wir an einem transgenen Mausmodell untersuchen, ob eine einzelne Kopie des α_{2C} -adrenergen Rezeptors genügt, die Freisetzung des Stresshormons Adrenalin aus dem Nebennierenmark zu inhibieren und die erhöhte Mortalität nach chronischer Druckbelastung des Herzens zu verhindern.

Methodik

Der Tierversuchsantrag wurde durch die zuständige Behörde genehmigt. Transgene Mäuse mit nur einer Kopie des α_{2C} -adre-

▶ neren Rezeptors ($\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO) wurden durch Verpaarung von C57Bl/6J-„wildtyp“-Mäusen (WT) mit homozygoten α_{2c} -KO-Mäusen ($\alpha_{2c}^{-/-}$ -KO) generiert. Als Kontrollen dienten Mäuse gleichen Geschlechts und Alters (WT-sham bzw. $\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO-sham). Die Auswirkung der Gendeletion auf die Inhibition der Adrenalinfreisetzung wurde durch Bestimmung der 24 Stunden Urin-Katecholaminausscheidung von 10-12 Wochen alten $\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO-Mäusen (n=6) und WT-Kontrolltieren (n=8) mittels „High-Performance-Liquid-Chromatographie“ (HPLC) untersucht. Die chronische Druckbelastung des Herzens wurde durch eine thorakale Aortenstenose induziert. Nach Abschluss des Beobachtungszeitraumes von 210 Tagen wurde in Narkose (13µl/g KG, 2,5% Tri bromethanol) über die rechte Arteria carotis ein Miniatur-Druck-Volumenkatheter (1.4F Millar-Katheter, Millar Instruments, USA) in den linken Ventrikel vorgeschnitten und verschiedene Parameter gemessen (Herzfrequenz f, maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dtmax, maximaler Druckabfall -dp/dtmin). Die Ergebnisse wurden mittels Student-t-test bzw. Kaplan-Meier Überlebenskurven auf statistische Signifikanz (*p ≤ 0,05) getestet.

Ergebnisse

Die basale Urin-Adrenalinausscheidung von $\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO-Mäusen war im Vergleich zu WT-Kontrolltieren erhöht (Adrenalin: 2,66ng/g/24h ± 0,39, n = 6 vs. 1,53ng/g/24h ± 0,30, n = 8; *p ≤ 0,05). Die Noradrenalinausscheidung unterschied sich nicht zwischen $\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO-Mäusen und WT-Kontrolltieren. Die intraoperative Mortalität nach thorakaler Aortenstenose unterschied sich nicht zwischen den beiden Kollektiven ($\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO: 40% vs. WT: 40%). Hingegen war die postoperative Mortalität bei $\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO-Mäusen im Vergleich zu WT-Kontrolltieren signifikant erhöht (Kaplan-Meier-Überlebenskurve: $\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO vs. WT; *p ≤ 0,05). Am Ende des Beobachtungszeitraumes konnte durch linksventrikuläre Herz-

katheteruntersuchung sowohl eine deutlich eingeschränkte Kontraktilität (dp/dtmax: 6831 ± 217,7 mmHg/s, n= 5 vs. 3834 ± 358,9 mmHg/s, n= 5; *p ≤ 0,0001) als auch eine ausgeprägte Relaxationsstörung (dp/dtmin: -6681 ± 217,1 mmHg/s, n= 5 vs. -3715 ± 373,6 mmHg/s, n= 5; *p ≤ 0,0001) bei $\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO-Mäusen ($\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO-TAC) im Vergleich zu scheinoperierten Tieren $\alpha_{2c}^{+/+}$ -KO-sham) detektiert werden.

Interpretation

Unsere Befunde zeigen, dass der Organismus mehr als eine Kopie des präsynaptischen α_{2c} -adrenergen Rezeptors benötigt, um die Freisetzung von Adrenalin aus dem Nebennierenmark zu regulieren. Die Dysbalance der Adrenalinfreisetzung erhöht die Mortalität nach chronischer Druckbelastung des Herzens und führt zu einer eingeschränkten myokardialen Funktion bei der Maus. Dies könnte für Patienten, die eine genetische Dysfunktion des α_{2c} -adrenergen Rezeptors aufweisen, von ausserordentlicher klinischer Relevanz sein. Dieser Deletionspolymorphismus des α_{2c} -adrenergen Rezeptors konnte bereits als negativer Prognoseparameter bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz identifiziert werden [2]. Das präoperative Screening auf das Vorliegen dieses α_{2c} -adrenergen Rezeptorpolymorphismus stellt möglicherweise einen neuen diagnostischen Ansatzpunkt dar, das peri- und postoperative Risiko besser beurteilen zu können.

Literatur

- Brede M, et al. "Differential control of adrenal and sympathetic catecholamine release by alpha 2-adrenoceptor subtypes." Mol Endocrinol 17(8): 1640-1646. 2003;17:1640-46
- Small KM, et al. (2002). "Synergistic polymorphisms of beta1- and alpha2C-adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure." N Engl J Med 347(15): 1135-1142. 2002;347:1135-42

Einfluss von inhaliertem und intravenös appliziertem Lidocain auf die Inflammationsreaktion der Lunge während experimenteller Endotoxinämie der Ratte

M. Flondor, Ch. Hofstetter, H. Listle, G. Kemming und B. Zwißler

Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Klinikum der Universität Frankfurt

Fragestellung

Die intravenöse Dauerinfusion von Lidocain war in verschiedenen Tiermodellen der Entzündung antiinflammatorisch wirksam [1, 2]. Ziel der durchgeführten Untersuchung war es, die antiinflammatorischen Effekte von inhaliertem und intravenösem Lidocain im Modell der Endotoxinämie in der kontrolliert beatmeten Ratte zu untersuchen.

Methodik

Die Untersuchung wurde nach Genehmigung durch die zuständige Tierschutzkommission an 45 männlichen Ratten (SD, 550 ± 50 g) durchgeführt. Nach Narkoseeinleitung (Pentobarbital 50mg/kg und Fentanyl 0,05mg/kg, ip) erfolgte eine Tracheotomie, Intubation mit nachfolgender Beatmung, sowie die venöse und arterielle Katheterisierung der Gefäße einer Leiste. Nach Abschluß der Instrumentierung wurden die Tiere zufällig einer von 5 Gruppen (je n=9) zugeordnet: Die Tiere der Verumgruppen erhielten direkt vor Induktion der experimentellen Endotoxinämie (LPS aus E. coli 055:B5, 5mg/kg iv) und 2h nach LPS-Injektion jeweils 4,0mg/kg (*LidAe0.4*) oder 0,4mg/kg (*LidAe4.0*) Lidocain als Aerosol. Eine weitere Gruppe erhielt jeweils 4,0mg/kg iv (*Lid4*). Die Tiere der Kontrollgruppen erhielten ausschließlich NaCl 0,9%-Aerosol mit (*LPS-NaCl*) oder ohne (*Sham*) nachfolgende LPS-Stimulation. Die Beobachtungszeit war 5 Stunden nach LPS-Injektion. Statistik: ANOVA on Ranks und Student Newman Keuls-Tests. Zur Quantifizierung der pulmonalen und systemischen inflammatorischen ►

Tab. 1

pg/ml	Sham	LPS-NaCl	LidAe0.4	LidAe4.0	Lidiv
Nitrit	0 (0)*	3,3 (1,9)*	1,6 (1,1)*	1,7 (0,9)*	2,6 (0,6)*
TNF α BALF	21 (10)*	436 (344)*	408 (441)*	316 (191)*	229 (170)*
TNF α Plasma	152 (168)*	566 (266)*	561 (211)*	459 (184)*	454 (119)*
IL-1 β BALF	72 (94)*	217 (195)*	187 (74)*	94 (165)*	93 (80)*
IL-1 β Plasma	106 (103)*	568 (463)*	544 (239)*	742 (343)*	529 (223)*

p<0,05. * vs. LPS-NaCl; * vs. Sham; * LidAe0.4 vs. LidAe4.0; Median (IQR)

► Reaktion wurde die kumulierte Nitritfreisetzung aus ex vivo kultivierten Alveolarmakrophagen (AM), sowie die Konzentration von TNF α und IL-1 β in bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit (BALF) und Blutplasma bestimmt.

Ergebnisse

Die AM aus der Sham-Gruppe setzten kein Nitrit in meßbarer Konzentration frei. Die LPS-Injektion induzierte eine vermehrte Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und von Nitrit aus AM. Die Inhalation von 0.4mg/kg Lidocain ($Lid_{Ae4.0}$) bewirkte nur die Hemmung der Nitrit-Freisetzung gegenüber der Inhalation von NaCl ($LPS\text{-}NaCl$), in $Lid_{Ae4.0}$ und Lid_{iv} war darüber hinaus die Freisetzung von TNF α und IL-1 β in der BALF inhibiert. Weder die Gabe von Lidocain als Aerosol noch intravenös hatte einen signifikanten Effekt auf die Zytokinkonzentration im Blutplasma.

Interpretation

Die Ergebnisse deuten auf eine dosisabhängige, pulmonal-selektive, antiinflammatorische Wirkung von inhaledem und intravenösem

appliziertem Lidocain hin. Es bleibt unklar, warum die systemische Gabe von Lidocain nicht zu einer Reduktion der im Plasma nachweisbaren Konzentration proinflammatorischer Zytokine geführt hat, obwohl dies aufgrund der Literaturdaten zu erwarten gewesen wäre [1, 2]. Möglicherweise hat die intravenöse Bolusinjektion von Lidocain im Gegensatz zur Dauerinfusion einen geringeren antiinflammatorischen Effekt. Zudem akkumuliert Lidocain nach iv-Gabe pulmonal [3], was höhere Wirkspiegel im Lungengewebe zur Folge haben könnte.

Literatur

1. Hardie EM, Rawlings CA, Shotts EB Jr, Waltman DW, Rakich PM: Lidocaine treatment of dogs with Escherichia coli septicemia. Am J Vet Res 1988;49:77-81.
2. Kiyonari Y, Nishina K, Mikawa K, Obara H: Lidocaine attenuates acute lung injury induced by a combination of phospholipase A2 and trypsin. Crit Care Med 2000;28:484-489.
3. Katz J, Gershwin ME, Hood NL: The distribution of 14C-labelled lidocaine in the rat using whole-body autoradiography. Arch Int Pharmacodyn Ther 1968;175:339-346.

Die intramuskuläre Injektion von Halothan/Soya-bohnenöl führt zu einer lokalen Stoffwechselsteigerung auch bei Maligne-Hyperthermie-Gesunden

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

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Der invasive In-Vitro-Kontraktur-Test (IVCT) ist der Goldstandard in der Diagnostik der maligne-Hyperthermie-(MH)-Veranlagung [1]. In

einem minimal-invasiven metabolischen Test konnten wir durch intramuskuläre Triggerapplikation und lokale Laktat- und Kohlendioxidmessung eine gute Differenzierung zwischen MH-positiven (MHS) und MH-negativen (MHN) Individuen zeigen [2, 3]. Das Meß- und Stimulationssystem wurde vereinfacht, standardisiert und die Medikamentenapplikation auf eine direkte Bolus-Injektion von Halothan und Koffein umgestellt. Die diagnostische Differenzierung zwischen MHS-, MHN- und Kontroll-Probanden sollte nun erneut überprüft werden.

Methodik

Mit Genehmigung der Ethikkommission wurden je 6 MHS-, MHN- und Kontroll-Probanden untersucht. In Lokalanästhesie wurden 2 G14-Kanülen mit je einer Mikrodialysesonde (Perfusionsfluß 1 μ l/min), pCO_2 -Messsonde und einem Zuspritzkatheter ultraschallgesteuert im M. vastus lat. platziert. Nach Äquilibrierung wurde ein Bolus von 500 μ l 80 mM Koffein bzw. 100 μ l Halothan 10 Vol%, gelöst in Sojabohnenöl, über den auf 10 mm Länge 3-fach perforierten G23-Katheter injiziert. Laktat im Dialysat (15-minütlich) und pCO_2 (1-minütlich) wurden spektrometrisch bestimmt. Hämodynamische (EKG, Blutdruck, SpO_2) und metabolische Parameter (pH, BE, pCO_2 :v) wurden intermittierend gemessen. Die Daten sind angegeben als Median und Range. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Kruskal-Wallis- und Mann-Whitney-U-Test ($p < 0.05$).

Ergebnisse

Bei vergleichbaren Ausgangswerten erhöhte Koffein 80 mM die intramuskuläre Laktatkonzentration bei MHS-Probanden auf 2.4 [2.0 - 4.5] mM signifikant stärker als bei MHN mit 1.2 [0.6 - 2.2] mM und in der Kontrollgruppe mit 0.9 [0.7 - 1.2] mM. Unter Halothan 10 Vol% stieg bei MHS-Probanden die Laktatkonzentration auf 8.0 [3.3 - 13.7] mM signifikant stärker als in der Kontrollgruppe mit 2.7 [0.5 - 6.6] mM; auch bei MHN-Probanden kam es zu einem Laktatanstieg (5.1 [0.5 - 11.8] mM) (Abb. 1).

Nach Koffein- bzw. Halothan-Injektion stiegen die intramuskulären pCO_2 -Werte der MHS-Probanden (26.5 [7.0 - 99.0] mmHg h^{-1} bzw. 162.0 [94.0 - 440.0] mmHg h^{-1}) signifikant im Vergleich zu MHN (2.2 [-1.0 - 10.0] mmHg h^{-1} bzw. 35.5 [2 - 145] mmHg h^{-1}) und Kontroll-Probanden (1.1 [-35.0 - 30.0] mmHg h^{-1} bzw. 48.5 [1.0 - 145.0] mmHg h^{-1}) (Abb. 2). Hämodynamische sowie metabolische Parameter unterschieden sich nicht.

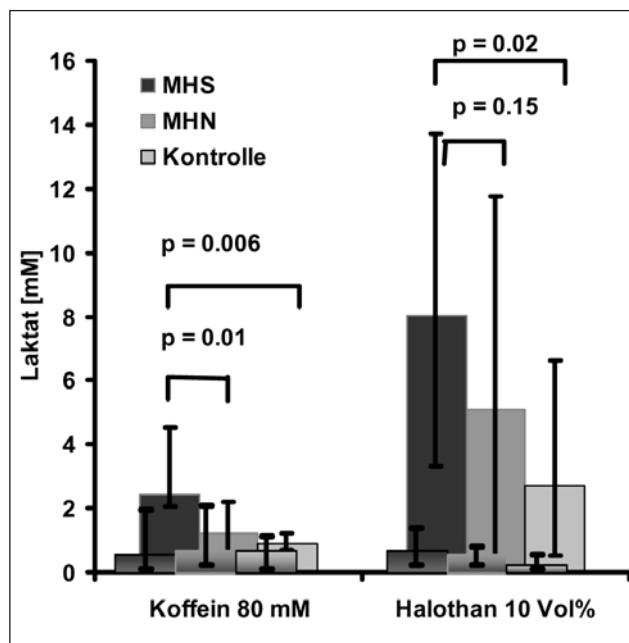


Abb. 1: Ausgangs- sowie maximale intramuskuläre Laktatwerte unter Mikrodialyseperfusion nach Injektion von Koffein 80 mM bzw. Halothan 10 Vol%; n = 6 pro Gruppe; Median und Range.

► Interpretation

Bei MHS-Probanden erhöhen sowohl Koffein als auch Halothan die lokalen intramuskulären Laktat- und pCO_2 -Werte. Im Vergleich zu früheren Untersuchungen führt die direkte Triggerinjektion unter Halothan zu einer ausgeprägteren hypermetabolischen Reaktion, und der gleichgerichtete, aber abgeschwächte Laktat- und pCO_2 -Anstieg bei MHN-Probanden bestätigt eine klassische Dosis-Wirkungsbeziehung für Halothan und Laktat bzw. pCO_2 . Dagegen ist die koffein-induzierte metabolische Reaktion nach Bolus-Stimulation über den hier verwendeten 3-fach perforierten Katheter geringer ausgeprägt [2, 3]. Weitere Modifikationen des Versuchsaufbaus sind notwendig, um ein minimal-invasives Testverfahren zur Diagnostik der MH-Veranlagung zu etablieren.

Literatur

1. The European Malignant Hyperpyrexia Group: A protocol for the investigation of malignant hyperpyrexia (MH) susceptibility. Br J Anaesth 1984;56:1267-1269.
2. Anetseder M, Hager M, Müller CR, Roewer N: Diagnosis of susceptibility to malignant hyperthermia by use of a metabolic test. Lancet 2002;359:1579-1580.
3. Anetseder M, Hager M, Schuster F, Müller R, Roewer N: Minimal-invasive Provocationstest mit Koffein und Halothan zur Diagnose einer Disposition zur Malignen Hyperthermie und mutationsspezifische Effekte. Anästh Intensivmed 2003;44:756.

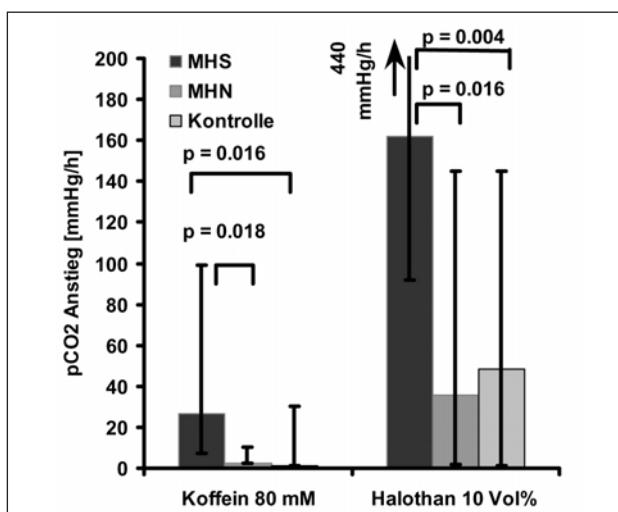


Abb. 2: Maximaler pCO_2 -Anstieg nach Injektion von Koffein 80 mM bzw. Halothan 10 Vol%; n = 6 pro Gruppe; Median und Range.

Charakterisierung einer hochmolekularen Protease in der bronchoalveolären Lavage: Ein alveoläres „house keeping“-Enzymsystem?

S. U. Sixt¹, J. Hakenbeck¹, H. P. Jennissen² und J. Peters¹

¹ Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin,
Universitätsklinikum Essen

² Institut für Physiologische Chemie, Universitätsklinikum Essen

Fragestellung

Das intrazelluläre Proteasomsystem [1] kontrolliert nicht nur den Abbau von Proteinen sondern greift auch in den Zellzyklus und dessen Regulation ein. Erste Publikationen lassen vermuten, dass das Proteasom auch extrazellulär vorkommen mag [2]. Wir testeten daher die These, dass das Proteasom-System im Alveolarraum bei Lungengesunden nachweisbar und biologisch aktiv ist.

Methodik

Nach Billigung der Ethikkommission wurde bei 8 Lungengesunden eine bronchoalveolare Lavage (BAL) unter intravenöser Anästhesie gewonnen. BAL-Überstand und Zellpellet wurden mittels fluorogenen Peptidsubstraten [BZ-VGR-AMC (tryptische Aktivität), Suc-LLVY-AMC (chymotryptische Aktivität) sowie Suc-LLE-AMC (Postglutamyl-Hydrolase-Aktivität)], entsprechend den drei bekannten Proteasom-Einzelaktivitäten, ohne und mit spezifischem Inhibitor (Epoxomicin) auf Proteasomaktivität getestet (Spektralphotometrie). Mittels Western-Blot und 20S-Proteasom Antikörpern [3] wurde auf das Vorhandensein von Proteasom-Antigen getestet. Eine Molekulargewichtsanalyse erfolgte mittels Gelfiltration (Superose 6PG Säule; 35 x 1cm, Laufpuffer: 20 mM Tris/HCl, 10% Glycerol, 100 mM NaCl, pH 7.5, Pumpgeschwindigkeit: 10 ml/h bei 4°C). Statistik: Mittelwert $\pm \sigma$, box-plots, t-Test für verbundene Stichproben.

Ergebnisse

Bei allen Individuen und mit allen fluorogenen Peptidsubstraten ließ sich proteasom-spezifische, durch Epoxomicin supprimierbare Aktivität nachweisen (Tab. 1), wobei sich die Hauptaktivität im BAL-Überstand (93.5%) und nicht im Zellpellet (6.5%) fand

(Abb.1). Ebenso konnten die Hauptproteinbanden des Proteasoms im Western-Blot bei allen Probanden im BAL-Überstand nachgewiesen werden. Das Molekulargewicht betrug 660 kDa, entsprechend dem Molekulargewicht von 20S Proteasom (600 - 700 kDa) [1].

Um auszuschließen, dass es sich nicht um durch Zelluntergang frei gewordenes intrazelluläres Proteasom handelt, wurden die Enzymaktivitäten im BAL-Überstand mit der LDH-Aktivität im Überstand ($28.3 \text{ U/l} \pm 8.3$, $r^2=0.124$; $p=0.391$), der Zellzahl im Pellet (6.3 Mio. ± 1.9 , $r^2=0.037$; $p=0.649$) und der Zahl avitaler Zellen (47.2% ± 3.5 , $r^2=0.148$; $p=0.52$) korreliert. Es bestand kein Zusammenhang.

Tab. 2 Einzelaktivitäten im BAL-Überstand bei Lungengesunden (n=8).

	ohne Inhibitor	mit Inhibitor	p
Suc-LLVY-AMC [pkat/mg]	28.3 ± 23.6	9.3 ± 13.7	0.011
BZ-VGR-AMC [pkat/mg]	16.1 ± 13.4	8.8 ± 8.7	0.016
Suc-LLE-AMC [pkat/mg]	2.9 ± 3.4	1.4 ± 2.1	0.024

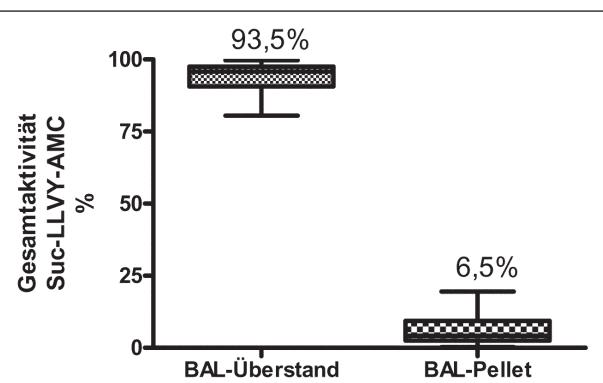


Abb. 1: Verteilung der Suc-LLVY-AMC-Aktivität.

► Interpretation

Unsere Untersuchungen weisen erstmals im Alveolarraum Lungengesunder sowohl proteasom-spezifische Proteolyseaktivität als auch das Proteasom selbst nach, wobei es sich aufgrund des Molekulargewichtes wohl um das 20S Proteasom handelt. Somit liegt im Alveolarraum Lungengesunder ein Multi-Enzymkomplex vor, der eine „house keeping“-Funktion haben könnte.

Literatur

- Ciechanover A. The ubiquitin proteolytic system and pathogenesis of human diseases: a novel platform for mechanism-based drug targeting. *Biochem Soc Trans* 2003; 31:474-81.
- Feist E. et al. Diagnostic importance of anti-proteasome antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 123:92-7.
- Kopp F. et al. Subunit arrangement in the human 20S proteasome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:2939-44.

Akute Urämie: Auswirkung auf die Leukozytenfunktion und das akute Lungenversagen

A. Zarbock, M. Schmolke, H. Van Aken und K. Singbartl

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Münster

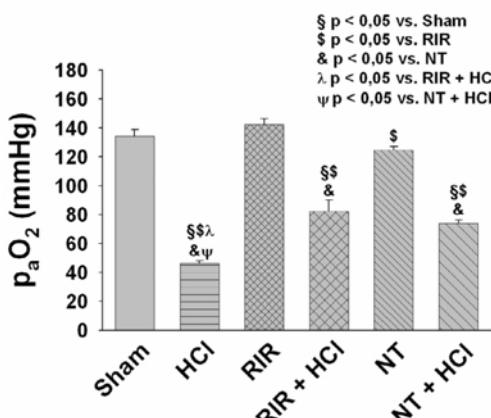
Fragestellung

Das akute Nierenversagen (ANV) ist mit ca. 24% [1] eine häufige Komplikation bei kritisch kranken Patienten. Die häufigste Ursache dieser Erkrankung ist die akute tubuläre Nekrose, welche durch verschiedene Faktoren induziert werden kann (z.B. Sepsis, Trauma, Ischämie, usw.). Trotz aller medizinischen und technischen Fortschritte geht das ANV weiterhin mit einer hohen Morbidität und Mortalität (40-60%) einher [2]. Auch die technisch anspruchsvollen extrakorporalen Blutreinigungsverfahren führen nicht zu einer Verbesserung der Überlebenswahrscheinlichkeit. Hierdurch kommt es lediglich zu einer Verschiebung der Todesursache von Störungen des Flüssigkeits- und Elektrolythaushaltes und Akkumulation von Urämietoxinen hin zu kardiorespiratorischen Erkrankungen und Sepsis [2]. Aus diesen Gründen ist es nicht verwunderlich, dass das ANV ein unabhängiger Risikofaktor für eine erhöhte Mortalität bei Patienten mit einem Multiorganversagen (MOV) ist. Auf der anderen Seite konnte für das akute respiratorische Versagen gezeigt werden, dass dies ein unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung eines ANV ist. Wir haben ein murines „Zwei-Hit-Modell“ etabliert, um eine Organinteraktion zwischen den beiden Organsystemen nachweisen zu können.

Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzkommission wurde bei anästhetisierten Mäusen (C57/Black 6-Mäuse) entweder eine beidseitige Nephrektomie (NT) oder eine renale Ischämie-Reperfusion (RIR, 32 Min.) durchgeführt. Die RIR und NT wurde durchgeführt, um eine Differenzierung zwischen urämischer und urämischer/inflammatorischer Komponente vorzunehmen. Nach einem zuvor festgelegten Zeitintervall (NT: 10h und RIR: 24h) wurde den Mäusen 2µl/gKG HCl (pH: 1,5) intratracheal appliziert, um ein akutes Lungenversagen (ALV) zu induzieren und dann wurden die Mäuse für 2h maschinell beatmet (inspiratorische Sauerstoffkonzentration: 21%, Atemfrequenz: 150/min.). Um die Bedeutung von neutrophilen Granulozyten (PMN) für die Ausbildung eines ALV zu verifizieren, erhielt eine Untergruppe 24h vor HCl-Applikation anti-PMN-Serum bzw. Kontrollserum. Um die Leukozytenfunktion unter Urämie zu untersuchen, wurden PMN sowohl aus gesunden als auch urämischen Mäusen mittels Dichtegradienten isoliert und gesunden oder NT-Mäusen injiziert. Des Weiteren wurden isolierte PMN unter verschiedenen Bedingungen mittels Annexin/Propidium-Iodid-Färbung auf ihre Apoptose- bzw. Nekroserate untersucht. Zur Kontrolle der Lungenfunktion wurden am Ende des Experiments arterielle Blutgasanalysen durchgeführt. Messungen der Kreatinin- und N-Harnstoffkonzentrationen (BUN) im Plasma dienten als Indikator der Nierenfunktion. Die Quantifizierung der globalen pulmonalen PMN-Rekrutierung erfolgte mittels Myeloperoxidase- (MPO) Assay. Alle Ergebnisse wurden mit denen unbehandelter Kontrolltiere verglichen. Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA und anschließendem Student-Newmann-Keul-Test (Daten als MW±SEM, n=5-10).

