

## Abstracts der 22. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI

15. – 16.02.2008, Würzburg

### – Inhalt –

<b>M. Adamzik, U. Frey, K. Riemann, A. Becker, K. Görlinger, K. Zacharowski, W. Siffert, J. Peters und M. Hartmann</b>	
Der Insertions-/Deletionspolymorphismus NF- $\kappa$ B1 (-94ins/delATTG) im Promoter von NF- $\kappa$ B1 beeinflusst seine Expression sowie die LPS-induzierte Tissue-Factor-Aktivität	365
<b>J. Ahrens, N. Foadi, M. Leuwer, R. Demir, C. Berger, K. Krampf, M. Karst und G. Haeseler</b>	
Das synthetische Cannabinoid Ajulemische Säure moduliert inhibitorische Glycin-Rezeptoren und spannungskontrollierte Natrium-Kanäle	366
<b>A. Choukèr, I. Kaufmann, A. Martignoni, A. Ohta, J. Schnermann, M.V. Sitkovsky und M. Thiel</b>	
Hepatoprotektion durch Präkonditionierung: Bedeutung des Adenosin->A2A-Rezeptor-Systems	366
<b>M. Damm, S.N. Stehr, A. Heintz, P. Panousis, L. Knels, A. Deußen und T. Koch</b>	
Einfluss von Caveolin-1 und 5'-Ektonukleotidase auf die Präkonditionierung durch Sevofluran beim isolierten Mausherzen	367
<b>J. Filitz, A.-L. Nieberle, H.U. Zeilhofer und W. Koppert</b>	
Der CB1-Rezeptorantagonist Rimonabant reduziert zentrale Sensibilisierung in einem humanen Schmerzmodell	368
<b>N. Foadi, E. Wiegand, J. Ahrens, K. Krampf, R. Dengler, M. Leuwer und G. Haeseler</b>	
Endotoxin reduziert die Verfügbarkeit humaner spannungsgesteuerter skelettmuskulärer Natriumkanäle (NaV1.4)	369
<b>U.H. Frey</b>	
Biologische und klinische Bedeutung veränderter G(alpha)s-Expression im menschlichen Herzen	370
<b>U. Goebel, M. Siepe, A. Mecklenburg, H.L. Pahl, C. Schlensak und T. Loop</b>	
Inhalatives Kohlenmonoxid vermittelt protektive Wirkungen in der Lunge von Schweinen während des kardiopulmonalen Bypasses durch die Induktion von Hitzeschockproteinen	371
<b>R. Haseneder, S. Kratzer, E. Kochs, W. Ziegglänsberger und G. Rammes</b>	
Xenon reduziert im präfrontalen Kortex vitaler Mäuse-Hirnschnittpräparate die exzitatorische synaptische Transmission über postsynaptische Mechanismen	372
<b>S. Hoegl, M. Bachmann, P. Scheiermann, I. Goren, B. Zwissler und H. Muhl</b>	
Die prophylaktische Inhalation von Interleukin-22 induziert SOCS3 und kann den experimentellen, beatmungs-induzierten Lungenschaden (VILI) der Ratte vermindern	374
<b>R. Huhn, A. Heinen, N.C. Weber, S. Hieber, M.W. Hollmann, W. Schlack und B. Preckel</b>	
Helium induziert späte Präkonditionierung im Rattenherzen in vivo	375
<b>J.T. Isbary, M.A. Schick, N. Schlegel, A. Redel, N. Roewer und C. Wunder</b>	
Gelatine 4% zeigt im Vergleich zu 6% HES 130/0,4 Störungen der Nierenfunktion bei der CLP-induzierten schweren Sepsis der Ratte	375
<b>C. Jeleazcov, H. Ihmsen, J. Schmidt und J. Fechner</b>	
Einfluss der intraoperativen Remifentanildosierung auf die Entwicklung der postoperativen Hyperalgesie	376



► <b>R. Kieffmann, J. Lindert, K. Parthasarathi und J. Bhattacharya</b> Alveolare Nukleotide regulieren kapillare NO-Produktion nach Lungenexpansion	377
<b>S. Kreth, I. Kaufmann, C. Ledderose und M. Thiel</b> Endotoxin führt zur Desensitivierung des Adenosin-A <sub>2A</sub> -Rezeptors humaner polymorphkerniger Leukozyten	378
<b>P.M. Lang, J. Fleckenstein, G.M. Passmore, D.A. Brown und P. Grafe</b> Ein neuronaler Kaliumkanalaktivator reduziert die Erregbarkeit unmyelinisierter menschlicher Axone	383
<b>J. Laremann, C. Herzog, F. Echtermeyer, S. Calmer, M. Dewerchin, P. Carmeliet und G. Theilmeier</b> Genetischer oder gentherapeutischer Antagonismus des Urokinase-Rezeptors verbessert die Letalität von Mäusen im Endotoxin-induzierten systemischen inflammatorischen Response-Syndrom	384
<b>I. Lautenschläger, H. Dombrowsky, S.-C. Kuchenbecker, S. Bade, H. Schultz, I. Frerichs, J. Scholz, S. Uhlig und N. Weiler</b> Transiente intestinale Flüssigkeitsumverteilung und Hyperpermeabilität durch den plättchenaktivierenden Faktor PAF untersucht am isoliert perfundierten Darmmodell der Ratte	385
<b>A. Leffler, F. Niedermirtl, M. Fischer, P. Reeh und C. Nau</b> Propofol aktiviert nozizeptor-spezifische Membranrezeptoren der „Transient Receptor Potential“-Familie	386
<b>C. Lotz, M. Lange, T. Tischer-Zeitz, J. Schmidt, A. Redel, N. Roewer und F. Kehl</b> Die Blockade der Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptoren $\alpha$ und $\gamma$ hebt das zweite Fenster der Desfluran-induzierten Präkonditionierung im akuten In-vivo-Herzinfarktmodell des Kaninchens auf	387
<b>M. Lyutenska, M. Wittmann, B.W. Urban und M. Barann</b> Wirkung von morphinartigen, fentanylartigen und endogenen Opioiden auf den humanen 5-HT <sub>3A</sub> -Rezeptor	388
<b>A. Mathes, D. Kubulus, L. Waibel, P. Heymann und H. Rensing</b> Die selektive Aktivierung von Melatoninrezeptoren mit Ramelteon verbessert die Leberfunktion und die Leberperfusion nach hämorrhagischem Schock bei der Ratte	390
<b>J. Mersmann, N. Tran, G. Theilmeier und K. Zacharowski</b> Toll-like-Rezeptor-2-knock-out schützt vor letalen Arrhythmien nach Myokardischämie und Reperfusion	391
<b>J.P. Roesner, P. Petzelbauer, A. Koch, N. Tran, T. Iber, D.A. Vagts, T.W.L. Scheeren, B. Vollmar, G.E.F. Nöldge-Schomburg und K. Zacharowski</b> Das Peptid B $\beta$ 15-42 reduziert Schädigungen von Herz, Lunge, Leber und Dünndarm nach hämorrhagischem Schock und Reperfusion beim Schwein	392
<b>P. Rosenberger, V. Mirakaj, J. Schwab, E. Masekowsky, A. Mager, K.E. Unertl und H.K. Eltzschig</b> Netrin-1 wird unter Hypoxie durch HIF-1 $\alpha$ induziert und beeinflusst die Migration neutrophiler Granulozyten durch den A2B-Adenosin-Rezeptor	394
<b>N. Russ, E. Popp, A. Schneider, F. Heiser, B.W. Böttiger und P. Teschendorf</b> Sevofluran verringert die myokardiale Dysfunktion nach kardiopulmonaler Reanimation bei der Ratte	395
<b>D. Schädler, G. Elke, S. Pulletz, N. Haake, I. Frerichs, G. Zick, J. Scholz und N. Weiler</b> Der Einfluss einer automatischen Steuerung der Druckunterstützung auf die Beatmungszeit – Zwischenanalyse einer randomisierten, kontrollierten Studie	395
<b>C. Schaper, B. Weber, J. Scholz, C. Cirelli und B. Bein</b> Gesteigerter Bedarf volatiler Anästhetika bei Drosophila-Minisleeper-Mutanten	396
<b>P. Scheiermann, S. Hoegl, D. Ahluwalia, M. Revermann, K.A. Boost, H. Muhl und B. Zwissler</b> Antiinflammatorische und antiapoptotische Eigenschaften von Levosimendan bei der akuten Sepsis der Ratte	398
<b>S.U. Sixt, J. Hakenbeck, M. Adamzik, D. Spryka, B. Saul, B. Dahlmann und J. Peters</b> Extrazelluläres Proteasom im Alveolarraum von Patienten mit ARDS	400
<b>P.M. Spieth, A.R. Carvalho, A. Güldner, P. Pelosi, M. Kasper, T. Koch und M.G. de Abreu</b> Effekte der variablen Pressure-Support-Ventilation (noisy PSV) in der Therapie des experimentell induzierten akuten Lungenversagens	400
<b>S.C. Thal, M. Heinemann, Dana Pieter, Kristin Engelhard und C. Werner</b> Einfluss von PPAR $\gamma$ auf den sekundären Hirnschaden nach experimentellem Schädelhirntrauma	402
<b>A. Wehrfritz, S. Schmidt, C. Müller, H. Ihmsen und W. Koppert</b> Analgetische und antihyperalgetische Effekte von Physostigmin und Alfentanil in einem experimentellen Schmerzmodell am Menschen	403
<b>F. Weis, D. Hauer, A. Beiras-Fernandez, A. Beiras, M. Vogeser, C. Kowalski, T. Englmeier, M. Landinger, E. Kilger, S. Azad und G. Schelling</b> Nachweis eines humanen kardialen Endocannabinoidsystems und des Einflusses von Kardiochirurgie unter Inhalationsanästhesie	404
<b>A. Zarbock, E. Smith, J. Sanders, G. Kronke, B. Harry, H. Van Aken, J.L. Nadler und K. Ley</b> Die Eliminierung oder die Blockade von 12/15-Lipoxygenase reduziert die Proteinextravasation und verhindert die Ausbildung des akuten Lungenversagens (ALI)	405

## Abstracts der 22. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI\*

Die Vorträge, deren Abstracts nachfolgend publiziert werden, wurden in einem verblindeten Verfahren von sieben Gutachtern ausgewählt und auf den Wissenschaftlichen Arbeitstagen der DGAI vom **15. - 16.02.2008** in Würzburg gehalten und diskutiert. Nachfolgend wurde über die Publikationswürdigkeit der entsprechenden Abstracts im Plenum der Arbeitstage abgestimmt. Sie erfüllen damit die Kriterien einer begutachteten Publikation. Die **Ausschreibung für die Wissenschaftlichen Arbeitstage 2009 und das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung** finden Sie auf der Seite 419.

### Der Insertions-/Deletionspolymorphismus NF- $\kappa$ B1 (-94ins/delATTG) im Promoter von NF- $\kappa$ B1 beeinflusst seine Expression sowie die LPS-induzierte Tissue-Factor-Aktivität

**M. Adamzik<sup>1</sup>, U. Frey<sup>1</sup>, K. Riemann<sup>2</sup>, A. Becker<sup>1</sup>, K. Görlinger<sup>1</sup>, K. Zacharowski<sup>3</sup>, W. Siffert<sup>2</sup>, J. Peters<sup>1</sup> und M. Hartmann<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin,

<sup>2</sup> Institut für Pharmakogenetik,

Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen

<sup>3</sup> Department of Anaesthesia, Bristol Royal Infirmary, UK

#### Fragestellung

Systemische Inflammation führt zu einer Aktivierung der Gerinnungskaskade, vermittelt durch Tissue-Factor(TF)-induzierte Thrombingenerierung bei gleichzeitiger Downregulation physiologischer Gerinnungs-Inhibitoren und Hemmung der Fibrinolyse [1], bis hin zur disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC). Da eine Gram-negative Sepsis Lipopolysaccharid (LPS)-vermittelt zu einer Aktivierung von NF- $\kappa$ B führt und NF- $\kappa$ B die Expression Sepsis-assozierter Gene und TF induziert, könnten genetische Varianten im Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B den Schweregrad der Gerinnungsstörung beeinflussen. Wir testeten die These, dass der Promoter-Polymorphismus NF- $\kappa$ B1 (-94ins/delATTG) [2], NF- $\kappa$ B1-Expression und LPS-induzierte TF-Aktivität beeinflusst.

#### Methode

Nach positivem Ethikvotum und Einwilligung wurden Zitratblutproben gesunder kaukasischer Blutspender (n=107) mit LPS (Sigma L2630) (Kontrolle 0, 25, 75, 225  $\mu$ g/ml) inkubiert. Die Messung von TF erfolgte thrombelastographisch durch Messung der Clotting Time (CT) [3]. Der NF- $\kappa$ B-Polymorphismus wurde mittels Pyrosequenzierung nachgewiesen und die NF- $\kappa$ B1-mRNA-Expression mittels Realtime-PCR gemessen. Statistik: Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD), ANOVA und t-Test,  $p<0,05$ .

#### Ergebnisse

Unter Kontrollbedingungen war die NF- $\kappa$ B1-mRNA-Expression zwischen den Genotypen nicht unterschiedlich (Abb. 1). Unter LPS-Inkubation (225  $\mu$ g/ml) zeigte das Deletions-Allel (D) dagegen eine nahezu 3-fach stärkere Expression im Vergleich zum Wildtyp (I). Die CT als Maß für die TF-Aktivität war in unstimulierten Blutproben zwischen den I-Allel- und D-Allel-Trägern nicht unterschiedlich (Abb. 2). Im Gegensatz dazu war bei jeder LPS-Konzentration unter LPS-Stimulation die TF-Aktivität beim D-Allel signifikant höher.

#### Interpretation

Das D-Allel im NF- $\kappa$ B-Polymorphismus führt zu einer gesteigerten Expression des regulatorischen Schlüsselproteins NF- $\kappa$ B1 sowie vermehrter LPS-induzierter TF-Aktivität. Sepsis-induzierte Gerinnungsstörungen könnten somit mit dem Promoter-Polymorphismus NF- $\kappa$ B1 (-94ins/delATTG) assoziiert sein.

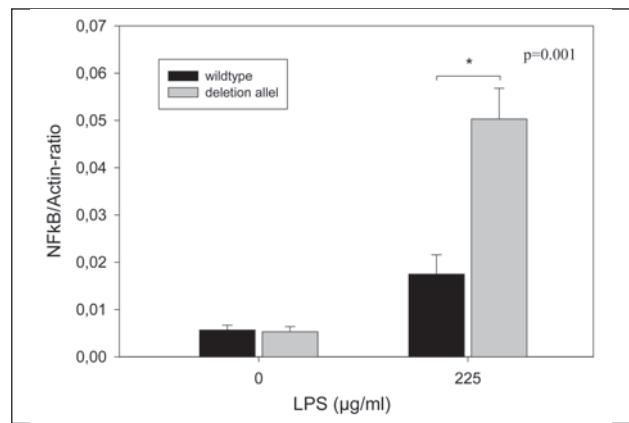


Abb. 1

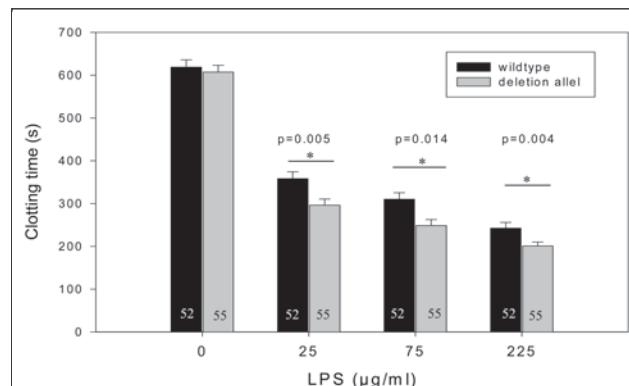


Abb. 2

#### Literatur

1. Lorente JA, Garcia-Prado LJ, Landin L. Time course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. *Chest* 1993;103:1536-1542.
2. Adamzik M, Frey UH, Rieman K, Sixt S, Beiderlinden M, Siffert W, et al. Insertion/deletion polymorphism in the promoter of NFKB1 influences severity but not mortality of acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 2007;33:1199-1203.
3. Zacharowski K, Sucker C, Zacharowski P, Hartmann M. Thrombelastography for the monitoring of lipopolysaccharide induced activation of coagulation. *Thromb Haemost* 2006;95:557-561.

Korrespondenzadresse: Michael.Adamzik@uk-essen.de

\* Rechte vorbehalten

## Das synthetische Cannabinoid Ajulemische Säure moduliert inhibitorische Glycin-Rezeptoren und spannungs-kontrollierte Natrium-Kanäle

J. Ahrens<sup>1</sup>, N. Foadi<sup>1</sup>, M. Leuwer<sup>3</sup>, R. Demir<sup>1</sup>, C. Berger<sup>1</sup>, K. Krampf<sup>1</sup>, M. Karst<sup>1</sup> und G. Haeseler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin,

<sup>2</sup> Klinik für Neurologie,

Medizinische Hochschule Hannover

<sup>3</sup> Department of Anaesthesia, University of Liverpool, UK

### Fragestellung

Das synthetische Cannabinoid Ajulemische Säure (AJA) ist bei chronisch-neuropathischen Schmerzen klinisch wirksam, ohne dabei die psychoaktiven Nebenwirkungen der Muttersubstanz 9-Tetrahydrocannabinol aufzuweisen [1]. Anerkannte Angriffspunkte für eine Therapie neuropathischer Schmerzen sind ein geändertes Gating-Verhalten spannungskontrollierter Natriumkanäle oder ein Verlust der spinalen Inhibition, die hauptsächlich durch Glycin-Rezeptoren vermittelt wird. Ziel dieser Studie war es, In-vitro Effekte von AJA an Cannabinoid-Rezeptor-unabhängigen Zielstrukturen zu charakterisieren.

### Methodik

$\alpha$ -Untereinheiten humaner skelettmuskulärer Natriumkanäle (NaV1.4) sowie  $\alpha$ -Untereinheiten humaner Glycin-Rezeptoren wurden in menschlichen embryonalen Nierenzellen (HEK 293) exprimiert und in Whole-cell-Experimenten mittels der Patch-Clamp-Technik untersucht. Effekte von AJA auf Natrium-Einwärtsströme während Depolarisation auf 0 mV bzw. Co-Aktivierung des Effektes einer niedrigen Konzentration ( $EC_{50}$ ) von Glycin und Direktaktivierung des Glycin-Rezeptors wurden im Konzentrationsbereich von 0,3 - 300  $\mu$ M AJA studiert. Anpassung einer Hill-Funktion an die gegen die applizierte Konzentration aufgetragenen (a) im Vergleich zur Ausgangskontrolle supprimierten Spaltenströme (Natriumkanal), (b) Potenzierung in % der durch eine Glycin-Lösung (10  $\mu$ M) induzierten Stromantworten ( $I_g$ ) nach der Formel  $E (\%) = 100 \cdot [(I - I_0)/I_0]$  (Glycin-Rezeptor), und (c) direkt aktivierte Ströme ohne den natürlichen Agonisten (Glycin-Rezeptor) ergab die  $IC_{50}$  für Natriumkanal-Blockade bzw.  $EC_{50}$  für Glycin-Rezeptor-Co- und Direktaktivierung.

### Ergebnisse

AJA zeigt bereits im niedrig- $\mu$ M-Bereich eine Blockade von Natriumkanälen und eine Coaktivierung von Glycin-Rezeptoren ( $EC_{50}$ : 9,7  $\pm$  2,6  $\mu$ M). Die Beschreibung der Natriumkanal-Blockade bei -70 und -150 mV ist optimal über die Anpassung einer Hill-Funktion mit 2 Komponenten, die eine niedrig- ( $IC_{50}$  10000  $\mu$ M) und

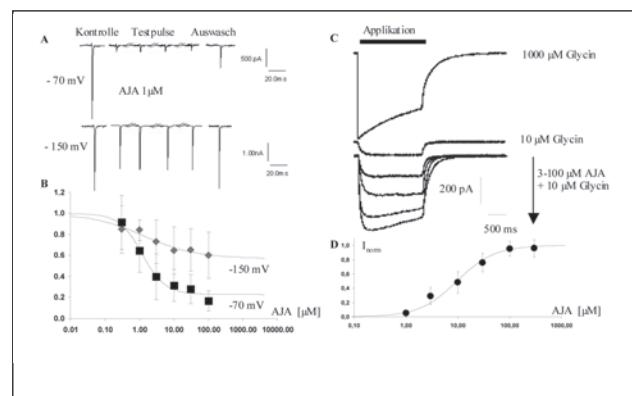


Abb. 1: (A) Repräsentative Stromspuren und (B) Konzentrationsabhängigkeit der Natriumkanal-Blockade nach Depolarisation auf 0 mV ausgehend von Haltepotentialen von -70 mV oder -150 mV. (C) Repräsentative Stromspuren der Co-Aktivierung des Glycin-Rezeptors durch Co-Applikation von AJA und Glycin im Vergleich zur Kontrolle (1000  $\mu$ M Glycin) und zur  $EC_{50}$  von Glycin (10  $\mu$ M). (D) Konzentrations-Wirkungskurve für die Co-Aktivierung des Glycin-Rezeptors durch AJA.

eine hochaffine ( $IC_{50}$  1,2  $\mu$ M) Bindungsstelle für AJA nahelegt. Der Amplitudenanteil am Fit ist bei -70 mV bei 87 % und bei -150 mV nur bei 43 %. Eine Direktaktivierung des Glycin-Rezeptors erfolgt erst im höheren Konzentrationsbereich ( $EC_{50}$  von  $180,9 \pm 21,5 \mu$ M).

### Interpretation

Blockade spannungskontrollierter Natriumkanäle und Co-Aktivierung von Glycin-Rezeptoren in-vitro sind im klinisch relevanten Konzentrationsbereich von AJA (Serumspiegel bei Patienten um 2  $\mu$ M [2]) zu beobachten. Natriumkanäle (NaV1.4) besitzen für AJA eine hochaffine Bindungsstelle, die bei Membrandepolarisation freigegeben wird - d.h. die normale, nicht pathologisch gesteigerte Erregbarkeit wird durch AJA nicht beeinflusst. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass zumindest ein Teil der antinozizeptiven Effekte von AJA bei Patienten mit neuropathischen Schmerzen durch eine Modulation von Glycin-Rezeptoren und Natrium-Kanälen bewirkt sein könnte.

### Literatur

1. Karst M, Salim K, Burstein S, Conrad I, Hoy L, Schneider U. Analgesic effect of the synthetic cannabinoid CT on chronic neuropathic pain: a randomized controlled trial. JAMA 2003;290:1757-1762.
2. Batista C, Berisha M, Karst M, Salim K, Schneider U, Brenneisen R. Determination of ajulemic acid and its glucuronide in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2005;Jun 5:77-82.

Korrespondenzadresse: Ahrens.J@mh-hannover.de

## Hepatoprotektion durch Präkonditionierung: Bedeutung des Adenosin->A<sub>2A</sub>-Rezeptor-Systems

A. Choukèr<sup>1</sup>, I. Kaufmann<sup>1</sup>, A. Martignoni<sup>1</sup>, A. Ohta<sup>2,4</sup>, J. Schermann<sup>3</sup>, M.V. Sitkovsky<sup>2,4</sup> und M. Thiel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München

<sup>2</sup> National Institute of Allergy and Infectious Disease (NIAID)

<sup>3</sup> National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases (NIDDK), Bethesda, USA

<sup>4</sup> New England Inflammation and Tissue Protection Institute Northeastern University, Boston, USA

### Fragestellung

Bei operativen Eingriffen an der Leber (Tumorchirurgie) kann es erforderlich sein, die das Organ versorgenden Gefäße passager abzuklemmen (Pringle-Manöver), um den Blutverlust und die Transfusionshäufigkeit von Fremdblut zu reduzieren [1]. Infolge des Pringle-Manövers können jedoch schwere postoperative Störungen der Leberzellintegrität und -funktion auftreten [2]. Eine auch klinisch effektive Maßnahme zur Prävention des Ischämie-Reperfusions (IR)-Schadens ist die ischämische Präkonditionierung (IPC) [1,2,3]. Der der IPC der Leber zugrunde liegende Mechanismus ist bis heute nicht geklärt, es wird jedoch endogenes Adenosin als potentieller Mediator der IPC diskutiert [3]. Daher untersuchten wir, 1.) inwieweit endogenes Adenosin und seine Wirkung am Adenosin-Rezeptor-System die Schutzwirkung der

► IPC vermittelt und 2.), ob durch exogen, intravenös zugeführtes Adenosin eine Hepatoprotektion im Sinne einer pharmakologischen Präkonditionierung erzielt werden kann.

#### Material und Methodik

Die Untersuchungen erfolgten an C57Black6/N-Mäusen (Genehmigung durch das „Animal Care and Use Committee“, NIH, Bethesda, USA). Nach Narkoseinduktion (Ketamin 100mg\*kg<sup>-1</sup> & Xylazin 4mg\*kg<sup>-1</sup>) wurde eine mediane Laparotomie durchgeführt. Durch Anlegen einer Mikro-Gefäßklemme an die den linken Leberlappen versorgenden arteriellen und venösen Gefäße wurde für die Dauer von 45 Minuten eine Ischämie induziert. Vier Stunden nach Reperfusion erfolgten die Probenentnahmen. Die IPC wurde in Analogie zum klinischen Vorgehen durch Abklemmen des Leberlappens für 10 Minuten mit nachfolgender Reperfusion für 10 Minuten vor der 45-minütigen Ischämiephase durchgeführt. Die Bedeutung der Adenosin-Rezeptoren bei IPC wurden an „wildtyp“ (WT)- sowie Adenosin-Rezeptor A1<sup>-/-</sup>, A2<sup>AA</sup>- oder A3<sup>-/-</sup> homozygot-defizienten Mäusen geprüft („knock-out“, KO). Die Wirksamkeit der pharmakologischen Präkonditionierung mit Adenosin (1,8µg\*g<sup>-1</sup>\*h<sup>-1</sup> für 10 min i.v.) erfolgte Placebo-kontrolliert (NaCl 0,9%) in gleicher zeitlicher Abfolge wie bei IPC.

#### Ergebnisse

Die im Serum gemessenen ALT-Aktivitäten und im Blut bestimmte Parameter der systeminflammatorischen Reaktionen (IL-6, TNF-α) zeigen, dass 1.) der hepatzelluläre Schaden durch IR bei WT-Tieren durch IPC signifikant reduziert wird (Abb. 1: „WT“). Diese Hepatoprotektion durch IPC war bei den Adenosin-A2<sup>AA</sup>-Rezeptor-KO-Tieren aufgehoben (Abb. 1: „A2<sup>AA</sup>-KO“). Die Schutzwirkung der IPC blieb bei A1- und A3-„Knock-out“-Mäusen vollständig erhalten (nicht gezeigt). 2.) Eine 10-minütige Adenosin-Infusion verringerte den hepatzellulären Schaden im Vergleich zur Placebo-Infusion um über 40% und auf das gleiche Maß, wie es bei den WT-Tieren mit IPC quantifiziert wurde (Placebo-Präkonditionierung: ALT = 7210±960 I.E./ml vs. Präkonditionierung mit Adenosin: ALT = 4250 ± 720 I.E./ml; MW±SE, n = 7-8, p<0.05; T-Test 2-seitig).