Sauerstoffpartialdruck



Sauerstoffpartialdruck nach Rekonstitution von PMN

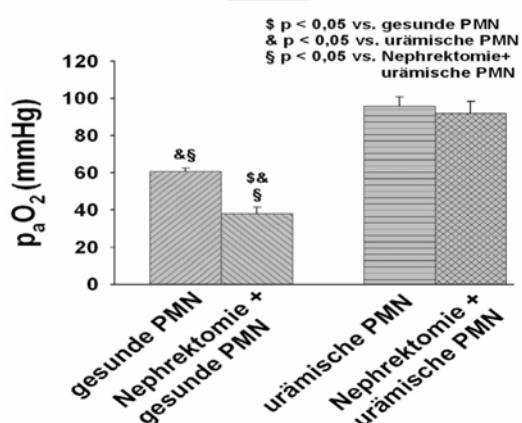


Abb. 1: Artieller Sauerstoffpartialdruck (p_aO_2) im Rahmen des HCl-induzierten akuten Lungenversagens unter verschiedenen Bedingungen (a). (b): Auswirkungen der Rekonstitution von isolierten PMN (gesunde und urämische) auf die Lungenfunktion unter verschiedenen Bedingungen.

► Ergebnisse

Die Gruppe mit dem HCl-induzierten ALV zeigte im Vergleich zur Kontrollgruppe bereits nach 2h einen signifikant reduzierten Sauerstoffpartialdruck (p_{aO_2}) (Kontrolle: 134 ± 13 mmHg, ALV: 47 ± 5 mmHg, $p < 0,05$). Des Weiteren wies die Gruppe mit dem HCl-induzierten ALV, im Vergleich zur Kontrollgruppe, einen mehr als zweifachen Anstieg der Myeloperoxidaseaktivität (MPO, $p < 0,05$) sowie ein leicht erhöhtes Nass-/Trockengewicht (ungefähr 25% Anstieg, $p < 0,05$) der Lunge auf. Eine Neutrophilendepletion vor der HCl-Applikation schützte vor dem ALV. Unter gleichem urämischem Status (normiert auf Harnstoff und Kreatinin) wiesen beide Gruppen, RIR- und NT-Gruppe, eine signifikante ($p < 0,05$) Protektion vor dem HCl-induzierten ALV auf ($p_{aO_2}: 82 \pm 2$ mmHg und 74 ± 7 mmHg vs. 47 ± 5 mmHg). Erste *in vitro* Untersuchungen deuten darauf hin, dass das akute urämische Plasma im Gegensatz zu unbehandeltem (Plasma) keine vermehrte Apoptose der PMN induziert. Mittels Rekonstitutionsuntersuchungen wurden die Auswirkungen der Urämie auf die PMN-Funktion untersucht. PMNs aus gesunden oder urämischen Spendertieren wurden, vor

Induktion eines ALV, den Mäusen injiziert. PMNs aus gesunden führten im Gegensatz zu denen aus urämischen Spendertieren zu einer signifikanten Abnahme des p_{aO_2} (61 ± 4 mmHg vs. 92 ± 14 mmHg, $p < 0,05$).

Interpretation

Die akute Urämie führt zu einer Veränderung der Leukozytenfunktion. Diese Veränderung geht im Rahmen des HCl-induzierten ALV mit einem protektiven Effekt einher. Eine vermehrte PMN-Apoptose oder Veränderung der globalen Leukozytenrekrutierung wurde ausgeschlossen. Diese Daten lassen vermuten, dass die inflammatorische Komponente im Rahmen der renalen Ischämie-Reperfusion nicht die pulmonale Funktion beeinträchtigt.

Literatur

1. de Mendonca A, Vincent JL, Suter PM, Moreno R, Dearden NM, Antonelli M, Takala J, Sprung C, Cantraine F: Acute renal failure in the ICU: risk factors and outcome evaluated by the SOFA score. *Intensive Care Med* 2000; 26:915.
2. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV: Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334:1448.

Lungenprotektion bei Lipopolysaccharid (LPS)-Toleranz: Ein TLR-2 unabhängiger und NO-induzierter Mechanismus

A. Koch¹, O. Boehm¹, P. Zacharowski¹, R. Berkels¹,

R.R. Schumann² und K. Zacharowski¹

¹ Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

² Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Charité, Humboldt-Universität Berlin

Fragestellung

Subletale Dosen des Zellwandbestandteils LPS (von Gram-negativen Bakterien) führen zu einer Zell- und Organprotektion gegenüber einem zweiten LPS-Stimulus (LPS-Toleranz)[1]. Eine Protektion der Lunge gegenüber den deletären Folgen eines LPS-Schocks nach einer LPS-Vorbehandlung ist insbesondere mechanistisch noch wenig verstanden. Zudem ist diesbezüglich eine Verunreinigung der LPS-Präparationen mit Gram-positiven Zellwandbestandteilen (z.B. Lipopeptide) bisher nicht ausreichend untersucht worden [2]. Während letztere den Toll-Like-Rezeptor (TLR)-2 aktivieren, ist LPS TLR-4 spezifisch. Unsere Ergebnisse legen einen induktiven Zusammenhang zwischen der induzierbaren Stickoxid (NO)-synthetase (iNOS) und der antioxidativen Hämoxigenase (HO-1) nach LPS-Vorbehandlung nahe. HO-1 ist u.a. durch NO induzierbar und vermittelt lungenprotektive Eigenschaften [3]. Wir untersuchten folgende Hypothesen: (i) Ist das von uns verwendete LPS frei von Gram-positiven Zellwandbestandteilen? (ii) Führt eine LPS-Vorbehandlung zu einer Lungenprotektion während eines darauffolgenden, systemischen LPS-Schocks und geht dies mit einer vermehrten HO-1-Konzentration in der Lunge einher? (iii) Hat eine selektive iNOS-Inhibition einen Einfluss auf die LPS-induzierte Lungenprotektion und HO-1-Induktion?

Methodik

(i) Die Reinheit des LPS wurde mithilfe eines heterologen Expressionssystems verifiziert. Hierfür wurde der TLR-2 oder TLR-4 transient in HEK293 Zellen transzitert. Die Rezeptoraktivierung wurde anhand der Nuclear Factor (NF)-κB-Aktivität bestimmt (Luciferase-Assay). (ii) + (iii) Nach behördlicher Genehmigung wurden männliche Wistar Ratten i.p. mit Kochsalz (NaCl; 1 ml/kg), LPS

(1 mg/kg) oder LPS (1 mg/kg) + 1400W (selektiver iNOS-Inhibitor; 5 mg/kg) vorbehandelt (n=6-8/Gruppe). Nach 24h erfolgte die Induktion eines LPS-Schocks (6 mg/kg i.v.). Nach 6h (≥ 30 h nach Vorbehandlung) wurden die Lungen entnommen und die Myeloperoxidase (MPO)-Aktivität (kolorimetrisch; Maß der Rekrutierung neutrophiler Granulozyten) und die HO-1 Protein-Konzentration (Western Blot; densitometrische Auswertung) untersucht. Statistik: Mittelwerte \pm Standardfehler; Kruskal-Wallis-Test + Dunns Posthoc-Test; Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Ergebnisse

(i) Das von uns verwendete LPS führte ausschließlich bei TLR-4 transziterten Zellen zu einer NF-κB-Aktivierung (Daten nicht abgebildet). (ii) Die Induktion des LPS-Schocks führte zu einer signifikanten Zunahme der MPO-Aktivität im Vergleich zur NaCl-Gruppe. Eine LPS-Vorbehandlung verhinderte diesen Anstieg signifikant (Abb. 1). Die LPS-Vorbehandlung vor der Induktion des LPS-Schocks führte zu einer signifikanten Erhöhung der ▶

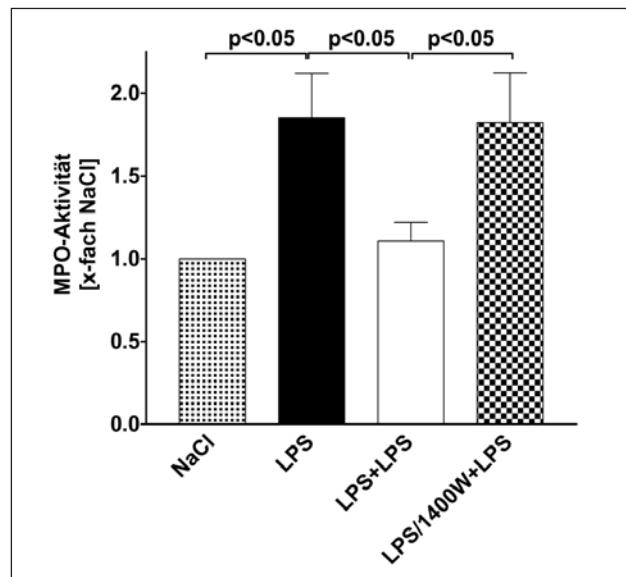


Abb. 1

► HO-1-Konzentration im Vergleich zur NaCl-Gruppe (Abb. 2), wohingegen die nicht-vorbehandelte Gruppe nach 6h noch keinen signifikanten HO-1-Konzentrationsanstieg aufwies. (iii) Der suprimierende Effekt der LPS-Vorbehandlung auf die MPO-Aktivität wurde durch 1400W aufgehoben (Abb.1). Eine HO-1 Protein *de novo* Akkumulation nach LPS-Vorbehandlung wurde durch 1400W verhindert (Abb. 2).

Interpretation

(i) Das verwendete LPS hat eine TLR-4, aber keine TLR-2 aktivierende Wirkung und scheint somit zur Untersuchung der LPS-Toleranz geeignet. (ii) Eine LPS-Vorbehandlung 24h vor einem 6stündigem LPS-Schock führt zu einer Lungenprotektion, i.S. einer verminderten MPO-Aktivität. Zeitgleich ist die HO-1 Proteinkonzentration in der Lunge signifikant erhöht. (iii) Sowohl die Lungenprotektion als auch die HO-1-Induktion lassen sich durch eine selektive Blockade von iNOS verhindern. Zusammenfassend demonstrieren die vorliegenden Daten eine LPS-Toleranz der Lunge auf systemisch verabreichtes und auf Reinheit überprüftes LPS. An der Protektion könnte die NO-induzierte HO-1 beteiligt sein.

Literatur

1. Beeson PB. Tolerance to bacterial pyrogens. J Exp Med 1947; 86:29.
2. Hirschfeld M, Ma Y, Weis JH, Vogel SN, Weis JJ. Cutting edge: repurification of lipopolysaccharide eliminates signaling through both human and murine toll-like receptor 2. J Immunol 2000; 165(2):618-622.
3. Otterbein LE, Choi AM. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2000; 279(6):L1029-L1037.

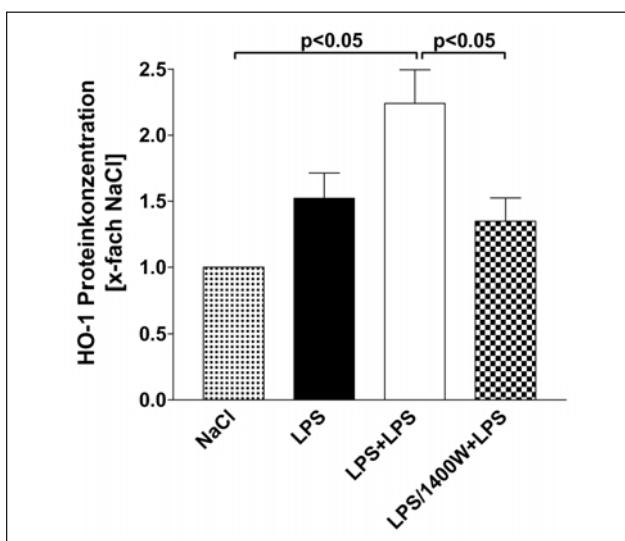


Abb. 2

Vorbehandlung mit Dobutamin verbessert die Leberperfusion und -funktion nach hämorrhagischem Schock durch Induktion der Hämoxigenase-1

A. Raddatz, J. Winning, D. Kubulus, I. Bauer, S. Kreuer, R. Larsen und H. Rensing

Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Fragestellung

Nach Ischämie/Reperfusionsereignissen kommt es zu einer ausgeprägten hepatozellulären Induktion der Hämoxigenase(HO)-1, die für die Aufrechterhaltung des Leberblutflusses nach hämor-

rhagischem Schock von wesentlicher Bedeutung ist [1]. Der protektive Effekt ist möglicherweise auf die HO-1-vermittelte Bildung von Kohlenmonoxid (CO) zurückzuführen [2]. In einer früheren Untersuchung konnten wir zeigen, dass eine Stimulation von b1-Adrenozeptoren zu einer dosisabhängigen Induktion der HO-1 in der Leber führt [3]. In der vorliegenden Untersuchung sollte daher die funktionelle Bedeutung einer mehrstündigen Vorbehandlung mit dem β 1-Adrenozeptor-Agonisten Dobutamin untersucht werden.

Methodik

Nach Genehmigung durch die zuständige Behörde wurde bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten durch Pentobarbital (50 mg/kg i.p.) eine Narkose eingeleitet. Es wurden die folgenden Versuchsgruppen (n=10) gebildet: Über einen Zeitraum von ►

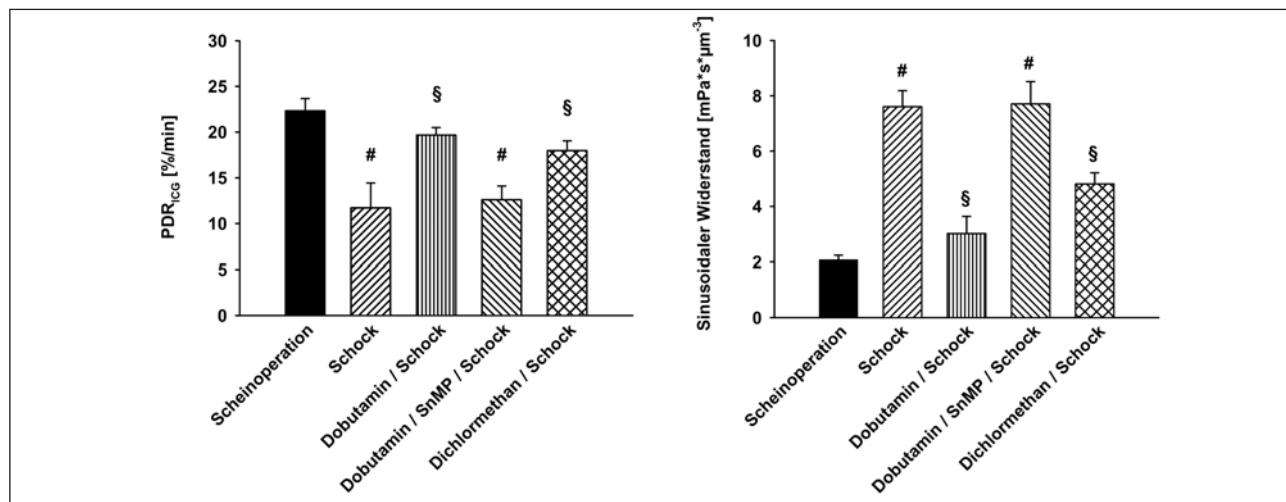


Abb. 1

► 6 Stunden erhielt die erste Versuchsgruppe („Dobutamin/Schock“) eine Dobutamin-Infusion (10 µg/kg/min i.v.). Die Kontrollgruppe („Schock“) erhielt stattdessen Ringer-Laktat. In einer dritten Gruppe („Dobutamin/SnMP/Schock“) wurde nach Dobutamin-Vorbehandlung der HO-Stoffwechsel mit Zinn-Mesoporphyrin-IX (SnMP-IX, 10 µmol/kg i.v.) blockiert. Die vierte Versuchsgruppe („Dichlormethan/Schock“) erhielt 6 Stunden vor Induktion des Schocks den CO-Bildner Dichlormethan (100 mg/kg p.o.) und Ringer-Laktat. Nach Beendigung der Dobutamin- bzw. Ringer-Laktat-Infusion wurde bei allen Tieren ein druckkontrollierter hämorrhagischer Schock induziert, indem durch arteriellen Blutentzug der mittlere arterielle Blutdruck für 90 Minuten auf 35 mmHg gesenkt wurde. Anschließend wurden 60% des entnommenen Citratblutes retransfundierte, gefolgt von einer zweistündigen Reperfusionsphase (Volumentherapie: 1. Stunde: 200%, 2. Stunde: 100% des entnommenen Blutvolumens als Ringer-Laktat). In einer weiteren Versuchsgruppe („Scheinoperation“) wurde kein hämorrhagischer Schock durchgeführt. Während des Versuches wurden die Körpertemperatur, die Herzfrequenz, der mittlere arterielle Druck und das Herzzeitvolumen registriert. Nach 2 Stunden Reperfusion wurde die Plasmaverschwinderate von Indozyaningrün (PDR_{ICG}) zur Beurteilung der Leberfunktion gemessen. Des Weiteren wurden intravitalmikroskopische Untersuchungen zur Beurteilung der Lebermikrozirkulation durchgeführt. Aus den gemessenen Parametern wurde der sinusoidale Widerstand berechnet. Die statistische Auswertung erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) bzw. Man-Whitney-U-Test (Signifikanzniveau $p < 0,05$; Mittelwerte \pm Standardfehler).

Ergebnisse

Die Vorbehandlung mit Dobutamin führte zu einer Induktion der HO-1 in Hepatozyten. Die PDR_{ICG} [%/min] war signifikant vermin-

dert nach hämorrhagischem Schock verglichen mit den scheinooperierten Tieren. Vorbehandlung mit Dobutamin führte zu einem signifikanten Anstieg der PDR_{ICG}. Nach Blockade des HO-Stoffwechsels mittels SnMP-IX fiel die PDR_{ICG} wieder ab. Verabreichung des CO-Bildners Dichlormethan führte zu einem signifikanten Anstieg der Carboxyhämoglobin-Konzentration (3,8% \pm 0,15 vs. 15,0% \pm 0,95; $p < 0,05$) und zu einer Verbesserung der PDR_{ICG}. Hämorrhagischer Schock alleine und die Blockade des HO-Stoffwechsels mit SnMP-IX nach Dobutamin-Vorbehandlung führten zu einer signifikanten Erhöhung des sinusoidalen Gefäßwiderstandes. Durch die Dobutamin-Vorbehandlung bzw. die exogene CO-Zufuhr wurde der sinusoidale Gefäßwiderstand im Vergleich zu den „Schock“-Tieren wiederum signifikant verminderd (#: $p < 0,05$ vs. Scheinoperation; §: $p < 0,05$ vs. Schock).

Interpretation

Die Verbesserung der Leberperfusion und -funktion nach hämorrhagischem Schock ist mit einer protektiven Wirkung einer Dobutamin-Vorbehandlung vereinbar, die über eine Induktion der HO-1 und eine dadurch vermehrte Bildung von CO vermittelt zu sein scheint.

Literatur

- Rensing H, Bauer I, Zhang JX, Paxian M, Pannen BH, Yokoyama Y, Clemens MG, Bauer M. Endothelin-1 and heme oxygenase-1 as modulators of sinusoidal tone in the stress-exposed rat liver. *Hepatology* 2002;36: 1453-1465.
- Pannen BH, Kohler 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.
- Rensing H, Bauer I, Kubulus D, Wolf B, Winning J, Ziegeler S, Bauer M. Heme oxygenase-1 gene expression in pericentral hepatocytes through beta1-adrenoceptor stimulation. *Shock* 2004;21: 376-387.

Verbesserung von Mikrozirkulation und Funktion der Rattenleber nach hämorrhagischem Schock und Reperfusion durch Hemmung der Poly-(ADP-Ribose)-Polymerase mittels 5-Aminoisoquinolinon (5-AIQ)

J.P. Roesner¹, D.A. Vagts¹, T. Iber¹, B. Vollmar² und G.F.E. Nöldge-Schomburg¹

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universität Rostock

² Abteilung für Experimentelle Chirurgie, Universität Rostock

Fragestellung

Der hämorrhagische Schock (HS) ist auch heute noch ein schwerwiegendes Krankheitsbild, dessen Mortalität bei gleichzeitigem Auftreten von Leberdysfunktion bzw. Leberschädigung wesentlich zunimmt. Im Rahmen von Ischämie/Reperfusion kommt es zur Bildung freier Sauerstoffradikale und damit zur Schädigung der DNS. Als Folge wird das in allen eukaryotischen Zellen vorliegende Reparaturenzym Poly-(ADP-Ribose)-Polymerase (PARP) aktiviert, wobei diese ATP-konsumierenden Reparationsprozesse zur Energiedepletion der Zelle und somit zum Zelltod führen können [1]. Darüber hinaus ist PARP auch an der Transkription pro-inflammatorischer Gene und der Expression inflammatorischer Cytokine beteiligt, welche neben anderen Mediatoren eine Aktivierung und Akkumulation von Entzündungszellen mit Störung der Lebermikrozirkulation bedingen [2]. Daraus postulierten wir unsere Arbeitshypothese, dass sich die Hemmung von PARP bei HS vor Reperi-

fusion protektiv auf die Mikrozirkulation der Leber und die Leberfunktion auswirkt.

Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzkommission wurde unter Pentobarbitalanästhesie ein HS bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten durch Ausbluten über die A. carotis bis auf einen mittleren arteriellen Druck (MAP) von 40 ± 2 mmHg für eine Stunde induziert [3]. Der PARP-Inhibitor 5-AIQ (3mg/kg; Schock+5-AIQ) bzw. identisches Volumen an Vehikelösung (Schock+Vehikel) wurden ▶

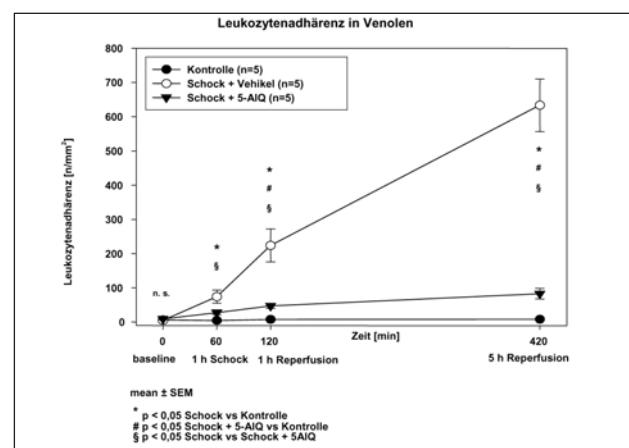


Abb. 1

► 5 Minuten vor Reperfusion i.v. injiziert. Eine Kontrollgruppe wurde operiert und anschließend der MAP mittels Anästhesieführung über den Untersuchungszeitraum konstant bei 100 ± 5 mmHg gehalten. Zu den Zeitpunkten basal, Ende der Schockphase sowie nach 1h bzw. 5h Reperfusion erfolgte die Analyse der hepatischen Mikrozirkulation mittels hochauflösender Multi-fluoreszenzmikroskopie mit Erfassung von sinusoidaler Leukozytenstase, venulärer Leukozytenadhärenz, sinusoidaler Perfusion und NADH-Autofluoreszenz als parenchymatösem Hypoxiemarker. Der Gallefluss diente als Parameter der hepatobiliären Exkretionsfunktion. Die Erfassung des apoptotischen Leberschadens erfolgte histologisch mit der TUNEL-Färbung (Anzahl apoptotischer Hepatozyten/Gesichtsfeld). Statistik: SigmaStat 3.0, ANOVA, Gruppengröße $n=5$, Mittelwerte \pm SEM, Signifikanz: $\pm p < 0,05$ Schock+Vehikel vs. Schock+5-AIQ

Ergebnisse

Im Vergleich zu den unbehandelten Tieren (Schock+Vehikel) war in der Gruppe Schock+5-AIQ nach 5h Reperfusions der MAP deutlich erhöht (86 ± 2 vs. 118 ± 1 mmHg; $p < 0,05$). Weiterhin führte die PARP-Inhibition zur Reduktion der sinusoidalen Leukozytenstase (62 ± 15 vs. 31 ± 5 mm $^{-2}$; $p < 0,05$) und venulären Leukozytenadhärenz (633 ± 76 vs. 83 ± 16 mm $^{-2}$; $p < 0,05$; Abb. 1). Darüber hinaus war die sinusoidale Perfusion und damit die Oxygenierung des Gewebes signifikant verbessert (Perfusion: 79 ± 2 vs. $90 \pm 1\%$; NADH: 115 ± 4 vs. 93 ± 3 ab. U-nits; jeweils $p < 0,05$), wodurch sich der Gallefluss nahezu vollständig erholte (Abb. 2).

Die Anzahl der apoptotischen Hepatozyten war durch PARP-Inhibition vermindert ($1,8 \pm 0,3$ vs. $3,5 \pm 0,6$ apoptotische Hepatozyten/Gesichtsfeld; $p < 0,05$) und entsprach Kontrollwerten ($1,9 \pm 0,1$).

Interpretation

Unsere Untersuchungen am HS-Modell der Ratte zeigen, dass die Inhibition von PARP mit 5-AIQ vor Reperfusion durch eine verringerte intrahepatische Akkumulation von Leukozyten zu einer Verbesserung der hepatischen Mikrozirkulation und Organintegrität mit Restauration der hepatobiliären Exkretionsfunktion führt.

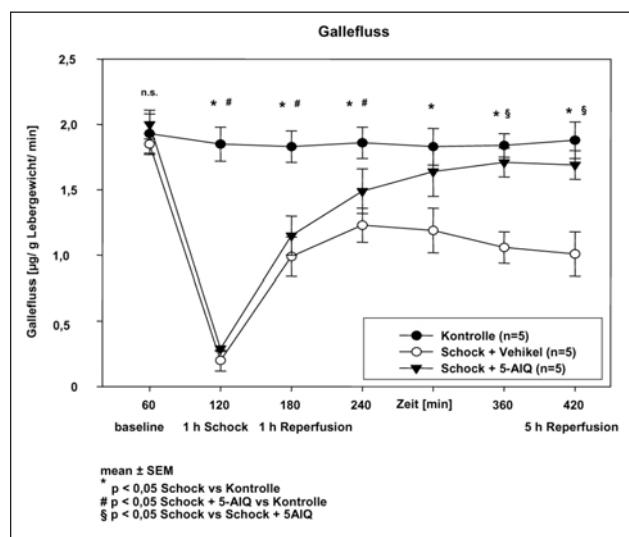


Abb. 2

gerte intrahepatische Akkumulation von Leukozyten zu einer Verbesserung der hepatischen Mikrozirkulation und Organintegrität mit Restauration der hepatobiliären Exkretionsfunktion führt.

Literatur

1. Ha HC, Snyder SH: Poly-(ADP-ribose)-polymerase is a mediator of necrotic cell death by ATP-depletion. Proc Nat Acad Sci 1999;96:13978-13982.
2. Vollmar B, Menger MD, Glasz J, Leiderer R, Messmer K: Impact of leucocyte-endothelial cell interaction in hepatic ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 1994;267:G786-G793.
3. Hoetzel A, Vagts DA, Lop T, Humar M, Bauer M, Pahl HL, Geiger KK, Pannen BH: Effect of nitric oxide on shock-induced hepatic heme oxygenase-1 expression in the rat. Hepatology 2001;33:925-937.

Isofluran reduziert den hepatischen Ischämie/Reperfusionsschaden der Ratte durch Induktion der Hämoxigenase-1

R. Schmidt, E. Tritschler, A. Hoetzel, K.K. Geiger und B.H.J. Pannen

Anaesthesiologische Universitätsklinik Freiburg

Vehikel (NaHCO_3 8.4%, 1.5 ml/kg, i.v.); Gruppe 2: ISO (2.4 MAC) + Vehikel; Gruppe 3: PEN + Zinn-Protoporphyrin IX ((SnPP), HO-Inhibitor, 50 $\mu\text{mol}/\text{kg}$, i.v.); Gruppe 4: ISO + SnPP. Die Tiere wurden nach inhalativer Narkoseeinleitung (Isofluran) tracheotomiert, mit Pancuronium (1 mg/kg, i.v.) relaxiert und kontrolliert beatmet. Fünfeinhalb Stunden nach Versuchsbeginn wurde eine Laparotomie vorgenommen und die Anästhesie bei allen Tieren mit PEN weitergeführt, um einen möglichen direkten hämodynamischen

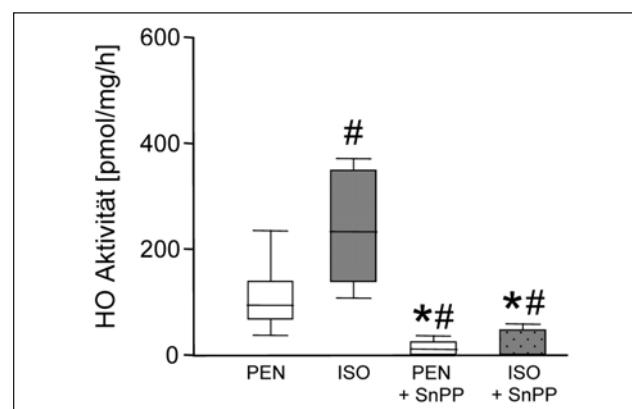


Abb. 1: Hepatische HO Enzymaktivität. * $p < 0,05$ vs. ISO, # $p < 0,05$ vs. PEN; ANOVA on Ranks ($n=8$).

Methodik

Nach Zustimmung durch das Regierungspräsidium wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten in eine der folgenden Gruppen ($n=8$) randomisiert: Gruppe 1: Pentobarbital (PEN, 40 mg/kg/h, i.v.) +

► Einfluss von ISO zum Zeitpunkt der Datenaufnahme auszuschließen. Dann erfolgte die Applikation von SnPP bzw. Vehikel. Sechs Stunden nach Versuchsbeginn wurde mit Hilfe einer atramatischen Gefäßklemme eine lobäre hepatische Ischämie induziert (60 min) und anschließend wurde für weitere 60 min. reperfundierte. Es folgte die Entnahme von Leber- und Blutproben zur Bestimmung des hepatischen HO-1 mRNA- und Proteingehalts, der HO-Enzymaktivität, zur Messung von ALT, AST und α -GST im Plasma, sowie zur histologischen bzw. immunhistochemischen Aufarbeitung. Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und des Student-Newman-Keuls Posthoc-Tests ($p<0.05$). Für nicht parametrische Daten kam die Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks, gefolgt von Dunn's Test zum Einsatz ($p<0.05$).

Ergebnisse

Die lobäre I/R führte im Vergleich zu scheinoperierten Tieren zur signifikanten Zunahme der ALT und AST Aktivität und α -GST Konzentration im Plasma. Durch ISO Vorbehandlung kam es sowohl zur hepatischen HO-1 mRNA- und Proteinexpression, als auch zur Steigerung der HO-Enzymaktivität (Abb. 1; $p<0.05$). Die Transaminasenaktivität ($p<0.05$) und α -GST Konzentration im Plasma wurden gleichzeitig gesenkt (Abb. 2). Blockade der HO durch Applikation von SnPP führte zur nahezu kompletten Hemmung der HO Enzymaktivität (Abb. 1) und zur Erhöhung von ALT und AST auf das Niveau PEN behandelter Kontrolltiere. Die Plasmakonzentration der leberspezifischeren α -GST stieg nach HO Blockade über das Niveau der Kontrollen an (Abb. 2). Die histologische Aufarbeitung zeigte bei ISO vorbehandelten Tieren einen Rückgang von Nekrose- und Entzündungszeichen insbesondere im perivenulären Bereich, dem Ort der höchsten ISO induzierten HO-1 Expression. HO-Blockade führte zur Aufhebung der histologisch nachweisbaren ISO vermittelten protektiven Effekte.

Interpretation

ISO Vorbehandlung steigert den hepatischen HO-Metabolismus und senkt dadurch den durch lobäre I/R induzierten Leberschaden. Aus dem Nachweis einer Limitierung des hepatozellulären I/R

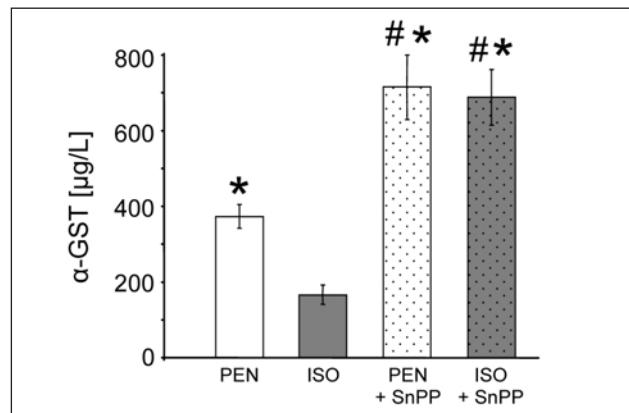


Abb. 2: α -GST Plasmaaktivität. * $p<0.05$ vs. ISO, # $p<0.05$ vs. PEN; ANOVA (n=8).

Schadens durch gezielte Steigerung des HO-Stoffwechsels mittels des klinisch etablierten Anästhetikums ISO ergibt sich potentiell ein neuer Ansatz zur Leberprotektion.

Literatur

1. 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.
2. Hoetzel 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(5):1318-1321.
3. Schmidt R, Hoetzel A, Baechle T, Loop T, Humar M, Bauer M, Pahl HL, Geiger KK, Pannen BH. Isoflurane pretreatment lowers portal venous resistance by increasing hepatic heme oxygenase activity in the rat liver in vivo. *J Hepatol* 2004; 41: 706-713.

Dieses Projekt wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt (Sachbeihilfe PA 533/4-1 und Heisenberg-Stipendium PA 533/3-2 für B.H.J. Pannen). ■

Kohlenmonoxid zeigt antioxidative Eigenschaften in der Leber im Ischämie/Reperfusion-induzierten frühen SIRS

C. Wunder¹, I. Ripke¹, R.W. Brock², O. Eichelbrönnner¹ und N. Roewer¹

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

² Department of Pharmacology and Toxicology, University of Arkansas of Medical Sciences, Little Rock, USA

Fragestellung

Kohlenmonoxid (CO) wird in der Leber neben Bilirubin und Fe^{++} durch die Hämoxxygenase (HO)-reaktion gebildet, die den Abbau von Haem katalysiert. CO wirkt vasodilatierend auf die Sinusoide der Leber, reduziert den programmierten Zelltod (Apoptose) und zeigt anti-inflammatorische Wirkungen [1]. Im Rahmen einer systemischen Entzündungsreaktion (SIRS-systemic inflammatory response syndrome) kommt es zu einer vermehrten Bildung reaktiver Sauerstoffmetaboliten (ROS) und zu einer Zunahme des oxidativen Stress' in der Leber [2]. Ziel dieser Studie ist es, den Einfluss von Kohlenmonoxid auf das Ausmaß des oxidativen Schadens, die Mikrozirkulation und Organfunktion der Leber im frühen SIRS zu untersuchen.

Methodik

C57BL/6 Mäusen wurde nach behördlicher Genehmigung in Isoflurannarkose die A. carotis int. zur Blutdruckmessung kanüliert und 0.4ml/h NaCl 0.9% zur Aufrechterhaltung eines normotonen Blutdruckes infundiert (n=7 für alle Gruppen). Nach 60 min. Ischämie beider Hinterläufe (Tourniquet oberhalb des Trochanter major) folgte eine 3 Std. Reperfusionsphase (I/R) der dann

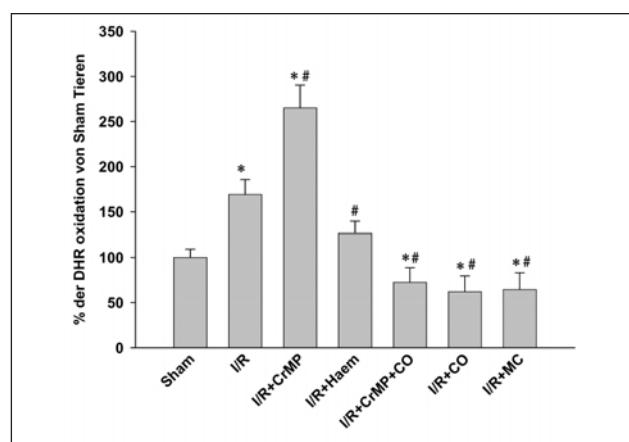


Abb. 1: * $p<0.02$ vs. Sham; # $p<.02$ vs. I/R.

► wachen Tiere. Die exogene Zufuhr von CO erfolgte entweder über die Gabe von Methylchlorid (MC; 5,8 μ mol/kg oral) zur Induktion der intrahepatischen CO Bildung oder über die Inhalation von 250ppm CO in Raumluft während der Reperfusionsphase. Die HO-Aktivität wurde durch Chromium Mesoporphyrin (CrMP; 2,5 μ g/kgKG intra-peritoneal) kompetitiv gehemmt oder durch Haem (10mg/kgKG intra-peritoneal) induziert. Dihydrorhodamine-123 (DHR; 1mg/100gKG i.v.) wurde zur Quantifizierung der hepatischen ROS Bildung verwendet. Mit der Intravitalvideomikroskopie wurden der Durchmesser und die Blutflussgeschwindigkeit in den Sinusoïden, sowie die DHR Fluoreszenz erfasst. Propidium Iodide (PI) markierte Hepatozyten sowie Serumspiegel der Alaninaminotransferase (ALT) dienten als Maß für die Leberzellsschädigung. Reduziertes und oxidiertes Glutathion (GSG/GSSH) sowie Malondialdehyde (MDH) wurde in den Leberproben bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Varianzanalyse (ANOVA; p<0,05; mean \pm SEM).

Ergebnisse

Nach I/R kommt es zu einem signifikanten Abfall des volumetrischen sinusoidalen Blutflusses (QV), während die CO und MC Behandlung von I/R Tieren den QV auf das Niveau von I/R+Haem Tieren verbessert. I/R führt zu einer signifikant erhöhten DHR-Fluoreszenz im Vergleich mit Sham Tieren. I/R Tiere mit CO und MC Behandlung sowie die gleichzeitige Gabe von CO zu I/R Tieren mit CrMP reduzierte die DHR-Fluoreszenz auf das Niveau der Sham Gruppe (Abb. 1). MDH als Marker für die hepatische Lipidperoxidation zeigte einen identischen Verlauf. Der Gesamtgehalt an Glutathion (GSH+GSSG) verminderte sich signifikant nach I/R. CO und MC Behandlung von I/R Tieren, sowie die gleichzeitige Gabe von CO an I/R Tieren mit CrMP hatte einen Anstieg von GSH+GSSG auf das Niveau der Sham Gruppe zur Folge. Oxidiertes Glutathion (GSSG) zeigte einen spiegelbildlichen Verlauf wie GSH+GSSG. Die vermehrte Verfügbarkeit von CO hatte eine signifikante Reduktion von GSSG in der Leber zur Folge (Abb. 2). CO/MC Behandlung von I/R Tieren reduzierte das Ausmaß des Zellschadens auf das Niveau von Sham Tieren.

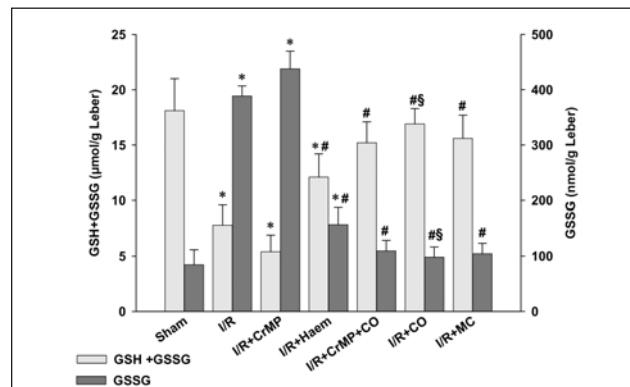


Abb. 2: * p<0,03 vs. Sham; # p<0,02 vs. I/R, § p<0,03 vs. I/R+Haem.

Interpretation

Bei einer normotensiven systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) mit Ischämie/Reperfusion induzierter Bildung von ROS und Störungen der Lebermikrozirkulation führt die exogene Zufuhr von CO zur Verminderung des oxidativen Stresses und somit zu einer Reduktion des Oxidationsstress induzierten Zellschadens. Die niedrig dosierte Gabe von CO könnte somit eine therapeutische Option zur Verminderung der Leberschädigung im frühen SIRS darstellen.

Literatur

1. Suematsu, M. Gaseous monoxides: a new class of microvascular regulator in the liver. *Cardiovasc. Res.* 1996;32:679-86.
2. Jaeschke, H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol. Hepatol.* 2001;15: 718-24.

Spinale Mechanismen der Wirkung von Etomidat in vitro

Ch. Grasshoff und B. Antkowiak

Sektion Experimentelle Anaesthesiologie, Abteilung für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Fragestellung

Ein zentraler Aspekt der Narkose ist die Unterdrückung von Schmerzreflexen. Sie wird durch eine Hemmung der Erregbarkeit spinaler Neurone herbeigeführt. Untersuchungen am Menschen [1] und in vitro [2] konnten zeigen, dass das intravenöse Anästhetikum Propofol selbst bei Verabreichung hoher Konzentrationen spinale Neurone nur unvollständig unterdrückt. Propofol wirkt in klinisch relevanten Konzentrationen (0,1-2,0 μ M) überwiegend über GABA(A)-Rezeptoren [2]. Hieraus ergeben sich für das intravenöse Anästhetikum Etomidat zwei Fragen: (1) Gilt die für Propofol gezeigte Begrenzung der hemmenden Wirkungen auf Netzwerkebene ebenfalls für Etomidat, und (2) falls ja, besteht diese Limitierung auch auf molekularer Ebene?

Methodik

Gewebeschnitte wurden den thorakalen und lumbalen Segmenten

des Rückenmarks embryonaler 129/SvJ Mäuse (E13-15) entnommen und nach der von Gähwiler beschriebenen Methode für mindestens 14 Tage kultiviert [3], bevor sie für Experimente herangezogen wurden. Aktionspotentiale von Interneuronen des Vorderhorns wurden extrazellulär registriert, sowie aktionspotentialabhängige (sIPSCs) und aktionspotentialunabhängige (mIPSCs) postsynaptische Ströme von GABAergic Rezeptoren mittels „whole-cell patch-clamp“ Technik im „voltage-clamp“ Modus bei einer Membranspannung von -70 mV gemessen. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm SEM dargestellt.

Ergebnisse

Extrazelluläre Messungen der Netzwerkaktivität zeigen, dass Etomidat die Spontanaktivität spinaler Neurone konzentrationsabhängig vermindert. Die Konzentration halbmaximaler Wirkung (EC50) beträgt $0,38 \pm 0,04 \mu$ M und ist somit von klinischer Relevanz. Bei einer Konzentration von 1 μ M erreicht die Konzentrations-Wirkungskurve bei 66% Hemmung der Spontanaktivität ein Plateau. Höhere Etomidatkonzentrationen (bis 5 μ M) können diesen Effekt nicht steigern. Somit zeigt Etomidat eine limitierte Kapazität spinale Neurone zu hemmen.

Die mit einer monophasischen Exponentialfunktion quantifizierten Abklingzeiten der mIPSCs (Kontrolle: $33,75 \pm 2,38$ ms; n=14) und sIPSCs (Kontrolle: $33,18 \pm 2,99$ ms; n=22) werden durch Etomidat gleichermaßen konzentrationsabhängig verlängert. Im klinisch

► relevanten Konzentrationsbereich (~ 0,25-5,0 μM) ist die Wirkung von Etomidat auf die Abklingzeiten weder für die mIPSCs (Etomidat 0,25 μM : $57,28 \pm 19,91$ ms; 1,5 μM : $101,28 \pm 11,04$ ms; 5 μM : $160,47 \pm 5,16$ ms; n=4-6), noch für die sIPSCs (Etomidat 0,25 μM : $44,23 \pm 5,34$ ms; 1,5 μM : $92,17 \pm 9,79$ ms; 5 μM : $160,05 \pm 10,99$ ms; n=5-7) begrenzt. Im Gegensatz zu der Wirkung auf mIPSCs verringert Etomidat die Amplitude und Frequenz der sIPSCs, was auf eine präsynaptische Hemmung GABAerger Interneurone hinweist.

Interpretation

Die Wirkung von Etomidat auf die Spontanaktivität spinaler Neurone ist, ähnlich der Wirkung von Propofol [2], limitiert. Dies kann nicht durch eine Begrenzung der potenzierenden Wirkungen am GABA(A) Rezeptor erklärt werden, da die konzentrationsabhängige Verlängerung der Abklingzeiten durch Etomidat keiner Begrenzung im gemessenen Bereich unterliegt. Vielmehr zeigt die Verminderung der Amplitude und Frequenz der sIPSCs, dass

Etomidat die Aktivität GABAerger Interneurone und damit die präsynaptische Freisetzung von GABA im Rückenmark unterdrückt. Diese präsynaptische Disinhibition wirkt bei steigender Etomidatkonzentration der Verlängerung der Abklingzeiten GABA(A) Rezeptor vermittelten Ströme entgegen. Hieraus folgt, dass die limitierte Kapazität von Etomidat spinale Netzwerkaktivität zu hemmen auf eine Unterdrückung GABAerger Interneurone zurückzuführen ist.

Literatur

- Matute E, Rojo P, Lopez-Garcia JA.** Effects of Sevoflurane and Propofol at Different Concentrations on F-Wave and H-reflex in Humans. Anesthesiology 2004; 101: A308.
- Grasshoff C und Antkowiak B.** Propofol and Sevoflurane Depress Spinal Neurons In Vitro via Different Molecular Targets. Anesthesiology 2004; 101:1167-76.
- Gähwiler BH.** Organotypic monolayer cultures of nervous tissue. J Neurosci Methods 1981; 4: 329-342.

Identifikation geeigneter EEG-Parameter für das Narkose-Monitoring durch simultane Analyse von klinischen Endpunkten und Signal-Rausch-Verhältnis

Ch. Jeleazcov, F. Bremer und H. Schwilden

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

Fragestellung

Die Güte von quantitativen Elektroenzephalogramm (EEG)-Ableitungen als Surrogatparameter der Narkosetiefe wird anhand von Assoziationsmaßen, wie die Voraussagewahrscheinlichkeit Pk zu klinisch definierten Endpunkten repräsentiert [1]. Häufig werden nur wenige klinische Endpunkte herangezogen, wie z.B. Verlust und Wiedererlangung des Bewusstseins [2]. Ein hohes Assoziationsmaß alleine ist jedoch nicht ausreichend, sondern die Assoziation zu klinischen Endpunkten muss zeitnah erfolgen. Dies erfordert eine geringe Hysterese, was wiederum ein hohes Signal-Rausch-Verhältnis (SRV) impliziert. Diese Studie bestimmt bei Probanden während Propofol-Applikation anhand von 9 klinischen Endpunkten unter 26 gängigen EEG-Parametern diejenigen mit dem höchsten SRV und Pk.

Methodik

Nach zustimmendem Votum der Ethik-Kommision wurden 54 Stunden EEG-Aufzeichnungen während 2 konsekutiven Propofol-Applikationen bei 9 nicht prämedizierten Probanden untersucht. Die Propofol-Infusion erfolgte mit einer linear ansteigenden Zielkonzentration von $0.2 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ bis zum Auftreten von Burst Suppression (BS) ≥ 3 Sekunden gefolgt von 30 Minuten closed-loop Steuerung. Die Narkosetiefe wurde anhand von 9 klinischen Endpunkten zu 17 verschiedenen Zeitpunkten abgebildet. Dieser Reihenfolge von Endpunkten der Narkosetie wurde eine Rangskala auferlegt:

Folgende EEG-Parameter wurden im Zeitbereich analysiert: Schiefe (schiefe), Wölbung (wölbung), Symbolische Entropie (symbEn), sogenannte Approximate Entropie (ApEn). Aus dem Leistungsspektrum zw. 0,5-32,0 Hz das 25- (Q25), 50- (Q50), 75- (Q75), 90- (Q90) und 95- Quantil (Q95) und die Spektrale Entropie (spekEn) sowie die absolute (abs-) und relative (rel-) Leistung zw. 0,5-2 Hz (-0_5_2), 2-5 Hz (-2_5_5), 5-8 Hz (-5_8_8), 8-13 Hz (-8_13_13), 13-20 Hz (-13_20_20), 20-26 Hz (-20_26_26) und 26-32 Hz (-26_32_32). Zw. 0,5-32 Hz das Volumen unter der von Bispektrum und Bikohärenz aufgespannten Oberfläche (bisp bzw. bic).

Für die Berechnung des Pk-Werts wurde der Median-Wert des jeweiligen EEG-Parameters aus dem Zeitintervall um den klinischen Endpunkt herangezogen. In dieser Untersuchung wurden die Nutzsignal- und Rauschwerte mit Hilfe des von Tukey entwickelten Glättungs-Algorithmus [3] geschätzt. Das SRV wurde als Verhältnis von Varianz der Nutzsignal-Werte zur Varianz der Rausch-Werte berechnet. Als Kriterium für die Eignung eines EEG-Parameters zur Messung der Narkosetiefe wurden die oberen 20% der Parameter in der Pk- und SRV-Verteilung gewählt.

Ergebnisse

Die Tabelle 2 stellt die SRV- und Pk-Werte der untersuchten EEG-Parameter dar. Die relative Leistung 20-26 Hz, die sogenannte Approximate Entropie und das 95. Quantil des Leistungsspektrums zeigen einen $Pk \geq 0.72$ und einen $SRV \geq 4.0$ (fett gedruckt).

Interpretation

Die simultane Analyse von Pk und SRV identifiziert eindeutig die höheren spektralen Anteile des Leistungsspektrums als die EEG-Parameter, die eine robuste Unterscheidung der abgeleiteten Stufen der Narkosetie leisten. Erstaunlicherweise haben neuere EEG-Parameter, wie die Entropie-Maße nicht wesentlich zu einer Erhöhung des SRV oder Pk beigetragen. Die EEG-Parameter des Bispektrums schneiden bei dieser Untersuchung schlecht ab und eignen sich nicht für das Narkose-Monitoring.

Tab. 1

	Wach				1. oder 2. Prop.-Inf.					
	Vor Einleitung	Orientierung nach Inf.	Ansprechbar nach Inf.	Nicht ansprechbar	Verlust Lidrandreflex	Keine Reaktion auf SSPL	Verlust Kornealreflex	Auftreten BS	BS>= 3 Sek.	
	1. Prop.-Inf.	2	3	4	5	6	7	8	9	
1. Prop.-Inf.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
2. Prop.-Inf.		10	11	12	13	14	15	16	17	

Tab. 2

Parameter	SRV	Pk	Parameter	SR	Pk
m95	5.16	0.74	abs5_8	1.62	0.59
symbent	4.66	0.68	rel8_13	1.53	0.58
ae1	4.51	0.73	specent	1.49	0.69
m90	4.06	0.71	abs05_2	1.21	0.69
rel20_26	4.05	0.74	m25	1.20	0.72
rel26_32	2.82	0.73	rel05_2	0.97	0.65
rel13_20	2.62	0.68	abs26_32	0.90	0.39
abs8_13	2.19	0.41	rel5_8	0.60	0.59
abs20_26	2.19	0.38	rel2_5	0.41	0.42
abs13_20	2.07	0.44	kurt	0.28	0.31
m75	1.96	0.69	skew	0.17	0.50
m50	1.91	0.71	bispec	0.08	0.57
abs2_5	1.72	0.61	bic	0.01	0.62

► Literatur

1. Bauerle K, Greim CA, Schroth M, Geiselbrecht M, Kobler A, Roewer N: Prediction of depth of sedation and anaesthesia by the Narcotrend EEG monitor. Br J Anaesth 2004;92:841-845.
2. Vakkuri A, Yli-Hankal A, Talja P, Mustola S, Tolvanen-Laakso H, Sampson T, Viertiö-Oja H: Time-frequency balanced spectral entropy as a measure of anesthetic drug effect in central nervous system during sevoflurane, propofol, and thiopental anesthesia. Acta Anaesthesiol Scand 2004;48:145-153.
3. Tukey JW: Exploratory Data Analysis. Addison-Wesley 1977.