#### Interpretation

Die tierexperimentellen Untersuchungen zeigen, dass die Wirksamkeit der IPC an der Leber über die Wirkung von endogenem Adenosin am A2<sup>AA</sup>-Rezeptor vermittelt ist. Die Protektion durch Präkonditionierung konnte ebenfalls durch eine 10-minütige

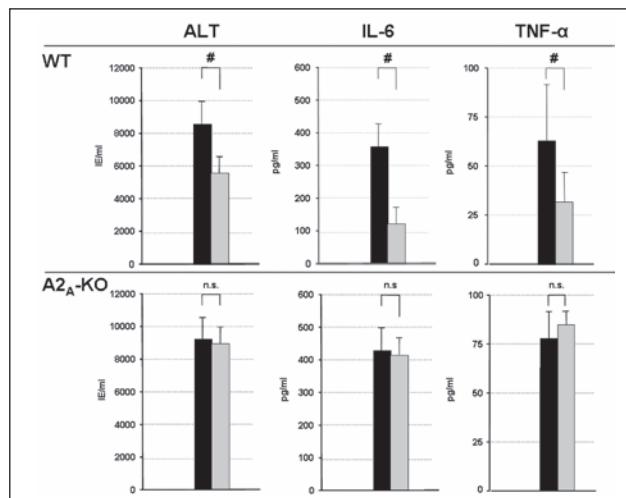


Abb. 1: Effekte der ischämischen Präkonditionierung (IPC) auf den hepatischen IR Schaden in Wildtyp.

(WT)- und Adenosin-A2A-Rezeptor-„knock-out“ (KO)-Mäuse: postoperative Serum-Aktivitäten der Alanin-Amino-Transferase (ALT), und Plasma-Konzentrationen von Interleukin-6 (IL-6) und Tumor-Nekrose-Faktor-α (TNF-α). Schwarze Balken: ohne IPC, graue Balken: mit IPC, MW±SE, n = 7-9, #:p<0,05 vs. IPC; T-Test, 2-seitig.

Infusion von Adenosin im Sinne einer pharmakologischen Präkonditionierung, ggf. auch im Sinne eines sog. „remote preconditioning“, erstmals gezeigt werden. Sollte Adenosin auch beim Menschen die Leber vor den Folgen des IR-Schadens schützen, könnte der Einsatz insbesondere von Adenosin-A2<sup>AA</sup>-Rezeptor-Agonisten bei Patienten mit Organ-Ischämie-Reperfusion vorteilhaft sein.

#### Literatur

1. Choukér A, Schachtner T, Schauer R, et al. Br J Anaesth 2004;93(2):204-211.
2. Clavien PA, Selzner M, Rudiger HA, et al. Ann Surg 2003;238:843-850.
3. Carini R, Albano E. Gastroenterology 2003;125:1480-1491.

Korrespondenzadresse: achouker@med.uni-muenchen.de

## Einfluss von Caveolin-1 und 5'-Ektoneukleotidase auf die Präkonditionierung durch Sevofluran beim isolierten Mausherzen

M. Damm<sup>1</sup>, S.N. Stehr<sup>1</sup>, A. Heintz<sup>1</sup>, P. Panousis<sup>1</sup>, L. Knels<sup>1</sup>, A. Deußen<sup>2</sup> und T. Koch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik und Poliklinik für Anästhesie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Carl-Gustav-Carus

<sup>2</sup> Institut für Physiologie, Technische Universität Dresden

#### Fragestellung

Caveolae sind proteinreiche Plasmamembraninvaginationen deren Formation maßgeblich durch Caveolin-1 (CAV) erhalten wird. Es konnte gezeigt werden, dass CAV [1] und 5'-Ektoneukleotidase [2] bei der Vermittlung der ischämischen Präkonditionierung beteiligt

sind. Weiterhin gibt es Hinweise, dass CAV mit Adenosinrezeptoren und eventuell auch der 5'-Ektoneukleotidase assoziiert ist. Wir untersuchten die Bedeutung von CAV anhand eines Knockout-Modells und den Effekt der Inhibition der 5'-Ektoneukleotidase durch AOPCP auf die Anästhetika-induzierte Präkonditionierung (APC) durch Sevofluran am isolierten Mausherzen.

#### Methodik

Die Versuche wurden nach Genehmigung durch die zuständige Tierschutzbehörde an je 24 männlichen Wildtyp (WT)- und CAV-Knockout-Mäuseherzen (CAV-KO) durchgeführt. Nach Präparation wurden die Herzen druck-konstant perfundiert. Die Sevofluran-gruppen (WT-Sev und CAV-KO, jeweils n=6) erhielten für 15 Minuten Sevofluran (2,8 Vol.-%). Nach 10 Minuten Auswaschphase folgte bei allen Gruppen eine 60-minütige Koronararterien-Okklusion durch Ligatur der linken Koronararterie (LAD) und ab-

► schließend eine 30-minütige Reperfusion. Mit dem gleichen Protokoll wurde bei vier weiteren Gruppen (je n=6) der Inhibitor der 5'-Ektoneukleotidase (AOPCP, 40 mg/kg/h) infundiert. Während der Versuche wurden kontinuierlich Herzfrequenz, linksventrikulärer Druck (LVP), maximale linksventrikuläre Druckanstiegs geschwindigkeit (+dP/dt<sub>max</sub>) und koronarer Fluss gemessen. Arterielle und venöse Effluatproben wurden intermittierend entnommen. Nach Versuchsende wurden zur Darstellung des Infarktes Propidiumjodid und Mikrosphären infundiert, die Herzen mit einem Gefriermikrotom in gleich große Scheiben geschnitten und die Größe des Infarktareals durch Planimetrie mit Hilfe eines rechner gestützten Fluoreszenzmikroskopes bestimmt. Dabei wurde die myokardiale Infarctierung (Infarktgröße) als prozentualer Anteil der area at risk (AAR, von LAD versorgtes Myokard) ermittelt. Prüfung auf Signifikanz erfolgte mit One Way ANOVA und Post-hoc-Analyse nach Bonferroni.

#### Ergebnisse

Bei WT-Herzen resultierten 60 Minuten Koronararterienokklusion und 30 Minuten Reperfusion in einer Infarktgröße von  $67,3 \pm 2,3\%$  der AAR. Die Applikation des volatilen Anästhetikums Sevofluran über einen Zeitraum von 15 Minuten reduzierte das Infarktareal um  $50,1\%$  auf  $33,6 \pm 2,1\%$  der AAR ( $p \leq 0,01$ ). Bei CAV-KO führte eine linkskoronare Ischämie über den gleichen Zeitraum zu einer Infarktausdehnung von  $67,0 \pm 2,8\%$ . Sevofluran verminderte diesen Infarkt nur um  $18,5\%$  auf  $54,7 \pm 3,4\%$  der AAR ( $p \leq 0,01$ ) (Abb. 1A). Gabe von AOPCP führte in beiden Spezies zur Aufhebung des präkonditionierenden Effektes (WT:  $69,1 \pm 2,3\%$  vs.  $69,1 \pm 2,2\%$ ; CAV-KO  $59,2 \pm 2,2\%$  vs.  $63,9 \pm 2,6\%$  (Abb. 1B).

#### Interpretation

Das volatile Anästhetikum Sevofluran bewirkt beim isolierten druck-konstant perfundierten Mausherz eine Infarktreduktion.

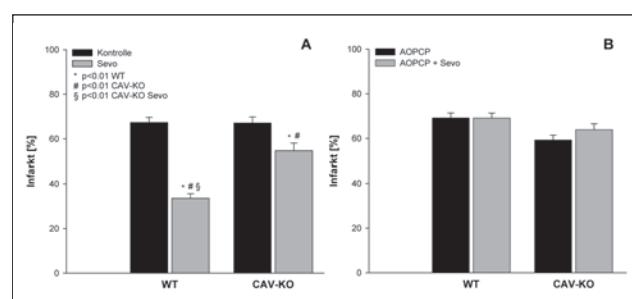


Abb. 1: Darstellung der Infarktgröße in Prozent der area at risk für die vier Gruppen: Wildtyp (WT) und Caveolin-1-knockouts (CAV-KO) mit und ohne Sevofluran (2,8%) [je n=6]. A ohne, B mit kontinuierlicher Gabe von AOPCP.

Dieser Effekt ist sowohl bei WT als auch bei CAV-KO nachweisbar. Der kardioprotektive Effekt ist jedoch bei CAV-KO-Tieren signifikant schwächer als beim WT. Eine Blockade der 5'-Ektoneukleotidase bewirkt sowohl bei WT als auch bei CAV-KO eine Inhibition der APC durch Sevofluran. Ein wesentlicher Einfluss von CAV und der 5'-Ektoneukleotidase bei der APC ist wahrscheinlich, eine gegenseitige Assoziation ist aus den bisherigen Ergebnissen jedoch nicht ersichtlich.

#### Literatur

1. Patel HH, et al. Mechanisms of cardiac protection from ischemia-reperfusion injury: a role for caveolae and caveolin-1. *FASEB* 2007;21:1565-1574.
2. Eckle T, et al. Cardioprotection by Ecto-5-Nucleotidase (CD73) and A2B-Adenosine-Receptors. *Circulation* 2007;115:1581-1590.

Korrespondenzadresse: Martin.Damm@uniklinikum-dresden.de

## Der CB1-Rezeptorantagonist Rimonabant reduziert zentrale Sensibilisierung in einem humanen Schmerzmodell

J.Filitz<sup>1</sup>, A.-L. Nieberle<sup>1</sup>, H.U. Zeilhofer<sup>2</sup> und W. Koppert<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Anästhesiologische Klinik, Universitätsklinikum Erlangen, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

<sup>2</sup> Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Zürich, Schweiz und Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Schweiz

#### Fragestellung

Für die Entstehung und Aufrechterhaltung nozizeptiv induzierter, spinaler Sensibilisierungsvorgänge wird insbesondere eine reduzierte glycinerge bzw. GABAerge spinale Inhibition diskutiert [1]. Hierbei kommt Endocannabinoiden eine zentrale Rolle zu. Diese werden bei der Aktivierung nozizeptiver Nervenendigungen vermehrt spinal freigesetzt und reduzieren die synaptische Freisetzung von Glycin und GABA über präsynaptische CB1-Rezeptoren [2]. Dadurch werden Hinterhornneurone aus dem Regelkreis zentraler inhibitorischer Kontrollfunktionen ausgeschaltet und spinale Sensibilisierungsvorgänge verstärkt. Ziel dieser Studie war es, die Effekte einer CB1-Rezeptorblockade an Probanden in einem humanen Schmerzmodell qualitativ und quantitativ zu erfassen.

#### Methodik

Nach Zustimmung durch die Ethikkommission der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg wurden 16 gesunde

Probanden in die Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie eingeschlossen und nachfolgend in zwei Gruppen zu je 8 Probanden (Alter:  $25,3 \pm 1,3$  Jahre bzw.  $25,7 \pm 1,8$  Jahre) randomisiert. Eine transkutane elektrische Stimulation mit hoher Stromdichte ( $77,5 \pm 7,0$  mA bzw.  $65,9 \pm 12$  mA) induzierte einen Spontanschmerz, der auf einen Wert von 6 auf einer Skala von 0 bis 10 (Numerische Rating-Skala – NRS, 0 = kein Schmerz, 10 = stärkster vorstellbarer Schmerz) eingeregt wurde [3]. Gleichzeitig wurden durch die Stimulation stabile Hyperalgesie- und Allodynieareale erzeugt, welche auf zentralen Sensibilisierungsvorgängen beruhen [3]. In zwei Sitzungen von jeweils 100 Minuten Dauer wurden die Schmerzwerte und Hyperalgesie- und Allodynieareale vor und nach einer kontinuierlichen oralen Einnahme über 10 Tage von täglich 20mg Rimonabant, einem spezifischen CB1-Rezeptorantagonisten, bzw. täglich einer Placebotablette, wiederholt in regelmäßigen Abständen bestimmt. In der zweiten Sitzung wurden unabhängig vom NRS-Rating die gleichen Stimulationsstromstärken wie in der ersten Sitzung verwendet, um identische Untersuchungsbedingungen zu gewährleisten und veränderte Schmerzintensitäten erfassen zu können. Analgetische und antihyperalgesische Effekte, ermittelt als „area under the curve“ (AUC) der NRS-Ratings bzw. der Hyperalgesie- und Allodynieflächen über der Zeit, wurden mittels gepaarten T-Tests verglichen, ein Signifikanzniveau von  $P \leq 0,05$  wurde als signifikant festgelegt.

#### Ergebnisse

Rimonabant hatte keinen Einfluss auf die Schmerzratings unter elektrischer Stimulation (AUC:  $445 \pm 27$  min versus  $436 \pm 37$  min, MW  $\pm$  SEM;  $-2,0 \pm 5,7\%$ ,  $P = 0,75$ ). Im Gegensatz dazu wurden ►

- die Hyperalgesie- und Allodyniefächen in der Rimonabantgruppe signifikant verringert (AUCHyperalgesie:  $4389 \pm 601 \text{ cm}^2 \cdot \text{min}$  vs.  $2361 \pm 402 \text{ cm}^2 \cdot \text{min}$ ;  $46,3 \pm 5,2\%$ ,  $P < 0,05$ ; AUCAllodynie:  $3919 \pm 735 \text{ cm}^2 \cdot \text{min}$  vs.  $2126 \pm 329 \text{ cm}^2 \cdot \text{min}$ ;  $42,6 \pm 5,0\%$ ,  $P < 0,05$ ) (Abb. 1).

#### Interpretation

Wir konnten in der vorliegenden Studie erstmals eine Reduktion zentral vermittelten Sensibilisierung durch einen CB1-Rezeptorantagonisten in einem experimentellen Schmerzmodell am Menschen nachweisen (Abb. 1). Die Ergebnisse ordnen Endocannabinoiden eine neue präsynaptische Funktion auf der Ebene spinaler Hinterhornneurone zu, die die analgetische Effizienz systemisch verabreichter Cannabinoid-Rezeptoragonisten limitieren könnte.

#### Literatur

1. Zeilhofer HU. The glycinergic control of spinal pain processing. *Cellular Molecular Life Sciences* 2005;62(18):2027-2035.
2. Chevaleyre V, Takahashi KA, Castillo PE. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Ann Rev Neuroscience* 2006;29:37-76.
3. Koppert W, Dern SK, Sittl R, Albrecht S, Schüttler J, Schmelz M. A New Model of Electrically Evoked Pain and Hyperalgesia in Human Skin. *Anesthesiology* 2001;95: 395-402.

Korrespondenzadresse: Joerg.Filtz@kfa.imed.uni-erlangen.de

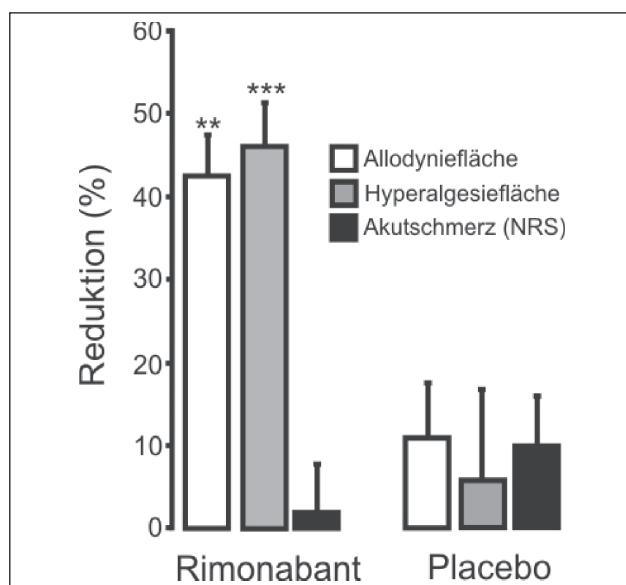


Abb. 1: Prozentuale Reduktionen von Allodynie, Hyperalgesie und Akutschmerz, Rimonabant versus Placebo.

## Endotoxin reduziert die Verfügbarkeit humaner spannungsgesteuerter skelettmuskulärer Natriumkanäle (NaV1.4)

N. Foadi<sup>1</sup>, E. Wiegand<sup>1</sup>, J. Ahrens<sup>1</sup>, K. Krampfl<sup>2</sup>, R. Dengler<sup>2</sup>, M. Leuwer<sup>3</sup> und G. Haeseler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie,

<sup>2</sup> Neurologie und Klinische Neurophysiologie,  
Medizinische Hochschule Hannover

<sup>3</sup> Department of Anaesthesia, University of Liverpool, U.K.

#### Fragestellung

Bei der Critical Illness Myopathie (CIM) konnte sowohl im Tiermodell als auch bei Patienten eine verringerte Erregbarkeit der Muskelmembran als charakteristische elektrophysiologische Veränderung nachgewiesen werden [1]. Diese Studie hat zum Ziel,

eine direkte Interaktion von Lipopolysaccharid (LPS) von *E. coli* (Endotoxin), dem Zellwandbestandteil des häufigsten gramnegativen Sepsiserregers, mit spannungsgesteuerten skelettmuskulären Natriumkanälen des Menschen invitro zu untersuchen.

#### Methodik

Die  $\alpha$ -Untereinheit des skelettmuskulären Natriumkanals NaV 1.4 wurde stabil in human-embryonic-kidney (HEK)-293-Zellen transfiziert. Nach Depolarisation der Membran wurden Natrium-Einwärtsstöße mittels der Patch-Clamp-Technik in der Whole-cell-Konfiguration untersucht. Die Pulsprotokolle wurden so gewählt, dass der Effekt von LPS getrennt untersucht wurde auf

- 1) Spitzstrom, schnelle Aktivierung und Zeitverlauf der Inaktivierung bei Depolarisation von  $-100 \text{ mV}$  auf  $0 \text{ mV}$ ;
- 2) die Spannungsabhängigkeit der schnellen Inaktivierung durch  $100 \text{ ms}$  Vorpulse auf depolarisierte Haltepotentiale von  $-150$  bis  $-5 \text{ mV}$  in  $5 \text{ mV}$ -Schritten;

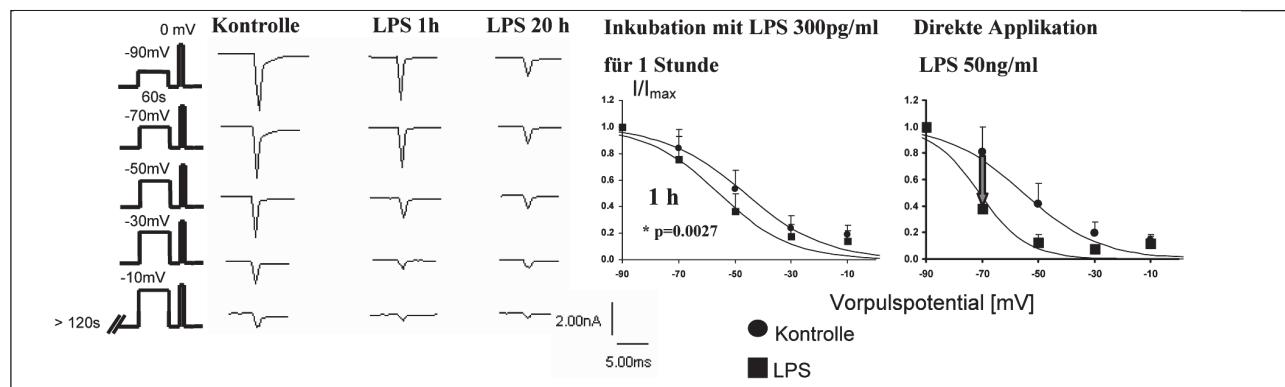


Abb. 1: Reduktion der Kanalverfügbarkeit durch LPS. Linke Seite: Repräsentative Einwärtsströme nach Depolarisation von dem angegebenen Präpulspotential auf  $0 \text{ mV}$  in Bad (linke Spalte), nach einer Stunde (mittlere Spalte) und nach 20 Stunden (rechte Spalte) Inkubation mit  $300 \text{ pg/ml}$  LPS. Rechte Seite: Spannungsabhängige Reduktion der Spitzstromamplitude ( $MW \pm SD$ ) durch LPS nach einstündiger Inkubation mit  $300 \text{ pg/ml}$  (linkes Diagramm,  $n=10$ ) und während akuter Applikation von  $50 \text{ ng/ml}$  LPS (rechtes Diagramm,  $n=8$ ).

- 3) die Spannungsabhängigkeit der langsamen Inaktivierung durch 60 s Vorpulse von -90 mV bis -10 mV in 20 mV-Schritten. Der Effekt von LPS von *E. coli* Serotyp O55:B5 wurde zum einen unter akuter Applikation in Konzentrationen von 50 ng/ml bis 5 µg/ml LPS mit Ausgangskontrolle und Auswasch in Badlösung an 6-10 Zellen pro Konzentration untersucht. Zum anderen erfolgte eine ein- und eine zwanzigstündige Inkubation mit einer klinisch relevanten Konzentration (300 pg/ml LPS). Der Effekt der Inkubation (n = 31 Zellen) wurde gegenüber allen Ausgangskontrollen (n = 41 Zellen) mit dem T-Test für unverbundene Stichproben am Signifikanzniveau  $p < 0.05$  auf statistische Signifikanz geprüft.

#### Ergebnisse

Bei Depolarisation, ausgehend von hyperpolarisierten Membranpotentialen, blieb die Kinetik der Kanalaktivierung und -inaktivierung durch LPS unbeeinflusst, die Spitzstromamplitude war bei LPS >5 µg/ml reversibel reduziert von  $3,2 \pm 1,3$  nA auf  $1,9 \pm 1,3$  nA. Wurden jedoch Kanäle durch definierte Vorpulse inaktiviert, verringerte LPS bereits in niedrigeren Konzentrationen ( $\geq 50$  ng/ml) die Kanalverfügbarkeit mit zunehmender Depolarisation. Diese Membranpotential-abhängige Reduktion der Kanalverfügbarkeit war bei direkter Applikation von LPS partiell reversibel und führte zu einer Verschiebung der Spannungsabhängigkeit der langsamen und der schnellen Inaktivierung von maximal -25 mV. Einstündige Inkubation mit 300 pg/ml LPS reproduzierte den Effekt auf die

langsame ( $p=0,0027$ ), nicht jedoch auf die schnelle Inaktivierung. Zwanzigstündige Inkubation mit 300 pg/ml LPS führte zu einer signifikanten Reduktion der Spitzstrom-Amplitude bei -100 mV ohne nachweisbare Spannungsabhängigkeit ( $-3,4 \pm 1,3$  in allen Ausgangskontrollen,  $-1,3 \pm 0,7$  nA nach 20 Stunden Inkubation;  $p=0,002$ ).

#### Interpretation

Die vorliegende Studie zeigt, dass LPS bei akuter Applikation die Kanalverfügbarkeit reversibel reduziert. Dieser Effekt wird durch Depolarisation der Membran begünstigt. Nach zwanzigstündiger Inkubation in einer klinisch relevanten Konzentration führt LPS zu einer Membranpotential-unabhängigen Verminderung der Kanalverfügbarkeit. Eine direkte Interaktion von LPS mit spannungsgesteuerten Natriumkanälen könnte an der beschriebenen reduzierten Erregbarkeit von Muskelmembranen in der Sepsis beteiligt sein und damit eine Bedeutung in der Pathogenese der CIM haben [2].

#### Literatur

1. Rich MM, Bird SJ, Raps EC, et al. Direct muscle stimulation in acute quadriplegic myopathy. *Muscle Nerve* 1997;20(6):665-673.
2. Rossignol B, Gueret G, Pennec J-P, et al. Effects of chronic sepsis on the voltage-gated sodium channel in isolated rat muscle fibers. *Crit Care Med* 2007;35(2):351-357.

Korrespondenzadresse: Foadi.Nilufar@MH-Hannover.de

## Biologische und klinische Bedeutung veränderter G( $\alpha$ s)-Expression im menschlichen Herzen

U.H. Frey

Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen

#### Einleitung

Transgene Mäuse mit G $\alpha$ s-Überexpression zeigen verstärkte Inotropie und Chronotropie auf sympathoadrenerge Stimulation, entwickeln jedoch eine Kardiomyopathie [1], wobei chronische  $\beta$ -Adrenorezeptor-Blockade ( $\beta$ AR-Blockade) linksventrikuläre Dilatation und Funktionsminderung abschwächt [2]. Wir prüften die Hypothese, dass natürlich vorkommende Varianten in regulatorischen Domänen des humanen G $\alpha$ s kodierenden GNAS-Gens a) G $\alpha$ s-Expression, b) G $\alpha$ s-vermittelte Signaltransduktion und c) klinischen Phänotyp verändern.

#### Methoden

Die Sequenzierung des GNAS-Promoters erfolgte nach PCR-Amplifizierung mittels „Slowdown“-PCR-Technik [3]. Genotypen der identifizierten Polymorphismen wurden durch Pyrosequencing bestimmt, die Promoteraktivität mit dem alkalischen Phosphatase-Reporter-Assay (pSEAP) in HEK-293-Zellen. Nach Zustimmung der Ethikkommission wurden prospektiv 138 Patienten unter chronischer  $\beta$ AR-Blockade eingeschlossen, die sich einer elektiven aortokoronaren Bypass-OP unterzogen. NT-proBNP wurde mittels polyklonalen Antikörpers gegen den N-terminalen BNP-Anteil gemessen. Vor Hautschnitt wurden hämodynamische Messwerte ermittelt sowie rechte Herzohren vor Kannüllierung gewonnenen. Die G $\alpha$ s-mRNA-Quantifizierung erfolgte mittels real-time-PCR. Zur Bestimmung der Adenylyl-Cyclase (AC)-Aktivität wurden Zellmembranen aus Herzohren präpariert und Proteine mit 500  $\mu$ M [ $\alpha$ - $^{32}$ P]-ATP in Anwesenheit von Isoprenalin (ISO, 100  $\mu$ M,  $\beta$ AR-vermittelte AC-Aktivierung) oder Forskolin (FOR, 100  $\mu$ M, Rezeptor unabhängige AC-Aktivierung) inkubiert. Die AC-Aktivität wurde als Konversion von [ $^{32}$ P]-ATP zu [ $^{32}$ P]-cAMP mittels sequentieller Chromatographie quantifiziert. Haplotypen wurden mit

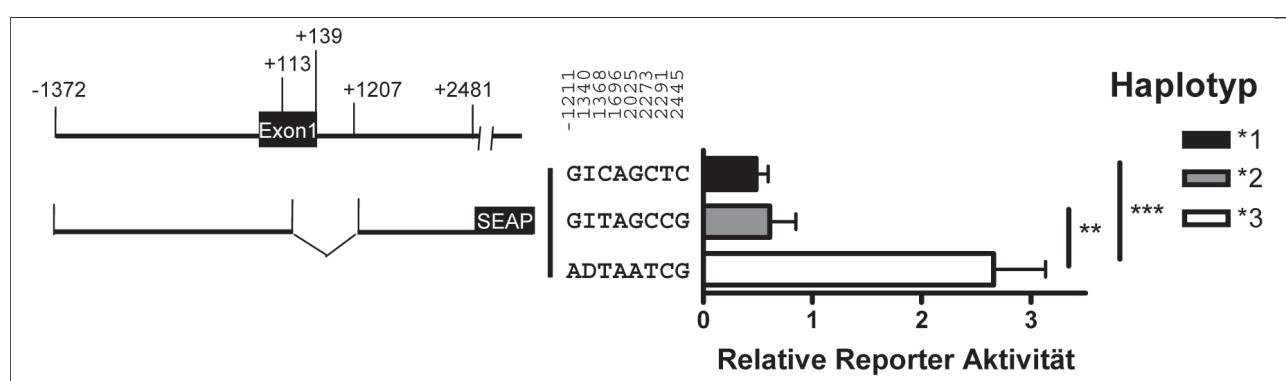


Abb. 1

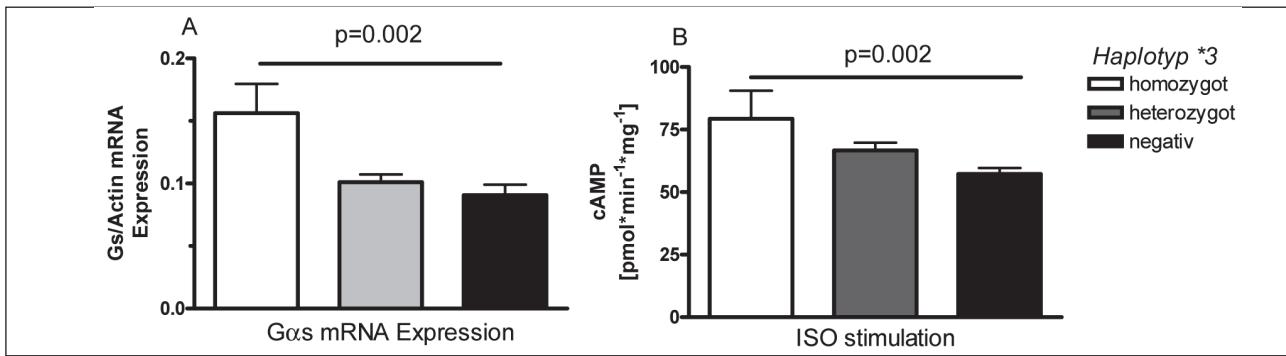


Abb. 2

► der Software HaploView bestimmt. Statistik: kontinuierliche Variablen wurden mittels ANOVA, kategoriale Variablen mittels Chi<sup>2</sup>-Test verglichen,  $p<0.05$ .