Pharmakodynamisches Plateau im prozessierten EEG bei Sevofluran-Anästhesien

S. Kreuer¹, J. Bruhn², R. Larsen¹, S. Shafer³ und W. Wilhelm⁴

¹ Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg

² Universitätsklinikum Bonn

³ Stanford University School of Medicine, Palo Alto, USA

⁴ St.-Marien-Hospital Lünen

Fragestellung

Die Korrelation zwischen prozessiertem EEG und der Sevofluran-Effekt-Kompartiment-Konzentration kann bis zu einer Konzentration von 1 MAC gut als sigmoidale E_{max}-Funktion dargestellt werden [1]. In einer aktuellen Untersuchung wurde bei Isofluran-Anästhesien ein pharmakodynamisches Plateau bei einer Effekt-Kompartiment-Konzentrationen von 1 MAC beschrieben [2]. In der vorliegenden Untersuchung bei Sevofluran-Anästhesien mit endtidalen Konzentrationen bis 2 MAC wurde das klassische E_{max}-Modell mit einem von uns neu entwickelten pharmakokinetisch/pharmakodynamischen (PK/PD) Modell verglichen. Die Parametrisierung des EEG erfolgte durch den BIS- (Aspect, USA, Version XP) und den Narcotrend-Monitor (MonitorTechnik, Bad Bramstedt, Version 4.0).

Methodik

Nach Zustimmung der Ethikkommission wurden 26 Männer untersucht, die sich einer radikalen Prostataresektion unterziehen mussten. Um den EEG-Effekt ohne Interaktion mit einem Opioid untersuchen zu können, wurde bei allen Patienten ein Periduralkatheter gelegt und dieser intraoperativ mit 15 ml Bupivacain 0,5% beschickt. Die Anästhesie wurde mit 0,5 µg/kg/min Remifentanil und 2 mg/kg Propofol eingeleitet, die Remifentanil-Zufuhr wurde unmittelbar nach der Intubation beendet. 45 min nach der Einleitung wurde die endtidale Sevofluran-Konzentration zweimal zwischen 0,5 und 2 MAC variiert. BIS-, Narcotrend-Werte und endtidale Sevofluran-Konzentrationen wurden automatisch aufgezeichnet.

Statistik

Die Datenanalyse umfasste die Datenpaare von Beginn der ersten Konzentrationssteigerung bis zur Extubation. Die Sevofluran-Effekt-Kompartiment-Konzentration wurde mit Hilfe des k_{eo}-Wertes berechnet:

$$\frac{dC_{\text{eff}}}{dt} = (C_{\text{end}} - C_{\text{eff}}) \times k_{\text{eo}}$$

C_{end} = Endtidale Konzentration

C_{eff} = Effekt-Kompartiment-Konzentration

In das neu entwickelte PK/PD-Modell wurde das pharmakodynamische Plateau integriert, indem das klassische E_{max}-Modell um eine zweite sigmoidale Kurve ergänzt wurde:

Für C_{eff} ≤ C_{plateau}:

$$E = 99 - (99 - E_{\text{plateau}}) \left(\frac{C_{\text{eff}}^{\lambda_{\text{noBSR}}}}{C_{50 \text{ noBSR}}^{\lambda_{\text{noBSR}}} + C_{\text{eff}}^{\lambda_{\text{noBSR}}}} \right)$$

Für C_{eff} > C_{plateau}:

$$E = E_{\text{plateau}} - (E_{\text{plateau}} - E_{\text{max}}) \left(\frac{(C_{\text{eff}} - C_{\text{plateau}})^{\lambda_{\text{BSR}}}}{C_{50 \text{ BSR}}^{\lambda_{\text{BSR}}} + (C_{\text{eff}} - C_{\text{plateau}})^{\lambda_{\text{BSR}}}} \right)$$

C_{plateau} = Konzentration des Plateaus

E_{plateau} = EEG-Effekt im Bereich des Plateaus

C_{50noBSR / BSR} = Konzentration, bei der 50% des maximalen Effekts vorliegen

λ_{noBSR / BSR} = Steilheit der Dosis-Wirkungs-Kurve

BSR = Burst-Suppression-Ratio

Die Berechnung der Modelle erfolgte für die individuellen Patienten und als „population fit“ mit NONMEM V (GloboMax, Hanover, USA), indem der log-Likelihood-Wert minimiert wurde. Ein Unterschied zwischen den Likelihood-Werten von > 9,49 ist statistisch signifikant. Zusätzlich wurde eine Korrelationsanalyse (Excel, Microsoft, USA) durchgeführt.

Ergebnisse

Die Differenz zwischen den log-Likelihood-Werten der beiden Modelle mit und ohne pharmakodynamisches Plateau betrug für den BIS-Index 396 (P < 0,001) und für den Narcotrend-Index 1121 (P < 0,001). Bei den Analysen individueller Patienten zeigte sich ebenfalls die Überlegenheit des neuen Modells im Vergleich zum klassischen Emax-Modell (BIS R = 0,86 ± 0,10 vs. 0,78 ± 0,12 P < 0,05; Narcotrend R = 0,92 ± 0,07 vs. 0,81 ± 0,18 P < 0,05).

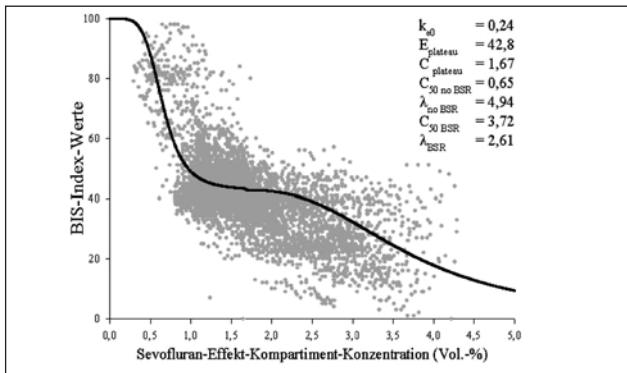


Abb. 1

► Interpretation

Die wahrscheinlichste Erklärung unserer Ergebnisse ist ein physiologisches Plateau im Narkose-EEG beim Wechsel zwischen überwiegender Delta-Aktivität und Burst-Suppression-Mustern. Auch der Interpretationsalgorithmus der Monitorsysteme selbst könnte für den beobachteten Plateau-Effekt ursächlich sein; dagegen spricht aber die Tatsache, dass Narcotrend und BIS völlig unter-

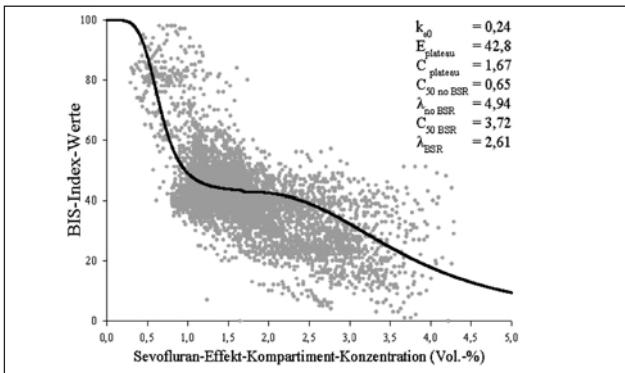


Abb. 2

schiedliche Algorithmen zur Interpretation des Narkose-EEG verwenden.

Literatur

- Rehberg B, Bouillon T, Zinserling J et al: Anesthesiology 1999; 91:397-405
- Kreuer S, Bruhn J, Larsen R et al: Anesthesiology 2004; 101:847-854.

Untersuchungen zu postsynaptischen N₂O-Effekten im Schnittpräparat der Amygdala: Wirkungen am NMDA-Rezeptor

A. Ranft^{1,2}, K. Becker², J. Kurz^{1,2}, W. Ziegglänsberger², G. Rammes^{1,2}, E. Kochs¹ und M. Eder²

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

² Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München

Fragestellung

Lachgas (N₂O) nimmt unter den inhalativen Anaesthetika eine Sonderstellung ein: Anders als bei den vorwiegend am GABA_A-Rezeptor angreifenden volatilen Anaesthetika ist seine Hauptwirkung eine Verminderung der NMDA-Rezeptor (NMDAR)-vermittelten Neurotransmission. Die diesem Befund zugrundeliegenden Experimente wurden an kultivierten Hippokampusneuronen durchgeführt [1]. Detaillierte Untersuchungen zur N₂O-Wirkung am NMDAR im intakten Zellverband liegen bisher nicht vor.

Methodik

Die Wirkung von N₂O auf NMDAR-vermittelte postsynaptische Ströme (PSCs) wurde (mit Genehmigung der Tierschutzbeauftrag-

ten der Reg. v. Obb.) im Amygdala-Hirnschnittpräparat adulter Mäuse untersucht. Hierzu wurden Projektionsneurone des basolateralen Nucleus durch Infrarot-Videomikroskopie visualisiert und mittels Patch-Clamp-Technik abgeleitet. Durch pharmakologische Blockade der GABA_A- und GABA_B-Rezeptoren sowie der non-NMDA-Glutamatrezeptoren wurden NMDAR-PSCs isoliert. Diese wurden entweder durch elektrische Stimulation afferenter Fasern oder durch photolytische Glutamatapplikation auf das neuronale Soma hervorgerufen. Für Kontrollbedingungen wurde das Perfusionsmedium mit 65% N₂, 30% O₂, 5% CO₂ und zur Lachgasapplikation mit 65% N₂O, 30% O₂, 5% CO₂ begast. Der Einzelkanalstrom der NMDAR wurde durch nichtstationäre Fluktuationsanalyse bestimmt [2]. Signifikanzprüfung erfolgte mit dem Mann-Whitney Rangsummentest.

Ergebnisse

Sowohl elektrisch als auch photolytisch evozierte NMDAR-PSCs wurden in ihrer Amplitude durch N₂O statistisch signifikant reduziert (Abb. 1). Für eine direkte Wirkung von N₂O am NMDAR sprechen folgende Befunde: (i) Unter N₂O lag das Amplitudenmaximum von NMDAR-PSCs bei positiveren Membranpotentialen (Abb. 2). (ii) Die nichtstationäre Fluktuationsanalyse ergab eine Abnahme des Einzelkanalstroms (Abb. 3).

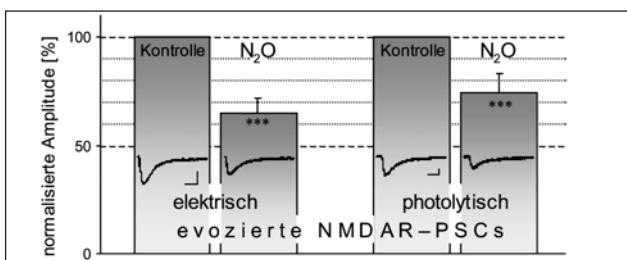


Abb. 1: Amplitudenreduktion von elektrisch (n = 5 Neurone) und photolytisch (n = 8 Neurone) evozierten NMDAR-PSCs durch N₂O. Mittelwerte + Standardabweichung; *** p < 0.001. Originalspuren: Die Skalierungsbalken entsprechen 100 ms und 100 pA bzw. 100 ms und 20 pA.

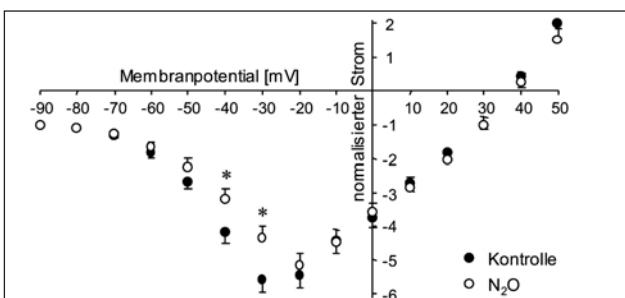


Abb. 2: Strom-Spannungsbeziehung von NMDAR-PSCs (n = 13 Neurone). Die Stromamplitude bei -90 mV wurde auf -1 normalisiert. Mittelwerte und Standardfehler; * p < 0.05.

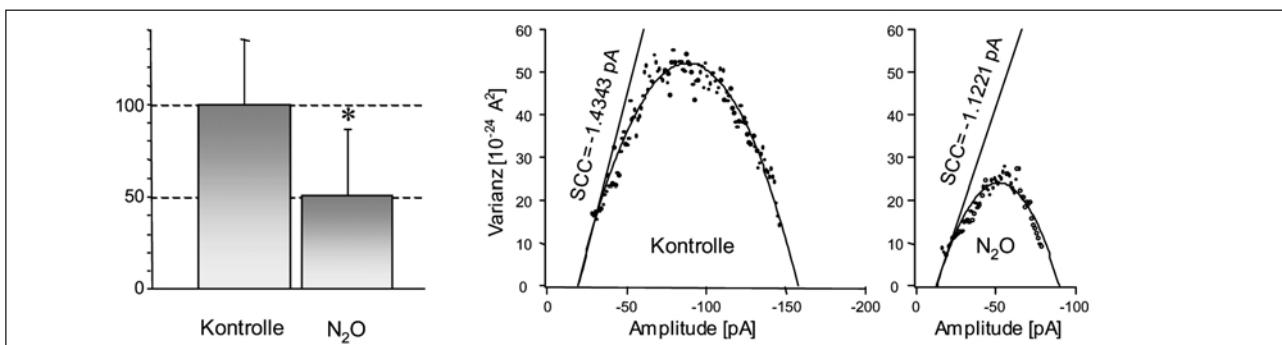


Abb. 3: Einzelkanalstrom des NMDAR ($n = 6$ Neurone). Säulendiagramm: Mittelwerte + Standardabweichung; * $p < 0.05$. Graphen: Exemplarische Darstellung der nichtstationären Fluktuationsanalyse einer Zelle; die Tangentensteigung an der linken Nullstelle der Parabel reflektiert den Einzelkanalstrom (SCC).

► Interpretation

Lachgas modifiziert die Kanaleigenschaften postsynaptischer NMDAR auf Projektionsneuronen in der Amygdala. Die beobachtete Abnahme des Einzelkanalstroms sowie die veränderte Strom-Spannungsbeziehung sprechen auch für einen vermindernden postsynaptischen Kalziumeinstrom unter N_2O . Nach der „sliding threshold“ Theorie [3] könnte dies zu einer Verschiebung der synaptischen Plastizität von Langzeitpotenzierung (LTP) in Richtung Langzeitdepression (LTD) glutamaterger Synapsen führen.

Literatur

- Mennerick S, Jevtovic-Todorovic V, Todorovic SM, Shen W, Olney JW, Zorumski CF: Effect of Nitrous Oxide on Excitatory and Inhibitory Synaptic Transmission in Hippocampal Cultures. *J Neurosci* 1998;18:9716-9726.
- Traynelis SF, Silver RA, Cull-Candy SG: Estimated conductance of glutamate receptor channels activated during EPSCs at the cerebellar mossy fiber-granule cell synapse. *Neuron* 1993;11:279-289
- Bear MF: Mechanism for a sliding synaptic modification threshold. *Neuron* 1995;15:1-4.

Inhalation von NO (Stickstoffmonoxid) zur Protektion vor Neuronenuntergang durch selektive Vasodilatation nach zerebraler Ischämie

S.C. Thal¹, S.W. Kim², U. Mamrak² und N. Plesnila²

¹ Klinik für Anästhesiologie, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
² Institut für Chirurgische Forschung, Ludwig-Maximilians-Universität München

Fragestellung

Aufgrund seiner starken vasodilatatorischen Wirkung wird Stickstoffmonoxid (NO) zur Behandlung von Gefäßerkrankungen verwendet. Eine verbreitete Anwendungsform ist die Gabe über die Atemluft bei ARDS und pulmonalem Hypertonus. In den letzten Jahren deutete sich an, dass durch NO-Inhalation nicht nur ein lokaler pulmonaler Effekt hervorgerufen wird, sondern auch eine Wirkung im peripheren Gefäßbett stattfindet [1]. Unsere Fragestellung war deshalb: 1.) beeinflusst NO-Inhalation die zerebralen Gefäßdurchmesser unter physiologischen und oligämischen Bedingungen und 2.) hat die NO Inhalation eine neuroprotektive Potenz bei der temporären fokalen Hirn-Ischämie in der Maus.

Methode

Nach Genehmigung durch die Regierung von Oberbayern wurden die Versuche an männlichen Mäusen (1.) C57Bl6, Gewicht: 25-30g und (2. A, B) SV129, Gewicht: 22-23g durchgeführt. Die Tiere wurden endotracheal intubiert und mechanisch ventilirt. Für die intraperitoneale Narkose verwendeten wir eine Kombination aus Medetomidin, Fentanyl und Midazolam. Die Überwachung der arteriellen Blutgaskonzentrationen zu Beginn und am Ende der Versuche und des arteriellen Mitteldruckes erfolgte über (1.) einen A. femoralis Katheter. In allen Tieren wurde die ET CO₂ Konzentration in der Exspirationsluft gemessen.

1.) Intravitalmikroskopisch beobachteten wir die oberflächlichen

Arterien und Venen (Durchmesser 10-50 µm). In der ersten Versuchsserie wurde die NO-Wirkung unter physiologischen Bedingungen untersucht. Dazu wurden die Tiere in eine Kontroll- und eine 50 ppm NO-Gruppe (je $n=6$) eingeteilt. Nach einer Ruhezeit von 30 min wurde für 30 min NO der Atemluft beigegeben, gefolgt von einer 30 min Nachbeobachtung. Alle 10 min erfolgte in 4 verschiedenen Hirnarealen eine Videoaufzeichnung der Gefäße. In einer zweiten Serie wurden oligämische Bedingungen über eine Laserdoppler-Fluxmetrie kontrollierte partielle Fadenligatur der beiden Aa. carotis communis induziert. Analog zur ersten Serie wurde eine Kontroll-Gruppe mit einer 50 ppm Gruppe verglichen (je $n=5$). Nach einer Ruhezeit von 20 min wurde die zerebrale Durchblutung auf 30-40 % des Ausgangswertes (Ausgw.) vermindert. Nach einer 20 min Ruhephase erfolgte für 30 min die NO-Gabe, gefolgt von einer weiteren 30 min Beobachtungsphase.

2. A) Um die neuroprotektive Potenz zu testen, führten wir unter Laserdopplerflux-Kontrolle einen 45 min Fadenverschluss der A. cerebri media (MCAO) durch. Nach Ischämieinduktion wurden die Tiere in zwei Gruppen eingeteilt (A: Kontrolle ($n=5$), B: 50 ppm NO ($n=6$)). Die NO-Gabe wurde 15 min nach Ischämiebeginn initiiert und bis 45 min nach Ischämieende fortgeführt. Die histomorphometrische Bestimmung der Infarktvolumina erfolgte 24 Stunden post MCAO anhand Nissl-gefärbter Cryostatschnitten.

2. B) Um die Änderung der Durchblutung im Infarktkern und der umgebenden, durch Kollateralen versorgten Penumbra zu untersuchen, wurden in einer weiteren Serie ($n=5$) je eine Laserdopplersonde zentral im Stromgebiet der mittleren Zerebralarterie und eine weitere im Randgebiet zum Stromgebiet der vorderen Zerebralarterie platziert.

Statistik

Die physiologischen Parameter und histomorphometrischen Daten wurden mit einer one-way ANOVA, die Gefäßdurchmesser-, Laserdoppler- und MAP-Werte mit der two-way ANOVA für wiederholte Messungen analysiert.

► Ergebnisse

1.) Unter physiologischen Bedingungen nahmen die Venendurchmesser signifikant unter NO zu (NO: $110 \pm 3\%$ des Ausgw., Kontrolle: $100 \pm 1\%$ des Ausgw., $p < 0,01$). Die Venendurchmesser gingen nach Ende der NO-Gabe auf dass Ausgangsniveau zurück (NO: $102 \pm 2\%$ des Ausgw., Kontrolle: $100 \pm 1\%$ des Ausgw.). Auf arterieller Seite änderten sich die Durchmesser nicht (NO: $100 \pm 1\%$ des Ausgw., Kontrolle: $100 \pm 2\%$ des Ausgw.). Unter oligämischen Bedingungen nahmen sowohl die Venendurchmesser (NO: $114 \pm 9\%$ des Ausgw., Kontrolle: $89 \pm 4\%$ des Ausgw.), als auch die Arteriendurchmesser (NO: $106 \pm 4\%$ des Ausgw., Kontrolle: $90 \pm 5\%$ des Ausgw.) signifikant unter NO-Gabe zu. Zu keinem Zeitpunkt unterschied sich der arterielle Mitteldruck (MAP) zwischen den Gruppen.

2. A) Während der zerebralen Ischämie fiel die Durchblutung über dem MCAO Kerngebiet auf Laserdoppler(LDF)-Werte unter 20 % des Ausgangsniveaus ab. Die LDF-Werte unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt zwischen den Gruppen. Das Infarktvolumen war in der Kontrollgruppe ($26,0 \pm 7,3$ mm [3]) signifikant größer als in der NO-Gruppe ($14,1 \pm 3,2$ mm [3], $p < 0,01$). Das Körpergewicht unterschied sich 24 Stunden nach Ischämie nicht zwischen den Gruppen (A: $-14,2 \pm 1,5\%$, B: $-12,3 \pm 2,6\%$).

2. B) Die Durchblutung im Infarktkern änderte sich nicht während der NO-Inhalation. Im Randgebiet der Ischämie führte die NO-Inhalation zu einer Durchblutungssteigerung um ~30-40% des Ausgangswertes (Penumbra: $137 \pm 11\%$ des Ausgw., Infarktkern: $96 \pm 13\%$ des Ausgw.).

Interpretation

Unter physiologischen Bedingungen sehen wir während NO-Inhalation eine reversible selektiv venöse Gefäßdilatation (+10%). Die Arteriendurchmesser wurden nicht durch die NO-Inhalation

beeinflusst. Unter oligämischen Bedingungen reagierten sowohl die Arterien (+16 %), als auch Venen (+25 %). NO wird nach Inhalation gebunden als S-Nitrosohämoglobin [3] und Nitrit [2] über dem Blutweg transportiert wird und abhängig von der Sauerstoffkonzentration freigesetzt. Die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen erstmalig, dass durch NO-Inhalation eine Gefäßreaktion im Gehirn hervorgerufen werden kann und diese verstärkt unter oligämischen Bedingungen stattfindet.

Bedingt durch den sauerstoffabhängigen Transportmechanismus stellt die NO-Inhalation eine potentielle Strategie dar, in ischämischen Gebieten eine selektive Durchblutungsverbesserung zu erreichen. In einer zweiten Serie untersuchten wir deshalb die Wirkung bei intraischämischer Gabe. Hier führte die NO-Inhalation zu einer signifikanten Reduktion der Infarktbildung um 40 % nach 24 Stunden. Die Durchblutung in perifokalen Arealen (Penumbra) ist der NO-Inhalation gesteigert und die sekundäre Vergrößerung des Schadens lässt sich dadurch erfolgreich verhindern. Die NO-Inhalation stellt deshalb einen viel versprechenden Ansatz für die Reduktion des affektierten Hirnareals während eines ischämischen Hirninfarktes dar und ist somit eine interessante Alternative für Patienten mit Kontraindikation für eine Lysetherapie.

Literatur

1. Cannon RO, III, Schechter AN, Panza JA, et al: Effects of inhaled nitric oxide on regional blood flow are consistent with intravascular nitric oxide delivery. *J.Clin.Invest* 2001;108:279-287
2. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, et al: Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat.Med.* 2003;9:1498-1505
3. Stamler JS, Jia L, Eu JP, et al: Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 1997;276:2034-2037.

Hypoxie führt zu systemischer endothelialer Dysfunktion bei Personen mit gesteigerter hypoxisch pulmonaler Vasokonstriktion

M.M. Berger^{1,2}, C. Hesse³, C. Dehnert², H. Siedler³, P. Kleinbongard⁴, P. Gharini⁴, H.J. Bardenheuer¹, M. Kelm⁴, P. Bärtsch² und W.E. Haefeli³

¹ Klinik für Anaesthesiologie, Universität Heidelberg

² Abteilung Innere Medizin VII, Sportmedizin, Universität Heidelberg

³ Abteilung Innere Medizin VI, Klinische Pharmakologie und Pharmakoepidemiologie, Universität Heidelberg

⁴ Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie, Universität Düsseldorf

Fragestellung

Die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion (HPV) dient in Situationen, die mit alveolärer Hypoxie assoziiert sind (z.B. Pneumonie, COPD, ARDS), der Umverteilung des Blutflusses aus hypoxischen Arealen in besser oxygenierte Areale der Lunge und damit der Optimierung des Ventilations-Perfusions-Verhältnisses. Eine gesteigerte HPV führt jedoch zu einem überschießenden pulmonal-vaskulären hydrostatischen Druckanstieg, wodurch ein Austritt von Flüssigkeit in den Alveolarraum begünstigt wird. Eine gesteigerte HPV gilt als zentrales Element in der Pathophysiologie des Höhenlungenödems (High altitude pulmonary edema = HAPE) [1]. Die zugrunde liegenden Mechanismen der gesteigerten HPV sind unklar. In dieser Studie wurde untersucht, inwieweit die HPV bei HAPE-anfälligen Personen mit einer Störung der systemischen Endothelfunktion assoziiert ist.

Methodik

Nach Zustimmung der örtlichen Ethikkommission wurden 9 HAPE-anfällige und 9 HAPE-resistente (Kontrollen) Probanden unter Normoxie ($\text{FiO}_2 = 0,21$) und normobarer Hypoxie ($\text{FiO}_2 = 0,12$; entspricht einem PO_2 auf 4500 m Höhe) in randomisierter Reihenfolge untersucht. Mittels Venenverschlussplethysmographie wurde nach intra-arterieller Administration von Acetylcholin (ACh) bzw. Natriumnitroprussid (NNP) der endothelabhängige (ACh-vermittelte) bzw. der endothelunabhängige (NNP-vermittelte) Unterarmblutfluss gemessen und mit Änderungen des systolischen pulmonalarteriellen Druckes (SPAP; gemessen mittels transthorakaler Echokardiografie), der Plasma-Nitrit-Konzentrationen (gemessen mittels Fliess-Injektions-Analyse) und der Plasma-Endothelin- (ET)-1-Konzentrationen (gemessen mittels Radioimmunassay) korreliert. Die Ergebnisse sind als MW \pm SE angegeben.

Ergebnisse

In Hypoxie stieg der SPAP von 22 ± 1 auf 33 ± 2 mmHg bei Kontrollen ($p < 0,001$) und von 25 ± 1 auf 50 ± 3 mmHg bei HAPE-anfälligen ($p < 0,001$ versus Kontrollen) an. Die ACh-vermittelte Zunahme des Unterarmblutflusses war in Normoxie zwischen beiden Gruppen gleich und in Hypoxie bei HAPE-Anfälligen (nicht jedoch bei Kontrollen) signifikant vermindert ($p < 0,01$). Die NNP-vermittelten Blutflussänderungen waren bei HAPE-anfälligen Probanden unter Normoxie und Hypoxie jedoch gleich. Die Hypoxie-induzierte endotheliale Dysfunktion HAPE-anfälliger Probanden zeigte eine inverse Korrelation zu den Anstiegen des SPAP ($r = -0,491$; $p < 0,05$). Plasma-Nitrit-Konzentrationen waren in Hypoxie bei HAPE-anfälligen Probanden vermindert ($p < 0,01$) und korrelierten mit den ACh-vermittelten Blutflussänderungen ($r = 0,738$;

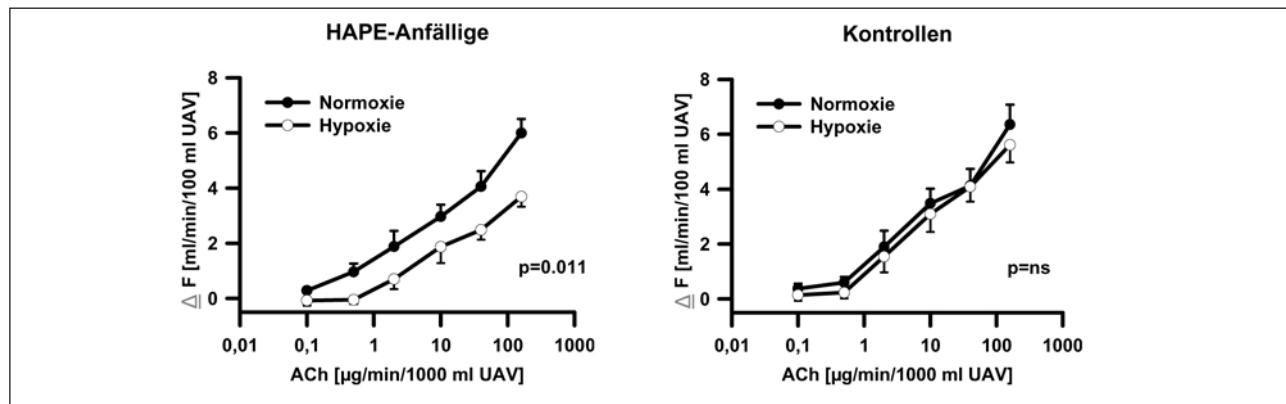


Abb. 1: Endothelabhängiger Unterarmblutfluss (ΔF) in Abhängigkeit von Acetylcholin (ACh) in Normoxie (●) und Hypoxie (○). Statistik: ANOVA for repeated measures. UAV = Unterarmvolumen.

► $p<0,05$). ET-1-Plasmaspiegel waren in beiden Gruppen in Hypoxie um etwa das 1,5-fache erhöht ($p<0,01$ versus Normoxie).

Interpretation

Die gesteigerte HPV HAPE-anfälliger Probanden korreliert mit einer Einschränkung der endothelabhängigen NO-cGMP-vermittelten Vasodilatation unter Hypoxie. Die Effekte von NO auf die

glatte Muskulatur bleiben unter Hypoxie erhalten. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine Einschränkung der NO-Bioverfügbarkeit unter Hypoxie von kritischer Bedeutung für eine gesteigerte HPV ist. ET-1 scheint eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Literatur

1. Bärtsch P, Maggiorini M, Ritter M, et al.: Prevention of high-altitude pulmonary edema by nifedipine. N Engl J Med. 1991;325(18):1284-9. ■

Kombination von interventioneller Lungenassistenz und Hochfrequenzoszillation: Effekte auf den Gasaustausch beim Schwein mit akutem Lungenversagen

J. Brederlau, R. Muellenbach, M. Kredel, J. Küstermann und N. Roewer

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Würzburg

Fragestellung

Bei ersten klinischen Einsätzen der pumpenlosen arteriovenösen interventionellen Lungenassistenz (ILA) wurden Verbesserungen von CO_2 -Elimination und Oxygenierung beobachtet [1]. Untersuchungen mit ILA-Prototypen ergaben, dass bei Membranlungenflüssen von 20-30% des Herzzeitvolumens (HZV) eine hochgradige CO_2 -Elimination erreichbar, und damit die Entkopplung von Ventilation und Oxygenierung möglich ist [2]. Wenn Scherkräfte in der Pathogenese des ARDS eine entscheidende Rolle spielen, ist eine weitere Reduktion des Tidalvolumens (V_t), z.B. mittels Hochfrequenzoszillation (HFO), anzustreben [3]. Wir testeten die Hypothese, dass mit ILA im lavageinduzierten Lungenschädigungsmodell Normokapnie erreicht und durch Steigerung des mittleren Atemwegsdrucks (P_{mean}) sowohl mit HFO als auch mit druckkontrollierter Beatmung (PCV) der PaO_2 gleichmaßen angehoben werden kann.

Methodik

Die Genehmigung der Tierschutzkommission lag vor. Nach Analgosedierung, Muskelrelaxierung, endotrachealer Intubation und Instrumentierung mit invasiver Blutdruckmessung und Swan-Ganz-Katheter wurde bei 32 Pietrain-Schweinen (Gewicht: $52,1 \pm 4,1 \text{ kg}$) durch wiederholte pulmonale Lavage mit $\text{NaCl} 0,9\%$ (30 ml/kg KG) eine Lungenschädigung mit einem Ziel- PaO_2 von $40-60 \text{ mmHg}$ induziert. Es folgte die Randomisierung in vier Gruppen

(jeweils $n = 8$): Gruppe 1: PCV ($\text{FiO}_2 = 1,0$, $\text{VT} = 6 \text{ ml/kg KG}$, $f = 40/\text{min}$), Gruppe 2: PCV + ILA, Gruppe 3: HFO (CPAP-Fluss = 30 l/min , Druckamplitude = $70 \text{ cm H}_2\text{O}$, $f = 300/\text{min}$), Gruppe 4: HFO + ILA. In den Gruppen 2 und 4 wurden die A. und V. femoralis kanüliert und eine Membranlunge mit niedrigem Flusswiderstand (Novalung, Hechingen) interponiert. Der P_{mean} , gemessen an der Tubusspitze, wurde vom Messzeitpunkt T_{60} an in allen Gruppen 20-minütlich um $3 \text{ cmH}_2\text{O}$ von 16 auf $34 \text{ cmH}_2\text{O}$ erhöht (Abb. 1). Zu den Messzeitpunkten (nach jeweils 20 min Äquilibrierung) wurden die Blutgase analysiert, und die hämodynamischen und respiratorischen Parameter protokolliert. Statistik: Two-way ANOVA mit Tukey-Posthoc-Test ($p<0,05$). Daten als Mittelwert und Standardabweichung.

Ergebnisse

Der PaCO_2 lag bei Kombination von PCV oder HFO mit ILA (Gr. 2,4) sofort nach dem Start der ILA (T_{60}) signifikant niedriger als in der PCV- oder HFO-Gruppe (Gr. 1,3) ($p<0,05$) (Abb. 2). Mit P_{mean} -Erhöhung stieg in allen Gruppen der PaO_2 ohne Unterschiede zwischen den Gruppen signifikant an. Der Beatmungsspitzen-

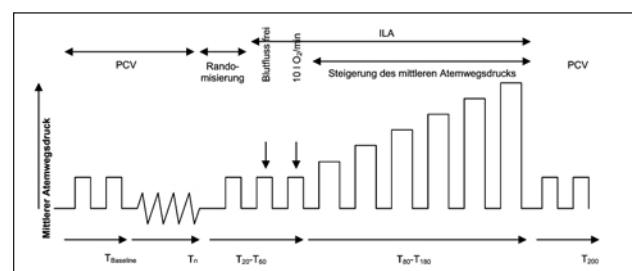


Abb. 1: Versuchsablauf; Zeitpunkte: T_0 : nach Lavage, T_n : nach Randomisierung, $T_{20}-T_{60}$: ILA-Blutfluss freigegeben ohne O_2 -Fluss, T_{60} : ILA mit 10 l/min O_2 -Fluss, $T_{60}-180$: P_{mean} -Steigerung in Schritten von $3 \text{ cm H}_2\text{O}$ von 16 auf $34 \text{ cm H}_2\text{O}$, T_{200} : Behandlung wie zum Zeitpunkt T_0 .

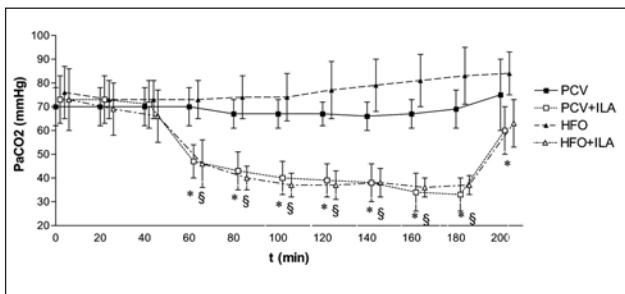


Abb. 2: PaCO_2 -Verlauf; Daten als Mittelwert \pm SD; * signifikanter Unterschied in ILA- vs. Nicht-ILA-Gruppen ($p < 0,05$); § signifikanter Unterschied vs. T_{40} ($p < 0,05$).

► druck (PIP) in den HFO-Gruppen (Gr. 3,4) lag um $9 \pm 1 \text{ cm H}_2\text{O}$ signifikant niedriger als in den PCV-Gruppen (Gr. 1,2) ($p < 0,05$). Das HZV nahm mit P_{mean} -Steigerung ohne Unterschiede zwischen den

Gruppen in allen Gruppen signifikant ab; es war keine Katecholamintherapie erforderlich. Ein intrinsischer PEEP entwickelte sich bei keinem Tier.

Interpretation

Im vorliegenden Lungenschädigungsmodell war durch ILA Normokapnie zu erreichen. Eine PaO_2 -Erhöhung durch ILA allein war nicht nachzuweisen. Die Steigerung des P_{mean} führte unabhängig vom Beatmungsverfahren zum PaO_2 -Anstieg. Vergleichbare PaO_2 -Werte bei gleichem P_{mean} und geringerem PIP unter HFO + ILA lassen eine Scherkräftereduktion gegenüber PCV + ILA vermuten. Langzeituntersuchungen müssen zeigen, ob dies lungenprotektiv wirkt.

Literatur

- Reng, M. et al. Lancet 2000; 356: 219-220
- Tao W. et al. Crit Care Med 1997; 25: 689-695
- Goddon S. et al. Anesthesiology 2001; 94: 862-869.



Wirkung des 5-HT_{1A}-Agonisten 8-OH-DPAT auf die Morphin-induzierte Atemdepression und Antinozizeption in vivo

U. Guenther, H. Wrigge, C. Putensen und A. Hoeft

Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin,
Universitätsklinikum Bonn

Fragestellung

Spontanatmung gewinnt zunehmend Bedeutung in Anästhesie und Intensivmedizin. So konnte gezeigt werden, dass bei akutem Lungenversagen Spontanatmung vorrangig durch Erhöhung des Tidalvolumens (V_t) die arterielle Oxygenierung verbessert [1]. Daher wäre eine pharmakologische Option zur Erhöhung der spontanen Atemminutenvolumens (AMV) wünschenswert. Der 5-HT_{1A}-Agonist 8-OH-DPAT kann bei Ratten eine opioidinduzierte Atemdepression aufheben [2]. Der Einfluss auf Nozizeption und die Interaktion mit Morphin wurde unter diesen Bedingungen bisher nicht untersucht. Wir überprüften daher die Hypothese, dass 8-OH-DPAT in vivo eine opioidinduzierte Atemdepression aufhebt ohne die antinozizeptive Wirkung der Opioide zu antagonisieren.

Methodik

Mit Genehmigung der zuständigen Bezirksregierung wurden 24 Sprague Dawley Ratten ($258 \pm 8,23\text{g}$ [Mittelwert \pm SEM]) mit Pentobarbital (60mg/kg i.p.) anästhesiert, tracheotomiert und mit einem Ventilator konnektiert, der Spontanatmung ermöglicht. Die Atemfrequenz (AF) wurde gemessen und V_t berechnet. Die inguinalen Gefäße wurden für die Messung des arteriellen Drucks, Blutgasanalysen und i.v.-Injektionen kanüliert. Die Nozizeption wurde mit Hilfe des Tail-Flick-Reflexes (TFR) erfasst. 8-OH-DPAT wurde in steigenden Dosen alle 20 min i.v. appliziert ($0,1, 1, 10, 100\mu\text{g/kg}$, $n=6$). In einer zweiten Messreihe wurde zu-

nächst Morphin in 5mg/kg -Schritten bis zu einer Reduktion der Atemfrequenz um 70% vom Ausgangswert i.v. appliziert ($n=6$), anschließend 8-OH-DPAT i.v. ($0,1, 1, 10, 100\mu\text{g/kg}$) alle 20min. Zur Kontrolle dienten bei beiden Messreihen NaCl 0,9%-Injektionen i.v. in denselben zeitlichen Abständen (je $n=6$). Vor und je 10min nach Medikamentapplikation wurden je 3 TFR mittels Hitzestrahlung ausgelöst und die Tail-Flick-Latenzen (TFL) gemittelt. Die maximale Bestrahlungszeit wurde auf 15s festgesetzt. AF und V_t werden als prozentuale Änderung vom Ausgangswert angegeben, die TFL als prozentualer Anteil des maximal möglichen Effekts (%MPE). Statistik: zweifaktorielle ANOVA mit Bonferroni post hoc-Test, verglichen mit NaCl 0,9%-Niveau.

Ergebnisse

Die AF bei Start war $52,7 \pm 2,8/\text{min}$, der TFL $7,7 \pm 0,5\text{s}$, und der MAP lag bei $112,1 \pm 3,4 \text{ mmHg}$. Verum- und Kontrollgruppen unterschieden sich nicht signifikant.

8-OH-DPAT ($n=6$) erhöhte dosisabhängig das spontane AMV durch Erhöhung des V_t . Die Erhöhung der AF war nicht signifikant. Gleichzeitig wurde bei 8-OH-DPAT $0,1 \mu\text{g/kg}$ die TFL deutlich verkürzt. Mit steigenden Dosierungen wurde jedoch die TFL zunehmend verlängert bzw. der TFR komplett unterdrückt. NaCl 0,9% ($n=6$) verursachte keine signifikanten Veränderungen bei VT, AF und TFL.

Morphin ($15,8 \pm 2,9 \text{ mg/kg}$) verursachte eine mittlere Depression der AF von $79,4 \pm 6\%$ (8-OH-DPAT - $79,9 \pm 10,3\%$; NaCl 0,9% - $78,8 \pm 7,2\%$; je $n=6$). Verum- und Kontrollgruppe unterschieden sich weder im Morphinverbrauch noch im Ausmaß der Atemdepression. Der TFR war bereits ab 5mg/kg in allen Experimenten unterdrückt. 8-OH-DPAT hob nachfolgend die Atemfrequenz dosisabhängig an bis auf $-6,7 \pm 20,1\%$, der TFR blieb erloschen. In der Kontrollgruppe stieg die AF leicht bis auf $-68,5 \pm 10,7\%$ an, der TFR blieb während des gesamten Untersuchungszeitraums ebenfalls erloschen. ►

Tab. 1: Wirkung von 8-OH-DPAT ohne Morphin.

	VT [ml]			AF [Atemzüge/Minute]			TFL [sec]		
	MW	SEM	p	MW	SEM	p	MW	SEM	p
8-OH-DPAT 0,1 $\mu\text{g/kg}$	4,51	3,06	n.s.	-0,05	4,06	n.s.	-32,56	10,64	<0,05
8-OH-DPAT 1 $\mu\text{g/kg}$	7,03	3,25	n.s.	2,92	4,29	n.s.	-31,30	33,66	n.s.
8-OH-DPAT 10 $\mu\text{g/kg}$	28,17	7,48	<0,01	13,82	6,12	n.s.	-6,80	21,63	n.s.
8-OH-DPAT 100 $\mu\text{g/kg}$	48,46	10,44	<0,001	-4,29	18,55	n.s.	100,00	0,00	<0,001

Tab. 2: Wirkung von Morphin, gefolgt von 8-OH-DPAT.

	VT [ml]			AF [Atemzüge/Minute]			TFL [sec]		
	MW	SEM	p	MW	SEM	p	MW	SEM	p
Morphin 15,8 ± 2,9mg/kg	-43,86	18,44	n.s.	-79,9	10,29	n.s.	100,00	0,00	n.s.
8-OH-DPAT 0,1 mcg/kg	-47,37	18,38	n.s.	-76,28	11,08	n.s.	100,00	0,00	n.s.
8-OH-DPAT 1 mcg/kg	-33,20	23,76	n.s.	-65,32	11,22	n.s.	100,00	0,00	n.s.
8-OH-DPAT 10 mcg/kg	-29,89	23,11	n.s.	-31,94	11,43	<0,01	100,00	0,00	n.s.
8-OH-DPAT 100 mcg/kg	-27,30	27,08	n.s.	-6,72	20,12	<0,001	100,00	0,00	n.s.

► Interpretation

8-OH-DPAT ohne Morphin verursacht eine Erhöhung des VT, nicht aber der AF, und hat einen dosisabhängigen Effekt auf die Nozizeption: in sehr niedrigen Dosierungen wird Nozizeption verstärkt, in den höheren - für die Atemstimulation notwendigen - Dosierungen wirkt 8-OH-DPAT antinozizeptiv. Die Morphin-induzierte Antinozizeption wird durch 8-OH-DPAT nicht beeinträchtigt.

Literatur

1. Wrigge H, et al. Spontaneous breathing improves lung aeration in oleic acid-induced lung injury. Anesthesiology 2003; 99(2): 376-84
2. Sahibzada N, et al. Reversal of morphine-induced apnea in the anesthetized rat by drugs that activate 5-hydroxytryptamine(1A) receptors. J Pharmacol Exp Ther 2000; 292(2): 704-13.

Atemmechanikanalyse: Dynamische Messung erlaubt getrennte Beurteilung von Compliance und rekrutiertem Volumen

C.A. Stahl¹, K. Möller², S. Schumann¹, R. Kuhlen³, C. Putensen³, M. Sydow³, K. Geiger¹ und J. Gutmann¹

¹ Anaesthesiologische Universitätsklinik Freiburg

² FH Furtwangen, Biomedical Engineering Villingen-Schwenningen

³ Wissenschaftlicher Beirat der McREM-Studie

Fragestellung

Die pathophysiologischen Veränderungen beim akuten Lungenversagen (ALI/ARDS) führen zu deutlichen Veränderungen der Atemmechanik. Diese wurden klassischerweise mit Hilfe statischer Druck-Volumen (P-V) Kurven analysiert. Als *lungenprotektiv* galt Beatmung dann, wenn ein Bereich für Volumen und Druck eingehalten wurde, der den steilsten mittleren Teil der sigmoiden P-V Kurve weder unter- noch überschritt [Amato, 1998]. Die Erkenntnis, dass Rekrutierung über den gesamten Volumenbereich stattfindet, hat diese klassische Interpretation der statischen Kurve in Frage gestellt.

Außer den statischen Methoden zur Bestimmung der Atemmechanik stehen auch dynamische Verfahren zur Verfügung, bei denen die Messung ohne Unterbrechung der Beatmung durchgeführt wird [Gutmann 1994, Ranieri 2000]. Wie sich Rekrutierungsvorgänge auf die Ergebnisse dieser Verfahren auswirken, ist bislang nicht untersucht worden. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, zu prüfen, ob dynamische und statische Atemmechanikanalyse bei Patienten mit ALI/ARDS gleich empfindlich auf Rekrutierung reagieren oder ob Unterschiede zwischen beiden Verfahren bestehen.

Methodik

Nach positivem Votum der Ethik-Kommissionen aller teilnehmenden Einrichtungen wurden 28 Patienten mit ALI/ARDS ($\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 = 210 \pm 53 \text{ mmHg}$) in die multizentrisch durchgeführte Studie eingeschlossen. Alle Patienten wurden mit dem Evita4Lab-Meßsystem (Dräger, Lübeck) beatmet. Zur Erhebung von dynamischen P-V Kurven über einen großen Volumenbereich wurde bei sonst unveränderten Beatmungseinstellungen der PEEP alle 10 Atemzüge um $2 \text{ cmH}_2\text{O}$ erhöht, bis ein Plateaudruck von $45 \text{ cmH}_2\text{O}$ erreicht wurde. Die statische P-V Kurve wurde während eines Low-Flow-

Inflation Manövers (Fluss $0,033 \text{ L/s}$) aufgezeichnet. Zur statistischen Analyse wurde der Wilcoxon-Test verwendet.

Ergebnisse

Der Verlauf der dynamischen P-V Loops war nur bei ZEEP mit dem Verlauf der statischen Kurve vergleichbar (Abb. 1). Bei höheren endexpiratorischen Drücken erreichte die dynamische Compliance geringere Werte als die statische (29,8 [17] vs. 59,6 [39,8] $\text{ml/cmH}_2\text{O}$, (Median [Quartilsabstand])). Außerdem zeigt sich ein deutlicher Formunterschied zwischen dem Verlauf der statischen und der dynamischen Compliance: während die dynamische Compliance bereits ab einem end-exspiratorischen Druck von $10 \text{ cmH}_2\text{O}$ deutlich abfällt, weist die statische Compliance ein ausgeprägtes Maximum bei etwa $25 \text{ cmH}_2\text{O}$ auf. (Abb. 2). Während des inkrementellen PEEP-Manövers wurde zwischen den PEEP-Stufen ein Volumen von insgesamt $0,84 [0,6] \text{ l}$ (gemessen als Volumenzunahme bei identischem Alveolardruck) rekrutiert. Dies entsprach $40,8 [10,3] \%$ des gesamten Volumenzuwachses während des dynamischen Manövers. Auffällig war weiterhin, dass diese Rekrutierung bis zur höchsten PEEP-Stufe zunahm. Die endinspiratorischen Volumina der dynamischen Messung unterschieden sich jedoch nicht von den statischen Volumenwerten. ▶

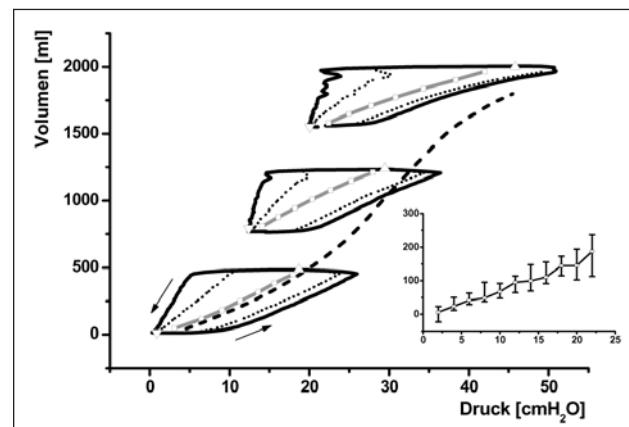


Abb. 1: Statische (gestrichelte Linie) und dynamische P-V-Loops (Atemwegsdruck, Trachealdruck, Alveolardruck eines repräsentativen Patienten bei ZEEP, PEEP12 und 20). Unten rechts: Rekrutierung pro PEEP-Stufe (Alle Pat.)

► Interpretation

Die Analyse der Atemmechanik unter dynamischen Bedingungen erlaubt es, die Bestimmung von Compliance und rekrutiertem Volumen zu trennen. Die dynamisch bestimmte Compliance liegt bei Patienten mit akutem Lungenversagen deutlich niedriger als die statische Compliance. Die Abnahme der dynamischen Compliance bereits bei niedrigen Drücken weist darauf hin, dass im mittleren Druck- und Volumenbereich Überdehnung simultan mit alveolärer Rekrutierung auftreten können.

Literatur

1. Amato, M. B., C. S. Barbas, D. M. Medeiros, R. B. Magaldi, G. P. Schettino, G. Lorenzi-Filho et al.; Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338: 347-54.
2. Guttman J, Eberhard L, Fabry B, Zappe D, Bernhard H, Lichtwarck-Aschoff L, et al., Determination of volume-dependent respiratory system mechanics in mechanically ventilated patients using the new SLICE method. *Technol Health Care* 1994; 2: 175-191.
3. Ranieri, V. M., H. Zhang, L. Mascia, M. Aubin, C. Y. Lin et al.; Pressure-time curve predicts minimally injurious ventilatory strategy in an isolated rat lung model. *Anesthesiology* 2000; 93:1320-8.

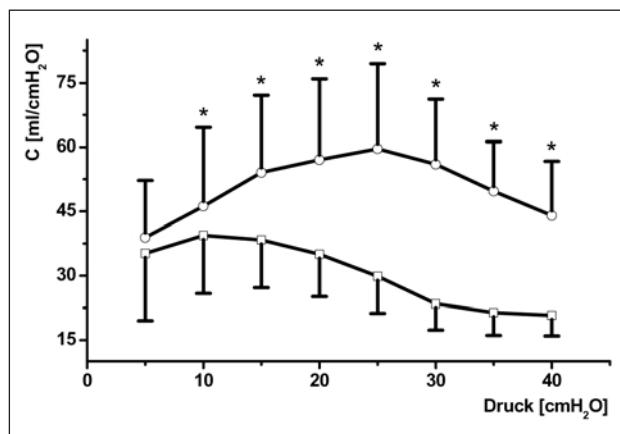


Abb. 2: Statische (o) und dynamische (k) Compliance in Abhängigkeit vom end-exspiratorischen Druck (Median und Quartilabstand aller Patienten).

Ein synthetisches LPS-Analogon mit der Bezeichnung E5564 (Eritoran) hemmt kompetitiv die LPS-vermittelte Reduktion der kardio-myozytären Kontraktilität

G. Baumgarten¹, P. Knuefermann¹, V. Vervölgyi², A. Hoeft¹ und R. Meyer²

¹ Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Bonn

² Institut für Physiologie II, Universitätsklinikum Bonn

Im Rahmen einer gram-negativen Sepsis kommt es regelhaft zu einer therapieresistenten myokardialen Dysfunktion, die meistens lebensbegrenzend ist. Diese myokardiale Depression wird durch eine Vielzahl von Mediatoren vermittelt [1]. Mittels eines *in vivo* und eines *in vitro* Models der gram-negativen Sepsis bzw. der Endotoxinämie konnten wir zeigen, dass in Folge einer Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS) sowohl die myokardiale Expression relevanter Mediatoren als auch die Kontraktilität am isolierten Kardiomyozyten Toll-Like Rezeptor 4 (TLR4) abhängig reguliert wird [2, 3]. Eine therapeutische Relevanz dieses Rezeptors für die myokardiale Dysfunktion im Rahmen einer gram-negativen Sepsis bzw. einer Endotoxinämie konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

Fragestellung

Ziel unserer jetzigen Experimente war es daher, die Bedeutung eines synthetischen LPS-Analogons (Eritoran, E5564), welches die LPS Wirkung am TLR4 zu hemmen vermag, für die kardiomyozytäre Kontraktilität zu untersuchen.