#### Ergebnisse

Wir sequenzierten sowohl den kompletten GNAS-Promoter als auch Intron-1 und identifizierten 8 „single nucleotide polymorphisms“, die drei häufige Haplotypen bildeten. Haplotyp \*3-Konstrukte zeigten höhere Reporteraktivität im Vergleich zu Haplotyp \*1- und \*2-Konstrukten (Abb. 1). Diese unterschiedliche Reporteraktivität hatte Auswirkung auf die Genexpression: homozygote \*3-Träger (\*3/\*3) zeigten eine 50 % höhere Gαs-mRNA-Expression als heterozygote (\*3/-) und negative (-/-) Träger (Abb. 2A) sowie die höchste AC-Aktivität nach ISO-Stimulation (Abb. 2B).

Direkte AC-Stimulation mit FOR zeigte dagegen keinen Haplotyp-spezifischen Effekt. Der Herzindex war ebenfalls höher ( $2.2\pm0.7$  l min<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> vs.  $1.9\pm0.5$  vs.  $1.8\pm0.5$ ;  $p=0.017$ ) und die NT-proBNP-Werte niedriger ( $339\pm337$  pg/ml vs.  $746\pm840$  vs.  $2169\pm4183$ ;  $p=0.005$ ). Bei einer mittleren Intensivstationsverweildauer von 4.5

Tagen betrug die Letalität bei \*3/\*3-Trägern 0 %, bei \*3/-Trägern 1.6 % und bei -/-Trägern 10.9 % ( $p=0.018$ ).

#### Zusammenfassung

Der GNAS-Haplotyp beeinflusst Gαs-Expression, β-adrenerge Signaltransduktion sowie kardiale Pumpfunktion und perioperative Letalität. Unsere Ergebnisse stellen somit erstmals einen direkten Zusammenhang zwischen Gαs-Expression und Herzfunktion beim Menschen her und belegen damit einen wichtigen biologischen und klinischen Einfluss des GNAS-Haplotyps.

#### Literatur

1. Iwase M, et al. Cardiomyopathy induced by cardiac Gs alpha overexpression. *Am J Physiol* 1997;272:H585-H589.
2. Asai K, et al. Beta-adrenergic receptor blockade arrests myocyte damage and preserves cardiac function in the transgenic G(salpha) mouse. *J Clin Invest* 1999;104:551-558.
3. Bachmann HS, Siffert W, Frey UH. Successful amplification of extremely GC-rich promoter regions using a novel 'slowdown PCR' technique. *Pharmacogenetics* 2003;13:759-766.

Korrespondenzadresse: ulrich.frey@uk-essen.de

## Inhalatives Kohlenmonoxid vermittelt protektive Wirkungen in der Lunge von Schweinen während des kardiopulmonalen Bypasses durch die Induktion von Hitzeschockproteinen

U. Goebel<sup>1</sup>, M. Siepe<sup>2</sup>, A. Mecklenburg<sup>1</sup>, H.L. Pahl<sup>1</sup>, C. Schliensak<sup>2</sup> und T. Loop<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Anaesthesiologische Universitätsklinik,

<sup>2</sup> Chirurgische Universitätsklinik, Abt. Herz- und Gefäßchirurgie, Universitätsklinikum Freiburg, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau

#### Fragestellung

Inhalatives Kohlenmonoxid (CO) besitzt sowohl antiinflammatorische als auch antiapoptotische und zytoprotektive Eigenschaften [1]. Eigene Untersuchungen konnten zeigen, dass die Inhalation von CO vor Anlage eines kardiopulmonalen Bypasses bei Schweinen zu einer Reduktion der inflammatorischen Antwort in der Lunge führt [2]. Darüber hinaus konnte eine Induktion der Hitzeschockantwort durch inhalatives CO in der Lunge nachgewiesen werden [3]. Ziel der Untersuchung war die Klärung, ob die Expression von Hitzeschockproteinen (HSP) für die protektiven Effekte von inhalativem CO in der Lunge von Schweinen während des kardiopulmonalen Bypasses verantwortlich ist.

#### Methodik

Nach Genehmigung des Regierungspräsidiums wurden Schweine der Deutschen Landrasse ( $30 \pm 1.5$  kg) mit Fentanyl und Propofol

anästhesiert, mit Cis-Atracurium relaxiert, kontrolliert beatmet ( $FiO_2 = 0.5$ , PEEP = 5 cm H<sub>2</sub>O,  $V_t = 8$  ml/kg,  $f/min = 14$ ) und invasiv hämodynamisch überwacht (u.a. Swan-Ganz-Katheter). Die Tiere wurden in 6 Gruppen randomisiert: Scheinoperierte Tiere: [SCHEIN, n=3]; kardiopulmonaler Bypass: [CPB, n=7]; kardiopulmonaler Bypass und präoperative Inhalation von CO [250 ppm, 1 h]: [CPB+CO, n=7]; eine jeweils präoperative Behandlung der Tiere jeder Gruppe mit 500 mg/kg KG i.v. Quercetin (Q), einem unspezifischen Inhibitor der Hitzeschockantwort ([SCHEIN+Q, n=3], [CPB+Q, n=7] und [CPB+CO+Q, n=7]). Die Tiere der CPB-Gruppen wurden für 2 h an eine Herz-Lungenmaschine (Stöckert, München) angeschlossen und anschließend für weitere 2 h überwacht. In den Gruppen CPB+CO und CPB+CO+Q erfolgte nach endotrachealer Intubation die Inhalation von CO bis zum Beginn des CPB. Zu den Messzeitpunkten (Ausgangswert, 10 min + 120 min CPB, 15, 60 + 120 min post CPB) wurden Gewebeproben der Lunge entnommen. Die Analyse des Hitzeschockfaktors (HSF) -1 erfolgte mittels 'Electrophoretic mobility shift assay' (EMSA). Die Expressionen von IL-6, IL-10 und HSP-70 wurden mittels 'Enzyme linked immunosorbent assay' (ELISA) untersucht. Zur Darstellung pathologischer Veränderungen im Lungengewebe wurden histologische Präparate angefertigt und mit Hämatoxilin-Eosin und immunhistochemisch mit Antikörpern gegen Makrophagen, IL-6 und HSP-70 untersucht. Die Messwerte wurden statistisch durch eine Varianzanalyse (ANOVA mit Post-hoc-Holm-Sidak-Test) verglichen (Signifikanzniveau  $p<0.05$ ; Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung).

#### Ergebnisse

Die Aktivierung von HSF-1 durch inhalatives CO konnte durch

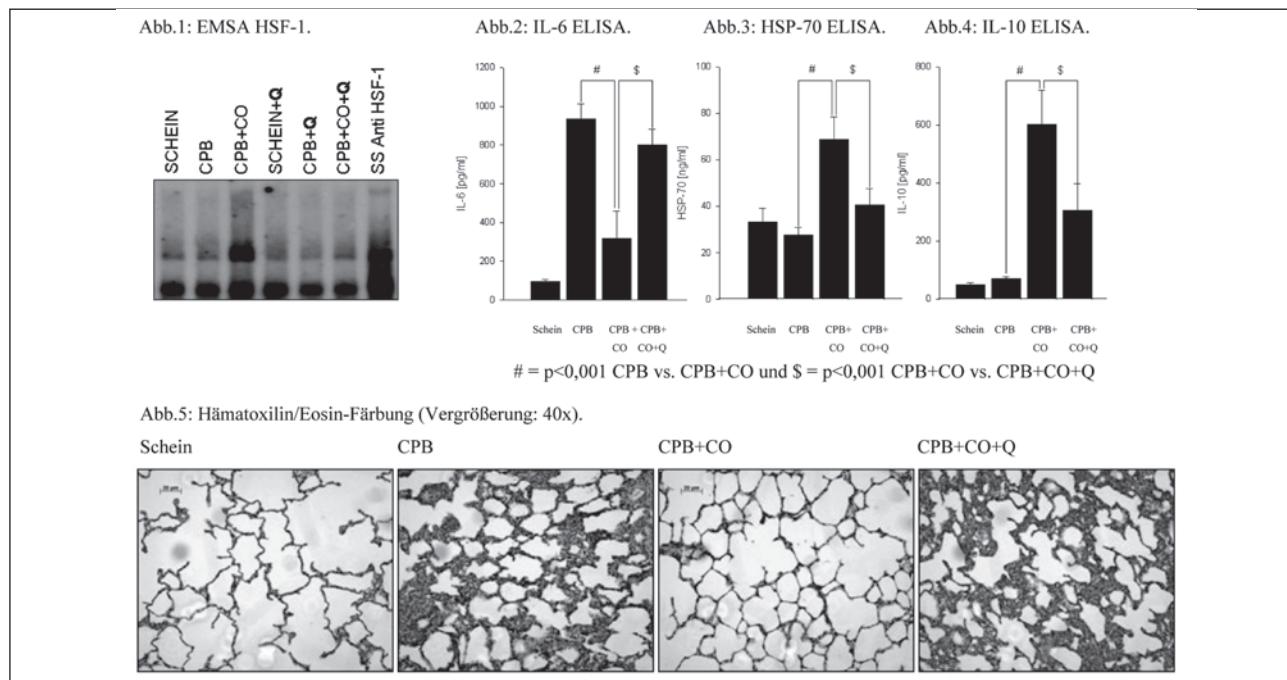


Abb. 1-5

► die Applikation von Q inhibiert werden (Abb. 1). Die Hemmung der IL-6 Expression durch inhalatives CO wurde durch Q aufgehoben (Abb. 2: CPB+CO vs. CPB+CO+Q,  $p<0,001$ ; 120 min post CPB). Die Expression von HSP-70 und IL-10 zum Zeitpunkt 120 min post CPB wurde durch Q signifikant vermindert (Abb. 3 HSP-70: CPB+CO vs. CPB+CO+Q,  $p<0,001$  und Abb. 4 IL-10: CPB+CO vs. CPB+CO+Q,  $p<0,001$ ). Die histologische Aufarbeitung der Lunge zeigte die Reduktion des pulmonalen Schadens durch inhalatives CO anhand des verminderten pulmonalen Ödems und der geringeren Anzahl an Atelektasen. Diese CO-vermittelten Effekte konnten wiederum durch die Applikation von Q aufgehoben werden (Abb. 5).

### Interpretation

Die Induktion von HSP durch inhalatives CO ist für die protektiven Effekte von CO in der Lunge von Schweinen während des kardio-pulmonalen Bypasses verantwortlich.

Dieses Projekt wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt (DFG SCHL 604/1-1).

### Literatur

1. PNAS 2007;104(12):5109-5114.
2. Anesthesiology 2008 (in press).
3. Anästh Intensivmed 2007;48(Suppl):S13-S14.

Korrespondenzadresse: ulrich.goebel@uniklinik-freiburg.de

## Xenon reduziert im präfrontalen Kortex vitaler Mäuse-Hirnschnittpräparate die exzitatorische synaptische Transmission über postsynaptische Mechanismen

R. Haseneder<sup>1</sup>, S. Kratzer<sup>1</sup>, E. Kochs<sup>1</sup>, W. Ziegglänsberger<sup>2</sup> und G. Rammes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum rechts der Isar, Technische Universität München

<sup>2</sup> Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München

### Fragestellung

Die Mechanismen, über die Xenon (Xe) seine anästhetischen und analgetischen Eigenschaften vermittelt, sind bislang umstritten [1]. Bisherige Studien hierzu beschränken sich auf die Untersuchung von verschiedenen Anästhesie-relevanten Ionenkanälen in isolierten Expressionssystemen [2] oder Zellkulturen [3]. In unserer Arbeit wurde die Wirkung von Xe auf die synaptische Transmission in einem komplexeren neuronalen System, nämlich im vitalen Mäuse-Hirnschnittpräparat des präfrontalen Kortex, untersucht.

### Methodik

In sagittalen Mäuse-Hirnschnittpräparaten wurden Neurone in der Lamina V des präfrontalen Kortex mit Hilfe der Infrarotmikroskopie

visualisiert. Von diesen Neuronen wurden mit Patch-Clamp-Technik Rezeptor-vermittelte Ströme abgeleitet, die durch elektrische Stimulation afferenter Fasern oder durch Laser-induzierte, photolytische Transmitterfreisetzung hervorgerufen wurden. Die durch die spezifischen Rezeptoren vermittelten Einzelkomponenten der Stromantworten wurden pharmakologisch isoliert. Um Xenon in klinisch relevanter Konzentration zu applizieren, wurden die Hirnschnitte mit einem Medium perfundiert, welches mit 65 Vol% Xe (Rest: 30 Vol% O<sub>2</sub>, 5 Vol% CO<sub>2</sub>) gesättigt war. Unter Kontrollbedingungen wurde das Medium mit 65 Vol% N<sub>2</sub>, 30 Vol% O<sub>2</sub> und 5 Vol% CO<sub>2</sub> gesättigt.

### Ergebnisse

Im Vergleich zur Kontrolle wurden die exzitatorischen Summenantworten durch Xe (1,9 mM) auf  $70,1 \pm 10,3\%$  reduziert. Xe hatte keinen Effekt auf GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-vermittelte postsynaptische Ströme. NMDA-Rezeptor-vermittelte postsynaptische Ströme wurden auf das gleiche Niveau ( $57,7 \pm 4,4\%$ ) reduziert, wie NMDA-Rezeptor-vermittelte Stromantworten, die durch photolytische Transmitterfreisetzung – und damit von der präsynaptischen Terminale unabhängig – ausgelöst wurden ( $58,6 \pm 3,6\%$ ;  $p > 0,05$ ). Ebenso reduzierte Xe AMPA-Rezeptor-vermittelte postsynaptische Ströme und AMPA-Rezeptor-induzierte Stromantworten auf photolytische Freisetzung auf das gleiche Niveau ( $66,9 \pm 4,1\%$  vs.  $63,7 \pm 2,9$ ;  $p > 0,05$ ). Stimulations-unabhängige, postsynapti-

► sche AMPA-Rezeptor-vermittelte „miniature“-Stromantworten wurden durch Xe zwar in ihrer Amplitude, nicht jedoch in ihrer Frequenz reduziert.

#### Interpretation

Die bisherige Annahme, dass Xe mehr die exzitatorische und weniger die inhibitorische synaptische Übertragung beeinflusst, konnte durch unsere Ergebnisse bestätigt werden. Erstmals konnten wir innerhalb eines vitalen Hirnschnittpräparates zeigen, dass nicht nur die NMDA-Rezeptor-, sondern auch die AMPA-Rezeptor-vermittelte synaptische Transmission im präfrontalen Kortex durch Xe stark vermindert wird. Unsere Ergebnisse sprechen dabei für einen hauptsächlich postsynaptischen Mechanismus.

#### Literatur

1. Preckel B, Weber NC, Sanders RD, Maze M, Schlack W. Molecular mechanisms transducing the anesthetic, analgesic, and organ-protective actions of xenon. *Anesthesiology* 2006;105:187-197.
2. Yamakura T, Harris RA. Effects of gaseous anesthetics nitrous oxide and xenon on ligand-gated ion channels. Comparison with isoflurane and ethanol. *Anesthesiology* 2000;93:1095-1101.
3. Franks NP, Dickinson R, de Sousa SL, Hall AC, Lieb WR. How does xenon produce anaesthesia? *Nature* 1998;396:324.

Korrespondenzadresse: haseneder@mpipsykl.mpg.de ■

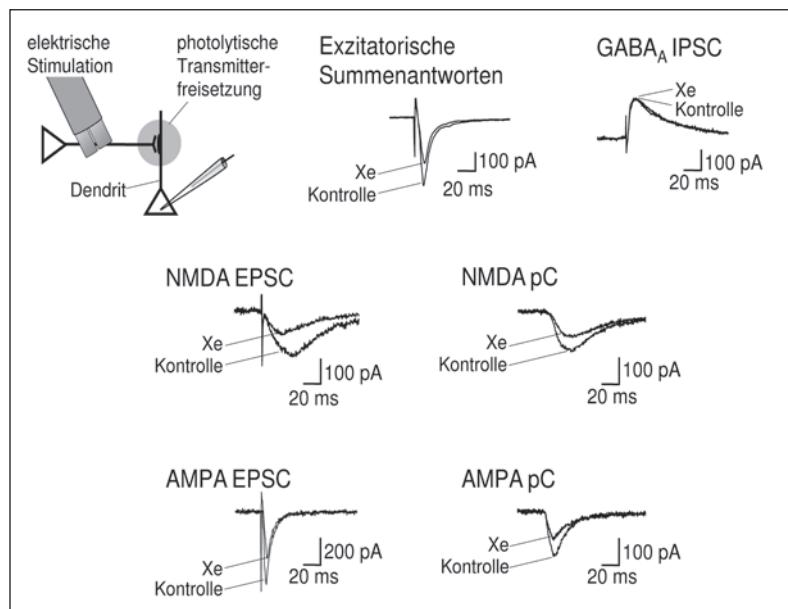


Abb. 1: Schematische Darstellung von elektrischer Stimulation und photolytischer Transmitterfreisetzung sowie Xe-Wirkung auf einzelne Stromantworten. IPSC = inhibitorischer, EPSC = exzitatorischer postsynaptischer Strom. pC = durch photolytische Transmitterfreisetzung hervorgerufene Stromantwort.

## Die prophylaktische Inhalation von Interleukin-22 induziert SOCS3 und kann den experimentellen, beatmungsinduzierten Lungenschaden (VILI) der Ratte vermindern

S. Hoegl<sup>1</sup>, M. Bachmann<sup>2</sup>, P. Scheiermann<sup>1</sup>, I. Goren<sup>2</sup>, B. Zwissler<sup>1</sup> und H. Muhl<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München  
<sup>2</sup> pharmazentrum/ZAFES, Klinikum der J.W.-Goethe Universität, Frankfurt am Main

### Fragestellung

Die mechanische Beatmung mit hohen Beatmungsdrücken (Barotrauma) kann zu einem beatmungsinduzierten Lungenschaden (ventilator-induced lung injury, VILI) führen. Hierbei kommt es u.a. zur intrapulmonalen Aktivierung der Entzündungskaskade (Biotrauma). Interleukin (IL)-22 ist ein Mitglied der IL-10-Zytokinfamilie mit primärer Wirkung auf ortsständige, nichtleukozytäre Zellen und scheint eine wichtige Rolle bei der unspezifischen Immunantwort zu spielen [1]. Die immunmodulierende Wirkung von IL-22 ist hierbei u.a. über den STAT3/SOCS3-Signalweg vermittelt. Zum einen besitzt IL-22 bei akuter Hepatitis protektive Eigenschaften, zum anderen wirkt es bei experimenteller Sepsis proinflammatorisch [2,3]. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die Effekte einer pulmonalen Applikation von IL-22 bei VILI zu untersuchen.

### Methodik

Nach Genehmigung durch die Tierversuchskommission erfolgte die Untersuchung an 18 narkotisierten (Fentanyl/Pentobarbital, i.v.), kontrolliert beatmeten Sprague-Dawley-Ratten ( $\delta$ ,  $535 \pm 80$  g). Nach Tracheotomie sowie Kanülierung der Leistengefäße wurden die Tiere zufällig 2 Versuchsgruppen (je  $n=9$ ) zugeteilt: VILI: Induktion eines mechanischen Lungenschadens durch 20 min Beatmung mit  $p_{max}$ : 45 mbar, PEEP: 0, f: 30/min,  $FIO_2$ : 0,21, I:E=1:1; IL-22: vor VILI-Induktion 40 min Jet-Vernebelung von IL-22 (10  $\mu$ g/kgKG). Vor und nach VILI-Induktion Beatmung der Tiere mittels eines neonatologischen Beatmungsgerätes (Stephanie®,  $p_{max}$ : 20 mbar, PEEP: 4 mbar, I:E=1:2). Nach einem maximalen Beobachtungszeitraum von 4 h nach Schädigung wurden die Tiere exsanguiniert und anhand des Ausmaßes von Einblutungen und Infarzierung der makroskopische Lungenscore (0-16) bestimmt. Um eine einheitliche, vergleichbare Entzündungsantwort zu erreichen, wurden weiterführende Untersuchungen nur bei Tieren durchgeführt, die mindestens 1 h nach VILI-Induktion überlebten

( $n_{1-4h}$ ). Hierfür wurden immunhistochemische Lungenschnitte angefertigt sowie Protein und mRNA aus homogenisierten Lungenproben isoliert.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels Rangsummentest bzw. Log-Rank-Test,  $p<0,05$ , Angabe der Ergebnisse als Median [Semi-IQR] bzw. Box Plots [1./3. Quartil].

### Ergebnisse

Die Inhalation von IL-22 verlängerte die 4 h-Überlebensrate (Abb. 1) und reduzierte die makroskopisch sichtbare Lungenschädigung (Lungenscore: 11[3,0] vs. 15[1,5],  $p=0,008$ ). Gleichzeitig führte IL-22-Aerosol im Lungengewebe zur Phosphorylierung von STAT3 sowie zu vermehrter Expression von SOCS3 auf mRNA- und Proteinebene (Abb. 2 und 3).

Die immunhistochemischen Lungenschnitte der IL-22-Gruppe zeigten eine vermehrte Anti-pSTAT3-Antikörper-Bindung an Epithelzellen (Abb. 4, Pfeile).

### Interpretation

Die prophylaktische Inhalation von Interleukin-22 schützt vor dem beatmungsinduzierten Lungenschaden der Ratte und verlängert das Überleben. Diese antiinflammatorische und protektive Wirkung von IL-22 bei VILI ist möglicherweise über eine STAT3-Phosphorylierung und konsekutive Hochregulation des negativen Feedbackregulators SOCS3 in den Lungenepithezellen vermittelt.

### Literatur

1. Nagalakshmi ML, Raschke A, Zurawski S, Menon S, de Waal MR. Interleukin-22 activates STAT3 and induces IL-10 by colon epithelial cells. *Int Immunopharmacol* 2004;4:679-691.
2. Radaeva S, Sun R, Pan HN, Hong F, Gao B. Interleukin 22 (IL-22) plays a protective role in T cell-mediated murine hepatitis: IL-22 is a survival factor for hepatocytes via STAT3 activation. *Hepatology* 2004;39:1332-1342.
3. Weber GF, Schlautkotter S, Kaiser-Moore S, Altmayr F, Holzmann B, Weighardt H. Inhibition of interleukin-22 attenuates bacterial load and organ failure during acute polymicrobial sepsis. *Infect Immun* 2007;75:1690-1697.

Korrespondenzadresse: Sandra.Hoegl@med.uni-muenchen.de

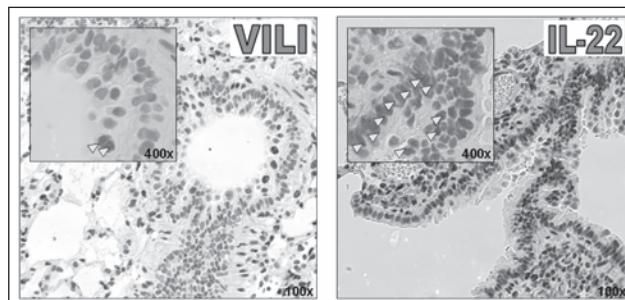


Abb. 4: Immunhistochemie gegen pSTAT3, Lunge.

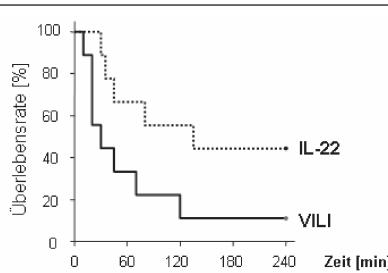


Abb. 1 Kaplan-Meier-Überlebenskurve, Log Rank Test,  $p=0,047$

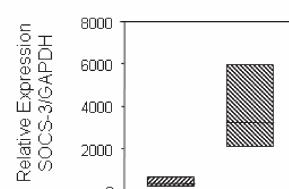


Abb. 2 Densitometrische Auswertung des mRNA-Expressionverhältnisses SOCS-3 / GAPDH,  $p=0,024$ ,  $n_{1-4h}$

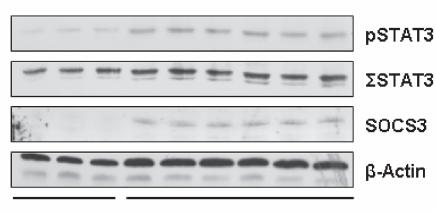


Abb. 3 Western Blots, Lungenhomogenat,  $n_{1-4h}$

Abb. 1-3

## Helium induziert späte Präkonditionierung im Rattenherzen in vivo

**R. Huhn, A. Heinen, N. C. Weber, S. Hieber, M. W. Hollmann, W. Schlack und B. Preckel**

Labor für Experimentelle Intensivmedizin und Anästhesiologie (L.E.I.C.A.), Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Amsterdam, Universität Amsterdam, Niederlande

### Fragestellung

Sowohl volatile Anästhetika [1] als auch das Edelgas Xenon [2] induzieren eine Myokardprotektion durch späte Präkonditionierung (SPC), die über die Cyclooxygenase 2 (COX-2) vermittelt wird. Eine aktuelle Arbeit zeigt, dass auch das nicht-anästhetische Edelgas Helium eine frühe Präkonditionierung des Herzens in-vivo induziert [3]. Aus eigenen, noch unpublizierten Daten wissen wir, dass es bei einer frühen Präkonditionierung mit Helium zu einer Entkopplung der mitochondrialen Funktion kommt.

Wir untersuchten 1), ob Helium eine späte Präkonditionierung induziert; 2) ob ein möglicher Effekt konzentrationsabhängig ist und 3), ob der Protektionsmechanismus auf einer erhöhten COX-2-Expression und/oder einer Entkopplung der mitochondrialen Funktion basiert. Zudem untersuchten wir 4) in einer zweiten Studie, ob eine wiederholte Helium-Inhalation an aufeinanderfolgenden Tagen in einer gesteigerten Myokardprotektion resultiert.

### Methodik

Mit Zustimmung der örtlichen Tierschutzkommission wurde bei Chloralose-anästhesierten Wistar-Ratten ein Hauptast der linken Koronararterie für 25 min okkludiert, gefolgt von 2 h Reperfusion. Am Versuchsende wurde die Infarktgröße mittels Tripheyltriazolumchlorid-Färbung bestimmt.

In der ersten Studie wurden die Tiere in 4 Gruppen randomisiert. Die Kontrolltiere (Kon, n=8) blieben unbehandelt. In den Präkonditionierungsgruppen inhaillierten die Tiere 24 Stunden vor der infarktinduzierenden Ischämie für 15 Minuten 70 % Helium (He-SPC 70, n=12), 50 % Helium (He-SPC 50, n=7) oder 30 % Helium (He-SPC 30, n=7).

Basierend auf den Ergebnissen der ersten Studie wurde die zweite mit 30 % Helium durchgeführt. Die Tiere erhielten, randomisiert in 3 Gruppen, Helium an 3 Tagen (He-SPC 3x30, n=5), an 2 Tagen (He-SPC 2x30, n=6) oder an einem Tag (He-SPC 1x30, n=6) vor der infarktinduzierenden Ischämie.

Für Western-Blot-Untersuchungen und mitochondriale Funktionsanalysen wurden zusätzliche Experimente durchgeführt. Die Herzen wurden 0 (Kon), 6, 10 und 24 Stunden nach Heliumgabe entnommen. Die Mitochondrien wurden durch unterschiedliche Zentrifugationsschritte isoliert. Die mitochondriale Respiration wurde initiiert mit Gabe von 10 mmol/l Komplex-II-Substrat Succinat (+10 µmol/l Komplex-I-Blocker Rotenon) und als

Parameter der mitochondrialen Funktion analysiert. Der respiratorische Kontrollindex (RCI) wurde berechnet aus dem Quotienten aus Stadium 3 und Stadium 4. Im Western-Blot wurde die Expression von COX-2 gemessen.

Statistik: Student-t-test mit Bonferroni-Korrektur für Mehrfachvergleiche. Die Daten sind angegeben als Mittelwerte ± Standardabweichung.

### Ergebnisse

In der Kontrollgruppe betrug die Infarktgröße 55±8 % des Risikogebietes. Alle 3 Helium-Konzentrationen reduzierten die Infarktgröße (He-SPC 70: 37±13 %, He-SPC 50: 34±16 %, He-SPC 30: 40±9 %; jeweils P<0.05 vs. Kon). Die wiederholte Gabe von Helium an mehr als einem Tag vor der Myokardischämie führte zu keiner weiteren Steigerung der Myokardprotektion (He-SPC 3x30: 39±9 %, He-SPC 2x30: 38±10 %; P>0.05 vs. He-SPC 1x30: 37±11 %). Der RCI zeigte keine Unterschiede zu den verschiedenen Zeitpunkten verglichen mit der Kontrolle (He-SPC 6h: 2.8±0.1, He-SPC 10h: 2.8±0.1, He-SPC 24h: 2.8±0.2; jeweils P>0.05 vs. Kon: 2.8±0.2). Auch die Expression von COX-2 in der Cytosolfraktion (He-SPC 6h: 0.41±0.12, He-SPC 10h: 0.40±0.09, He-SPC 24h: 0.41±0.09; jeweils P>0.05 vs. Kon: 0.37±0.07) sowie in der Membranfraktion (He-SPC 6h: 0.55±0.20, He-SPC 10h: 0.59±0.37, He-SPC 24h: 0.61±0.27; P>0.05 vs. Kon: 0.69±0.21) zeigten keine signifikanten Unterschiede.

### Interpretationen

Diese Ergebnisse zeigen erstmalig, dass:

- 1) Helium eine späte Präkonditionierung in vivo induziert,
- 2) bereits 30% Helium zu einer maximalen Myokardprotektion in den von uns getesteten Konzentrationen führt,
- 3) die Helium-induzierte späte Myokardprotektion nicht über eine erhöhte COX-2-Expression oder eine mitochondriale Entkopplung vermittelt wird und
- 4) eine wiederholte Heliumgabe die Myokardprotektion nicht weiter steigern kann.

### Literatur

1. Tanaka K, Ludwig LM, Krolkowski JG, Alcindor D, Pratt PF, Kersten JR, et al. Isoflurane produces delayed preconditioning against myocardial ischemia and reperfusion injury: role of cyclooxygenase-2. *Anesthesiology* 2004;100:525–531.
2. Fraessdorf J, Weber NC, Ratajczak C, Schlack W, Preckel B. Xenon induces late preconditioning in rat heart in vivo - involvement of COX-II. *Eur J Anaesthesiol* 2006;23(Suppl 37):A2.
3. Pagel PS, Krolkowski JG, Hee Shim Y, Venkatapuram S, Kersten JR, Weihrauch D, et al. Noble Gases Without Anesthetic Properties Protect Myocardium Against Infarction by Activating Prosurvival Signaling Kinases and Inhibiting Mitochondrial Permeability Transition In Vivo. *Anesth Analg* 2007;105(3):562–569.

Korrespondenzadresse: R.Huhn@amc.uva.nl

## Gelatine 4% zeigt im Vergleich zu 6% HES 130/0,4 Störungen der Nierenfunktion bei der CLP-induzierten schweren Sepsis der Ratte

**J.T. Isbary<sup>1</sup>, M.A. Schick<sup>1</sup>, N. Schlegel<sup>2</sup>, A. Redel<sup>1</sup>, N. Roewer<sup>1</sup> und C. Wunder<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Würzburg

<sup>2</sup> Institut für Anatomie und Zellbiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

### Fragestellung

Die Induktion einer schweren Sepsis beim Kleintier durch Ligatur und Punktions des Coecums (CLP) hat einen erhöhten Volumenbedarf zur Folge [1]. Aktuelle Publikationen diskutieren einen Einfluss des Volumenersatzmittels Hydroxyäthylstärke (HES) auf die Entwicklung eines akuten Nierenversagens in der Sepsis [2]. Wir untersuchten die Auswirkungen von Gelatine 4 %, 6% Hydroxyäthylstärke 130/0,4, balancierter Vollelektrolytlösung (Stereofundin® Iso) und NaCl 0,9 %-Lösung als Volumenersatzmittel in der CLP-induzierten Sepsis auf die Nierenfunktion.

### Methodik

Nach behördlicher Genehmigung wurden 44 männliche Sprague-Dawley-Ratten ( $285 \pm 17$  g Körpergewicht (KG)) mit 1,5 Vol% Isofluran anästhesiert und instrumentiert. Die linke A. carotis wurde zur kontinuierlichen Blutdruckmessung, die rechte V. jugularis interna zur Infusionstherapie kanüliert. Nach der Präparation wurden die Tiere randomisiert einer der folgenden Volumetherapiegruppen zugeteilt. Gruppe 1 (n=7, Sham): 0,5 ml/100 g KG/h NaCl 0,9 %; Gruppe 2 (n=7, HES): 0,5 ml/100 g KG/h NaCl 0,9 % + 1 ml/100 g KG/h 6% HES 130/0,4; Gruppe 3 (n=7, Gel): 0,5 ml/100 g KG/h NaCl 0,9 % + 1 ml/100 g KG/h Gelatine 4 %; Gruppe 4 (n=7, Sterolso): 0,5 ml/100 g KG/h NaCl 0,9 % + 1 ml/100 g KG/h Sterofundin® Iso; Gruppe 5 (n=7, NaCl): 1,5 ml/100 g KG/h NaCl 0,9 %. Im Anschluss wurden alle Tiere laparotomiert und das Coecum der Tiere in den Gruppen 2-5 mobilisiert, abgebunden und zweifach mit einer 18G-Kanüle punktiert. Das Abdomen wurde verschlossen und die Narkose beendet. 24 h nach Laparotomie wurden die Tiere erneut mit Fentanyl/Dormicum anästhesiert, tracheotomiert und kontrolliert beatmet und nach Blutentnahme die Nieren entnommen. Als Maß für die Nierenfunktion wurden Kreatinin, Harnstoff sowie Cystatin C (ein Protein, welches komplett glomerulär filtriert, tubulär reabsorbiert und katabolisiert wird) im Serum bestimmt. Die Histologie der Nieren wurde in Hämatoxilin/Eosin gefärbten Schnitten quantifiziert. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Varianzanalyse (ANOVA mit post hoc n. Duncan,  $p < 0,05$ ; Mittelwert  $\pm$  SD).

### Ergebnisse

CLP-behandelte Tiere zeigten alle Zeichen einer schweren Sepsis. Die Sterblichkeit dieser Tiere lag nach 24 h bei 18 %. Es fanden sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich Blutdruck, ZVD und Herzfrequenz. Auch pH-Wert,  $\text{HCO}_3^-$ , Laktat sowie MCV unterschieden sich zu Versuchsende nicht (Tab. 1). Histologisch wiesen NaCl- und Sterolso-Tiere eine starke Zellschwellung in den proximalen Tubuli auf. HES- und Gel-behandelte Tiere zeigten signifikant mehr vesikuläre Einschlüsse (Vesikel/Gesichtsfeld (GF)) in den proximalen Tubuli als alle anderen Gruppen. Dabei fanden sich für die HES-Tiere signifi-

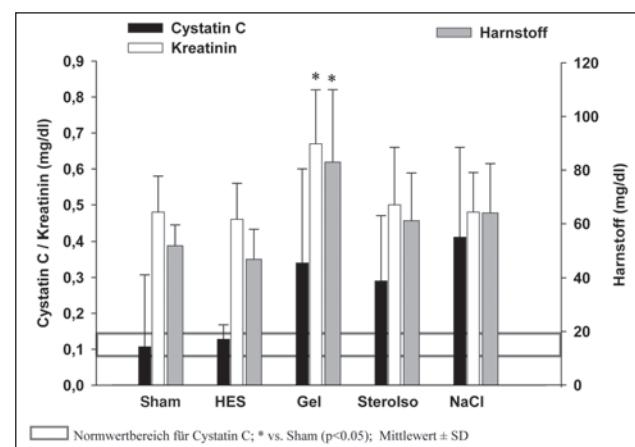


Abb. 1: Nierenfunktionswerte.

kant mehr große (Durchmesser  $> 8 \mu\text{m}$ ) Vesikel als bei Gel-Tieren (Tab. 1). Harnstoff und Kreatinin waren bei den Gel-Tieren signifikant höher als bei den Sham-Tieren. Sterolso-, NaCl- und Gel-Tiere zeigten nur im Trend höhere Cystatin-C-Spiegel als Sham- und HES-Tiere (Abb. 1).

### Interpretation

In der CLP-induzierten Sepsis der Ratte zeigt Gelatine 4 % als Volumenersatzmittel funktionelle Schädigungen der Niere und, wie auch 6% HES 130/0,4 und kristalloide Lösungen, ausgeprägte histologische Veränderungen. 6% HES 130/0,4 scheint von den untersuchten Volumenlösungen die Niere funktionell am wenigsten zu beeinträchtigen.

### Literatur

1. Wichterman K, Baue A, Chaudry IH. J Surg Res 1980;29:189-201.
2. Brunkhorst FM, Engel C, et al. N Engl J Med 2008;358:125-139.

Korrespondenzadresse: lsbary\_J@klinik.uni-wuerzburg.de

Tab. 1

	Sham	HES	Gel	Sterolso	NaCl
pH	7,47 $\pm$ 0,1	7,44 $\pm$ 0,1	7,39 $\pm$ 0,1	7,45 $\pm$ 0,1	7,38 $\pm$ 0,1
$\text{HCO}_3^-$ (mmol/l)	26,1 $\pm$ 1,4	23,9 $\pm$ 1,8	24,7 $\pm$ 3,4	29,9 $\pm$ 5,1	20,3 $\pm$ 4,4
Laktat (mmol/l)	1,9 $\pm$ 0,4	2,8 $\pm$ 0,9	3,1 $\pm$ 1,5	2,4 $\pm$ 0,9	2,4 $\pm$ 0,9
MCV (fl)	57,1 $\pm$ 1,9	57,8 $\pm$ 2,9	57,5 $\pm$ 2,5	57,1 $\pm$ 1,5	56,1 $\pm$ 1,2
Vesikel/GF	0,3 $\pm$ 0,3	52,0 $\pm$ 31,3 *	77,0 $\pm$ 41,0 *	0,1 $\pm$ 0,3	2,2 $\pm$ 2,7
Vesikel $> 8 \mu\text{m}$ /GF	0,1 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 7,1* #	2,2 $\pm$ 2,1	0	0,2 $\pm$ 0,4

\* vs. Sham ( $p < 0,05$ ); # vs. Gel ( $p < 0,05$ ); Mittelwert  $\pm$  SD.

## Einfluss der intraoperativen Remifentanildosierung auf die Entwicklung der postoperativen Hyperalgesie

**C. Jeleazcov, H. Ihmsen, J. Schmidt und J. Fechner**  
Anästhesiologische Klinik, Universitätsklinikum Erlangen,  
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

### Fragestellung

Untersuchungen an Tieren und Probanden lassen den Schluss zu, dass bereits eine kurze Anwendung von Opioiden wie

Remifentanil eine Hyperalgesie verursachen kann [1]. Klinische Studien postulieren eine Abhängigkeit der postoperativen Hyperalgesie, des postoperativen Schmerzes und des Schmerzmittelbedarfs von der intraoperativen Dosierung von Remifentanil [2]. Propofol zeigt im humanen Schmerzmodell keinen hyperalgetischen Effekt [3]. Wir haben bei Patienten mit einer standardisierten Operationswunde (mediane Sternotomie) nach kardiochirurgischem Eingriff untersucht, ob zwei verschiedene intraoperative Remifentanildosierungen einen unterschiedlichen Effekt auf die postoperative Hyperalgesie, den postoperativen Schmerz und den Morphinbedarf zeigen.

### Methodik

16 männliche Patienten im Alter von 40 bis 75 Jahren ohne neurologische Erkrankung, Diabetes oder Niereninsuffizienz, die sich einem erstmaligen kardiochirurgischen Eingriff unterziehen mussten, erhielten eine totale intravenöse Anästhesie mit Propofol und randomisiert zwei Dosierungen von Remifentanil als TCI mit den Zielkonzentrationen  $4 \text{ ng ml}^{-1}$  (Gruppe N, n=8) oder  $8 \text{ ng ml}^{-1}$  (Gruppe H, n=8). Die Remifentanilzielkonzentrationen wurden von Anästhesieeinleitung bis zur letzten Hautnaht konstant gehalten. Propofol wurde bis zum Beginn des kardiopulmonalen Bypasses manuell, danach bis zur Hautnaht durch ein EEG-gesteuertes Feedbacksystem so dosiert, dass ein BIS®-Wert zwischen 35 und 45 aufrechterhalten wurde. Zur postoperativen Analgesie und Quantifizierung des Morphinbedarfs erhielten alle Patienten für 48 h eine Morphin-PCA. Es wurden keine Nichtopiodanalgetika eingesetzt. Die Patienten wurden vom 1. präoperativen bis zum 7. postoperativen Tag durch einen geblindeten Untersucher einmal täglich untersucht. Als Maß für die sekundäre mechanische Hyperalgesie wurde die Hyperalgesiefläche rechts der Wunde mit einem von-Frey-Haar von  $256 \text{ mN}$  bestimmt. Im Bereich der Hyperalgesiefläche wurde die Schmerhaftigkeit einer Reizung mit einem von-Frey-Haar ( $256 \text{ mN}$ ) anhand einer numerischen Bewertungsskala (0 bis 10, NRS) bestimmt. Morphinbedarf und Schmerhaftigkeit in beiden Gruppen wurden nach Test auf Normalverteilung (Shapiro-Wilk's-Test) mittels des T-Tests bzw. Mann-Whitney-U-Tests für ungepaarte Stichproben verglichen. Der zeitliche Verlauf der Hyperalgesiefläche wurde mittels linearer Regression analysiert. Die Steigung der Regressionsgeraden in beiden Gruppen wurde mittels T-Test verglichen. Die Daten sind als MW $\pm$ SEM dargestellt.

### Ergebnisse

Die gemessene Remifentanilkonzentration betrug in Gruppe N  $5.9 \pm 0.5 \text{ ng ml}^{-1}$  und in Gruppe H  $8.8 \pm 0.6 \text{ ng ml}^{-1}$  ( $p < 0.001$ ). In Gruppe N nahm die Hyperalgesiefläche vom 1. bis 7. postoperativen Tag zu, die Steigung der Regressionsgeraden betrug  $6.8 \pm 0.9 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ . In Gruppe H nahm die Hyperalgesiefläche im glei-

chen Zeitraum ab, die Steigung betrug  $-7.5 \pm 1.2 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$  ( $p < 0.005$ , Abb. 1). Der Morphinbedarf betrug  $0.47 \pm 0.03 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  in Gruppe N und  $0.28 \pm 0.04 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  in Gruppe H ( $p < 0.05$ ). In beiden Gruppen nahm die Schmerhaftigkeit im Bereich der Hyperalgesiefläche verglichen mit dem präoperativen Ausgangswert in den ersten beiden postoperativen Tagen um 1 bis 2 Punkte (NRS) zu und ging anschließend bis zum 7. Tag auf Ausgangswerte zurück ( $p > 0.05$ , Abb. 2). Keinen signifikanten Unterschied ( $p > 0.05$ ) zwischen den beiden Gruppen gab es hinsichtlich des postoperativen Schmerzes in Ruhe (1. postoperativer Tag: NRS  $\approx 2$ ; 7. postoperativer Tag: NRS  $\approx 0$ ) und unter Belastung (1. postoperativer Tag: NRS  $\approx 6$ ; 7. postoperativer Tag: NRS  $\approx 2$ ).

### Interpretation

In dieser Untersuchung zeigte die intraoperative Remifentanildosierung einen signifikanten Einfluss auf die zeitliche Dynamik der sekundären mechanischen Hyperalgesie. Während bei hoher Remifentanildosierung die Hyperalgesiefläche postoperativ kontinuierlich abnahm, stieg sie bei niedriger Remifentanildosierung bis zum 7. Tag kontinuierlich an. Ebenso war bei niedriger Remifentanildosierung der postoperative Morphinbedarf über 48 h signifikant größer. Die Ergebnisse dieser Studie widersprechen der Annahme [2], dass eine hohe intraoperative Remifentanildosierung postoperativ zeitinvariant zu einer vermehrten Hyperalgesie und einem erhöhtem Schmerzmittelbedarf führt.

### Literatur

1. Angst MS, Koppert W, Pahl I, Clark DJ, Schmelz M. Short-term infusion of the mu opioid agonist remifentanil in humans causes hyperalgesia during withdrawal. Pain 2003;106:49-57.
2. Joly V, Richebe P, Guignard B, et al. Remifentanil-induced postoperative hyperalgesia and its prevention with small-dose ketamine. Anesthesiology 2005;103:147-155.
3. Singler B, Tröster A, Manering N, Schüttler J, Koppert W. Modulation of remifentanil-induced postinfusion hyperalgesia by propofol. Anesth Analg 2007;104:1397-1403.

Korrespondenzadresse: christian.jeleazcov@kfa.imed.uni-erlangen.de ■

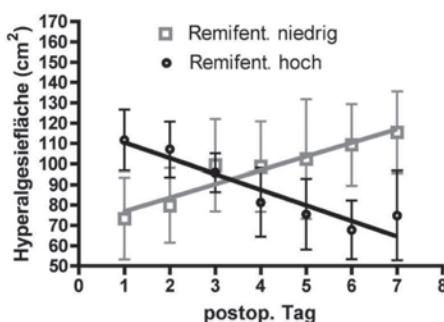


Abb. 1: Hyperalgesiefläche 1.-7. Tag.

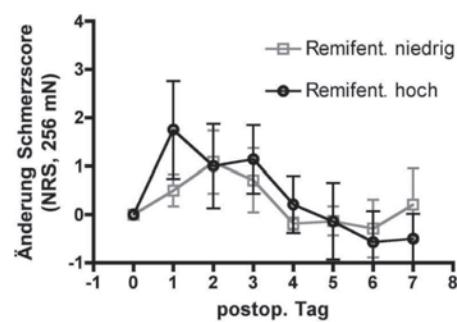


Abb. 2: Schmerzscore (NRS) 0.-7. Tag.

## Alveolare Nukleotide regulieren kapillare NO-Produktion nach Lungenexpansion

R. Kiefmann<sup>1,2</sup>, J. Lindert<sup>2</sup>, K. Parthasarathi<sup>2</sup> und J. Bhattacharya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Universität Hamburg

<sup>2</sup> Lung Biology Laboratory, College of Physicians & Surgeons, Columbia University, St. Luke's Roosevelt Hospital Center, New York, NY, USA

### Fragestellung

Bei der Ventilator-assoziierten Lungenschädigung scheint der Überproduktion von endothelialeem Stickstoffmonoxid (NO) eine wichtige Bedeutung zuzukommen. NO und v.a. Peroxynitrit, das bei der Reaktion von NO mit Superoxidanionen entsteht, schädigen das Lungengewebe u.a. durch Lipidperoxidation, DNA-Oxidation oder Inaktivierung von Enzymen und Proteinen [1].

Dehnung ist ein physiologischer Stimulus für die Sekretion von ATP. Erhöhte Konzentrationen dieses Nukleotids wurden in der ▶

bronchoalveolären Lavage nach gewebeschädigender mechanischer Beatmung nachgewiesen [2]. Im Rahmen einer Stressantwort kann ATP als parakriner Mediator Zellfunktionen regulieren, wie Zytokinsekretion oder Apoptose. In der vorliegenden Arbeit stellten wir die Hypothese auf, dass die alveoläre Sekretion von ATP die endotheliale NO-Produktion im Sinne eines alveolo-kapillaren „cross-talk“ regulieren kann.

#### Methodik

Wir isolierten Ratten- und Mäuselungen und perfundierten diese mit autologem Blut (14 ml/min) [3]. Der Atemwegsdruck betrug konstant 5 cmH<sub>2</sub>O. Mit Hilfe der Epifluoreszenzmikroskopie maßen wir *in situ* zytosolisches Ca<sup>2+</sup> (Ca<sup>2+</sup>-zyt) und NO in einzelnen alveolären Epithel- oder kapillären Endothelzellen mittels Fura 2 und DAF-FM. Die Messungen erfolgten unter Ausgangsbedingung und nach einer 15-sekündigen Atemwegsdruckerhöhung auf 20 cmH<sub>2</sub>O oder nach einer intraalveolären Applikation von ATP (100 µM). Wir detektierten Peroxynitrit und lokalisierten ATP-Rezeptoren mittels der indirekten *in situ*-Immunofluoreszenz unter Zuhilfenahme von Epifluoreszenz- bzw. 2-Photonenmikroskopie [3]. Die verwendeten Substanzen wurden mittels Mikropunktion oder Mikrokathetertechnik direkt in das untersuchte Alveolar- oder Kapillargebiet appliziert.

#### Ergebnisse

In Rattenlungen oszillierte unter Ausgangsbedingungen epitheliales Ca<sup>2+</sup>-zyt mit einer Amplitude von 14±3 nM und endotheliales Ca<sup>2+</sup>-zyt mit einer Amplitude von 9±1 nM. Die 15-sekündige Atemwegsdruckerhöhung von 5 auf 15 cmH<sub>2</sub>O oder die intraalveoläre Applikation von ATP erhöhte die Oszillationsamplitude in den alveolären Epithelzellen auf 29±16 nM oder 36±5 nM und in kapillären Endothelzellen auf 21±1 nM oder 17±1 nM (MW±SEM, je n=5, P<0,05). Des Weiteren erhöhte sich der Anstieg der endothelialen DAF-Fluoreszenz nach Lungenexpansion um den Faktor 14±4 im Vergleich zur Ausgangsbedingung (n=5, P<0,05). Die intraalveolare Mikroinfusion des ATP-Rezeptorantagonisten PPADS (100 µM) und des Nukleotid-hydrolysierenden Enzyms Apyrase (50 U/ml) blockierten jeweils die Lungenexpansion-induzierten Ca<sup>2+</sup>-zyt-Antworten in Epithelzellen (PPADS: 18±6 nM, Apyrase: 14±4 nM,

je n=4) und Endothelzellen (PPADS: 10±1 nM, Apyrase: 11±1 nM, je n=4) und die endothelialen NO-Antworten (2±2-facher DAF-Fluoreszenzanstieg vs. Ausgangsbedingung, n=4). Die Lungenexpansion induzierte auch eine Zunahme der endothelialen Oszillationsamplitude von Ca<sup>2+</sup>-zyt in Lungen von Wildtyp (WT)- (Ausgangsbedingung: 4±1 nM, post Lungenexpansion: 7±1 nM, n=4, P<0,05) jedoch nicht in ATP-Rezeptor-P2Y2-knockout-Mäusen (Ausgangsbedingung: 4±1 nM, post Lungenexpansion: 4±1 nM, n=4). Des Weiteren konnte die Fluoreszenz des monoklonalen anti-P2Y2-Antikörpers in der Rattenlunge nach Permeabilisierung des Endothels auf der basolateralen Seite von kapillären Endothelzellen lokalisiert werden. Eine 20-minütige Ventilation der Lunge (in-/exspiratorischer Atemwegsdruck: 5/20 cmH<sub>2</sub>O, f=30/min) erhöhte die endotheliale Peroxynitritbildung, die als Fluoreszenz, hervorgerufen durch Bindung des anti-Nitrotyrosin-Antikörpers, gemessen wurde, um das ca. 3-fache (n=4, P<0,05). Dieser Anstieg wurde blockiert durch die vorherige intraalveolare Applikation von PPADS oder durch die intrakapilläre Infusion des NO-Synthase-Inhibitors L-NAME und von PEG-Catalase (je n=4).

#### Interpretation

Die Lungenexpansion verursacht eine alveoläre ATP-Sekretion, welche über eine parakrine Signaltransduktion in angrenzenden Kapillaren die endothelialen Ca<sup>2+</sup>-zyt-Oszillationen und die NO- bzw. Peroxynitrit-Produktion steigert. Diese Mechanismen könnten bei der Lungenschädigung eine Rolle spielen, die durch eine mechanische Beatmung mit hohen Tidalvolumina hervorgerufen wird.

#### Literatur

1. Sylte MJ, Kuckleburg CJ, Inzana TJ, Bertics PJ, Czuprynski CJ. Stimulation of P2X receptors enhances lipooligosaccharide-mediated apoptosis of endothelial cells. *J Leukoc Biol* 2005;77:958-965.
2. Rich PB, Douillet CD, Maher SA, Husain SA, Boucher RC. Adenosine triphosphate is released during injurious mechanical ventilation and contributes to lung edema. *J Trauma* 2003;55:290-297.
3. Ichimura H, Parthasarathi K, Quadri S, Issekutz AC, Bhattacharya J. Mechano-oxidative coupling by mitochondria induces proinflammatory responses in lung venular capillaries. *J Clin Invest* 2003;111:691-699.

Korrespondenzadresse: r.kieffmann@uke.uni-hamburg.de

## Endotoxin führt zur Desensitivierung des Adenosin-A<sub>2A</sub>-Rezeptors humaner polymorphkerniger Leukozyten

**S. Kreth\*, I. Kaufmann\*, C Ledderose und M. Thiel**

Klinik für Anaesthesiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München

(\* Beide Autoren haben gleichermaßen zur Arbeit beigetragen).

#### Fragestellung

Adenosin ist ein potenter extrazellulärer Botenstoff, der die Funktionen von polymorphkernigen Leukozyten (PMN) durch Bindung an den Adenosin-A<sub>2A</sub>-Rezeptor (A<sub>2A</sub>R) beeinflusst. Der anti-inflammatorische Effekt von Adenosin, der auf der Hemmung der potentiell gewebeschädigenden Freisetzung von Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) aus PMN beruht, nimmt bei Patienten im Verlauf einer Sepsis ab [1]. Ziel dieser Arbeit war es, ein geeignetes in-vitro-Modell zu etablieren und die Mechanismen, die der

verminderten Hemmwirkung von Adenosin bei Sepsis zugrunde liegen, erstmals zu charakterisieren.