Methodik

Hierzu wurden murine Kardiomyozyten von C3H/HeN Mäusen isoliert und für 6h mit LPS (1 Mikrogramm/ml) in Anwesenheit von E5564 (2 Mikrogramm/ml) bzw. einem Placebo inkubiert. Eine mögliche LPS Verunreinigung der Kollagenase wurde durch die Zugabe von Polymyxin B während der Isolation versucht zu minimieren. Aufgrund der bekannten Pharmakodynamik wurde E5564 alle 2h substituiert (2 Mikrogramm/ml). Es wurden > 5 Zellen mit 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 und 10 Hz extern stimuliert und jeweils 5 konsekutive Sarkomer verkürzungen bei 36 °C mittels eines Video-Imagingsystems (IonOptix, USA) vermessen. Zwischen den Stimulationsperioden wurden Pausen von 30 Sekunden eingehalten.

ten. Zur statistischen Analyse wurde ein ANOVA verwendet. Die Tierversuche sind durch die Bezirksregierung Köln gemäß § 8 Tier schutzgesetz genehmigt.

Ergebnisse

LPS reduziert bei allen Stimulationsfrequenzen signifikant die Sarkomer verkürzung der isolierten Kardiomyozyten im Vergleich zu nicht mit LPS stimulierten Kardiomyozyten. Die Zugabe des synthetischen LPS-Analogons E5564 inhibiert signifikant die Wirkung von LPS bei allen Stimulationsfrequenzen (Abb. 1, ANOVA, MW ± SEM, p ≤ 0.05).

Interpretation

In dem hier vorgestellten Modell inhibiert das synthetische LPS-Analogon E5564 an isolierten Kardiomyozyten die Wirkung von LPS.

Literatur

1. Baumgarten G, Grohe C, Hoeft A, Knuefermann P. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 2004; 39: 197-203.
2. 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: 1617-1624.
3. 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.

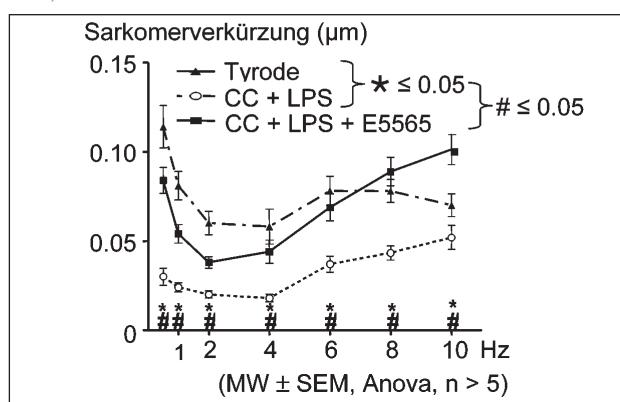


Abb. 1

Einfluss des Transkriptionsfaktors Hypoxia-Inducible-Factor-1 (HIF-1) auf bakterielle Translokation

J. Karhausen^{1,2}, G. Canny², I. Vollmer¹ und H.K. Eltzschig¹

¹ Abteilung für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

² Center for Experimental Therapeutics and Reperfusion Injury, Brigham and Women's Hospital, Boston, U.S.A.

Einleitung

Der Gastrointestinaltrakt wird durch ein komplexes Gefäßsystem versorgt und ist in seiner Integrität bei Perfusionsstörungen in besonderem Maße gefährdet. Obwohl eine hierbei auftretende Gewebhypoxie nachhaltige Störungen der intestinalen Schrankenfunktion bewirkt, existieren auch kompensatorische Mechanismen, die die Kontrolle über den Flux von schädlichen, luminalen Xenobiotika in gewissen Grenzen aufrechterhalten. Wir konnten in Vorarbeiten zeigen, dass Hypoxie-induzierte Expression von barrierefrelevanten Genen (wie z.B. der 5'-Ektonukleotidase CD73), wesentlich zur Aufrechterhaltung der Barrierefunktion beiträgt [1]. Essentieller Bestandteil dieses adaptiven Schutzprozesses ist die regulative Wirkung des Transkriptionsfaktors *hypoxia inducible factor-1* (HIF-1) [2]. Die Bedeutung Hypoxie-regulierter Prozesse für Erkrankungen, bei denen eine intestinale Schrankenstörung wesentlicher Bestandteil der Pathogenese darstellt, ist derzeit weitgehend unerforscht.

Materialien und Ergebnisse

Da epitheliale Hypoxie zu nachhaltigen Störungen der Barrierefunktion führt, analysierten wir die Auswirkungen auf die Translokation von Bakterien als pathophysiologisch relevanter luminaler Bestandteil. *In vitro* zeigte sich dabei eine Zunahme der Translokation lebender Bakterien (*E. faecalis* 7.3 ± 1.1 fach, *S. typhimurium* 8.4 ± 0.9 fach, $p<0.05$) auf posthypoxischen Epithelzelllinien intestinalen Ursprungs (T84, CaCo2, 48h bei pO_2 20 torr). Diese Daten wurden durch *in vivo* Untersuchungen bestätigt, bei denen sich nach gastraler Gabe von Fluoreszenz-markierter *E. coli*, eine relevante Erhöhung der Translokation in Leber und Lunge nach Hypoxieexposition (4h, 8% O₂) nachweisen ließ (Kolon: 2.8 ± 0.9 fach, Leber: 2.1 ± 0.6 fach, Lunge: 1.8 ± 0.5 fach, $p<0.05$). Als Hinweis der Translokation endogener bakterieller Bestandteile beobachteten wir zusätzlich eine Erhöhung der Lipopolysaccharid (LPS)-Konzentration im Serum (Normoxie: 0.07 ± 0.05 EU/ml Serum vs. Hypoxie 2.17 ± 0.7 EU/ml, $p<0.05$). Als nächsten Schritt untersuchten wir die Bedeutung von Kompensationsmechanismen intestinaler Barrierefunktion. Für *in vitro* Untersuchungen entwickelten wir ein Lentivirussystem, welches die stabile, konstitutive Überexprimerung von HIF-1 unter normoxischen Bedingungen gestattet (Abb. 1). Die Barrierefunktion dieser Zelllinien war signifikant verbessert einhergehend mit einer deutlichen Verminderung der bakteriellen Translokation (WT: 491 ± 31 CFU/ml vs. 260 ± 23 CFU/ml, $p<0.05$, 180min. Inkubation). Zusätzlich führten wir *in vivo* Untersuchungen bei Mäusen durch, bei denen ein HIF-abhängiger Kompensationsmechanismus spezifisch blockiert wurde. Hier fand sich nach Gabe des CD73-Inhibitors APCP eine dramatische Erhöhung der bakteriellen Translokation von Fluores-

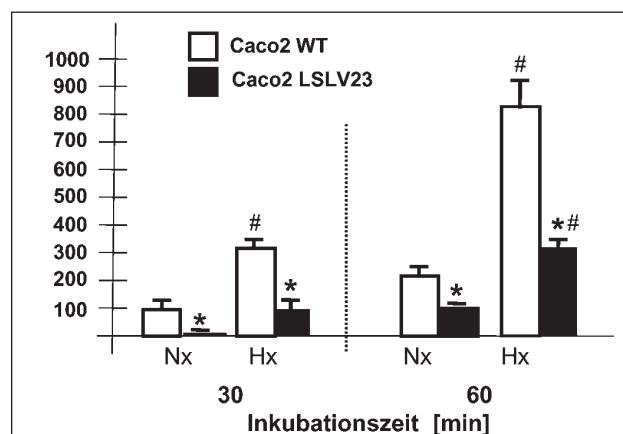


Abb. 1: Translokation von *E. faecalis* durch normoxische (Nx) und posthypoxische (Hx) Epithelzell-barrieren *in vitro*. Hierbei zeigt sich für Wildtypzellen (weiße Balken) eine signifikante Zunahme der Translokation von *E. faecalis* durch posthypoxische Zelllayer. Forcierte Überexpression von HIF-1 (Caco2 LSLV23, schwarze Balken) bewirkt eine deutliche Reduktion dieser Translokation unter normoxischen wie posthypoxischen Bedingungen (*: $p\leq 0.05$ vs. Nx; #: $p\leq 0.05$ vs. WT).

zenz-markierter *E. coli* (Kolon: 43.6 ± 3.9 fach, Leber: 4.6 ± 0.7 fach, Lunge:

1.5 ± 0.9 fach) und eine 5.9 ± 0.2 fache Erhöhung des Serum-LPS Spiegels ($p<0.05$).

Zusammenfassung

Die vorgestellten Untersuchungen weisen auf einen pathogenetischen Zusammenhang zwischen epithelialer Hypoxie und erhöhter bakterieller Translokation hin und hat damit wichtige Implikationen für Krankheitsbilder, welche durch intestinalen Perfusions- und Barrierestörungen gekennzeichnet werden. Ähnlich wie bereits für entzündliche Darmerkrankungen gezeigt [3], wurde durch die Versuche die Relevanz der epithelialen Expression von HIF und daran gekoppelter Regulation von Barriere-protektiven Genen (z. B. CD73) als wichtigen Schutzmechanismus aufgezeigt. Obwohl derzeitig noch weitere Studien notwendig sind, um Details zu untersuchen, könnte dieser Mechanismus bei bestimmten Erkrankungsbildern dazu beitragen, eine unkontrollierte Aktivierung des systemischen wie intestinal assoziierten Immunsystems durch vermehrte bakterielle Translokation zu verhindern.

Literatur

1. Synnestvedt, K., G.T. Furuta, K.M. Comerford, N. Louis, J. Karhausen, H.K. Eltzschig, K.R. Hansen, L.F. Thompson, and S.P. Colgan, Ecto-5'-nucleotidase (CD73) regulation by hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) mediated permeability changes in intestinal epithelia. *J. Clin. Invest.*, 2002. 110(7): p. 993-1002.
2. Karhausen, J., J.C. Ibla, and S.P. Colgan, Implications of hypoxia on mucosal barrier function. *Cell Mol Biol* (Noisy-le-grand), 2003. 49(1): p. 77-87.
3. Karhausen, J., G.T. Furuta, J.E. Tomaszewski, R.S. Johnson, S.P. Colgan, and V.H. Haase, Epithelial hypoxia-inducible factor-1 is protective in murine experimental colitis. *J. Clin. Invest.*, 2004. 114(8): p. 1098-1106.

Bakterielle DNA (CpG-DNA) induziert eine Toll-Like Rezeptor 9-abhängige Entzündungsreaktion im Herzen und vermindert die kardiomyozytäre Kontraktilität

P. Knuefermann^{1*}, M. Schwederski¹, U. Dreiner², R. Meyer², C. Grohé³, A. Hoeft¹ und G. Baumgarten¹

¹ Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin

² Institut für Physiologie II

³ Medizinische Universitätspoliklinik

Universitätsklinik Bonn

Fragestellung

Negativ inotrop wirksame Mediatoren (TNF, IL-1 β) spielen eine wichtige Rolle für die Pathogenese der septischen Kardiomyopathie. Gram-positive Bakterien (*S. aureus*) und Lipopolysaccharide als Zellwandbestandteile von gram-negativen Erregern können über Aktivierung des Toll/IL-1-Signaltransduktionsweges eine kardiale Inflammation mit nachfolgender Myokarddepression hervorrufen [1, 2]. Bisher war jedoch nicht bekannt, ob auch andere Toll-Like Rezeptor-Liganden eine inflammatorische Reaktion im Herzen induzieren. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass bakterielle DNA (CpG-DNA) eine Entzündungsreaktion bis hin zur Sepsis induziert und dass der Toll-Like Rezeptor 9 (TLR9) als primärer Rezeptor für die Erkennung von bakterieller DNA fungiert [3]. Inzwischen wurde TLR9 auch im Herzen nachgewiesen. Ziel dieser Studie war es, die Bedeutung von TLR9 für eine inflammatorische Antwort im Herzen durch bakterielle DNA zu untersuchen.

Methodik

Zur Simulation einer Sepsis wurden Wildtyp (WT)-Mäuse und Toll-Like Rezeptor 9-defiziente (TLR9-D)-Mäuse mit bakterieller DNA bzw. mit synthetischen CpG-Oligonukleotiden (20nmol) intraperitoneal stimuliert (Tierversuchspraktikum genehmigt durch Bezirksregierung Köln). Mittels RT-PCR wurde die RNA-Expression von TLR9 im Herzen untersucht. Nach den entsprechenden Stimulationsintervallen mit CpG-DNA wurde die myokardiale mRNA-Expression für TNF und IL-1 β mittels RNase Protection Assay, die dazugehörigen Proteinspiegel mittels ELISA und die NF κ B-Aktivierung mit einem Bandenshift-Assay untersucht. Die mRNA-Expression der induzierbaren NO-Synthetase (iNOS) im Herzen wurde mittels RT-PCR bestimmt. Die Aufnahme von fluoreszenzmarkierter CpG-DNA (CpG-ODN 1668 Cy5) in das Herz wurde mittels Durchflusszytometrie (FACS) analysiert. Zu diesem Zweck wurden spezifische Antikörper gegen Makrophagen (CD11b), dendritische Zellen (CD11c) und Endothelzellen (ME9F1) verwendet. Zur Evaluierung der funktionellen Bedeutung von TLR9 wurden Kardiomyozyten von WT- und TLR9-defizienten Mäusen mittels

Langendorff-Perfusion isoliert. Nach 5-stündiger Stimulation mit CpG-DNA (1 μ g/ml) wurde die Sarkomerlängenkurzung unter externer Stimulation (0,5 bis 10 Hz) mit einer Spezialkamera (IonOptix) aufgezeichnet.

Ergebnisse

Mittels RT-PCR konnte gezeigt werden, dass Toll-Like Rezeptor 9 im Herzgewebe von WT-Mäusen exprimiert wird. Die Gabe von CpG-DNA führte zu einer raschen Aktivierung des TLR9-Signaltransduktionsweges. Innerhalb von 1h kam es zu einem deutlichen Anstieg der kardialen NF κ B-Aktivität, die bis zum Zeitpunkt 6h anhielt. Diese Aktivitätszunahme wurde nicht in den TLR9-D-Mäusen beobachtet. Die myokardiale TNF- und IL-1 β -mRNA-Expression war in den WT-Mäusen 1h und 2h nach CpG-Verabreichung signifikant größer als in den TLR9-D-Mäusen (n=5; p<0,05; 2-Weg-ANOVA). Die Zytokin-Proteinspiegel waren ebenfalls signifikant größer in den WT-Mäusen (TNF 1h: 4,41 vs. 0,99 pg/mg; TNF 2h: 3,2 vs. 1,0 pg/mg; IL-1 β 1h: 21,06 vs. 3,1 pg/mg; IL-1 β 2h: 26,45 vs. 5,71 pg/mg) im Vergleich zu den TLR9-D-Mäusen (n=5; p<0,05; 2-Weg-ANOVA). Die Gabe von CpG-DNA führte nach 4h zu einer vermehrten iNOS-mRNA-Expression (n=4). Bei TLR9-D-Mäusen war eine iNOS-mRNA-Produktion nicht detektierbar. Weiterhin konnte mittels FACS-Analyse nachgewiesen werden, dass CpG-DNA im Herzen aufgenommen wurde. Die Aufnahme von CpG-DNA wurde in Endothelzellen, Makrophagen und dendritischen Zellen detektiert.

Die Stimulation mit CpG-DNA führte zu einer signifikanten Reduktion der Sarkomerlängenkurzung von WT-Herzmuskelzellen in allen Frequenzbereichen (p<0,05; 2-Weg-ANOVA). Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den isolierten Kardiomyozyten von TLR9-D-Tieren keine Veränderung der Sarkomerlängenkurzung.

Interpretation

Der Nachweis einer Beteiligung von TLR9 an der Initierung der kardialen Entzündungsantwort und der damit verbundenen Einschränkung der kardiomyozytären Kontraktilität unter den experimentellen Bedingungen einer Sepsis eröffnet neue Perspektiven für die experimentelle und klinische Forschung auf dem Gebiet der septischen Kardiomyopathie.

Literatur

1. Knuefermann P, Nemoto S, Misra A, Nozaki N, Defreitas G, Goyert SM, Caraballo BA, Mann DL, Vallejo JG. CD14-deficient mice are protected against lipopolysaccharide-induced cardiac inflammation and left ventricular dysfunction. Circulation 2002; 106:2608-2615
2. Knuefermann P, Sakata Y, Baker JS, Huang CH, Sekiguchi K, Hardarson HS, Takeuchi O, Akira S, Vallejo JG. Toll-like receptor 2 mediates *Staphylococcus aureus*-induced myocardial dysfunction and cytokine production in the heart. Circulation 2004; 110:3693-3698
3. Bauer S, Kirschning CJ, Hacker H, Redeker V, Hausmann S, Akira S, Wagner H, Lipford GB. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98:9237-9242.

* Der Erstautor ist Preisträger des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung 2005.

CXCR2 auf radioresistenten Zellen ist entscheidend für die LPS-induzierte endotheliale und epitheliale Migration von neutrophilen Granulozyten in die Lunge

J. Reutershan^{1,3}, M. Allison Morris¹, K. Unertl³ und K. Ley^{1,2}

¹ Cardiovascular Research Center

² Biomedical Engineering, University of Virginia, Charlottesville, USA

³ Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

Fragestellung

Im Rahmen der akuten respiratorischen Insuffizienz (ALI/ARDS) kommt es zur Infiltration neutrophiler Granulozyten (polymorphe kernige Leukozyten, PMN) in die verschiedenen Kompartimente der Lunge. Der Chemokinrezeptor CXCR2 (Interleukin-8 Rezeptor Typ 2) spielt dabei eine entscheidende Rolle bei der Regulation der PMN-Migration in verschiedenen ALI/ARDS-Modellen [1, 2]. Bislang unbekannt ist jedoch, welcher Migrationsschritt (Sequestrierung – Transendotheliale Migration – Transepitheliale Migration) CXCR2-abhängig ist und ob CXCR2 auf PMNs selbst oder auf anderen, nicht-hämatopoetischen Zellen für diesen Effekt ver-

►antwortlich ist. Ziel dieser Studie war es deshalb, die Bedeutung von PMN-CXCR2 für die verschiedenen Schritte der LPS-induzierte Migration in die Lunge zu untersuchen.

Methodik

Nach Genehmigung durch die örtliche Tierschutzkommission wurde Knochenmark von CXCR2 gendefizienten Mäusen (CXCR2 -/-) in Wildtyp (CXCR2 +/+) übertragen. PMNs dieser Mäuse besitzen kein CXCR2, während die CXCR2-Expression auf radioresistenten Zellen der von Wildtypmäusen entspricht. In CXCR2 +/+, CXCR2 -/- sowie in den Chimärmäusen wurde eine pulmonale Inflammation mittels Inhalation von LPS (*S. enteritidis*) induziert. Nach 24 Stunden wurde die Konzentration von PMNs in der Bronchiallavage (BAL) sowie im Lungengewebe bestimmt. Mit Hilfe eines durchflusszytometrischen Verfahrens wurde zwischen intravaskulären und interstitiellen PMNs im Lungenhomogenat und somit zwischen den verschiedenen Migrationsschritten differenziert. Die Migrationsaktivität von PMNs von CXCR2 -/- Mäusen gegen BAL von LPS-exponierten Tieren wurde außerdem in einem in-vitro Migrationsassay untersucht.

Ergebnisse

Sechs Wochen nach der Knochenmarktransplantation zeigte sich eine vollständige Rekonstitution (>99%) des Blutes mit PMNs von CXCR2 -/- Mäusen. Die Inhalation von LPS führte in CXCR2 +/+ Mäusen zu einer Migration von PMN in alle Lungenkompartimente. In CXCR2 -/- Mäusen zeigte sich eine PMN-Sequestrierung in der Lungenstrombahn, jedoch waren sowohl die transendotheliale als auch die transepitheliale Migration nahezu vollständig aufgehoben. In den Chimärmäusen zeigte sich eine reduzierte (um ca. 60%), aber signifikante PMN-Migration in alle drei Lungenkompartimente. Im invitro Assay zeigte sich, dass PMNs von CXCR2 -/- Mäusen in der Lage sind, gegen BAL von LPS-exponierten Tieren zu migrieren.

Der Duffy-Antigen-Rezeptor für Chemokine als ein Schlüsselmodulator des akuten postischämischen Nierenversagens

K. Singbartl, A. Zarbock, M. Schmolke und H. Van Aken

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Münster

Fragestellung

Trotz aller Fortschritte im Bereich der Intensivmedizin und der Nierenersatzverfahren stellt das akute Nierenversagen (ANV) nach wie vor eine große medizinische Herausforderung dar [1]. Die akute tubuläre Nekrose i. R. ischämischer und/oder toxischer Ereignisse ist die häufigste Ursache für ein ANV [1]. Unterstützt durch klinische Beobachtungen konnte anhand experimenteller Untersuchungen die postischämische Rekrutierung neutrophiler Granulozyten (PMN) als ein wesentlicher Schlüsselfaktor in der Pathogenese des akuten postischämischen Nierenversagens (APNV) herausgearbeitet werden [1]. Neben verschiedenen Adhäsionsmolekülen spielen insbesondere auch neutrophilen-spezifische Chemokine (hier: MIP-2) eine grundlegende Rolle bei der Rekrutierung neutrophiler Granulozyten im APNV [1]. Im Vergleich zu den sog. klassischen Chemokinrezeptoren nimmt der Duffy Antigen-Rezeptor für Chemokine (DARC) eine Sonderstellung ein, da er nicht auf Leukozyten, sondern auf Endothelzellen sowie u. U. auf Erythrozyten exprimiert wird. Auch wenn für DARC eine transzelluläre Chemokin-Transporterfunktion nachgewiesen werden konnte [2], so ist die In-vivo-Bedeutung von DARC unter pathologischen Bedingungen noch weitestgehend unge-

Interpretation

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass die Expression von CXCR2 auf radioresistenten Zellen entscheidend für die LPS-induzierte Migration von PMN in der Lunge ist. Hingegen beeinträchtigt das Fehlen von CXCR2 auf PMNs deren Migrationsfähigkeit nur teilweise. Darüber hinaus konnte erstmals gezeigt werden, dass CXCR2 an der Regulation der transendothelialen und transepithelialen Migration beteiligt ist, während die Sequestrierung von PMNs in der Lungenstrombahn CXCR2-unabhängig zu sein scheint. Sowohl pulmonales Endothel, Typ II-Epithelzellen als auch Alveolarmakrophagen sind in der Lage, CXCR2 zu exprimieren. In pulmonalen Endothelzellen führt die Bindung von spezifischen CXCR2-Liganden zur Aktinpolymerisation und Zellretraktion in-vitro [3]. Endotheliales CXCR2 ist damit ein wahrscheinlicher Kandidat für die Vermittlung der LPS-induzierten PMN-Migration. Die Bedeutung von CXCR2 auf Epithelzellen und Alveolarmakrophagen ist bislang unklar und könnte ebenfalls eine Rolle in unserem Modell spielen. Die Ergebnisse unserer in-vitro Untersuchung zeigen darüber hinaus, dass CXCR2 nicht für die Ausbildung eines chemotaktischen Gradienten erforderlich ist.

Literatur

1. Belperio JA, Keane MP, Burdick MD, Londhe V, Xue YY, Li K, Phillips RJ, Strieter RM: Critical role for CXCR2 and CXCR2 ligands during the pathogenesis of ventilator-induced lung injury. *J.Clin.Invest* 2002; 110: 1703-16
2. Sue RD, Belperio JA, Burdick MD, Murray LA, Xue YY, Dy MC, Kwon JJ, Keane MP, Strieter RM: CXCR2 is critical to hyperoxia-induced lung injury. *J.Immunol.* 2004; 172: 3860-8
3. Schraufstatter IU, Chung J, Burger M: IL-8 activates endothelial cell CXCR1 and CXCR2 through Rho and Rac signaling pathways. *AJP - Lung Cellular and Molecular Physiology* 2001; 280: L1094-L1103. ■

klärt. Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, die Relevanz von DARC i. R. eines APNV zu klären.

Methodik

Nach Genehmigung durch die zuständige Regierungsbehörde unterzogen wir anästhesierte (Ketamin, Xylazin und Atropin i.p.), DARC-gen-defizierte Mäuse (DARC-/-) und entsprechende Wild-Typ-Mäuse (WT) für 32 min. einer renalen Ischämie mit anschließender Reperfusion (RIR); "sham-operierte" Mäuse (Sham) dienten als Kontrolle. In früheren Untersuchungen haben wir zeigen können, dass dieses Modell zu einem ausgeprägtem APNV führt, dessen Schweregrad entscheidend von der Anzahl zirkulierender PMN bestimmt wird [3]. Zu vorher fest gelegten Zeitpunkten (24 oder 48h nach RIR/Sham) wurden die Tiere erneut anästhesiert und Blutproben (Exsanguination durch kardiale Punktions) sowie beide Nieren für weitere Untersuchungen entnommen. Die Bestimmung von Plasma-Kreatinin-Konzentrationen mittels eines enzymatischen Tests diente zur Abschätzung der renalen (Dys-)Funktion. Zur Quantifizierung der renalen PMN-Rekrutierung wurde die Myeloperoxidaseaktivität (MPO) der Nieren bestimmt. Renale MIP-2-Konzentrationen wurden anhand eines ELISA gemessen. Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA und anschließendem Scheffé-Test oder mittels zweiseitigem Fischer's-exact-Test ($p < 0,05$). Alle Daten sind als MW ± SEM angegeben.

Ergebnisse

Während WT nach RIR eine 48h-Überlebensrate von nur 60,4% aufwiesen (Sham 100%), überlebten alle DARC-/- nach ►

► RIR ($p < 0.05$). Im Vergleich zur Sham-Gruppe wiesen WT 48h nach RIR ferner erheblich höhere Plasma-Kreatininkonzentrationen auf ($p < 0.05$); DARC^{-/-} hingegen zeigten auch 48h nach RIR im Vergleich zu entsprechenden Sham-Tieren keine signifikant veränderten Plasma-Kreatininkonzentrationen (Abb. 1a). 24h nach RIR, dem Zeitpunkt der maximalen PMN-Rekrutierung in unserem Modell [3], besaßen DARC^{-/-} deutlich geringere renale MPO-Aktivitäten als WT (Abb. 1b). Zu diesem Zeitpunkt zeigten nur WT aber nicht DARC^{-/-} eine signifikante Erhöhung des renalen MIP-2-Gehaltes (Abb. 1c).