#### Methodik

Aus dem venösen Blut gesunder Probanden wurden PMN mittels Dichtegradientenzentrifugation isoliert und mit LPS (10 µg/ml, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>) über 6 Stunden inkubiert. Anschließend wurde der Hemmefekt aufsteigender Konzentrationen von Adenosin (10<sup>-6</sup>-10<sup>-10</sup>M) auf die N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanin (fMLP; 10<sup>-7</sup>M)-stimulierte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Produktion durchflusszytometrisch analysiert. Zur Untersuchung des Signaltransduktionsweges des A<sub>2A</sub>R wurden native und LPS-stimulierte PMN sowie PMN von Sepsis-Patienten mit aufsteigenden Konzentrationen des hochselektiven A<sub>2A</sub>R-Agonisten CGS 21680 (10<sup>-5</sup>-10<sup>-9</sup>M) inkubiert und das entstehende zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP) mittels ELISA bestimmt. Rezeptordichte sowie Bindungseigenschaften des A<sub>2A</sub>R wurden über eine Scatchard-Plot-Analyse quantifiziert. Die mRNA-Expression des A<sub>2A</sub>R in nativen und LPS-stimulierten PMN sowie PMN von Sepsis-Patienten wurde mittels RT-PCR in Hinblick auf das Auftreten von Splicevarianten untersucht (die

zu einer veränderten Proteinsequenz führen würden). Statistische Signifikanz wurde mittels unabhängigen t-Tests ermittelt.

### Ergebnisse

Die bei Sepsis-Patienten beobachtete verminderte Hemmwirkung von Adenosin auf die  $H_2O_2$ -Produktion von PMN konnte im in-vitro-Modell mit LPS-stimulierten humanen PMN in gleicher Weise abgebildet werden: Der Hemmeffekt auf steigender Konzentrationen von Adenosin auf die fMLP-stimulierte  $H_2O_2$ -Produktion verlief in einer sigmoidalen Dosis-Wirkungs-Kurve mit einer halbmaximalen Hemmkonzentration ( $IC_{50}$ ) von 80 nM. Nach Inkubation der PMN mit LPS wurde die Dosis-Wirkungskurve nach rechts verschoben und die  $IC_{50}$  stieg auf den vierfachen Wert an (332 nM,  $p<0,001$ ,  $n=31$ ; Abb. 1). Inkubation mit CGS 21680 induzierte in nativen PMN einen Anstieg der cAMP-Konzentration. Die halbmaximal wirksamen Konzentrationen ( $EC_{50}$ ) betrugen 64 nM, nach LPS-Inkubation stieg die  $EC_{50}$  um den Faktor 13,9 an (Abb. 2,  $p<0,001$ ,  $n=6$ ). Die  $A2A$ -Rezeptordichte ( $B_{max}$ ) stieg nach LPS-Inkubation um den Faktor 1,4 an (von  $64,2 \pm 17,5$  auf  $87,6 \pm 26,9$  fmol/mg,  $n=7$ ). Als Ausdruck einer verminderten Rezeptoraffinität fand sich eine Zunahme der Dissoziationskonstante  $K_D$  des  $A2A$ -Rezeptors um das 2,5-fache (von  $1,02 \pm 0,22$  nM auf  $2,48 \pm 0,27$  nM,  $n=7$ , Abb. 3). Gleichartige Veränderungen fanden sich auch bei Sepsis-Patienten (Anstieg  $B_{max}$  um den Faktor 1,2,  $K_D$  um den Faktor 2,3;

$n=5$ ). Veränderungen in der Proteinsequenz des  $A2A$ -Rezeptors, die auf der Expression von bisher unentdeckten Splicevarianten nach LPS-Stimulation bzw. bei Sepsis beruhen könnten, wurden durch RT-PCR-Experimente ausgeschlossen.

### Interpretation

Die Ergebnisse zeigen, dass – in Übereinstimmung mit früheren Studien bei Patienten mit Sepsis [1] – die In-vitro-Inkubation von PMN mit LPS zu einer Abnahme des Hemmeffektes von Adenosin auf die fMLP-stimulierte  $H_2O_2$ -Produktion führt. Ursache hierfür ist die Beeinträchtigung der Signaltransduktion gemessen an der  $A2A$ -Rezeptor-abhängigen cAMP-Produktion. Obwohl die Rezeptordichte des  $A2A$ -Rezeptors nach LPS-Stimulation ansteigt, kommt es gleichzeitig – infolge einer Abnahme der Bindungsaffinität – zu einem Funktionsverlust desselben. Hierfür sind, da die  $A2A$ -Rezeptor-Proteinsequenz unverändert bleibt, in erster Linie allosterische Effekte, z.B. auf Ebene der G-Protein-Rezeptor-Interaktion zu diskutieren.

### Literatur

- Kaufmann I, Hoelzl A, Schliephake F, Hummel T, Chouker A, Lysenko L, et al. Effects of adenosine on functions of polymorphonuclear leukocytes from patients with septic shock. Shock 2007;27:25-31.

Korrespondenzadresse: simone.kreth@med.uni-muenchen.de

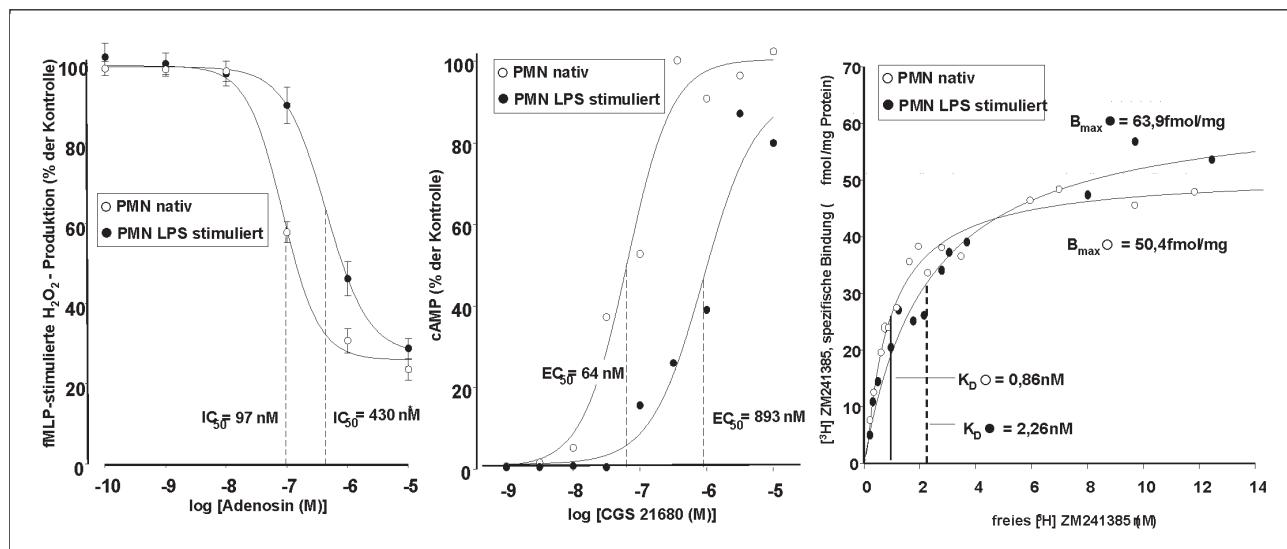


Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

## Ein neuronaler Kaliumkanalaktivator reduziert die Erregbarkeit unmyelinisierter menschlicher Axone

P. M. Lang<sup>1,2</sup>, J. Fleckenstein<sup>1</sup>, G.M. Passmore<sup>3</sup>, D.A. Brown<sup>3</sup> und P. Grawe<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anaesthesiologie,

<sup>2</sup> Physiologisches Institut,

Ludwig-Maximilians-Universität München

<sup>3</sup> Department of Pharmacology, University College London, UK

### Fragestellung

Das Auftreten von Spontanaktivität in peripheren nozizeptiven Neuronen gilt als ein wesentlicher Mechanismus für die Ent-

stehung von neuropathischen Schmerzen. Die ektopische Impulsaktivität in nozizeptiven Neuronen wird bekanntermaßen durch Kaliumkanäle beeinflusst. So verändern KCNQ/M- bzw. Kv7-vermittelte Kaliumströme die Erregbarkeit primärer afferenter sensorischer Neurone und wurden funktionell bereits in peripheren myelinierten Axonen charakterisiert [1]. Auch in sensorischen (inklusive nozizeptiver) Hinterwurzelganglienzellen tragen Kv7-Kanäle zur Erregbarkeit bei [2]. Da die Blockade von spannungsgesteuerten Kaliumkanälen eine Spontanaktivität auslöst bzw. verstärkt, ist zu vermuten, dass durch den gegenteiligen Effekt – eine pharmakologische Erhöhung bzw. Aktivierung der neuronalen Kaliumleitfähigkeit – das Auftreten von Spontanaktivität verhindert werden kann. Um diese Hypothese zu testen, wurde in der vorliegenden Studie ein potenter Kv7-Aktivator – das Antikonvulsivum Retigabine – eingesetzt. Retigabine hatte zwar im Tierexperiment anti-

► hyperalgetische Eigenschaften gezeigt. Allerdings war unklar, ob die Substanz auch die Erregbarkeit peripherer humaner C-Faseraxone verändert, welche für die Ausbildung ektoper Impulsaktivität im Rahmen neuropathischer Schmerzen von besonderer Bedeutung sind.

#### Methodik

Für die vorliegende – von der Ethikkommission genehmigte – Studie, wurden Nervenpräparate von zehn Patienten (48–89 Jahre; 7 männlich, 3 weiblich) untersucht. Alle Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Nervenpräparate (ca. 20 mm lang) stammten von fünf Patienten, die sich einer Unterschenkelamputation wegen fortgeschrittener peripherer arterieller Verschlusskrankheit unterziehen mussten, sowie von fünf Patienten, bei denen eine Probeexzision des Nervus suralis zur Abklärung einer unbekannten Neuropathie durchgeführt wurde. Aus den zehn Nervenpräparaten konnten 47 Faszikel herauspräpariert werden. Die isolierten Faszikel wurden in einem Organbad gehalten, welches kontinuierlich perfundiert wurde, und elektrophysiologisch mittels Schwellenwertmessung (Threshold Tracking) untersucht. Hierbei wird der isolierte Faszikel so stimuliert, dass ein maximales C-Faser-Summenaktionspotenzial (SAP) abgeleitet werden kann. Als Messgröße dient der Strom der erforderlich ist, um ein SAP von 40 % des maximalen SAP zu erzielen [3].

#### Ergebnisse

Die Zugabe von Retigabine in einer Dosierung von 3–10  $\mu$ M in die Perfusionslösung erhöht die Membranschwelle (gemessen als Strom, der erforderlich ist, um das SAP auf 40 % des maximalen SAP konstant zu halten). Sind die untersuchten Axone depolarisiert, ist dieser Effekt ausgeprägter (bis 15 %), während er bei hyperpolarisierten Axonen gering ist (Korrelationskoeffizient  $r^2 = 0,0857$ ,  $p < 0,0001$ ). Dies zeigt, dass Retigabine eine Hyperpolarisa-

tion der Membran hervorruft, die durch das Kalium-Gleichgewichtspotenzial limitiert wird. Durch die vorherige Gabe eines Blockers an Kv7, dem XE991 (10  $\mu$ M), kann die erregbarkeitshemmende Wirkung von Retigabine (10  $\mu$ M) um  $91 \pm 5$  % (Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardfehler (SF);  $n = 4$ ) reduziert werden. Die Retigabine-induzierte Abnahme der Erregbarkeit isolierter humaner C-Fasern wird begleitet von Veränderungen der Erholungsphase nach Auslösung von Aktionspotenzialen (AP). Dabei ist eine späte Untererregbarkeit nach der Auslösung von AP zu beobachten: Die Erregbarkeit 250 ms nach einer Stimulationssequenz von 3 AP verändert sich von  $-0,1 \pm 0,8$  % (MW  $\pm$  SF;  $n = 7$ ) auf  $4,7 \pm 0,3$  % (MW  $\pm$  SF;  $n = 7$ ; Untererregbarkeit) bei Zugabe von 10  $\mu$ M des Kaliumkanalaktivators Retigabine.

#### Interpretation

Die Ergebnisse zeigen, dass funktionelle Kv7 (KCNQ/M)-Kanäle auch an der Membran unmyelinisierter humaner Nervenfasern vorhanden sind. Die Aktivierung von Kv7 durch Retigabine reduziert die Erregbarkeit isolierter C-Faseraxone. Retigabine könnte in der Therapie neuropathischer Schmerzzustände eine pharmakologische Option darstellen.

#### Literatur

1. Schwarz JR, Glassmeier G, Cooper EC, Kao TC, Nodera H, Tabuena D, et al. KCNQ channels mediate IKs, a slow K<sup>+</sup> current regulating excitability in the rat node of Ranvier. *J Physiol* 2006;573:17–34.
2. Passmore GM, Selyanko AA, Mistry M, Al-Qatari M, Marsh SJ, Matthews EA, et al. KCNQ/M currents in sensory neurons: significance for pain therapy. *J Neurosci* 2003;23:7227–7236.
3. Lang PM, Burgstahler R, Sippel W, Irnich D, Schlotter-Weigel B, Graw P. Characterization of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in the membrane of unmyelinated human C-fiber axons by *in vitro* studies. *J Neurophysiol* 2003;90:3295–3303.

Korrespondenzadresse: Philip.Lang@med.uni-muenchen.de



## Genetischer oder gentherapeutischer Antagonismus des Urokinase-Rezeptors verbessert die Letalität von Mäusen im Endotoxin-induzierten systemischen inflammatorischen Response-Syndrom

J. Larmann<sup>1</sup>, C. Herzog<sup>1</sup>, F. Echtermeyer<sup>1</sup>, S. Calmer<sup>1</sup>, M. Dewerchin<sup>2</sup>, P. Carmeliet<sup>2</sup> und G. Theilmeier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

<sup>2</sup> CMVB-CTG, Katholische Universiteit Leuven, Belgien

#### Fragestellung

Sepsis ist die führende Todesursache auf nicht kardiochirurgischen Intensivstationen. Polymorphekernige Neutrophile Granulozyten (PMN) spielen eine zentrale Rolle für die Keimelimination; sie agravieren aber auch den im Rahmen der Sepsis oder des SIRS induzierten Organschaden [1]. Einziger bekannter Phänotyp der Urokinase-Rezeptor-defizienten (u-PAR<sup>-/-</sup>) Maus ist eine reduzierte Rekrutierung von PMNs hin zum Fokus einer Entzündung bei erhöhter Letalität durch bakterielle Infektionen [2]. Wir verfolgen die Hypothesen, dass erstens u-PAR<sup>-/-</sup>-Mäuse im Endotoxin (LPS)-induzierten systemischen inflammatorischen Response-Syndrom (SIRS) weniger PMNs in Leber, Lunge und Niere rekrutieren und in der Folge eine gesenkte Letalität zeigen, und dass sich zweitens die Letalität auch durch gentherapeutische Unterbrechung der u-PAR-Signaltransduktion reduzieren lässt.

#### Methodik

Die Tierversuche wurden von der zuständigen Tierschutzkommision genehmigt. Alters- und geschlechtsgleichen Gruppen von u-PAR<sup>-/-</sup> und WT-Mäusen (75 % C57Bl6 / 25 % SV129) wurde LPS (30 und 45  $\mu$ g/g KG) (Sigma, Deutschland) i.p. injiziert. Ein SIRS wurde anhand von Herzfrequenz und Körpertemperatur verifiziert. Überlebenszeit und 3-Tages-Letalität wurden ermittelt. In einer weiteren Gruppe (30  $\mu$ g/g KG) wurden Tiere nach 3, 12 sowie 24h getötet, um auf 7  $\mu$ m dicken Paraffinschnitten mittels immunhistochemischer Markierung (AK-Klon: MCA771G, Serotec, England) die PMN-Infiltration in Leber, Niere und Lunge histomorphometrisch zu bestimmen. Es wurden 6 Gesichtsfelder auf je 3 Schnitten quantifiziert. In vivo wurde das PMN-Homing in die Lunge mittels exogener Indikator-PMNs untersucht, die aus Thioglycolat-injizierten Spendermäusen isoliert wurden. PMNs wurden mit dem nah-infrarot Farbstoff DiR (Invitrogen, Belgien) markiert und 4 h vor LPS-Gabe i.v. injiziert. Nach 24 h wurden Unterschiede in der PMN-Rekrutierung mittels 3D-Fluoreszenz-medierter Tomographie (FMT) untersucht. Mittels 2D-geführter M-Mode-Echokardiographie wurde die linksventrikuläre Verkürzungsfaktion als Parameter für die globale Myokardfunktion bestimmt. Swiss-Mäusen wurde mittels hydrodynamischer Transfektion [3] (HDTF) u-PAR<sup>24-306</sup> transfiziert. Hierzu wurden 25  $\mu$ g Plasmid-DNA (Expressions-Vektor: pSecTag2) in 2 ml 0,9% NaCl i.v. injiziert. Die Expression des Genproduktes wurde immunhistochemisch (Leber) und seine Sekretion mit Westernblot (Plasma) verifiziert. Anschließend wurde die 24 h-Letalität nach LPS-Injektion (20  $\mu$ g/g KG, Charken- und Stammspezifische LD50: 15  $\mu$ g/g) bestimmt. Die Daten wurden mittels Chi-Quadrat-Test bzw. M-Whitney-U- ►

► Test getestet und sind als Mittelwert  $\pm$  SEM angegeben. P<0,05 wurde als Signifikanzniveau gewählt.

#### Ergebnisse

Verglichen mit WT- weisen u-PAR<sup>-/-</sup>-Mäuse nach Injektion von 30 µg/g KG LPS eine deutlich reduzierte Letalität (41 % vs. 67 %, p<0,05, n=22/21) auf. Während nach Injektion von 45 µg/g KG LPS die Letalität nicht signifikant unterschiedlich ist (57 % vs. 75 %, p=0,11, n=21/20) ergibt sich bei u-PAR-Defizienz eine längere Überlebenszeit (30 vs. 16 h, n=21/20, p<0,05). Histomorphometrisch findet sich bei u-PAR<sup>-/-</sup>-Mäusen nach 6 und 12 h eine Reduktion der in die Leber rekrutierten PMNs (6h: 22±1,2 vs. 33±3,4; 12h: 17±1,9 vs. 24±0,6; PMN/Gesichtsfeld; p<0,05; n=6). Im Lungengewebe zeigen sich Unterschiede nach 24 h (23±2,6 vs. 40±5,3; PMN/Gesichtsfeld; p<0,05; n=6). In der Niere können zwischen den beiden Gruppen keine Unterschiede im Hinblick auf die PMN-Rekrutierung objektiviert werden. Bei der Charakterisierung der PMN-Rekrutierung mittels FMT in vivo weisen u-PAR<sup>-/-</sup>-Mäuse nach 24 h im Bereich der Lungen eine mittlere Fluoreszenzintensität von 1,3±0,3 nM verglichen mit 5,3±0,8 nM bei WT-Mäusen (p<0,05, n=6) auf. Echokardiographisch findet sich bei u-PAR<sup>-/-</sup>-Mäusen 24 h nach LPS eine geringfügig bessere linksventrikuläre Funktion (69 ± 3 % vs. 62 ± 2 %, u-PAR vs. WT, p<0,05, n=5). Die gentherapeutische Überexpression von u-PAR<sup>24-306</sup> reduziert die Letalität 24 h nach i.p. LPS-Injektion auf

40 % verglichen mit 100 % zur mit Kontrollplasmid behandelten Gruppe (n=15).

#### Interpretation

u-PAR<sup>-/-</sup>-Mäuse sind vor den Folgen des LPS-induzierten SIRS geschützt. Sie rekrutieren weniger PMNs in Lunge und Leber als WT-Mäuse. Die reduzierte Infiltration durch PMNs geht mit einer deutlich reduzierten Letalität der u-PAR<sup>-/-</sup>-Mäuse einher. Diese ist nur zum Teil durch eine verbesserte linksventrikuläre Funktion erklärbar. Der Letalitätsvorteil lässt sich auch durch Gentherapie mit u-PAR<sup>24-306</sup> erzielen. Interventionen mit dem Ziel, die durch u-PAR vermittelte Signaltransduktion zu unterbrechen und so die PMN-Rekrutierung zu modulieren, sind viel versprechende therapeutische Optionen für im Rahmen des SIRS auftretende PMN-induzierte Organschäden.

#### Literatur

1. Brown KA, et al. Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis. Lancet 2006;368:157-169.
2. Gyetko MR, et al. Urokinase Receptor-Deficient Mice Have Impaired Neutrophil Recruitment in Response to Pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* Infection. J Immunol 2000;165(3):1513-1519.
3. Vorup-Jensen T, et al. Tail-Vein Injection of Mannan-Binding Lectin DNA Leads to High Expression Levels of Multimeric Protein in Liver. Mol Ther 2001;3(6):867-874.

Korrespondenzadresse: lermann.jan@mh-hannover.de



## Transiente intestinale Flüssigkeitsumverteilung und Hyperpermeabilität durch den plättchenaktivierenden Faktor PAF untersucht am isoliert perfundierten Darmmodell der Ratte

I. Lautenschläger<sup>1</sup>, H. Dombrowsky<sup>1,2</sup>, S.-C. Kuchenbecker<sup>1</sup>, S. Bade<sup>3</sup>, H. Schultz<sup>4</sup>, I. Frerichs<sup>1</sup>, J. Scholz<sup>1</sup>, S. Uhlig<sup>5</sup> und N. Weiler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

<sup>2</sup> Klinische Immunpharmakologie,

<sup>3</sup> Mukosaimmunologie,

<sup>4</sup> Klinische und experimentelle Pathologie, Forschungszentrum Borstel, Leibniz-Zentrum für Medizin und Biowissenschaften, Borstel,

<sup>5</sup> Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen

#### Fragestellung

Die Entwicklung und Folgen gastrointestinaler Ödeme und Hyperpermeabilität betreffen als relevantes klinisches Problem insbesondere den kritisch kranken Intensivpatienten. Über die Pathogenese intestinaler Ödeme und die organeigenen Kompressionsmechanismen ist bisher wenig bekannt, da es kaum geeignete Modelle gibt, die eine systematische Analyse dieser Phänomene erlauben [1]. Wir verwendeten ein neu entwickeltes, isoliertes Darmmodell der Ratte mit getrenntem Zugang zu den Organkompartimenten Gefäßbett, Lumen, Lymphe und Parenchym [2] für die dynamische Untersuchung der Flüssigkeitsverschiebungen nach Stimulation mit einem proinflammatorischen Mediator, dem plättchenaktivierenden Faktor PAF.

#### Methodik

Isolierte Dünndärme wurden nach der Dissektion randomisiert den Gruppen Solvens (n=6) und PAF (n=6) zugeteilt. Die vaskuläre und lumrale Perfusion erfolgte getrennt mit einem oxygenierten albuminhaltigen Krebs-Henseleit-Puffer und einer gepufferten laktosehaltigen Nährösung. Nach einer 60-minütigen Äquilibrierungsphase wurden die Präparationen mit 0,5 nmol PAF oder dem Solvens via A. mesenterica superior stimuliert. Über weitere 80 Minuten wurden die dynamischen Flüssigkeitsverschiebungen sowie Druckänderungen im Organ beobachtet.

#### Ergebnisse

PAF-Instillation verursachte eine transiente Vasokonstriktion und Flüssigkeitsverschiebung. Innerhalb von 10 Minuten gingen 19,1 ± 2,6 % des kapillären Volumenstroms (Mittelwert ± Standardabweichung) aus dem Gefäßbett verloren. Davon wurden 73 ± 0,5 % über das Lumen und 27 ± 0,5 % über die Lymphe eliminiert (Mittelwert ± Standardabweichung; Abb. 1).

Das Darmgewicht stieg für 129 ± 35 s (Mittelwert ± Standardabweichung) steil an und erlangte innerhalb des 10-Minuten-Intervalls wieder das Ausgangsniveau. Parallel zu den veränderten Flüssigkeitsströmen wurde Albumin des vaskulären Perfusates im luminalen Effluat gefunden. Alle beschriebenen pathophysiologischen Veränderungen waren vollständig reversibel und die histologische Untersuchung zeigte keine signifikante morphologische Schädigung der Präparate im Vergleich zur Kontrollgruppe.

#### Interpretation

PAF als relevanter Entzündungsmediator verursachte im isolierten Darmmodell eine starke Vasokonstriktion und einen signifikanten Flüssigkeitsverlust aus der Zirkulation, welche in vivo zu Hypoperfusion und Schock führen könnten. Mechanistisch scheint dies mit Blick auf den Albumintransfer sowohl Folge der Vasokonstriktion als auch der erhöhten endo- und epithelialen Permeabilität zu sein. Dies erinnert an die Effekte von PAF in der

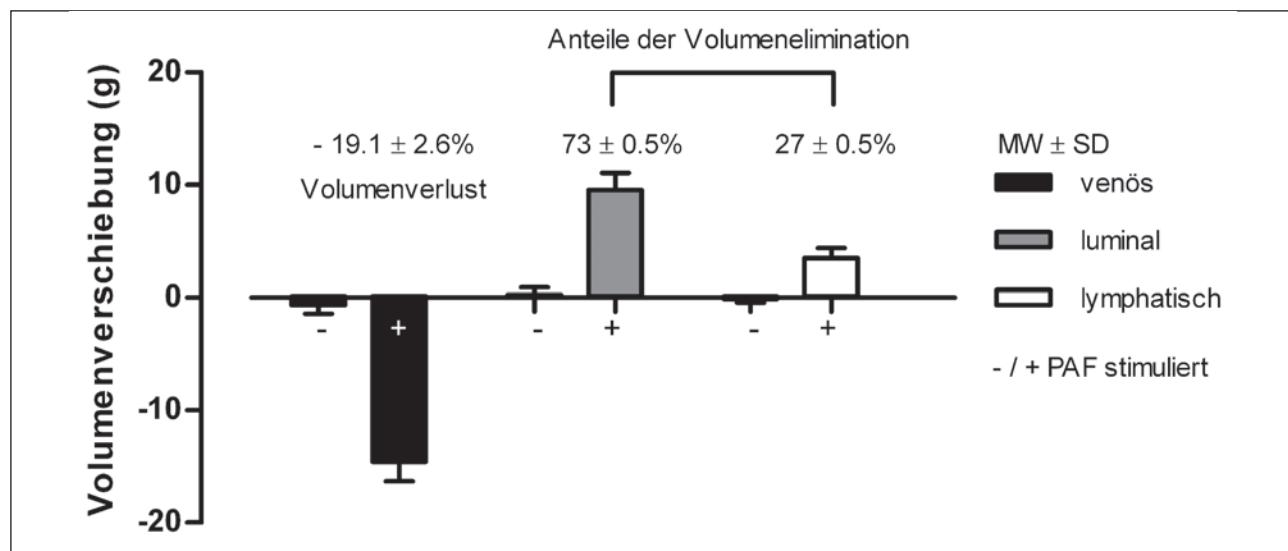


Abb. 1: Kapillärer Volumenverlust und Eliminationsmuster.

► isoliert perfundierten Lunge, wobei die Vasokonstriktion über Thromboxan und die erhöhte vaskuläre Permeabilität über PGE2 und Ceramid vermittelt wird [3]. Unsere Untersuchung zeigt, dass die aus der Zirkulation verlorene Flüssigkeit hochgradig effektiv aus dem Interstitium über das Lumen und zu einem Teil über die Lymphe eliminiert wird. Eine derartige Permeabilität der epithelialen Barriere war unerwartet und kann nicht über einen Epithelschaden erklärt werden, da die Histologie keine morphologischen Schäden zeigte und die hyperpermeable Phase passagerer Natur war. Wir postulieren, hier einen neuen Sicherheitsmechanismus des Darms vor interstitieller Überwässerung gefunden zu haben, der eine Gewebeschädigung suffizient verhindern kann.

#### Literatur

1. Fink MP. Intestinal epithelial hyperpermeability: update on the pathogenesis of gut mucosal barrier dysfunction in critical illness. *Curr Opin Crit Care* 2003;9:143-151.
2. Lautenschläger I, Kuchenbecker S-C, Dombrowsky H, Frerichs I, Scholz J, Steinbath M, et al. A new isolated perfused rat small bowel model for analysis of intestinal oedema formation. *Infection* 2007;35(Suppl. II):31.
3. Göggel R, Winoto-Morbach S, Vielhaber G, Imai Y, Lindner K, Bräde L, et al. PAF-mediated pulmonary edema: a new role for acid sphingomyelinase and ceramide. *Nat Med* 2004;10:155-160.

Korrespondenzadresse: lautenschlaeger@anaesthesia.uni-kiel.de

## Propofol aktiviert nozizeptor-spezifische Membranrezeptoren der „Transient Receptor Potential“-Familie

A. Leffler<sup>1</sup>\*, F. Niedermirtl<sup>1</sup>, M. Fischer<sup>2</sup>, P. Reeh<sup>2</sup> und C. Nau<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Anästhesiologische Klinik, Universitätsklinikum Erlangen,

<sup>2</sup> Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

\* Preisträger des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung 2008

#### Fragestellung

Die hypnotische Wirkung von Propofol (2,6-diisopropylphenol) wird hauptsächlich über eine direkte Aktivierung oder eine Co-Aktivierung zentraler, hemmender GABA-A-Rezeptoren und Glycin-Rezeptoren vermittelt. Eine klinisch relevante Nebenwirkung von Propofol ist der ausgeprägte Injektionsschmerz bei intravenöser Applikation. Diese Wirkung von Propofol ist vermutlich auf eine Aktivierung nozizeptiver Nervenendigungen in der Venenwand zurückzuführen, der molekulare Mechanismus ist jedoch unbekannt. Determinanten dieser Wirkung von Propofol sind laut klinischen Studien der Anteil des wassergelösten Propofols sowie der pH-Wert in unterschiedlichen Propofol-Formulierungen [1]. Auch eine Freisetzung der pro-algetischen Substanz Bradykinin ist diskutiert worden [2]. In der vorliegenden Arbeit

wurde die Wirkung von Propofol auf nozizeptive Neurone und nozizeptorspezifische Membranrezeptoren untersucht. Hierbei handelt es sich um TRPV1 und TRPA1, die eine bedeutende Rolle für die Polymodalität nozizeptiver Neurone und für die periphere Sensibilisierung bei Gewebeverletzung und Entzündung spielen [3]. TRPV1 wird durch Hitze ( $>42^{\circ}\text{C}$ ) sowie durch zahlreiche endogene und exogene Substanzen wie z.B. Capsaicin, Protonen und das endogene Cannabinoid Anandamid aktiviert. Im Rahmen einer Entzündung ist TRPV1 entscheidend für die Ausbildung einer thermischen Hyperalgesie. TRPA1 gilt als Detektor multipler endogener und exogener algogener Substanzen oder Irritantien wie Senföl, Acrolein, Cannabinoide, Formalin und Prostaglandine. TRPA1 ist entscheidend für die Bradykinin-induzierte Hyperalgesie aber auch für die Kälte-Hyperalgesie im Rahmen einer Entzündung oder einer Neuropathie.

#### Methodik

Mit behördlicher Genehmigung wurden adulte Wildtyp-C57/BL6-Mäuse, TRPV1-Knockout-Mäuse und TRPA1-Knockout-Mäuse zur Gewebeentnahme mit  $\text{CO}_2$  getötet. In kultivierten Spinalganglienzellen aus diesen Tieren wurde der intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Anstieg auf eine Applikation von Propofol hin mittels der  $\text{Ca}^{2+}$ -Imaging-Technik gemessen. Kultivierte HEK293t-Zellen wurden mit cDNA verschiedener TRP-Rezeptoren transfiziert und mit der Whole-Cell-Konfiguration der Patch-Clamp-Methode untersucht.

### Ergebnisse

Propofol induzierte einen konzentrationsabhängigen  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom in Spinalganglienzellen der Wildtyp-Maus ab 10  $\mu\text{M}$  ( $n=101$ ). Sowohl Spinalganglienzellen von TRPV1-defizienten Mäusen als auch von TRPA1-defizienten Mäusen zeigten zwar eine deutliche Antwort auf Propofol, in beiden Genotypen war diese Antwort jedoch kleiner als in Spinalganglienzellen der Wildtyp-Maus (TRPV1 67 %,  $n=62$  und TRPA1 45 %,  $n=46$ ). Die noch erhaltene Antwort in TRPA1-defizienten Spinalganglien konnte effizient durch den selektiven TRPV1-Blocker BCTC (N-(4-tertiarybutylphenyl)-4-(3-cholorphyrin-2-yl, 10 $\mu\text{M}$ ) gehemmt werden (62 %,  $n=30$ ). Eine entsprechende Untersuchung an TRPV1-defizienten Zellen ist nicht möglich, da derzeit keine selektiven TRPA1-Blocker verfügbar sind. Die Wirkung von Propofol auf TRPV1 und TRPA1 wurde auch im heterologen Expressionssystem untersucht. Wie in Abbildung 1A demonstriert, zeigten untransfizierte HEK293t-Zellen (HEK293t-Mock) keine Einwärtsströme auf Propofol bis 300  $\mu\text{M}$ . In HEK293t-Zellen mit TRPV1 aber induzierte Propofol konzentrationsabhängig Einwärtsströme ab 10  $\mu\text{M}$  (Abb. 1B) mit einem EC<sub>50</sub>-Wert von 102  $\pm$  3.4  $\mu\text{M}$ , ( $n=5-6$  pro Konzentration). Auch HEK293t-Zellen mit TRPA1 zeigten Propofolinduzierte Einwärtsströme. Diese Antworten waren jedoch klein und in den meisten Zellen nur einmalig auslösbar. Eine pharmakologische Charakterisierung Propofol-induzierter Einwärtsströme wurde aus diesem Grund mit TRPV1 ausgeführt. Der kompetitive TRPV1-Blocker Capsazepin (10  $\mu\text{M}$ ) blockierte vollständig Propofol-induzierte TRPV1-Ströme (99  $\pm$  2 %,  $n=5$ ). Propofol-induzierte Einwärtsströme zeigten auch eine für TRPV1 typische Desensibilisierung. Bei wiederholten Applikationen von Propofol (300  $\mu\text{M}$ ) zeigte sich in  $\text{Ca}^{2+}$ -haltiger Lösung eine starke Abnahme der Stromamplituden (72.3  $\pm$  14.2 % des Ursprungstroms,  $n=5$ ). Während die Desensibilisierung von

TRPV1 durch viele andere Agonisten eine starke Abhängigkeit von der extrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration zeigt, war die Desensibilisierung durch Propofol komplett erhalten in  $\text{Ca}^{2+}$ -freier Lösung (53.7  $\pm$  9.0 % des Ursprungstroms,  $n=7$ ) ( $p>0.05$  ungepaarter t-Test). Propofol-induzierte Einwärtsströme konnten durch eine Proteinkinase-C-vermittelte Phosphorylierung von TRPV1 sensibilisiert werden: Die Vorbehandlung mit dem PKC-Aktivator PMA (phorbol12-myristat13-acetat, 1  $\mu\text{M}$ ) verursachte eine 27.9  $\pm$  6.8-fache Potenzierung Propofol-induzierter Einwärtsströme ( $n=8$ ). Diese Potenzierung war in der TRPV1-Mutante S502A/S800A, in der beide PKC Phosphorylierungsstellen von TRPV1 blockiert sind, signifikant reduziert (1.6  $\pm$  0.7-fach,  $n=7$ ) ( $p<0.001$ , ungepaarter t-Test).

### Interpretation

Propofol ist ein potenter Agonist von TRPV1, aber auch von TRPA1. Diese Wirkung von Propofol wird sowohl im heterologen Expressionssystem als auch in nativen Spinalganglienzellen der Maus beobachtet. Die Aktivierung der TRP-Rezeptoren TRPV1 und TRPA1 könnte dem Injektionsschmerz von Propofol zu Grunde liegen und zu einer Modulation des nozizeptiven Systems bei Anästhesien mit Propofol beitragen.

### Literatur

1. Iwama H, Nakane M, Ohmori S, et al. Nafamostat mesilate, a kallikrein inhibitor, prevents pain on injection with propofol. *Br J Anaesth* 1998;81: 963-964.
2. Baker MT, Naguib M. Propofol: the challenges of formulation. *Anesthesiology* 2005;103:860-876. Review.
3. Wang H, Woolf CJ. Pain TRPs. *Neuron* 2005;46:9-12. Review.

Gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (KFO 130).

Korrespondenzadresse: andreas.leffler@kfa.imed.uni-erlangen.de

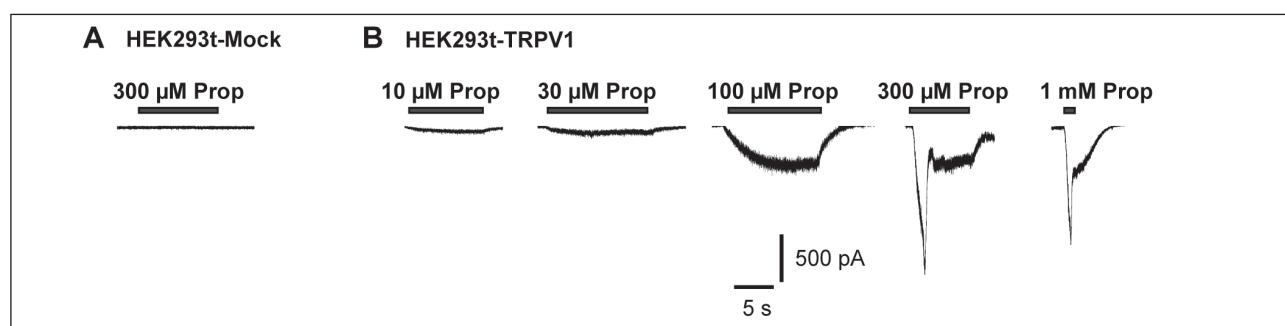


Abb. 1: A) Propofol hat keine Wirkung an untransfizierten HEK293t-Zellen (HEK293t-Mock). B) Propofol induziert Einwärtsströme in HEK293t-Zellen mit TRPV1. Zellen wurden bei einem Haltepotential  $V_h$  -60 mV gehalten. Propofol in steigenden Konzentrationen wurde für ~10s appliziert in Abständen von 2 Minuten.

## Die Blockade der Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptoren $\alpha$ und $\gamma$ hebt das zweite Fenster der Desfluran-induzierten Präkonditionierung im akuten In-vivo-Herzinfarktmodell des Kaninchens auf

C. Lotz, M. Lange, T. Tischer-Zeitz, J. Schmidt, A. Redel, N. Roewer und F. Kehl

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

### Fragestellung

Desfluran bewirkt 24–72 Stunden nach Applikation ein zweites Fenster der Anästhetika-induzierten Präkonditionierung (APC), das COX2-vermittelt ist [1]. Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR) interagieren mit COX2 [2] und spielen eine zentrale Rolle in der Regulation des kardialen Energiehaushalts [3]. Wir testeten die Hypothese, dass die Blockade von PPAR  $\alpha$  und  $\gamma$  das zweite Fenster der APC aufhebt.

### Methodik

Die Tiersuchsgenehmigung der zuständigen Behörde lag vor. Pentobarbital-narkotisierte weiße Neuseeland-Kaninchen (2,0–2,5 kg) wurden randomisiert 6 Gruppen zugeteilt und zur

► Messung der Herzfrequenz (HF) und des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) instrumentiert. Nach Thorakotomie wurde ein prominenter Ast der linken Koronararterie (LAD) umschlungen und durch Koronararterienokklusion (CAO) eine Ischämie ausgelöst. 48 Tiere erhielten eine 30-minutige CAO gefolgt von einer 3-stündigen Reperfusion. Die Untersuchungsgruppen erhielten: CON: keine weitere Intervention; DES: 1.0 MAC Desfluran für 30 Minuten nach Plazierung einer Laryngxmaske, 24 Stunden vor CAO; GW6471 (selektiver PPAR $\alpha$ -Antagonist): 4 mg/kg i.p., 30 Minuten vor CAO; GW9662 (selektiver PPAR $\gamma$ -Antagonist): 1 mg/kg i.v., 15 Minuten vor CAO. In zwei weiteren Gruppen erfolgte die kombinierte Gabe von Desfluran und GW6471 (DES/GW6471) bzw. GW9662 (DES/GW9662). Die Infarktgröße (IS/AAR) wurde nach Bestimmung des Ischämieareals (AAR) mit Patentblau und des Infarktareals (IS) mit Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid (TTC) gravimetrisch ermittelt. Bei 24 weiteren Tieren erfolgte unmittelbar vor CAO die Entnahme des Herzens zur Analyse der COX2-Expression mittels Western-Immunoblotting.

Statistik: ANOVA mit Post-hoc-Duncan-Test, Mittelwert  $\pm$  SEM, \* $p$ <0.05.

### Ergebnisse

Die hämodynamischen Messwerte sowie die AAR unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant. Die Infarktgröße (IS/AAR) betrug in der Kontrollgruppe  $60\pm3,3\%$  (n=8). Desfluran reduzierte die Infarktgröße signifikant auf  $42,2\pm3,1\%$  (n=8). Die Gabe von GW6471 ( $56,1\pm3,4\%$ , n=8) und von GW9662 ( $56,5\pm4,1\%$ , n=8) alleine veränderte die Infarktgröße nicht. Desfluran in Kombination mit GW6471 ( $61,4\pm3,8\%$ , n=8) bzw. GW9662 ( $55,3\pm3,6\%$ , n=8) hob die Infarktgrößenreduktion durch Desfluran auf (Abb. 1). Die Expression der COX2 war unter alleiniger Gabe von Desfluran ( $148,3\pm9,3\%$  vs. Con), GW6471 ( $71,5\pm15\%$  vs. Con), GW9662 ( $96,0\pm27,8\%$  vs. Con) unverändert im Vergleich zur Kontrollgruppe und war unter Gabe von Desfluran in Kombination mit GW6471 ( $293,9\pm16,7\%$  vs. Con) bzw. GW9662 ( $219,5\pm25\%$  Con) signifikant erhöht.

### Interpretation

Die Applikation von Desfluran 24 Stunden vor CAO induzierte ein zweites Fenster der APC. Die Blockade des PPAR $\alpha$  und PPAR $\gamma$

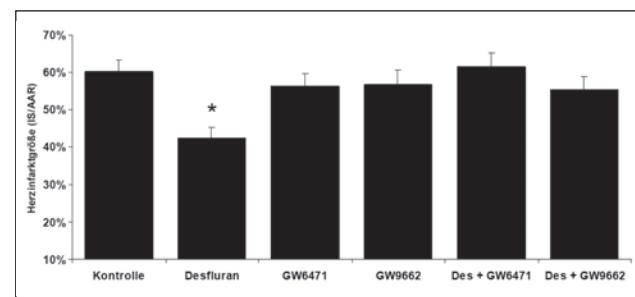


Abb. 1: Herzinfarktgröße (IS/AAR) in Prozent. Angegeben ist Mittelwert  $\pm$  SEM. \* signifikant ( $p<0,05$ ) verschieden von Kontrolle.

führte unmittelbar zu einer erhöhten COX2-Expression und zu einer Aufhebung des zweiten Fensters der Desfluran-induzierten Präkonditionierung. Daraus kann geschlossen werden, dass eine Aktivierung des PPAR $\alpha$  sowie des PPAR $\gamma$  zur Vermittlung des zweiten Fensters der Desfluran-induzierten Präkonditionierung notwendig ist. Auf eine Beteiligung anderer Signalwege kann aus den erzielten Ergebnissen nicht geschlossen werden, hierzu erscheinen weitere Untersuchungen notwendig.

### Literatur

1. Tanaka K, Ludwig LM, Krolkowski JG, Alcindor D, Pratt PF, Kersten JR, et al. Isoflurane produces delayed preconditioning against myocardial ischemia and reperfusion injury: role of cyclooxygenase-2. Anesthesiology 2004;100:525-531.
2. Meade EA, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Peroxisome proliferators enhance cyclooxygenase-2 expression in epithelial cells. J Biol Chem 1999;274:8328-8334.
3. Huss JM, Kelly DP. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. Circ Res 2004;95:568-578.

Korrespondenzadresse: Lotz\_C@klinik.uni-wuerzburg.de

## Wirkung von morphinartigen, fentanylartigen und endogenen Opioiden auf den humanen 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptor

**M. Lyutenska, M. Wittmann, B.W. Urban und M. Barann**

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Bonn, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

### Fragestellung

Der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor ist ein ligandgesteuerter Ionenkanal, der bei der Vermittlung von Emesis – einer häufigen Nebenwirkung von Opioiden – eine wichtige Rolle spielt [1]. In vorausgegangenen Ganzzell-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass nicht nur Antiemetika, sondern überraschenderweise auch Morphin den 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor hemmt [2]. In der vorliegenden „Patch-Clamp“-Studie wurden die Effekte von Morphin, weiteren synthetischen und zusätzlich endogenen Opioiden und Apomorphin am humanen 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptor mit erhöhter Zeitauflösung verglichen.

Hierdurch sollten direkte Effekte am Rezeptorprotein identifiziert werden. Solche Effekte an 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren können direkten Einfluss auf die antiemetische Effektivität von 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor-antagonisten haben.

### Methode

In HEK-293-Zellen stabil transfizierte humane 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptoren wurden mittels der „Patch-Clamp“-Technik im „voltage-clamp“-Modus (-100 mV an „excised outside-out patches“ gemessen.

### Ergebnisse

Die durch 5-HT (30  $\mu$ M; EC<sub>50</sub> = 6,9  $\mu$ M) induzierten Stromamplituden wurden durch Morphin (IC<sub>50</sub> = 0,3  $\mu$ M) und das strukturähnliche Hydromorphon (IC<sub>50</sub> = 4,1  $\mu$ M) konzentrationsabhängig gehemmt (Abb. 1a), während keine signifikante Hemmung durch die fentanylartigen (Alfentanil, Fentanyl, Remifentanil, Sufentanil; Abb. 1b) und die endogenen Opioide (Endomorphin-2, Met-Enkephalin, Dynorphin; Abb. 1c) bei Konzentrationen  $\leq$  10  $\mu$ M beobachtet wurde. Nur Morphin wirkte bei klinischen Plasmakonzentrationen eine Hemmung (Abb. 1a/b). Neben

► einer Inhibition der Stromamplituden führten Morphin und Hydromorphon zu einer Verlangsamung der Desensibilisierung (z.B. um 100 % bei 1  $\mu$ M Morphin). In Konzentrationen >10  $\mu$ M aktivierte das potente Emetikum Apomorphin die 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptoren direkt, dieser Effekt wurde durch den 5-HT<sub>3</sub>-Antagonisten Ondansetron gehemmt.

#### Interpretation

Die Inhibitionen durch die morphinartigen und die geringe Potenz der synthetischen Opiode in der vorliegenden Studie bestätigen die zuvor an ganzen Zellen ermittelten Hemmpotenten sowie deren Rangordnung. Auch die durch Morphin hervorgerufenen Veränderungen in den Stromkinetiken konnten validiert werden. Im Unterschied zu den Ganzzellmessungen zeigte sich hier keine kompetitive Wirkung von Morphin und Hydromorphon.

#### Die Ergebnisse zeigen:

1. Morphin moduliert humane 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptoren bei klinischen Konzentrationen direkt, und kann daher direkten Einfluss auf die antiemetische Wirkung von 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten haben.
2. Ein direkter Agonismus an 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren als emetogener Mechanismus ist prinzipiell möglich, wie bei Apomorphin gezeigt. Ein solcher Agonismus wurde für die untersuchten klinisch verwendeten Analgetika nicht gefunden.
3. Der humane 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor ist kein Ziel für klinische Konzentrationen synthetischer Opiode sowie endogener Substanzen. Die Wirkung von 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten wird durch diese Substanzen nicht direkt beeinflusst.
4. Die Ergebnisse lassen es für sinnvoll erscheinen, anfängliche Befunde [3] zur unterschiedlichen Emetogenität von Morphin-/Fentanyl-derivaten durch weitere klinische Studien zu validieren.

#### Literatur

1. Barann M, Molderings G, Brüss M, Bönisch H, Urban BW, Göthert M. Direct inhibition by cannabinoids of human 5-HT<sub>3A</sub> receptors: probable involvement of an allosteric modulatory site. *Br J Pharmacol* 2002;137:589-596.
2. Wittmann M, Peters I, Schaaf T, Wartenberg HC, Wirz S, Nadstawek, et al. Effects of morphine on human 5-HT<sub>3A</sub> receptors. *Anesth Analg* 2006;103:147-152.
3. Shoji A, Toda M, Suzuki K, Takahashi H, Takahashi K, Yoshiike Y, et al. Insufficient Effectiveness of 5-Hydroxytryptamine-3 Receptor Antagonists Due to Oral Morphine Administration in Patients With Cisplatin-Induced Emesis. *J Clin Oncol* 1999;17:1926-1930.

Unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (BA 1454).

Korrespondenzadresse: martin.barann@ukb.uni-bonn.de

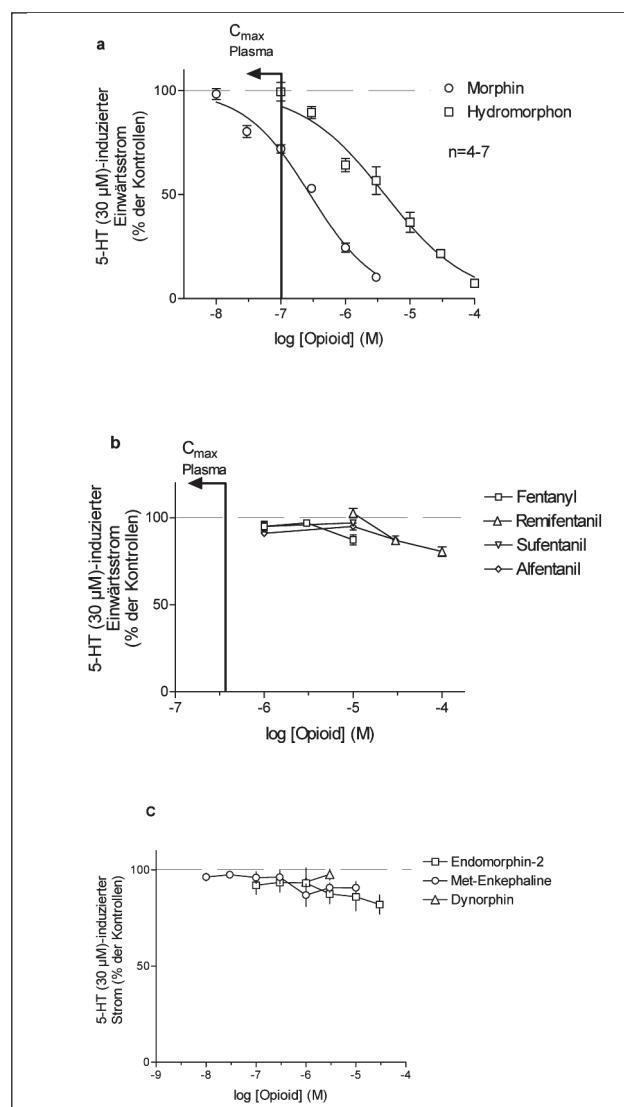


Abb. 1: (a) Hemmung durch morphinartige – und (b) fehlende Hemmung durch fentanylartige Opiode. (c) Fehlende Hemmung durch endogene Opiode.

## Die selektive Aktivierung von Melatoninrezeptoren mit Ramelteon verbessert die Leberfunktion und die Leberperfusion nach hämorrhagischem Schock bei der Ratte

**A. Mathes, D. Kubulus, L. Waibel, P. Heymann und H. Rensing**  
Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum des Saarlandes, Universität des Saarlandes, Homburg (Saar)

#### Fragestellung

Das pineale Hormon Melatonin verfügt über ein ausgeprägtes antioxidatives Potenzial, welches in verschiedenen Stressmodellen erfolgreich zur Organprotektion genutzt werden kann. Zudem mehren sich derzeit die Hinweise darauf, dass die Aktivierung von

Melatoninrezeptoren zu den schützenden Eigenschaften des Hormons beitragen kann. So wurde in einem Modell kardialer Ischämie [1], sowie nach toxischer Hirnschädigung [2] eine Rezeptor-abhängige Protektion durch Melatonin beobachtet. Wir konnten gleichfalls zeigen, dass die Therapie mit Melatonin nach hämorrhagischem Schock zu einer rezeptorabhängigen Verbesserung der Leberfunktion führen kann [3]. Während diese Studien den Anteil einer Melatoninrezeptor-Aktivierung am schützenden Potenzial des Pinealhormons demonstrieren, ist weiterhin unklar, ob eine isolierte Aktivierung von Melatoninrezeptoren, ohne antioxidative Begleiteffekte, ebenfalls zur Organprotektion genutzt werden kann. Ziel dieser Studie war daher zu untersuchen, ob die Therapie mit dem neuartigen Hypnotikum und Melatoninrezeptor-Agonisten Ramelteon zu einer Verbesserung von Leberfunktion, Leberperfusion und hepatozellulärer Integrität nach hämorrhagischem Schock bei der Ratte führen kann.

### Methodik

Die totale antioxidative Kapazität von Ramelteon wurde spektrophotometrisch mit Hilfe eines modifizierten 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)-Assays gemessen. Alle Tierversuche wurden nach Genehmigung durch die Tier- schutzbehörde an narkotisierten (Pentobarbital, 50 mg/kg i.p.), männlichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Bei allen Tieren wurde ein 90-minütiger druckkontrollierter hämorrhagischer Schock (MAP  $35 \pm 5$  mmHg) induziert. Anschließend wurden 60 % des entnommenen Blutes retransfundiert, es folgte eine zweistündige Reperfusionsphase (Volumentherapie: 1. Stunde 200 %, 2. Stunde 100 % des entnommenen Blutvolumens als Ringer-Infusion). Die Tiere erhielten am Ende des Schocks entweder Ramelteon (Schock/Rml: 1,0 mg/kg i.v.), den Melatoninrezeptor- Antagonisten Luzindole plus Ramelteon (Schock/Lzn+Rml: jeweils 1,0 mg/kg i.v.), oder Vehikel (Schock/Vehikel). In zwei weiteren Versuchsgruppen wurde kein hämorrhagischer Schock durchgeführt (Sham: Scheinoperation), eine dieser Gruppen erhielt Ramelteon als Kontrolle (Sham/Rml). Nach Reperfusion wurde in allen Gruppen die Leberfunktion mittels Plasmaverschwindrate von Indozyaningrün (PDR<sub>ICG</sub>) gemessen, oder intravitalmikroskopisch der linke Leberlappen bezüglich NAD(P)H-Autofluoreszenz (als indirektes Maß des Redoxstatus), hepatischem Perfusions- index, und Propidium-Jodid (PI)-Färbung (als Maß des zellulären Schadens) untersucht. Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test. Die Daten entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  SD (n = 10 pro Gruppe).