Interpretation

In unserem PMN-abhängigem Modell des schweren APNV zeigen DARC^{-/-} eine vitale, komplett Protektion, die wahrscheinlich durch eine reduzierte post-ischämische Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten bedingt ist. Eine Ursache für diese verminderte Infiltration kann in der unterschiedlichen "renalen MIP-2-Antwort" zwischen WT und DARC^{-/-} gesehen werden.

Literatur

1. Singbartl, K., Ley, K. Leukocyte recruitment and acute renal failure. J Mol Med 2004;82:91-101.
2. Middleton, J., Patterson, A. M., Gardner et al.: Leukocyte extravasation: chemokine transport and presentation by the endothelium. Blood 100: 2002;100:3853-3860.
3. Singbartl, K., Ley, K.: Protection from ischemia-reperfusion induced severe acute renal failure by blocking E-selectin. Crit Care Med 2000;28:2507-14.

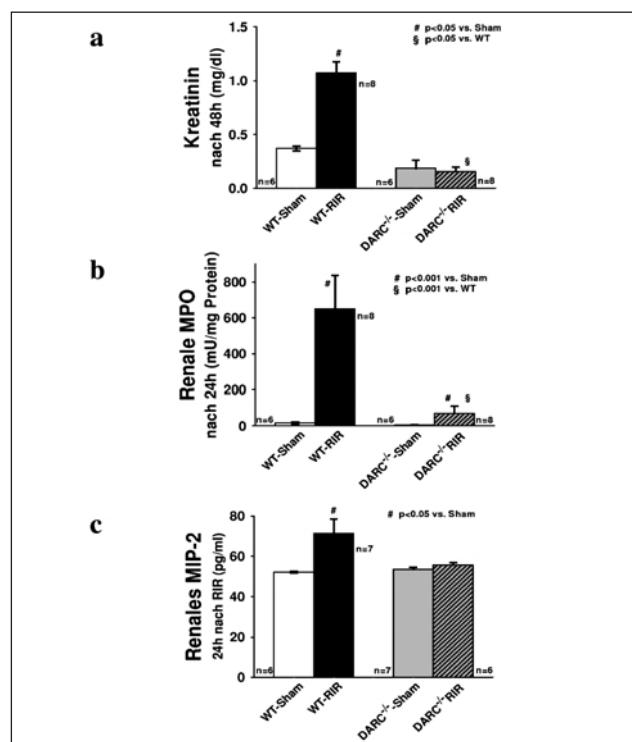


Abb. 1: a. Kreatinin als Indikator der renalen Funktion.
b. Renale MPO als Indikator der PMN-Rekrutierung.
c. Renaler Gehalt an MIP-2, einem PMN-spezifischen Chemokin.

Strukturelle Voraussetzungen für die Aktivierung von $\alpha 1\beta$ -Glycin-Rezeptoren durch Phenol-derivate

J. Ahrens¹, J. Bufler², M. Leuwer³ und G. Haeseler¹

- Zentrum Anästhesiologie, Medizinische Hochschule Hannover
- Abteilung für Neurologie und Klinische Neurophysiologie, Medizinische Hochschule Hannover
- Department of Anaesthesia, University of Liverpool, Großbritannien

Fragestellung

Aktivierte Glycin-Rezeptoren senken die neuronale Erregbarkeit auf Hirnstamm- und Rückenmarksebene durch Öffnung von Chlorid-Kanälen. Ihre wichtige Rolle bei der Koordination spinaler Reflexantworten und der Verarbeitung von Schmerzreizen [1] macht Glycin-Rezeptoren zu interessanten Zielstrukturen für potenziell analgetisch und spasmolytisch wirksame Substanzen. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob die Aktivierung des Glycin-Rezeptors auf bestimmte strukturelle Eigenschaften eines Phenol-Derivates zurückgeführt werden kann.

Methodik

Die Beeinflussung von Chlorid-Strömen durch vier methylierte und zwei halogenierte Phenolderivate wurde an $\alpha 1\beta$ -Glycin-Rezeptoren mit Hilfe von Whole-cell-Experimenten [2] untersucht. Die Rezeptoren wurden heterolog in menschlichen embryonalen Nierenzellen (HEK 293) exprimiert. Glycin bzw. die jeweilige Testlösung wurde in Pulsen von 2 s appliziert. Rezeptor-Co-

aktivierung (I-I0) wurde ausgedrückt als % Potenzierung der durch eine 10 μ M Glycin-Lösung induzierten Stromantwort (I0) nach der Formel $E (\%) = 100 [(I-I0)/I0]$. Anpassung einer Hill-Funktion an die gegen die applizierte Konzentration aufgetragenen Daten ergab die EC50 sowie den Steigungsfaktor n.

Ergebnisse

Alle methylierten Phenolderivate potenzierten den Effekt einer submaximalen Glycin-Konzentration (10 μ M) in vergleichbarem Ausmaß (Abb. 1). Bei den halogenierten Verbindungen 3-Methyl-4-Chlorophenol und 3,5-Dimethyl-4-Chlorophenol zeigten sich halbmaximal potenzierende Effekte bereits bei Konzentrationen von $4 \pm 1 \mu$ M bzw. $11 \pm 2 \mu$ M, wobei für ihre nicht-halogenierten Strukturanaloga 3-Methylphenol und 3,5-Dimethylphenol 30- bis 50-fach höhere Konzentrationen erforderlich waren ($222 \pm 45 \mu$ M bzw. $380 \pm 46 \mu$ M, s. Abb. 1). Der potenzierende Effekt der halogenierten Substanzen wurde bei Konzentrationen über 300 μ M von einem Offen-Kanal-Block überlagert. Nur sehr hohe Konzentrationen ($> 1000 \mu$ M) der zweifach methylierten Substanzen konnten den Rezeptor ohne Anwesenheit des natürlichen Agonisten direkt aktivieren.

Interpretation

Diese Ergebnisse zeigen, dass Effekte des Anästhetikums Propofol an Glycin-Rezeptoren wie Coaktivierung, Direktaktivierung und Offen-Kanal-Block in höheren Konzentrationsbereichen [2] qualitativ auch für andere Phenolderivate nachweisbar sind. Insbesondere in der para-Position halogenierte Phenolderivate weisen *in vitro* eine hohe Potenz zur Coaktivierung heterolog exprimierter Glycin-Rezeptoren auf. Weitergehende ►

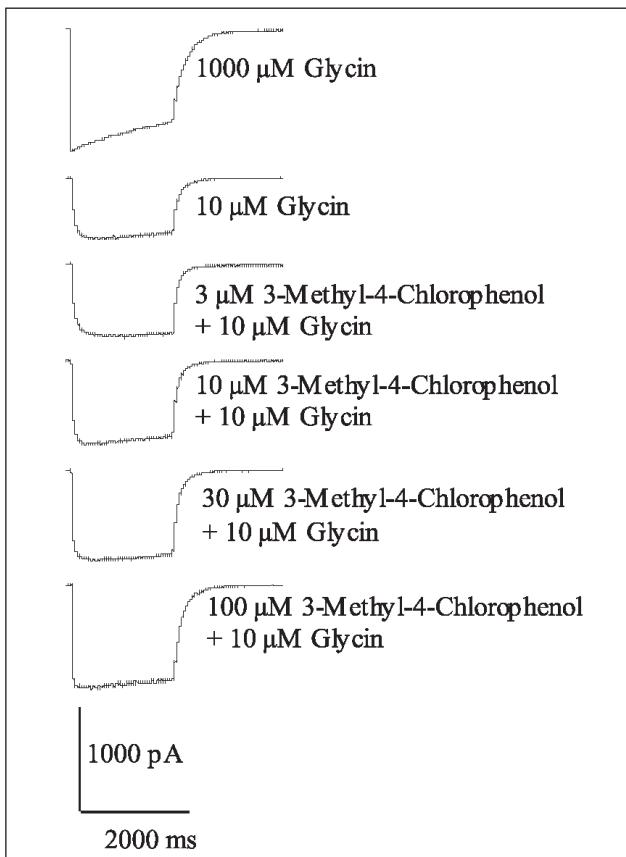


Abb. 1a: Repräsentative Stromspuren für die Coaktivierung des Effektes einer 10 μM Glycin-Lösung durch 3-Methyl-4-Chlorophenol.

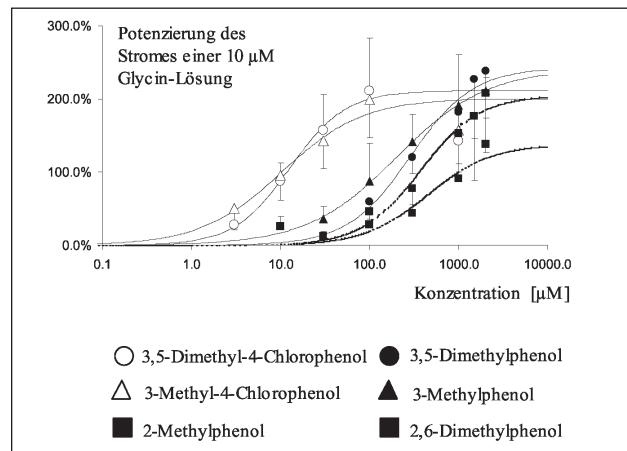


Abb. 1b: Konzentrationsabhängigkeit der Potenzierung des Effektes einer 10 μM Glycin-Lösung durch die untersuchten Phenolderivate (MW \pm SD aus 5-6 Experimenten, durchgezogene Linien sind angepasste Hill-Funktionen).

► *in vivo* Studien könnten zeigen, ob dieser *in vitro* Effekt tatsächlich mit einem überlegenen antinozizeptiv-spasmolytischen Wirkprofil halogenierter Phenolderivate einhergeht.

Literatur

1. Laube B, Maksay G, Schemm R, Betz H. Modulation of glycine receptor function: a novel approach for therapeutic intervention at inhibitory synapses? Trends Pharmacol Sci 2002;23:519-527.
2. Ahrens J, Haeseler G, Leuwer M, Mohammadi B, Krampf K, Dengler R, et al. 2,6-di-tert-butylphenol, a non-anesthetic propofol analogue, modulates a1b glycine receptor function in a manner distinct from propofol. Anesth Analg 2004;99:91-96.

Die Wirkung von Lidocain und Amitriptylin auf Na^+ -Ströme in Spinalganglionzellen verletzter und unverletzter peripherer Nerven

A. Leffler¹, A. Reiprich¹, C. Ehnert², G. Geisslinger² und C. Nau¹

¹ Klinik für Anästhesiologie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

² Pharmazentrum Frankfurt, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt

Fragestellung

Die Umverteilung Tetrodotoxin-sensitiver (TTXs) und TTX-resistenter (TTXr) Na^+ Kanäle in sensorischen Neuronen nach Nervenverletzungen führt zu erhöhter Erregbarkeit sensorischer Neurone und trägt zur Entstehung neuropathischer Schmerzen bei. Es ist unklar, ob dabei die *Upregulation* TTXs Nav1.3 Kanäle in Spinalganglionzellen (DRGs) und im Hinterhorn, die *Downregulation* TTXr Na_v1.8 und Na_v1.9 Kanäle in DRGs oder deren *Upregulation* in afferenten Fasern verletzter Nerven eine prominente Rolle spielen [1]. Knock-down der TTXr Na_v1.8 Kanäle kann neuropathische Schmerzen in einem Nervenläsionsmodell bei Ratten aufheben [2]. Daher ist das Interesse an der Entwicklung selektiver Blocker von Na_v1.8 zur Behandlung neuropathischer Schmerzen groß [3]. Klinisch werden derzeit zur Behandlung neuropathischer Schmerzen u.a. Substanzen wie Amitriptylin

und Lidocain eingesetzt, die spannungsabhängige Na^+ Kanäle frequenzabhängig blockieren. Ziel dieser Studie war zu untersuchen, welche Wirkungen Amitriptylin und Lidocain auf Na^+ Ströme in Spinalganglionzellen verletzter und unverletzter Neurone haben.

Methodik

Die Tierversuche an adulten, männlichen C57/BL6 Mäusen wurden behördlich genehmigt und entsprechend den Vorschriften des Tierschutzgesetzes und den ethischen Richtlinien der IASP durchgeführt. In Isofluran-Narkose wurde der peroneale und tibiale Anteil des rechten *N. ischiadicus* operativ durchtrennt (*spared nerve injury, SNI*). Zur retrograden Markierung der durchtrennten Neurone wurde am proximalen Nervenstumpf eine mit fluoreszierendem Marker (Aminostilbamidin) gefüllte Manschette angelegt. Bei den Tieren wurde 2-mal präoperativ und am 3., 5., 8., 12. und 14. postoperativen Tag (POT) zum Nachweis von Allodynie bzw. mechanischer Hyperalgesie die Schwelle für das Zurückziehen der rechten Pfote nach mechanischer Stimulation der lateralen plantaren Oberfläche der Pfote durch von Frey Filamente zunehmender Stärke bestimmt. Am 14. POT wurden die SNI- ($n = 13$) und Kontrolltiere ($n = 15$) mit CO₂ getötet und Kurzzeitkulturen angelegt von DRGs der rechten lumbalen Segmente (L3 - L5) zur Analyse der Na^+ Ströme in verletzten, fluoreszierenden SNI-DRGs bzw. intakten Kontroll-DRGs < 35 μm . Für Konzentrations-Wirkungs-Experimente wurde Na_v1.8 cDNA heterolog in ND7/23-Zellen exprimiert. DRG- und ND7/23-Zellen wurden mit der Whole-

► Cell Konfiguration der Patch-Clamp Methode untersucht. TTXr Na⁺ Ströme wurden gemessen in Anwesenheit von 200 nM TTX extrazellulär.

Ergebnisse

Die Schwelle für das Zurückziehen der Pfote (präop. $0,49 \pm 0,04$ g) sank am 3. POT signifikant auf $0,02 \pm 0,01$ g ($p < 0,001$, gep. t-Test) und blieb dann unverändert bis zum 14. POT. Die mittleren Na⁺ Strom-Amplituden und Stromdichten unterschieden sich nicht signifikant zwischen SNI- und Kontroll-DRGs (Abb. 1A). Die mittleren Amplituden zweier kinetisch unterschiedlicher TTXr Ströme ($I_{TTXr-slow} \approx I_{NaV1.8}$ bzw. $I_{TTXr-per} \approx I_{NaV1.9}$) in Kontroll-DRGs von $7,5 \pm 0,5$ nA ($n = 50$) bzw. $5,6 \pm 0,5$ nA ($n = 50$) reduzierten sich in SNI-DRGs signifikant auf $0,8 \pm 0,1$ nA ($n = 45$) bzw. $0,3 \pm 0,1$ nA ($n = 43$) (Abb. 1B). Lidocain führte in SNI-DRGs zu einem signifikant größeren tonischen Block (TB), Amitriptylin zu einem signifikant größeren TB und Gesamtblock (GB) im Vergleich zu Kontroll-DRGs (Abb. 1 C, D). Der frequenzabhängige Block (FB = GB - TB) war in Kontroll-DRGs signifikant größer und vergleichbar mit dem von $I_{TTXr-slow}$ ($NaV1.8$). Die IC₅₀-Werte von Lidocain und Amitriptylin bei einem Haltepotential von $V_h = -80$ mV waren ~5-fach bzw. ~8-fach niedriger für TTXs Na⁺ Kanäle als für NaV1.8 Kanäle, bei einem Haltepotential von $V_h = -140$ mV jedoch gleich groß (Abb. 1E, F).

Interpretation

Verletzte Neurone werden v.a. durch Amitriptylin präferentiell blockiert. Die Ursache hierfür ist nicht die frequenzabhängige Blockade spannungsabhängiger TTXr Na⁺ Kanäle wie NaV1.8, sondern die stärkere tonische Blockade TTXs Na⁺ Kanäle bei physiologischen Membranpotentialen. Sollten verletzte Neurone zum Entstehen neuropathischer Schmerzen beitragen, sind auch die hier upregulateden TTXs Na⁺ Kanäle interessante Targets zur Behandlung neuropathischer Schmerzen.

Literatur

1. Wood JN, Boorman JP, Okuse K, Baker MD. J Neurobiol 2004;61:55-71.
2. Lai J, Gold MS, Kim CS, Bian D, Ossipov MH, Hunter JC, Porreca F. Pain. 2002;95:143-52.
3. Rogawski MA, Löscher W. Nature Medicine 2004;10:685-692.

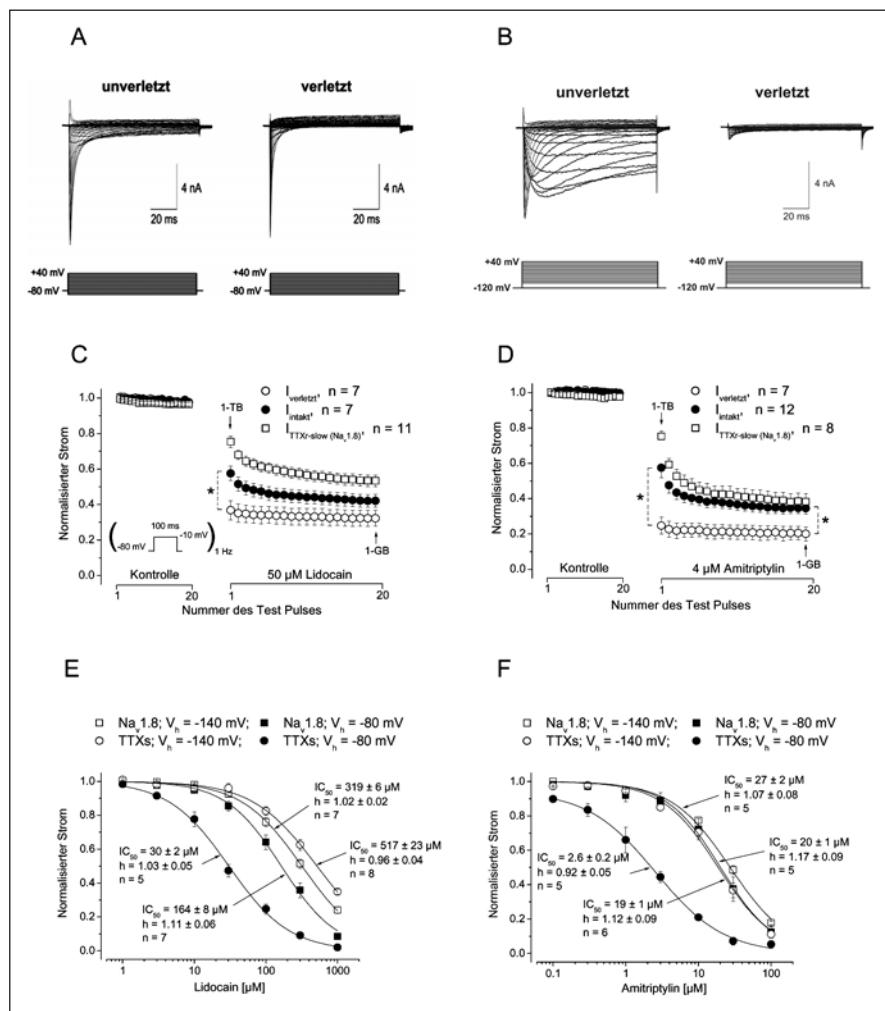


Abb. 1: Stromspuren von Na⁺ Strömen in unverletzten und verletzten DRGs (A, B).
(A) Zur Bestimmung der Stromamplituden wurden in Kontroll- (I_{intak}) und SNI-DRGs ($I_{verletz}$) Na⁺ Ströme aktiviert durch 100 ms lange Pulse in 10 mV-Schritte von -100 mV bis +40 mV von einem Haltepotential $V_h = -80$ mV.
(B) Stromamplituden von TTXr Na⁺ Strömen wurden mit 200 nM TTX in der extrazellulären Lösung gemessen. $I_{TTXr-slow}$ und $I_{TTXr-per}$ wurden aktiviert durch 100 ms lange Pulse in 10 mV-Schritte von -100 mV bis +40 mV von einem Haltepotential $V_h = -120$ mV. Tonischer, frequenz- und spannungsabhängiger Block TTXs und TTXr Na⁺ Kanäle.
(C, D) Zur Bestimmung des tonischen (TB) und frequenzabhängigen Blocks (FB=GB-TB) wurden Na⁺ Ströme aktiviert durch 100 ms-lange Pulse nach -10 mV von einem Haltepotential $V_h = -80$ mV mit einer Frequenz von 1 Hz. Nach Applikation von 50 μM Lidocain bzw. 4 μM Amitriptylin wurden die Stromamplituden des 1. (1-TB) und 20. Pulses (1-GB) gemessen und normalisiert gegenüber der Stromamplitude des 1. Pulses in Kontrolle. (*: $p < 0,05$, t-Test f. unverb. Stichproben).
(E, F) Zur Bestimmung des konzentrations- und spannungsabhängigen Blocks (b) von Nav1.8 und TTXs Kanälen in ND7/23 Zellen wurden die Stromamplituden, aktiviert durch einen 5 ms-langen Puls nach +50 mV von $V_h = -140$ mV bzw. -80 mV, bei Applikation verschiedener Konzentrationen (c) gemessen und normalisiert gegenüber der Amplitude des Stroms in Kontrolle. Die halbmaximal-blockierenden Konzentrationen (IC_{50} , MW \pm SEM) wurden durch nicht-lineare Kurvenanpassung der Gleichung $b(c) = ch/(IC_{50}^h + c^h)$ an die Datenpunkte errechnet (h: Hill Koeffizient).

Thiopental induziert eine Hitzeschockantwort und vermindert die Staurosporin-induzierte Caspase-3-Aktivität in humanen T-Lymphozyten in vitro

T. Loop, M. Roesslein, L. Muller, H.L. Pahl, K.K. Geiger und B.H.J. Pannen

Anaesthesiologische Universitätsklinik Freiburg

Fragestellung

Die Induktion einer Hitzeschockantwort (HSA), die durch die Aktivierung der DNA-Bindung des Hitzeschockfaktors (HSF)-1 und die Expression von Hitzeschockproteinen (HSP) charakterisiert ist, geht mit einer möglichen Zell- und Organprotektion einher. [1] Verschiedene Induktoren der HSA hemmen gleichzeitig den nukleären Transkriptionsfaktor kB (NF- κ B), einen zentralen Regulator von Entzündungsreaktionen. [2] Neben den hypnotischen Wirkungen werden für Barbiturate sowohl zytoprotektive als auch immunsuppressive Effekte beschrieben. Frühere eigene Untersuchungen konnten eine Hemmung der NF- κ B-Aktivierung durch Thiopental in humanen T-Lymphozyten zeigen. [3] Es war das Ziel dieser Untersuchung, die Frage zu beantworten, ob Thiopental in humanen T-Lymphozyten eine HSA induziert und eine Apoptose dieser Zellen als Ausdruck eines zytoprotektiven Effekts vermindern kann.

Methodik

Humane T-Lymphozyten wurden mit verschiedenen Konzentrationen von Thiopental bzw. diversen anderen intravenösen

Anästhetika (u.a. Midazolam und Propofol) in vitro inkubiert. Die DNA-Bindungsaktivität von HSF-1 wurde mittels „Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA)“ und die mRNA-Expression der hsp-27, -32, -70 und -90 mittels „Northern Blot“ analysiert. Der Einfluss von Thiopental (100 oder 400 μ g/ml) auf die Phosphorylierung von HSF-1, die Proteinexpression von HSP-70 und die Prozessierung der Caspase-3 wurde mittels „Western Blot“ untersucht. Die Apoptose wurde mit Staurosporin (S)(2 μ M, 4 h) induziert und die Messung der Caspase-3-Aktivität erfolgte mittels fluorogenem Assay (Ac-DEVD-AMC Substrat). Die Ergebnisse wurden statistisch mittels Varianzanalyse (ANOVA mit Student-Newman-Keuls-Post-Hoc-Test, Signifikanzniveau $p < 0.05$) verglichen.

Ergebniss

Thiopental (Abb. 1) und Thiamylal aktivierten dosisabhängig die DNA-Bindungsaktivität von HSF-1. Die anderen untersuchten Substanzen hatten keinen Einfluss auf die HSF-1-Aktivierung (Abb. 2; Midazolam und Propofol). Thiopental induzierte die Expression von hsp-27, -70 und -90, während keine hsp-32-Induktion nachweisbar war (Abb. 3). Thiopental induzierte dosis- und zeitabhängig die Phosphorylierung von HSF-1 und die Proteinexpression von HSP-70 (Abb. 4). Eine Vorinkubation der Zellen mit Thiopental vor Apoptoseinduktion mit S führte im Vergleich zur alleinigen Gabe von S zu einer verminderten Caspase-3-Aktivität (Abb. 5).

Interpretation

Thiobarbiturate induzieren spezifisch eine HSA in humanen T-Lymphozyten. Nach Vorbehandlung mit Thiopental kann eine ▶

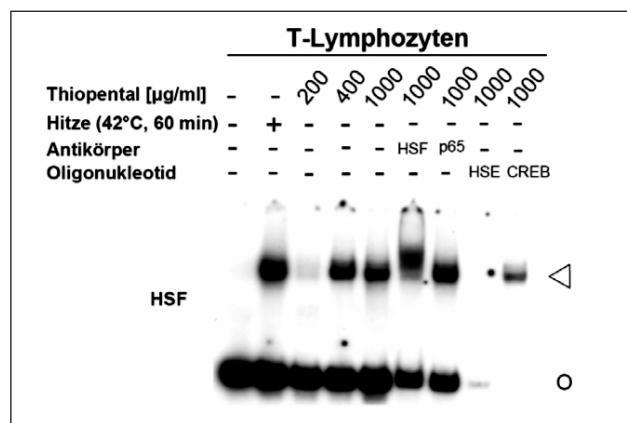


Abb. 1: EMSA (HSF-1).

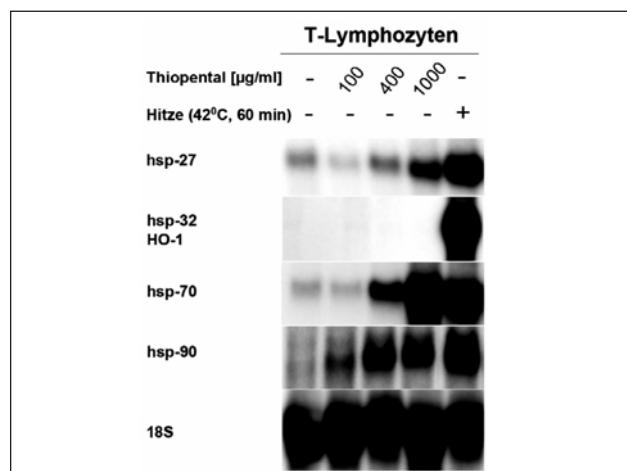


Abb. 3: Northern Blot (hsp).