### Ergebnisse

In vitro zeigte Ramelteon, im Gegensatz zu Melatonin, keine relevante antioxidative Kapazität im ABTS-Assay ( $4,8 \pm 1,7$  % vs.  $88,2 \pm 2,1$  %; p < 0,001). In vivo führte die Therapie mit Ramelteon nach hämorrhagischem Schock im Vergleich zu Vehikeltieren zu einer signifikanten Verbesserung der PDR<sub>ICG</sub> (Abb. 1), der NAD(P)H- Autofluoreszenz ( $94,54 \pm 6,45$  densitometrische Einheiten [aU] vs.  $137,23 \pm 8,72$  aU; p < 0,001) und des hepatischen Perfusionsindex ( $848,81 \pm 181,38$  pl/sec/mm vs.  $352,04 \pm 111,78$  pl/sec/mm; p = 0,002), sowie zu einer Verminderung von PI-gefärbten Zellen ( $9,88 \pm 4,77$  Zellen pro Gesichtsfeld vs.  $33,08 \pm 11,79$  Zellen pro Gesichtsfeld; p < 0,001). Die Gabe von Luzindole hob den protektiven Effekt mit Bezug auf die Leberfunktion (Abb. 1) vollständig und hinsichtlich der NAD(P)H-Autofluoreszenz ( $117,47 \pm 7,40$  aU; p < 0,001 vs. Ramelteon) teilweise wieder auf. Die Gabe von Ramelteon ohne Induktion eines hämorrhagischen Schocks veränderte keinen der gemessenen Parameter im Vergleich zu scheinoperierten Tieren.

### Interpretation

Diese Studie zeigt, dass die selektive Aktivierung von Melatoninrezeptoren mit Ramelteon zu einer Verbesserung von Leber-

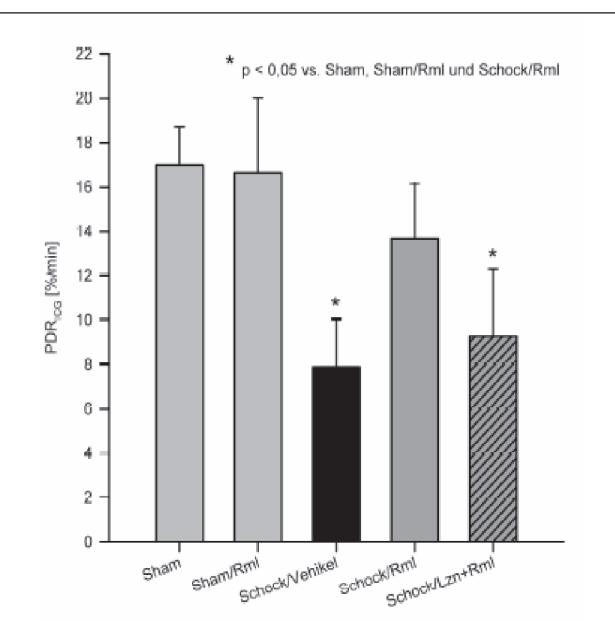


Abb. 1

funktion, Leberperfusion und hepatozellulärer Integrität nach hämorrhagischem Schock bei der Ratte führt. Damit darf vermutet werden, dass die direkten antioxidativen Wirkungen von Melatonin zwar einen zusätzlichen Beitrag leisten können, ohne aber für den organprotektiven Effekt des Hormons zwingend erforderlich zu sein. Diese Daten lassen weiterhin spekulieren, dass das Hypnotikum Ramelteon in Zukunft eine bedeutende Rolle im Rahmen von organprotektiven Sedierungskonzepten in Anästhesie und Intensivmedizin spielen könnte.

### Literatur

1. Lochner A, Genade S, Davids A, Ytrehus K, Moolman JA. Short- and long-term effects of melatonin on myocardial post-ischemic recovery. *J Pineal Res* 2006;40:56-63.
2. Husson I, Mesples B, Bac P, Vamecq J, Evrard P, Gressens P. Melatonergic neuroprotection of the murine periventricular white matter against neonatal excitotoxic challenge. *Ann Neurol* 2002;51:82-92.
3. Mathes A, Kubulus D, Weiler J, Bentley A, Waibel L, Wolf B, et al. Melatonin receptors mediate improvements of liver function but not of hepatic perfusion and integrity after hemorrhagic shock in rat. *Critical Care Medicine* 2008;36:24-29.

Diese Arbeit wurde durch eine Forschungsförderung der European Society of Anesthesiology (ESA) unterstützt.

Korrespondenzadresse: dr.alexander.mathes@uks.eu

## Toll-like-Rezeptor-2-knock-out schützt vor letalen Arrhythmien nach Myokardischämie und Reperfusion

J. Mersmann<sup>1</sup>, N. Tran<sup>2</sup>, G. Theilmeier<sup>3</sup> und K. Zacharowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

<sup>2</sup> Department of Anaesthesia & Critical Care, Bristol Royal Infirmary, Bristol, UK

<sup>3</sup> Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

### Fragestellung

Der Toll-like-Rezeptor 2 (TLR2) ist als Rezeptor der angeborenen Immunantwort an der inflammatorischen Antwort auf eine Ischämie in verschiedenen Geweben beteiligt. TLR2-Defizienz (TLR2<sup>-/-</sup>) vermindert die Schädigung des Herzmuskels nach Ischämie und Reperfusion (I/R) bei der Maus, gekennzeichnet durch eine geringere Infarktausdehnung im Risikogebiet und niedrigere Troponin-T-Plasmaspiegel [1]. Eine 50 %ige Sterblichkeit der Kontrolltiere in den ersten 24 Stunden nach Ischämie gegenüber 0 % bei TLR2<sup>-/-</sup>-Mäusen gab Anlass, ein EKG dieser Tiere abzuleiten. Die Dichte des Gap-junction-Proteins Connexin 43 (Cx43) – eines kritischen Faktors für die Prävention postischämischer Arrhythmien – ist in TLR2<sup>-/-</sup>-Mäusen erhöht [2].

► mischer Arrhythmien [2] – wurde ebenfalls bestimmt, um zu überprüfen, ob TLR2-Defizienz vor letalen Arrhythmien in der Reperfusionsphase schützt.

#### Methodik

In dieser Studie wurden mit Genehmigung der zuständigen Landesbehörde 10-14 Wochen alte, männliche C3H-Wildtyp (WT)- und TLR2<sup>-/-</sup>-Mäuse untersucht. Nach Pentobarbital-Gabe (80 mg/kg, i.p.) wurden die Tiere orotracheal intubiert und beatmet (MiniVent, Hugo Sachs Elektronik). Ein Telemetrie-Transmitter (Ta10EA-F20, Data Sciences International) wurde im Bereich des Nackens subkutan implantiert und dessen Elektroden im Sinne einer Einthoven-II-Ableitung positioniert. Es wurde linkseitig thorakotomiert und der Ramus interventricularis anterior (RIVA) für 20 Minuten ligiert. Der Thorax wurde anschließend verschlossen und die Maus von der Beatmung entwöhnt. Zur postoperativen Analgesie erhielten die Tiere Buprenorphin (0.05 mg/kg, s.c.). Anschließend wurde eine 24h-EKG-Aufzeichnung durchgeführt und das Vorliegen von Arrhythmien untersucht. Die Herzfrequenz (HR) und Herzfrequenzvariabilität (HRV) sowie die Herzfrequenzturbulenzen (HRT; Parameter: turbulence onset (TO), turbulence slope (TS)) wurden zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Die Dichte von Cx43-positiven Gap-junctions im Myokard wurde immunhistologisch bestimmt. Die Daten wurden von einem verblindeten Untersucher erhoben und mit dem Mann-Whitney-Test auf signifikante Unterschiede geprüft. Die Daten sind dargestellt als Mittelwert±SEM von n Beobachtungen; p<0.05 wird als signifikant betrachtet.

#### Ergebnisse

5 von 9 WT-Tieren versterben im Untersuchungszeitraum während 7 von 7 TLR2<sup>-/-</sup>-Tieren überleben. Das EKG der verstorbenen Tiere demonstriert neben Schenkelblockbildern vor allem drittgradige AV-Blockierungen mit Kammerersatzrhythmen <200/min, die innerhalb von Minuten zum Tode führen. Während sich die Gruppen in HR und HRV ansonsten nicht unterscheiden, zeigen die TLR2<sup>-/-</sup>-Tiere signifikant niedrigere Werte für TO (-0.6±0.2 vs. 3.4±2.1%) und signifikant höhere Werte für TS (9.2±3.5 vs. 2.1±0.6 ms/R-R, p<0.05, n=9/7). Die Werte der TLR2<sup>-/-</sup>-Tiere liegen zudem ausnahmslos innerhalb des Referenzbereichs (TO: <0%; TS: >2,5 ms/R-R; s. Abb. 1). Der Anteil der Cx43-positiven Gap-junctions an der Gesamtzahl der Gap-junctions ist im Ischämiegebiet der TLR2<sup>-/-</sup>-Tiere gegenüber Wildtyp signifikant erhöht (77±5 vs. 43±6%, p<0.05, n=4).

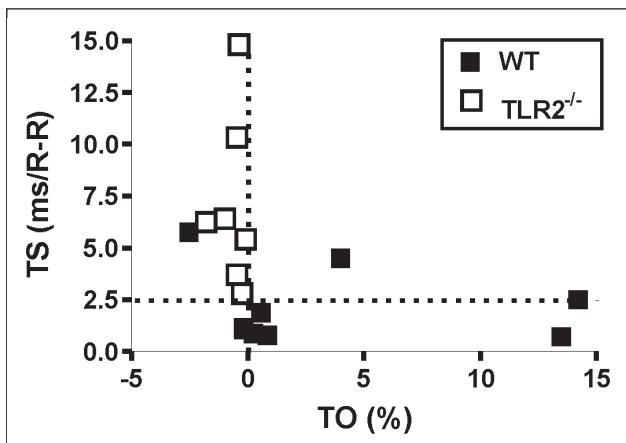


Abb. 1: Die HRT-Parameter TO und TS der TLR2<sup>-/-</sup>-Tiere liegen im Gegensatz zum WT ausnahmslos im Referenzbereich (TO < 0 %, TS: >2.5ms/R-R).

#### Interpretation

TLR2<sup>-/-</sup>-Tiere sind von letalen Arrhythmien innerhalb der ersten 24 Stunden nach myokardialer I/R nicht betroffen. Sie zeigen im Gegensatz zum Wildtyp durchgehend physiologische HRT-Werte. Sind beide HRT-Parameter außerhalb des Referenzbereiches, so ist die HRT ein ebenso starker Mortalitätsprädiktor wie die linksventrikuläre Ejektionsfraktion [3]. Die geringere Myokardschädigung zusammen mit der relativ höheren Dichte Cx43-positiver Gap-junctions könnte die geringere Arrhythmieanfälligkeit der TLR2<sup>-/-</sup>-Tiere erklären.

#### Literatur

1. Mersmann J, Arafkas M, Maschhadi Y, Zacharowski PA, Zacharowski K. Defizienz für den Toll-like Rezeptor 2 verbessert das Überleben nach myokardialer Ischämie und Reperfusion bei der Maus. Anästh Intensivmed 2006;47(4):390-391.
2. Roell W, et al. Engraftment of connexin 43-expressing cells prevents post-infarct arrhythmia. Nature 2007;450(7171):819-824.
3. Francis J, Watanabe MA, Schmidt G. Heart rate turbulence: a new predictor for risk of sudden cardiac death. Ann Noninvasive Electrocardiol 2005;10:102-109.

Korrespondenzadresse: jan.mersmann@uni-duesseldorf.de

## Das Peptid B $\beta$ <sub>15-42</sub> reduziert Schädigungen von Herz, Lunge, Leber und Dünndarm nach hämorrhagischem Schock und Reperfusion beim Schwein

J. P. Roesner<sup>1</sup>, P. Petzelbauer<sup>2</sup>, A. Koch<sup>3</sup>, N. Tran<sup>3</sup>, T. Iber<sup>1</sup>, D. A. Vagts<sup>1</sup>, T. W. L. Scheeren<sup>1</sup>, B. Vollmar<sup>4</sup>, G.E.F. Nöldge-Schomburg<sup>1</sup> und K. Zacharowski<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Rostock, Universität Rostock

<sup>2</sup> Universitätsklinik für Dermatologie, Klinische Abteilung für Allgemeine Dermatologie, Medizinische Universität Wien, Österreich

<sup>3</sup> Molecular Cardioprotection & Inflammation Group, Department of Anesthesia, Bristol Royal Infirmary, University of Bristol, UK

<sup>4</sup> Institut für Experimentelle Chirurgie, Universität Rostock

#### Fragestellung

Hämorrhagischer Schock (HS) und therapeutische Reperfusion erzeugen häufig Schäden an Herz, Lunge und Organen des Splanchnikus-Gebietes. In vorangegangenen Arbeiten konnten wir nachweisen, dass das Fibrinolysinprodukt B $\beta$ <sub>15-42</sub> die Größe eines myokardialen Infarktes nach Ischämie und Reperfusion deutlich reduziert [1]. Als Mechanismus der Protektion konnten eine Hemmung der VE-Cadherin-vermittelten Transmigration von Leukozyten in das geschädigte Gewebe und eine Reduktion der Interleukin-6 (IL-6)-Freisetzung nachgewiesen werden [2,3]. In der vorliegenden Studie untersuchten wir, ob B $\beta$ <sub>15-42</sub> auch nach systemischer Ischämie/Reperfusion (HS/Reperfusion) protektive Effekte auf klassische Schockorgane wie Herz, Lunge, Leber und Dünndarm hat.

#### Material und Methodik

Mit Genehmigung der zuständigen Landesbehörde wurden männliche deutsche Hausschweine (Gewicht ~30 kg) einem HS

► durch Ausbluten bis auf einen mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) von 40 mmHg ausgesetzt. Eine Stunde später wurden die Tiere mit dem entnommenen Blut und kristalloider Lösung reperfundierte und für insgesamt 5 h nachbeobachtet. Ein i.v.-Bolus von Phosphatpuffer (PBS, 2,4 mg/kg in NaCl, Kontrolle, n=7) oder B $\beta$ <sub>15-42</sub> (2,4 mg/kg in NaCl, B $\beta$ <sub>15-42</sub>, n=8) wurde zu Beginn der Reperfusion sowie nach 150 min verabreicht. Vor und 1 h nach der Schockphase sowie nach 1, 3 und 5 h Reperfusion wurden Blutproben (kardiales Troponin (TnT), IL-6) entnommen und die Gewebeoberflächenoxigenierung (GOO) von Leber und Dünndarm (Serosa und Mukosa) bestimmt. Nach 5 h Reperfusion wurden die Tiere durch eine Kaliuminfusion getötet und Gewebe für histologische Untersuchungen entnommen.

### Ergebnisse

Nach 5 h Reperfusion zeigten die Tiere der Kontrollgruppe eine akute Lungenschädigung (Abb. 1a: paO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>-Ratio (Horovitz-Index) <300 mmHg; Abb. 1b: extra-vaskulärer Lungewasser-Index (EVLWI) 9,0±0,5 ml/kg) sowie eine funktionale und laborchemische myokardiale Schädigung (Herzindex (HI) 4,3±0,1 l/min/m<sup>2</sup>; Schlagvolumenindex (SVI) 30±1 ml/m<sup>2</sup>; TnT 0,58±0,15 ng/ml). Im Gegensatz hierzu zeigten B $\beta$ <sub>15-42</sub>-behandelte Tiere verbesserte pulmonale und kardiale Parameter (paO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>-Ratio >\*400 mmHg; EVLWI \*5,2±0,6 ml/kg, HI \*6,3±0,3 l/min/m<sup>2</sup>, SVI \*51±1 ml/m<sup>2</sup>; TnT \*0,11±0,03 ng/ml; \*p<0,05). Die GOO (mmHg) der B $\beta$ <sub>15-42</sub>-behandelten Tiere war im Vergleich zu den Kontrolltieren weniger beeinträchtigt (Leber 51±2 vs. \*65±2; Dünndarm (Serosa) 42±2 vs. \*55±3, (Mukosa) 14±2 vs. \*26±2 mmHg). Die Therapie mit B $\beta$ <sub>15-42</sub> reduzierte die Leukozytenakkumulation in Myokard, Lunge, Leber (Abb. 2a) und Dünndarm (Abb. 2b) sowie die IL-6-Freisetzung (\*24±9 vs. 131±35 pg/ml).

### Statistik

Mittelwerte±Standardfehler; Wilcoxon-matched-pair-test oder ANOVA + Bonferroni's Post-hoc-Test. \* Signifikanzniveau p<0,05.

### Interpretation

B $\beta$ <sub>15-42</sub> reduziert den Ischämie/Reperfusionsschaden nach HS/Reperfusion in Herz, Lunge, Leber und Darm beim akut instrumentierten Hausschwein. Eine reduzierte Leukozyteneinwanderung in die geschädigten Gewebe sowie geringere IL-6-Werte könnten die Protektion zumindest teilweise erklären.

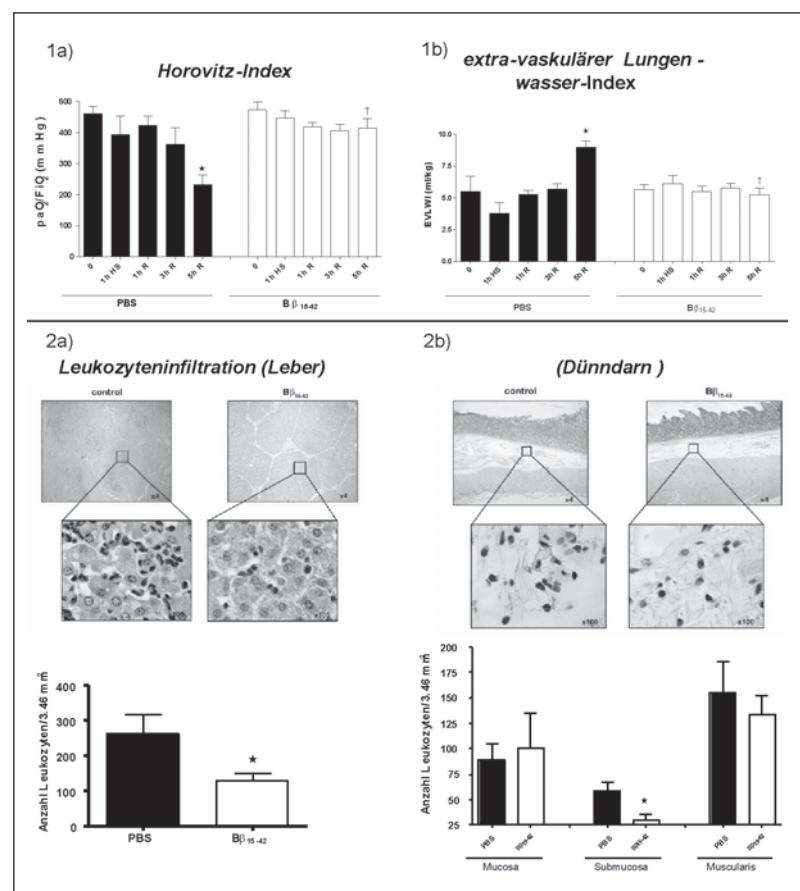


Abb. 1: a. Horovitz-Index (paO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> in mmHg), \* vs. Ausgangswert, † vs. PBS;

b. extravaskuläres Lungewasser in ml/kg, \* vs. Ausgangswert, † vs. PBS

Abb. 2: a. Leukozyteninfiltration der Leber (n/3.46 mm<sup>2</sup>), \* vs. PBS;

b. Leukozyteninfiltration des Dünndarms (Mukosa, Submucosa, Muscularis, n/3.46 mm<sup>2</sup>), \* vs. PBS

### Literatur

1. Roesner JP, et al. The fibrin-derived peptide Bbeta15-42 is cardioprotective in a pig model of myocardial ischemia-reperfusion injury. Crit Care Med 2007;35:1730-1735.
2. Petzelbauer P, et al. The fibrin-derived peptide Bbeta15-42 protects the myocardium against ischemia-reperfusion injury. Nat Med 2005;11:298-304.
3. Meng ZH, et al. Essential role for IL-6 in postresuscitation inflammation in hemorrhagic shock. Am J Physiol Cell Physiol 2001;280:C343-351.

Korrespondenzadresse: jan.roesner@uni-rostock.de

## Netrin-1 wird unter Hypoxie durch HIF-1 $\alpha$ induziert und beeinflusst die Migration neutrophiler Granulozyten durch den A2B-Adenosin-Rezeptor

P. Rosenberger<sup>1,\*</sup>, V. Mirakaj<sup>1</sup>, J. Schwab<sup>2</sup>, E. Masekowsky<sup>1</sup>, A. Mager<sup>1</sup>, K. E. Unertl<sup>1</sup> und H.K. Eltzschig<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

<sup>2</sup> Klinik und Poliklinik für Neurologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin

<sup>3</sup> Mucosal Inflammation Program, University of Colorado, Denver, CO, USA

\* Preisträger des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung 2008

### Fragestellung

Während einer Minderversorgung mit Sauerstoff (Hypoxie) kommt es zur Infiltration neutrophiler Granulozyten (PMN) in das betroffene Gewebsareal [1]. Endogene Proteine, wie Netrin-1 kontrollieren dabei eine überschießende Immunantwort [2]. Die Regulation von Netrin-1 unter Hypoxie und der Signalemechanismus der Netrin-1-induzierten Wirkung auf PMN sind dabei noch weitgehend unbekannt [2,3].

### Methodik

Die Tierversuchsgenehmigung des Regierungspräsidiums Tübingen lag vor. Die Netrin-1-Expression wurde in vitro mittels Echtzeit-PCR und Protein-Analyse untersucht. Der Netrin-1-Promoter wurde in einen PGL4-Luziferase-Vektor kloniert, die Bindungssequenz für HIF-1 $\alpha$  mutiert und danach Hypoxie (24 h, 2%O<sub>2</sub>, 98%N<sub>2</sub>) ausgesetzt. Die CaCo-Zelllinie mit induzierter Überexpression (HIF+) und Repression (HIF-) von HIF-1 $\alpha$  wurden Hypoxie ausgesetzt. Die Netrin-1-Expression wurde bei Wildtyp (WT)- und Mäusen mit einer Deletion der intestinalen HIF1 $\alpha$  (cHIF-1 $\alpha$ <sup>-/-</sup>)-Expression unter Hypoxie (4h, 8%O<sub>2</sub>, 92%N<sub>2</sub>) untersucht. Die Netrin-1-Wirkung auf PMN wurde unter Blockade der Adenosinrezeptoren untersucht, und die spezifische Rezeptorantwort zusätzlich mittels intrazellulärer cAMP-Messungen beurteilt. Die funktionelle Auswirkungen von Netrin-1 unter Hypoxie (4h, 8%O<sub>2</sub>, 92%N<sub>2</sub>) wurde in vivo bei WT-, Adenosin-Rezeptor-Knockout-Mäusen für den A2A- (A2AAR<sup>-/-</sup>-Mäuse) und den A2B-Rezeptor (A2BAR<sup>-/-</sup>-Mäuse) sowie bei entsprechenden Knochenmarks-Chimären-Mäusen untersucht (WT $\leftrightarrow$ A2BAR<sup>-/-</sup>). Die statistischen Analysen wurden mittels ANOVA und Student's-t-test durchgeführt.

### Ergebnisse

Netrin-1-mRNA wurde in epithelialen Zellen unter Hypoxie verstärkt exprimiert ( $6,3 \pm 0,93$ fach, 48h Hx,  $p < 0,01$ ). Westernblot- und Immunhistochemische Färbungen bestätigten diese Induktion. Der Netrin-1-PGL4-Reporter zeigte verstärkte Luziferase-Aktivität unter Hypoxie, die durch Mutation der HIF-1 $\alpha$ -Bindestelle aufgehoben werden konnte (Kontrolle  $1 \pm 0,18$ fach; Netrin-1-PGL4  $3,25 \pm 0,46$ fach, HIF-1 $\alpha$ -Mutation  $0,84 \pm 0,07$ fach;  $n=4$ ;  $p < 0,05$ ). Studien in den HIF+- und HIF-CaCo bestätigten die HIF-1 $\alpha$ -Abhängigkeit der Netrin-1-Expression. Netrin-1-mRNA war zudem in vivo HIF-1 $\alpha$ -abhängig induziert (WT Kolon Nx  $1 \pm 0,2$ fach vs. Hx  $4,3 \pm 1,3$ fach,  $n=5$ ;  $p < 0,05$ , cHIF1 $\alpha$ <sup>-/-</sup> Kolon Nx  $1,2 \pm 0,33$ fach vs.

Hx  $0,89 \pm 0,1$ fach,  $n=5$ ;  $p=ns$ ). Die In-vitro-Transmigrationsstudien zeigten nach Blockade des A2B-Adenosin-Rezeptors eine Aufhebung der Netrin-1-Wirkung (Kontrolle  $1 \pm 0,18$ fach; Netrin-1 500ng/ml  $0,51 \pm 0,12$ fach, Netrin-1 und PSB1115  $1,06 \pm 0,17$ fach;  $n=6$ ,  $p < 0,05$ ). Die intrazelluläre PMN-cAMP-Messung nach Netrin-1-Stimulation bestätigte dies (Kontrolle  $127 \pm 39$ pmol, Netrin-1 500ng/ml  $278 \pm 46$ pmol, Netrin-1 und PSB1115  $146 \pm 49$ pmol;  $p < 0,05$ ). Bei WT-Mäusen reduzierte Netrin-1 die hypoxieinduzierte MPO-Aktivität in Lunge, Kolon und Niere signifikant (Abb. 1a). Dieser Effekt konnte bei den A2BAR<sup>-/-</sup>-Mäusen nicht beobachtet werden, war aber bei A2AAR<sup>-/-</sup>-Mäusen vorhanden (Abb. 1b und c). In der Gruppe der chimären Mäuse zeigten die A2BAR<sup>-/-</sup> auf WT transplantierten Mäuse keine signifikante Reduktion der MPO-Aktivität in der Lunge (Nx  $1 \pm 0,1$ fach; Hx  $2,6 \pm 0,5$ fach, Hx+Netrin-1  $2,4 \pm 0,2$ fach), in der intestinalen Mukosa (Nx  $1 \pm 0,2$ fach; Hx  $1,8 \pm 0,3$ fach, Hx+Netrin-1  $1,84 \pm 0,1$ fach) und in der Niere (Nx  $1 \pm 0,1$ fach; Hx  $1,6 \pm 0,1$ fach, Hx+Netrin-1  $1,6 \pm 0,1$ fach) durch Netrin-1. In der Gruppe der WT auf A2BAR<sup>-/-</sup> transplantierten Tiere konnte eine eindeutige Reduktion der hypoxieinduzierten MPO-Aktivität in der Lunge (Nx  $1 \pm 0,1$ fach; Hx  $1,7 \pm 0,1$ fach, Hx+Netrin-1  $1,1 \pm 0,1$ fach), in der intestinalen Mukosa (Nx  $1 \pm 0,2$ fach; Hx  $1,64 \pm 0,3$ fach, Hx+Netrin-1  $0,83 \pm 0,3$ fach) und in der Niere (Nx  $1 \pm 0,2$ fach; Hx  $1,54 \pm 0,1$ fach, Hx+Netrin-1  $0,89 \pm 0,1$ fach) durch Netrin-1 gemessen werden.

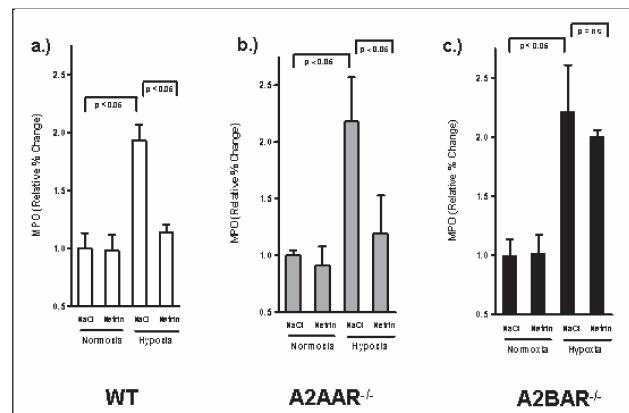


Abb. 1: Myeloperoxidase (MPO) Aktivität in der intestinalen Mukosa von a.) WT b.) A2AAR<sup>-/-</sup> und c.) A2BAR<sup>-/-</sup> Mäusen nach 4h normobarer Hypoxie (8 % O<sub>2</sub>). Daten sind Mittelwert $\pm$ SEM,  $n=5$ .