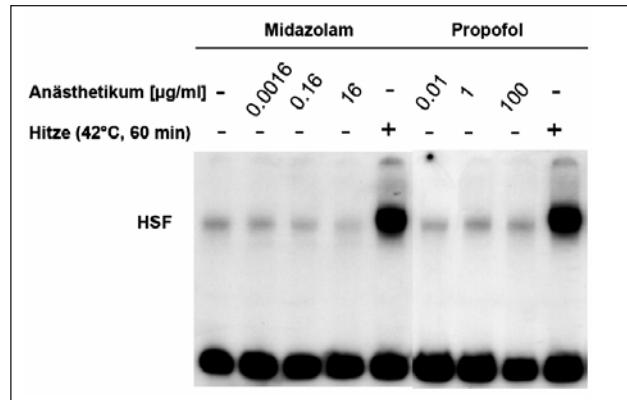


Abb. 2: EMSA (HSF-1).

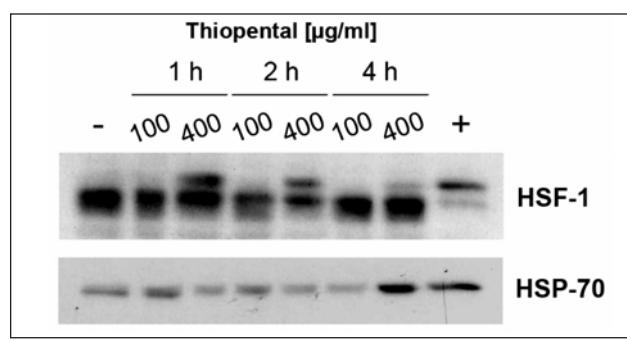


Abb. 4: Western Blot (HSF-1-Phosphorylierung + HSP-70-Proteinexpression).

► Apoptoseinduktion vermindert werden. Die Ergebnisse könnten auf einen neuen zytoprotektiven Wirkmechanismus von Thiobarbituratoren hinweisen.

Literatur

- Wirth D, Bureau F, Melotte D, Christians E, Gustin P: Evidence for a role of heat shock factor 1 in inhibition of NF- κ B pathway during heat shock response-mediated lung protection. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2004; 287: L953-61
- Malhotra V, Wong H: Interactions between the heat shock response and the nuclear factor κ B signaling pathway. Crit Care Med 2002; 30: S89-95
- Loop T, Liu Z, Humar M, Hoetzel A, Benzing A, Pahl HL, Geiger KK, Pannen BH: Thiopental inhibits the activation of nuclear factor κ B. Anesthesiology 2002; 96: 1202-13.

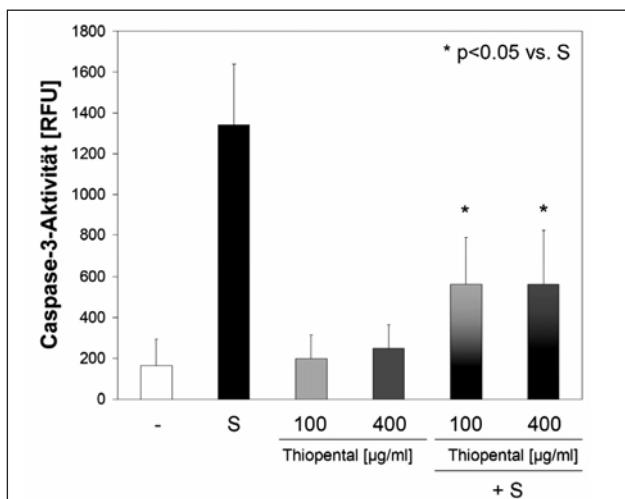


Abb. 5: Caspase-3-Aktivität.

Die analgetische Wirkung des CRH (Corticotropin Releasing Hormone) ist nicht β -Endorphin-vermittelt

R. Matejec¹, C. Hotz², H. Uhlich¹, R.-H. Bödeker³,

G. Hempelmann¹ und H. Teschemacher²

¹ Abteilung für Anaesthesiologie, Operative Intensivmedizin und Schmerztherapie des Universitätsklinikums Gießen

² Rudolf-Buchheim-Institut für Pharmakologie der Justus-Liebig-Universität Gießen

³ Institut für Medizinische Informatik und Statistik der Justus-Liebig-Universität Gießen

Fragestellung

Unter Stress, z.B. bei einer Schmerzbelastung, induziert CRH (Corticotropin Releasing Hormone) die Freisetzung von Fragmenten des Proopiomelanocortins (POMC) aus der Hypophyse in den Blutkreislauf (Hypothalamus-Hypophysenachse). Die bekanntesten dieser POMC-Fragmente sind ACTH und β -Endorphin (β -END). β -END wurde kurz nach seiner Isolation als endogenes Opioidpeptid identifiziert, da es mit seinem N-Terminus an Opioidrezeptoren bindet. Die unter Stress zu beobachtende Analgesie wurde deshalb auf die analgetische Wirkung des freigesetzten β -END zurückgeführt [1]. In späteren Studien wurde in der Tat eine analgetische Wirkung von CRH nachgewiesen und wiederum auf die Freisetzung von β -END zurückgeführt.

Zweifel an der analgetischen Wirkung von β -END kamen auf, als i.v. zugeführtes β -END bei Patienten keinen analgetischen Effekt zeigte. Weitere Studien lieferten widersprüchliche Ergebnisse [2]. Damit erscheint auch der Wirkmechanismus von CRH wiederum unklar. Die hier vorliegende Studie wurde durchgeführt, da bisher in keinem Humanexperiment versucht wurde, die vermutete analgetische Wirkung von CRH (via β -END-Freisetzung) mit Naloxon zu antagonisieren.

Methodik

In einer kontrollierten, doppelblind randomisierten, von der örtlichen Ethikkommission genehmigten Studie wurden bei 16 freiwilligen Probanden 100 μ g CRH i.v. verabreicht, um β -END freizusetzen (oder NaCl 0,9% wurde als Placebo verabreicht). Vor Verabreichung (t₀), sowie 15 (t₅) und 30 (t_c) Minuten nach Verab-

reichung von CRH (oder Placebo) erfolgten Blutentnahmen aus einer 30 Minuten zuvor gelegten Venenverweilkanüle; außerdem erfolgten jeweils Messungen der Druckschmerzschwelle (Mittelwert aus 5 Messungen). Anschließend wurden den Probanden 1,2 mg Naloxon (oder Placebo) i.v. verabreicht. 5 Minuten später (t_b) erfolgten wiederum Blutabnahme sowie Messungen der Druckschmerzschwellenmessung. Insgesamt wurden vier Gruppen gebildet: I: (CRH/Naloxon), II: (CRH/Placebo), III: (Placebo/Naloxon), IV: (Placebo/Placebo). Jeder Proband wurde an vier verschiedenen Tagen jeweils einer Gruppe zugeteilt, d.h. viermal jeweils in einer der vier Gruppen untersucht. Die Druckschmerzschwellenmessung ist eine etablierte Methode und erfolgte durch Aufblasen einer Blutdruckmanschette am Oberarm (*Submaximal Effort Tourniquet Test*). Im Blutplasma wurden jeweils ACTH, β -END-immunoreaktives Material (IRM), authentisches β -END (β -END(1-31)), β -Lipotropin (β -LPH-IRM) und Kortisol bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Hodges-Lehmann-Schätzern ($\hat{\theta}$), Wilcoxon-Rang-Test und Spearman's Rangkorrelationskoefizienten (r_s) unter Bonferroni-Korrektur (Signifikanzniveau p<0,05).

Ergebnisse

Wie erwartet induzierte CRH die Freisetzung von ACTH, β -END-IRM, β -END(1-31) und β -LPH-IRM; nur ein geringer Teil des β -END-IRM entsprach β -END(1-31). CRH erzeugte eine signifikante, nicht-Naloxon-reversible Druckschmerzschwellenerhöhung (Die 95%-Konfidenzintervalle von $\hat{\theta}_{b-a}$ liegen beide oberhalb des Nullwerts s. Abb. 1 u. 2), die nicht mit den Konzentrationen von ACTH, β -END-IRM, β -END(1-31), β -LPH-IRM und Kortisol korrelierte.

Interpretation

Die CRH-induzierte Druckschmerzschwellenerhöhung ließ sich durch Naloxon nicht antagonisieren (Die 95%-Konfidenzintervalle von $\hat{\theta}_{b-c}$ liegen ober- und unterhalb des Nullwerts s. Abb. 1 u. 3). Die Druckschmerzschwelle korrelierte weder mit der β -END-IRM- oder der β -END(1-31)-Konzentration, noch mit der Fläche unter den Plasmaspiegelkurven (AUC). Sie scheint damit nicht Opioid-, d.h. β -END-vermittelt zu sein. Der *Submaximal Effort Tourniquet Test* erzeugt einen tiefen Muskelschmerz; hier werden Muskelnozizeptoren gereizt, die auf lokalen mechanischen Druck reagieren. Ein direkter Einfluß von CRH via CRH-2 β -Rezeptoren, die sich in sensorischen Ganglien nachweisen ließen [3], könnte den ►

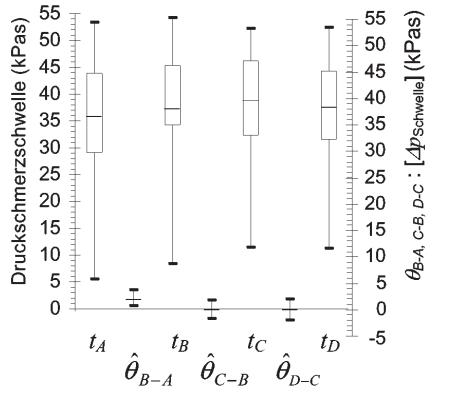


Abb. 1: Druckschmerzschwellen der Gruppe CRH / Naloxon.

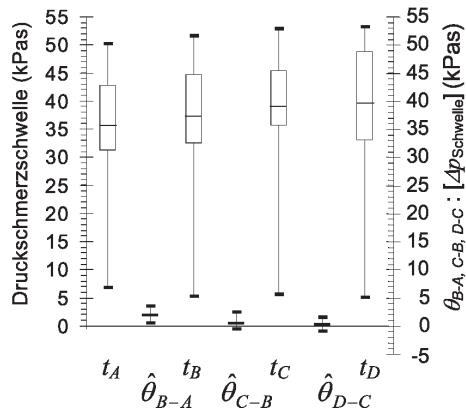


Abb. 3: Druckschmerzschwellen der Gruppe Placebo / Naloxon.

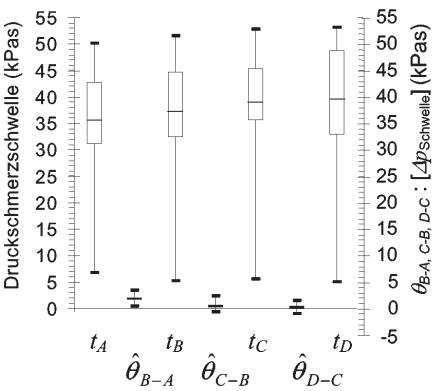


Abb. 2: Druckschmerzschwellen der Gruppe CRH / Placebo.

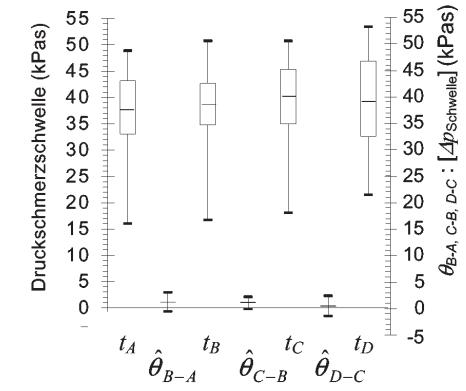


Abb. 4: Druckschmerzschwellen der Gruppe Placebo / Placebo.

► analgetischen Effekt von CRH erklären. Wir schließen aus den Befunden, daß die CRH-induzierte Analgesie nicht β -END-vermittelt ist.

Literatur

1. Amit Z, Galina ZH. Stress-induced analgesia: adaptive pain suppression. Physiol. Rev. 1986; 66: 1091-1120.
2. Lariviere WR, Melzack R. The role of corticotropin-releasing factor in pain and analgesia. Pain. 2000; 84: 1-12.
3. Schäfer M, Mousa SA, Stein C. Corticotropin-releasing-factor in antinociception and inflammation. Eur. J. Pharmacol. 1997; 323: 1-10.

Wirkungen von Amitriptylin auf humane Kv 1.1- und KCNQ2/Q3-Kanäle

M.A. Punke und P. Friederich

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Fragestellung

Das trizyklische Antidepressivum Amitriptylin wird erfolgreich in der Therapie chronischer Schmerzen eingesetzt. Der analgetische Effekt ist jedoch nicht allein durch die Inhibition der Wiederaufnahme von Serotonin zu erklären. Vielmehr gibt es Hinweise, dass die durch Amitriptylin vermittelte Analgesie von Kaliumkanälen moduliert wird [1]. Insbesondere Kv1.1 und KCNQ2/Q3 Kanäle scheinen eine wichtige Rolle in der Regulation des nocizettiven Systems zu spielen [1, 2]. Ziel der Studie war es, die Wirkungen von Amitriptylin auf die neuronalen Kaliumkanäle Kv1.1 und KCNQ2/Q3 des Menschen zu untersuchen.

Methodik

Plasmide mit cDNA des humanen Kv1.1 Gens wurden stabil in HEK 293 Zellen und Plasmide mit cDNA des humanen KCNQ2 und KCNQ3 Gens wurden transient in CHO Zellen transfiziert. Die elektrophysiologischen Messungen erfolgten mit der Patch-Clamp Methode. Die Untersuchungen zur intrazellulären Azidose wurden mit einer NaHCO_3 -reichen Lösung durchgeführt. Die Kanal-inhibition wurde als Reduktion der maximalen Stromamplitude quantifiziert. Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardabweichungen; n steht für die Anzahl der Experimente, statistische Vergleiche erfolgten mit Student t-Test.

Ergebnisse

Humane Kv1.1 und KCNQ2/Q3 Kanäle wurden durch Amitriptylin konzentrationsabhängig und reversibel inhibiert. Die gemittelten Inhibitionen wurden mathematisch durch Hill Funktionen beschrieben. Amitriptylin inhibierte Kv1.1 Kanäle mit einem IC_{50} -Wert von 45 μM , der Hill Koeffizient betrug 0.63 ($n = 33$). Die Inhibition von Kv1.1 Kanälen war spannungsabhängig (100 μM) $39 \pm 7\%$ bei

► -30 mV vs. $73 \pm 3\%$ bei 40 mV , $p < 0.01$ ($n = 5$). Zum Vergleich wurde die Inhibition durch Bupivacain untersucht, die einen IC₅₀-Wert von $64 \mu\text{M}$ und einen Hill Koeffizient von 1.25 ergab ($n = 27$). KCNQ2/Q3 Kanäle wurden mit einem IC₅₀-Wert von $13 \mu\text{M}$ inhibiert, der Hill Koeffizient betrug 0.78 ($n = 40$). Die Inhibition war nicht spannungsabhängig ($10 \mu\text{M}$) $39 \pm 16\%$ bei -30 mV vs. $37 \pm 4\%$ bei 40 mV , $p > 0.05$ ($n = 7$). Amitriptylin hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Aktivierung und Deaktivierung. Die Inhibition von KCNQ2/Q3 Kanälen durch Amitriptylin wurde durch intrazelluläre Ansäuerung der Zellen verdoppelt ($37 \pm 9\%$ vs. $78 \pm 5\%$, $p < 0.05$; $n = 5$).

Interpretation

Amitriptylin ist im Vergleich zu Bupivacain um den Faktor 1.5 lipophiler. Dies könnte der Grund sein, warum Kv1.1 Kanäle 1.4-fach stärker durch Amitriptylin inhibiert werden. Die höhere Lipophilie erklärt jedoch nicht warum KCNQ2/Q3 Kanäle 16-fach stärker inhibiert werden im Vergleich zu Bupivacain [3]. Unter intrazellulärer Ansäuerung der Zellen verdoppelt sich der inhibitorische Effekt von Amitriptylin auf KCNQ2/Q3 Kanäle, so dass die Konzen-

trations-Wirkungskurve in den nanomolaren Bereich verschoben wird. Aufgrund der fraglichen Korrelation von Lipophilie und inhibitorischem Effekt von Amitriptylin, sowie der hohen Empfindlichkeit von KCNQ2/Q3 Kanälen ist eine spezifische Interaktion von Amitriptylin mit diesen Kanälen wahrscheinlich. Die Ergebnisse unserer Studie erlauben die Hypothese, dass zumindest die Interaktion von Amitriptylin mit KCNQ2/Q3 Kanälen in der systemischen Schmerztherapie von klinischer Relevanz sein könnte.

Literatur

1. Galeotti N, Ghelardini C, Capaccioli S, Quattrone A, Nicolin A, Bartolini A. Blockade of clo-mipramine and amitriptyline analgesia by an antisense oligonucleotide to mKv1.1, a mouse shaker-like K⁺ channel. Eur J Pharm 1997; 330: 15-25.
2. Passmore GM, Selyanko AA, Mistry M, Al-Qatari M, Marsh SJ, Matthews EA, Dickenson AH, Brown TA, Burbridge SA, Main M, Brown DA. KCNQ/M Currents in sensory neurons: significance for pain therapy. J Neurosci 2003; 23: 7227-7236.
3. Punke MA, Friederich P. Retigabine stimulates human KCNQ2/Q3 channels in the presence of bupivacaine. Anesthesiology 2004; 101: 430-438.

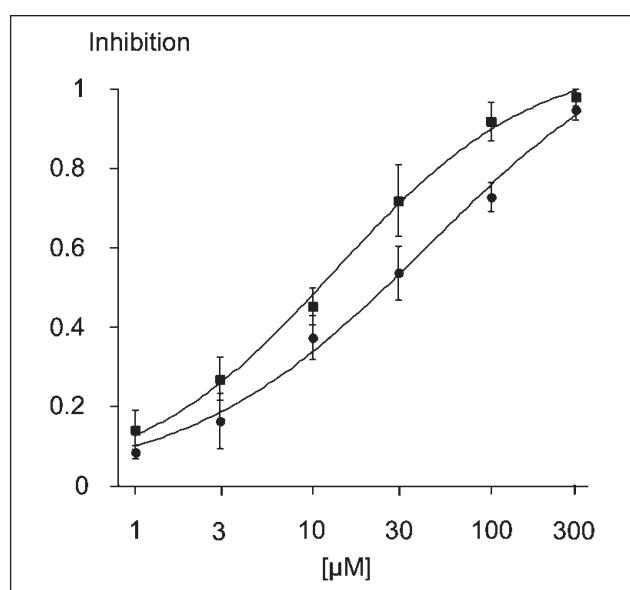


Abb. 1: Konzentration-Wirkungskurven der Inhibition durch Amitriptylin bei Kv1.1 Kanälen (Quad-rate) und KCNQ2/Q3 Kanälen (Kreise).

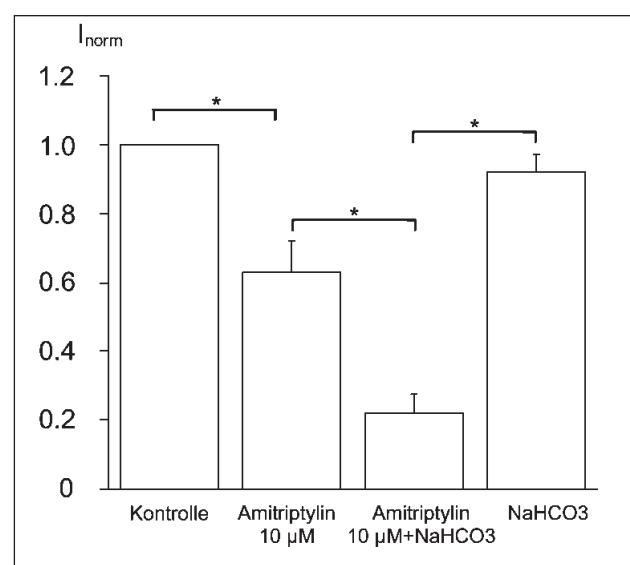


Abb. 2: Reduktion der Stromamplitude durch Amitriptylin normalisiert auf den Kontrollstrom unter Standardbedingungen und während intrazellulärer Ansäuerung. Auswasch mit NaHCO₃ Lösung.

Parecoxib moduliert die Remifentanil-induzierte Hyperalgesie in einem experimentellen Schmerzmodell beim Menschen

A. Tröster¹, R. Sittl¹, B. Singler¹, M. Schmelz², J. Schüttler¹ und W. Koppert¹

¹ Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Erlangen

² Klinik für Anästhesiologie Mannheim, Universität Heidelberg

Fragestellung

In vorangegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Opioide nach ihrem Absetzen zu einer Schmerzverstärkung führen können, welche auf eine Aktivierung präsynaptischer Sys-

teme zurückgeführt wurde [1]. Gleichzeitig konnte eine zentrale COX-Hemmung als ein wesentlicher Mechanismus der NSAID-vermittelten Antihyperalgesie identifiziert werden [2]. Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung zentraler modulatorischer Wirkungen eines COX-2 Hemmers auf die Remifentanil-induzierte Hyperalgesie.

Methodik

Fünfzehn gesunde Probanden wurden nach zustimmenden Votum der Ethikkommission in die randomisierte, doppelt verblindete und Placebo-kontrollierte Studie im Cross-over Design eingeschlossen. Die Schmerzstärke sowie die Ausdehnung der Hyperalgesieflächen während transdermaler elektrischer Stimulation wurden vor, während und nach einem 30minütigen Infusionsintervall bestimmt, in dem die Probanden entweder Remifentanil ($0.1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) oder Placebo (NaCl 0.9%) erhielten. In zwei ►

► weiteren Durchgängen erhielten die Probanden randomisiert eine 10minütige intravenöse Infusion von Parecoxib (40 mg), entweder zu Beginn der elektrischen Reizung (präventiv) oder eine halbe Stunde später, zu Beginn der Remifentanil-Infusion (parallel), verabreicht. Analgetische und antihyperalgetische Effekte wurden mittels numerischer Ratingskalen und von Frey Haaren quantifiziert und mit ANOVA für Wiederholungsmessungen und Bonferroni-korrigierte post-hoc Testungen statistisch ausgewertet, ein Signifikanzniveau von $P \leq 0,05$ wurde als statistisch signifikant festgelegt.

Ergebnisse

Remifentanil führte zu einer signifikanten Reduktion der Schmerzempfindung (nicht abgebildet) sowie der Hyperalgesieflächen (Abb. 1) während der Infusion, welche kurz nach Absetzen des Opioids über Kontrollniveau zunahmen ($P < 0,05$). Die präventive Gabe von Parecoxib führte zu zusätzlichen antihyperalgetischen Effekten während der Remifentanil Infusion ($71,3 \pm 7\%$ vs. $46,4 \pm 17\%$; $P < 0,05$) und reduzierte die durch Remifentanil signifikant erhöhten Hyperalgesieflächen nach der Remifentanil Infusion auf das Niveau der Kontrolle (Unterschiede n.s., Abb. 1). Im Gegensatz dazu konnte bei paralleler Gabe von Parecoxib keine signifikante Modulation der Remifentanil-induzierten Hyperalgesie beobachtet werden (Abb. 1).

Schlußfolgerung

Die präventive Gabe des COX-Inhibitors führte in unserer Studie zu einer klinisch relevanten Abschwächung der Opioid-induzierten Hyperalgesie. Dies bestätigt Beobachtungen am Tier, nach denen Prostaglandine und Opiode synergistisch bei der Entstehung von Hyperalgesien wirken können [3]. Die Wahl des richtigen „Timings“ scheint bei der medikamentösen Modulation der Hyperalgesie durch COX-2 Inhibitoren eine wichtige Rolle zu spielen: während die präventive Gabe zu signifikanten antihyperalgetischen Effekten führte, konnte bei paralleler Gabe keine derartige Wirkung beobachtet werden.

Literatur

- Koppert W, Sittl R, Scheuber K et al.** Differential modulation of remifentanil-induced analgesia and post-infusion hyperalgesia by S-ketamine and clonidine in humans. *Anesthesiology* 2003; 99: 152-159
- Koppert W, Wehrfritz A, Körber N et al.** The cyclooxygenase isozyme inhibitors parecoxib and paracetamol reduce central hyperalgesia in humans. *Pain* 2004 ; 108 : 148-153

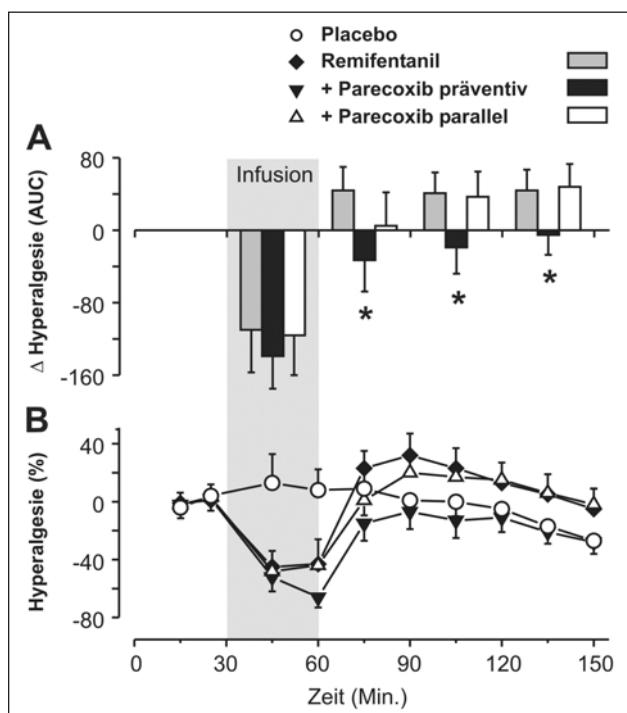


Abb. 1: Die Remifentanil-induzierte Hyperalgesie wird durch präventive Gabe, nicht aber durch parallele Gabe von Parecoxib moduliert. Normierte Hyperalgesieflächen nach elektrischer Stimulation (B) sowie die bzgl. der Behandlung mit Placebo korrigierte „Area under the curve“ (AUC) (A). Die Parecoxib-Gabe erfolgte entweder zu Beginn der elektrischen Stimulation (0 Min.) oder zum Beginn der Remifentanil Infusion (30 Min.). * $P \leq 0,05$; Bonferroni-korrigierte post-hoc Tests.

- Khasar SG, Wang JF, Taiwo YO et al.** Mu-opioid agonist enhancement of prostaglandin-induced hyperalgesia in the rat : a G-protein bg subunit-mediated effect? *Neuroscience* 1995; 67: 189-195.