### Interpretation

Hypoxie induziert die Netrin-1-Expression durch einen HIF-1 $\alpha$ -abhängigen Mechanismus. Netrin-1 hemmt die Infiltration von PMN in hypoxisches Gewebe durch einen A2BAR-abhängigen Mechanismus an PMN.

### Literatur

1. Karhausen J, Haase VH, Colgan SP. Inflammatory hypoxia: role of hypoxia-inducible factor. *Cell Cycle* 2005;4:256-258.
2. Ly NP, Komatsuaki K, Fraser IP, Tseng AA, Prodhan P, Moore KJ, et al. Netrin-1 inhibits leukocyte migration in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:14729-14734.
3. Corset V, Nguyen-Ba-Charvet KT, Forcet C, Moyse E, Chedotal A, Mehlen P. Netrin-1-mediated axon outgrowth and cAMP production requires interaction with adenosine A2b receptor. *Nature* 2000;407:747-750.

Korrespondenzadresse: peter.rosenberger@medizin.uni-tuebingen.de

## Sevofluran verringert die myokardiale Dysfunktion nach kardiopulmonaler Reanimation bei der Ratte

**N. Russ<sup>1</sup>, E. Popp<sup>1</sup>, A. Schneider<sup>1</sup>, F. Heiser<sup>1</sup>, B.W. Böttiger<sup>2</sup> und P. Teschendorf<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Heidelberg, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

<sup>2</sup> Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Klinikum der Universität zu Köln

### Fragestellung

Patienten, die einen prähospitalen Herz-Kreislauf-Stillstand (HKS) erleiden, haben eine Überlebenswahrscheinlichkeit von 5-15 %, obwohl ungefähr 50 % dieser Patienten primär erfolgreich reanimiert werden können [1]. Wesentlicher Grund für die große Differenz zwischen Aufnahme auf die Intensivstation und Entlassung aus dem Krankenhaus ist das durch die Ischämie und die Reperfusion entstandene Organversagen, vor allem der Organe Herz und Gehirn. Von regionalen Ischämie- und Reperfusionsmodellen (Herzinfarkt) ist bekannt, dass volatile Anästhetika in der Lage sind, sowohl die Größe des infarzierten Bereichs als auch die funktionelle Beeinträchtigung nach regionaler Ischämie zu reduzieren. Die Mechanismen dafür beruhen auf der Anästhetika-induzierten Prä- bzw. Postkonditionierung [2]. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss einer einmaligen Applikation von Sevofluran zur Reanimation auf die Myokardfunktion nach Wiederherstellung von stabilen Herz-Kreislaufverhältnissen (ROSC, return of spontaneous circulation) untersucht.

### Methodik

Nach Zustimmung der zuständigen Tierschutzzkommission wurden 29 männliche Wistar-Han-Ratten (320-400 g) auf zwei Gruppen randomisiert. Alle Tiere wurden identisch anästhesiert (Pentobarbital 65 mg/kg i.p.) und präpariert. Nach elektrisch induziertem HKS und einer Stillstandsdauer von 6 min erfolgte die kardiopulmonale Reanimation inklusive Defibrillation. Die Tiere der Sevofluran-Gruppe erhielten einmalig über einen Zeitraum von 5 min Sevofluran (2,5 Vol% endtidal) ab Beginn der Reanimation. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten kein Sevofluran. Zur Evaluation kardialer Funktionsparameter wurden über die rechte A. carotis ein „Pressure-volume-conductance“-Katheter in den linken Ventrikel platziert und die Herzfunktionen kontinuierlich aufgezeichnet. Folgende Parameter wurden unmittelbar vor HKS sowie 3 h nach ROSC ausgewertet:

- enddiastolisches Volumen (EDV), enddiastolischer Druck
- Ejektionsfraktion (EF), Herzzeitvolumen

- Vorlast-adaptierte Maximalenergie („preload adjusted maximal power“)
- mittlerer arterieller Blutdruck.

Alle Daten wurden nach Prüfung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test) mittels ANOVA berechnet und sind als Mittelwert $\pm$ SEM („standard error of the mean“) angegeben. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als signifikant festgelegt.

### Ergebnisse

Von 29 Tieren konnten 24 Tieren erfolgreich reanimiert werden (Sevofluran-Gruppe 12/14, Kontroll-Gruppe 12/15;  $p = \text{n.s.}$ ). Die Dauer der Reanimation war gleich ( $3:10 \pm 0:04$  vs.  $3:13 \pm 0:08$ ;  $p = \text{n.s.}$ ). Bei den Tieren der Sevofluran-Gruppe blieb das EDV vor HKS und 3 h nach ROSC konstant ( $259 \pm 11$  l vs.  $281 \pm 25$  l;  $p = \text{n.s.}$ ), während sich das EDV in der Kontroll-Gruppe signifikant erhöhte ( $220 \pm 12$  l vs.  $410 \pm 19$  l;  $p < 0,001$ ). Der Unterschied bei 3 h zwischen den Gruppen war signifikant ( $p < 0,001$ ). Bei gleicher EF vor HKS ( $55 \pm 2$  % vs.  $53 \pm 1$  %;  $p = \text{n.s.}$ ) zeigte sich eine deutliche Abnahme nach ROSC ( $36 \pm 3$  % vs.  $23 \pm 2$  %;  $p < 0,001$ ) innerhalb beider Gruppen. Zwischen den Gruppen war der Unterschied nach 3 h signifikant ( $p = 0,004$ ). Die Analyse der Vorlast-adaptierten Maximalenergie zeigte eine geringere Reduktion ( $p = 0,005$ ) bei den mit Sevofluran behandelten Tieren (vor HKS:  $16,7 \pm 2,1$  mW/l<sup>2</sup> vs. nach ROSC:  $10,4 \pm 1,7$  mW/l<sup>2</sup>) im Vergleich zu der Kontrollgruppe (vor HKS:  $14,5 \pm 1,7$  mW/l<sup>2</sup> vs. nach ROSC:  $4,7 \pm 0,5$  mW/l<sup>2</sup>). Der enddiastolische Druck, der mittlere arterielle Blutdruck und der Quotient aus mittlerem arteriellem Blutdruck und Herzzeitvolumen änderten sich im Vergleich vor HKS vs. 3 h nach ROSC nicht.

### Interpretation

Diese Daten zeigen erstmals die positiven Effekte der Anwendung von Sevofluran auf die myokardiale Funktion nach Herz-Kreislauf-Stillstand. Sowohl die gemessenen Kontraktilitätsparameter als auch das enddiastolische Volumen zeigen, als Marker einer Herzinsuffizienz, die ausgeprägten positiven Wirkungen von Sevofluran nach Reanimation auf.

### Literatur

1. Böttiger BW, Grabner C, Bauer H, Bode C, Weber T, et al. Long term outcome after out-of-hospital cardiac arrest with physician staffed emergency medical services: the Utstein style applied to a midsized urban/suburban area. *Heart* 1999;82:674-679.
2. Kehl F, Smul T, Lange M, Redel A, Roewer N. Organprotektion durch volatile Anästhetika. *Anästh Intensivmed* 2005;45:491-507.

Korrespondenzadresse: nicolai.russ@med.uni-heidelberg.de

## Der Einfluss einer automatischen Steuerung der Druckunterstützung auf die Beatmungszeit – Zwischenanalyse einer randomisierten, kontrollierten Studie

**D. Schädler<sup>1</sup>, G. Elke<sup>1</sup>, S. Pulletz<sup>1</sup>, N. Haake<sup>2</sup>, I. Frerichs<sup>1</sup>, G. Zick<sup>1</sup>, J. Scholz<sup>1</sup> und N. Weiler<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin,

<sup>2</sup> Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

### Fragestellung

SmartCare/PS (Dräger Medical AG & Co. Kg, Lübeck) ist ein wissensbasiertes System, dass die Höhe der Druckunterstützung bei assistierter Spontanatmung automatisch reguliert und nach Durchführung eines Spontanatmungstests die Beendigung der Beatmungstherapie vorschlägt [1]. In einem selektionsierten Patientengut konnte bisher gezeigt werden, dass SmartCare/PS (SC) im Vergleich zur täglichen klinischen Routine dazu in der Lage ist, die Beatmungszeit, die Entwöhnungszeit und die Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation zu verkürzen [2]. Ziel dieser Untersuchung ist es herauszufinden, ob die aufgezeigten Vorteile von SC verglichen mit einem Entwöhnungsprotokoll bei Routineeinsatz in einem unselektionsierten, chirurgischen Patientenkollektiv (n=300) bestätigt werden können (clinicaltrials.gov ID 00445289).

### Methodik

Nach Zustimmung durch die lokale Ethikkommission und erfolgter schriftlicher Einwilligung wurden im Rahmen einer Zwischenanalyse 150 Patienten, die länger als 9 Stunden beatmet worden waren, analysiert. Es galten folgende Ausschlusskriterien: zerebraler Eingriff/Trauma, Alter unter 18 Jahren, Therapielimitierung, Beatmungszeit länger als 24 Stunden. Die Patienten wurden nach Einschluss randomisiert entweder mit SC oder mittels eines Entwöhnungsprotokolls von der Beatmung entwöhnt. In beiden Gruppen wurde ein einheitliches Analgosedierungskonzept benutzt, der primäre Endpunkt dieser Studie war die Gesamtbeatmungszeit. Die statistischen Analysen wurden mittels Mann-Whitney-U-Test und Kaplan-Meier-Analyse durchgeführt (Signifikanzniveau  $P<0,05$ ).

### Ergebnisse

Von 249 gescreenten Patienten konnten 150 in diese Zwischenanalyse eingeschlossen werden (Einschlußquote 60 %). Patientendaten zu Studienbeginn sind in **Tabelle 1** aufgeführt. Die mittlere Gesamtbeatmungszeit betrug in der SC-Gruppe  $96,1 \pm 146,2$  Stunden (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) und in der Kontrollgruppe  $138,7 \pm 186,8$  Stunden. Mit Hilfe einer Kaplan-Meier-Analyse konnte kein signifikanter Unterschied in der Gesamtbeatmungszeit zwischen den beiden untersuchten Gruppen festgestellt werden ( $P=0,12$ ; **Abb. 1**).

### Interpretation

In dieser Untersuchung konnte kein positiver Effekt von SC auf die Gesamtbeatmungszeit nachgewiesen werden. Dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen der Studie von Lellouche et al. [2], die allerdings in einem hoch selektierten Patientenkollektiv durchgeführt wurde (Einschlußquote 14 %) und in der Kontrollgruppe, mit Ausnahme eines täglichen Spontanatmungstests, gemäß den lokalen Richtlinien der einzelnen Zentren entwöhnt wurde. In unserer Untersuchung wurde SC in der täglichen klinischen Routine bei allen länger beatmeten Patienten evaluiert

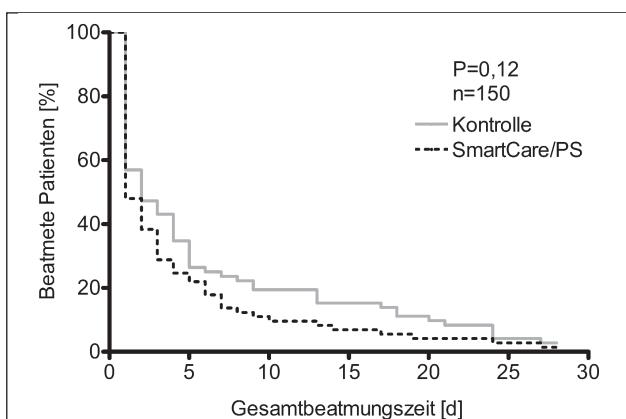


Abb. 1: Kaplan-Meier-Analyse der Gesamtbeatmungszeit.

und durch ein einheitliches Beatmungs- und Sedierungsprotokoll wurden vergleichbare Bedingungen in beiden untersuchten Gruppen geschaffen. Dabei konnte gezeigt werden, dass das in SC implementierte Protokoll vergleichbare Ergebnisse wie ein klinisches Entwöhnungsprotokoll liefert. Die Zwischenanalyse unserer Studie deutet darauf hin, dass der Einsatz von SC in der täglichen klinischen Routine empfehlenswert sein könnte.

### Literatur

1. Dojat M, Pachet F, Guessoum Z, Touchard D, Harf A, Brochard L. NeoGanesh: a working system for the automated control of assisted ventilation in ICUs. *Artif Intell Med* 1997;11:97-117.
2. Lellouche F, Mancebo J, Jolliet P, Roeseler J, Schortgen F, Dojat M, et al. A multicenter randomized trial of computer-driven protocolized weaning from mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:894-900.

Korrespondenzadresse: schaedler@anaesthesia.uni-kiel.de

Tab. 1: Patientendaten zu Studienbeginn (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung).

	Kontrolle (n=75)	SmartCare/PS (n=75)	P-Wert
Alter [Jahre]	$64 \pm 14$	$62 \pm 17$	0,32
Männliches Geschlecht, n (%)	51 (68 %)	54 (72 %)	0,29
APACHE-II-Score	$18,3 \pm 6,6$	$16,5 \pm 5,4$	0,28
Vorbeatmungszeit [Stunden]	$14,8 \pm 4,2$	$14 \pm 4,1$	0,26

## Gesteigerter Bedarf volatiler Anästhetika in Drosophila-Minisleeper-Mutanten

C. Schaper<sup>1</sup>, B. Weber<sup>1</sup>, J. Scholz<sup>1</sup>, C. Cirelli<sup>2</sup> und B. Bein<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

<sup>2</sup> Department of Psychiatry, 6001 Research Park Blvd, University of Wisconsin Madison, Madison, Wisconsin 53719, USA

### Fragestellung

Der natürliche Schlaf und der pharmakologisch induzierte Zustand der Anästhesie zeigen eine Reihe von Übereinstimmungen. Um Gemeinsamkeiten von Schlaf und Anästhesie auch auf molekularer Ebene zu identifizieren, untersuchten wir den Bedarf volatiler Anästhetika bei Drosophila-Minisleeper-Mutanten. Bei diesen Fliegen liegt eine Mutation in der alpha-Untereinheit des span-

nungsabhängigen Kaliumkanals vor [1], was sich phänotypisch als extremer Kurzschläfer äußert [2]. Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob diese Mutation den Bedarf der Fliegen an volatilen Anästhetika beeinflusst.

### Methodik

Nach Zustimmung durch die Tierschutzzkommission wurden die Drosophila-melanogaster-Stämme  $Sh^{mns}$ ,  $Sh^{120}$ ,  $Sh^{102}$  sowie der Wildtyp Canton S verwendet. Bei  $Sh^{mns}$ ,  $Sh^{120}$  und  $Sh^{102}$  handelt es sich um verschiedene Allel-Mutanten, die sich in ihrem Schlafbedürfnis unterscheiden ( $WT > Sh^{120} > Sh^{mns} > Sh^{102}$ ). Alle Stämme wurden über mehrere Generationen rückgekreuzt. Schlaf und Wachzustand der Fliegen wurde in einem Drosophila-Aktivitätsmonitor gemessen. Als Schlaf gilt per definitionem eine Zeit von mindestens fünfminütiger Inaktivität. Zur Ermittlung des Anästhetikabedarfs wurden die Fliegen bei konstanten Umweltbe-

► dingungen in eine an einen Isoflurane- bzw. Sevoflurane-Vapor konnektierten 200 ml-Kammer platziert. Bei konstantem Flow wurden die Fliegen mit unterschiedlichen Gaskonzentrationen (Isofluran 0,13-5 %, Sevofluran 0,21-4 %) anästhesiert und nach zehnminütiger Exposition die Anzahl mobiler und immobiler Fliegen gezählt. Aus den gewonnenen Daten wurden Dosis-Wirkungs-Kurven nach der Methode von Waud [3] berechnet sowie EC50-Werte und 95 %-Konfidenz-Intervalle kalkuliert. Die berechneten Werte wurden mit einem t-Test für unabhängige Stichproben auf signifikante Unterschiede hin getestet. Ein p-Wert <0.05 wurde als signifikant angenommen.

#### Ergebnisse

Für beide volatilen Anästhetika war der Bedarf an Narkosegas bei den kurzschlafenden Minisleeper-Mutanten gegenüber dem Wildtyp signifikant erhöht. Darüber hinaus zeigte sich ein Zusammenhang zwischen EC50-Werten und der Ausprägung des kurzschlafenden Phänotyps (Tab. 1 und 2). Auch der Anästhetikabedarf bei den einzelnen Mutanten-Stämmen war signifikant unterschiedlich.

#### Interpretation

Während intravenöse Anästhetika und Opioide ihre Wirkung über spezifische Rezeptoren vermitteln, ist der Wirkmechanismus volatiler Anästhetika noch nicht vollständig geklärt. Die vorliegenden Daten zeigen, dass eine einzelne Mutation in einem spannungsabhängigen Kaliumkanal das Ansprechverhalten der Minisleeper-Mutanten auf volatile Anästhetika erheblich beeinflusst. Weiter konnte ein Zusammenhang zwischen der Merkmalsausprägung und dem gesteigerten Anästhetikabedarf gezeigt werden. Diese Ergebnisse unterstützen die These, dass endogener Schlaf und Anästhesie auf gemeinsamen molekularen Mechanismen basieren.

#### Literatur

1. Schwarz TL, Tempel BL, Papazian DM, Jan YN, Jan LY. Multiple potassium-channel components are produced by alternative splicing at the Shaker locus in *Drosophila*. *Nature* 1988;331:137-142.
2. Cirelli C, Bushey D, Hill S, Huber R, et al. Reduced sleep in *Drosophila* Shaker mutants. *Nature* 2005;434:1087-1092.
3. Waud DR. On biological assays involving quantal responses. *J Pharmacol Exp Ther* 1972;183:577-607.

Korrespondenzadresse: schaper@anaesthesia.uni-kiel.de

Tab. 1: Isofluran EC<sub>50</sub>-Werte von *Drosophila*-Minisleeper-Mutanten und Wildtyp, berechnet aus Dosis-Wirkungs-Kurven.

Stamm	Isofluran EC <sub>50</sub> und 95 % Konfidenz-Intervall	p-Werte
Wildtyp (n=661)	0.706 (0.649-0.764)	
Sh <sup>120</sup> (n=297)	0.957 (0.860-1.054)	p <0.0001 im Vergleich zum Wildtyp
Sh <sup>mns</sup> (n=393)	1.306 (1.212-1.400)	p <0.0001 im Vergleich zu Sh <sup>120</sup>
Sh <sup>102</sup> (n=308)	1.599 (1.527-1.671)	p <0.0001 im Vergleich zum Wildtyp

Tab. 2: Sevofluran-EC<sub>50</sub>-Werte von *Drosophila*-Minisleeper-Mutanten und Wildtyp, berechnet aus Dosis-Wirkungs-Kurven.

Stamm	Sevofluran EC <sub>50</sub> und 95 %-Konfidenz-Intervall	P-Werte
Wildtyp (n=522)	1.298 (1.180-1.416)	
Sh <sup>120</sup> (n=386)	1.619 (1.508-1.731)	p <0.0005 im Vergleich zum Wildtyp
Sh <sup>mns</sup> (n=550)	2.013 (1.868-2.158)	p <0.0001 im Vergleich zu Sh <sup>mns</sup>
Sh <sup>102</sup> (n=282)	2.329 (2.177-2.482)	p <0.0001 im Vergleich zu Sh <sup>102</sup>

## Antiinflammatorische und antiapoptotische Eigenschaften von Levosimendan in der akuten Sepsis der Ratte

P. Scheiermann<sup>1</sup>, S. Hoegl<sup>1</sup>, D. Ahluwalia<sup>2</sup>, M. Revermann<sup>2</sup>, K.A. Boost<sup>1</sup>, H. Muhl<sup>3</sup> und B. Zwissler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München

<sup>2</sup> Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie,

<sup>3</sup> pharmazentrum Frankfurt/ZAFES; Klinikum der J.W. Goethe-Universität Frankfurt am Main

#### Fragestellung

Sepsis ist einer der häufigsten Gründe für die hohe Sterblichkeit intensivmedizinischer Patienten. Der medikamentösen Therapie der Sepsis kommt somit entscheidende Bedeutung zu. Der „Calciumsensitizer“ Levosimendan (LEVO) wirkt positiv inotrop

sowie vasodilatierend und dadurch protektiv bei experimenteller Endotoxinämie [1]. Da LEVO bei progressiver Herzinsuffizienz auch antiinflammatorische [2] und antiapoptotische [3] Eigenschaften besitzt, stellt sich die Frage, ob die therapeutische Gabe von LEVO (Simdax<sup>®</sup>) – intravenös (i.v.) oder inhaliert (inh.) – in der akuten Sepsis der Ratte die Überlebenszeit verlängern kann. Dabei sollte insbesondere untersucht werden, inwieweit LEVO immunmodulatorische und antiapoptotische Effekte aufweist.

#### Methodik

Nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium Darmstadt wurden 28 Sprague-Dawley-Ratten (♂, 528 g±20 g) mit Pentobarbital/Fentanyl (i.v.) narkotisiert, tracheotomiert und kontrolliert beatmet. Die Tiere wurden folgenden vier Gruppen (je n=7) zugeordnet und kontinuierlich bis 390 min post operationem beobachtet: 1. Laparotomie und Coecumimmobilisation (SHAM), 2. Coecale Ligatur und Inzision (CLI), 3. CLI und LEVO i.v. (24 µg/kg, CLI-►

► LEVO-IV), 4. CLI und LEVO inh. (24 µg/kg, CLI-LEVO-INH). Die therapeutische LEVO-Applikation erfolgte jeweils 180 min post-CLI. Arterieller Blutdruck (MAP), pH und Basenüberschuss (BE) wurden stündlich gemessen. Die bei Versuchsende oder vorzeitigem Tod der Tiere entnommenen Plasmaproben wurden mittels ELISA auf Interleukin-(IL)-6 und IL-1β untersucht. Milzlyses wurden nach Bradford-Proteinbestimmung mittels Western-Blot auf den zentralen Apoptosemediator aktive Caspase-3 untersucht. Die statistische Analyse erfolgte mittels Log-Rank-Test mit Bonferroni-Korrektur und One-Way-ANOVA mit Student-Newman-Keuls-post-hoc-Test ( $p<0,05$ ). Soweit nicht anders angegeben, werden Mittelwert und Standardabweichung gezeigt.

### Ergebnisse

Die 390 min-Letalität betrug bei CLI 57 % verglichen mit 0 % in der CLI-LEVO-IV- und in der CLI-LEVO-INH-Gruppe (Abb. 1). CLI führt innerhalb 390 min zu arterieller Hypotension und schwerer metabolischer Azidose. Sowohl i.v. als auch inh. LEVO verbesserte signifikant MAP, pH und BE in der schweren Sepsis (Tab. 1). Die durch CLI induzierten proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-1β im Plasma wurden durch LEVO inhibiert (Abb. 2 und 3). Ebenso

hemmte LEVO die Expression aktiver Caspase-3 in der Milz (Abb. 4).

### Interpretation

Die therapeutische Applikation von i.v. oder inh. LEVO verlängert das Überleben und vermindert die arterielle Hypotension sowie die metabolische Azidose in der schweren Sepsis. Die systemische Hemmung proinflammatorischer Mediatoren durch LEVO beruht möglicherweise auf einer antiapoptotischen Wirkung in lymphatischem Gewebe.

### Literatur

1. Zager RA, Johnson AC, Lund S, Hanson SY, Abrass CK. Levosimendan protects against experimental endotoxemic acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;290:F1453-F1462.
2. Parissis JT, Adamopoulos S, Antoniades C, Kostakis G, Rigas A, Kyriopoulos S, et al. Effects of levosimendan on circulating pro-inflammatory cytokines and soluble apoptosis mediators in patients with decompensated advanced heart failure. *Am J Cardiol* 2004;93:1309-1312.
3. Louhelinainen M, Vahtola E, Kaheinen P, Leskinen H, Merastö S, Kyto V, et al. Effects of levosimendan on cardiac remodeling and cardiomyocyte apoptosis in hypertensive Dahl/Rapp rats. *Br J Pharmacol* 2007;150:851-861.

Korrespondenzadresse: pscheermann@gmail.com

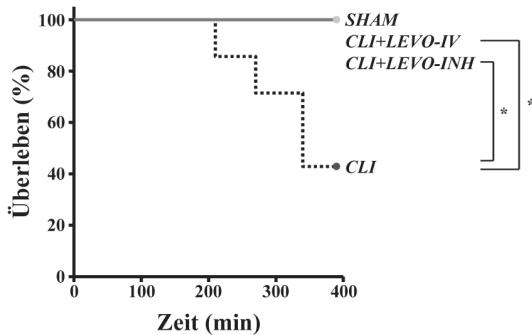


Abb. 1: Kaplan-Meier-Überlebenskurve  
Log-Rank-Test, \* $p<0,05$

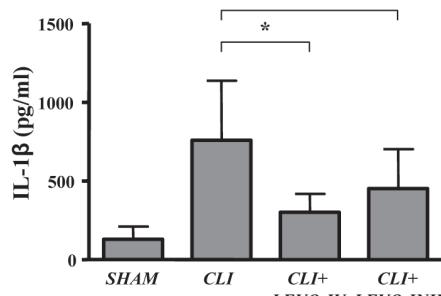


Abb. 3: IL-1β-Plasmaspiegel, ELISA,  
One-Way-ANOVA, \* $p<0,05$

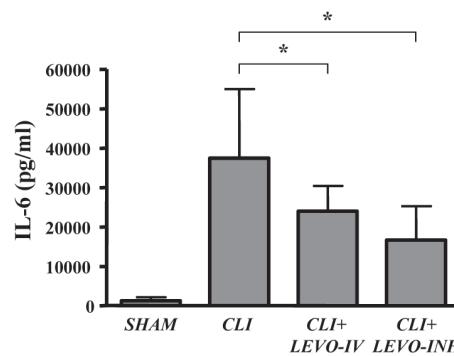


Abb. 2: IL-6-Plasmaspiegel, ELISA,  
One-Way-ANOVA, \* $p<0,05$

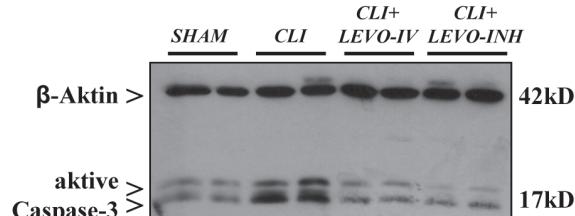


Abb. 4: Western Blot gegen aktive Caspase-3/β-Aktin, Milzhomogenat,  
exemplarisch zwei Tiere pro Gruppe

### Abbildungen

Tab. 1: Arterieller Mitteldruck, pH und Basenüberschuss (BE), aus Gründen der Übersicht sind lediglich Mittelwerte ohne Standardabweichungen angegeben, One-Way-ANOVA, \* $p<0,05$  vs. CLI.

	0 min	30 min	90 min	150 min	210 min	270 min	330 min	390 min
Arterieller Mitteldruck/ph//BE								
SHAM	135/7,52/4,3	134/7,49/1,8	132/7,46/0,9	118/7,45/0,2	125/7,45/-0,8	129/7,44/-1,3	133/7,44/-2,8	122/7,44/-2,9
CLI	128/7,51/3,4	104/7,41/-2,8	93/7,39/-4,6	98/7,33/-8,0	94/7,26/-11,7	73/7,22/-13,1	56/7,18/-15,8	42/7,16/-19,3
CLI+LEVO-IV	132/7,55/3,4	110/7,50/0,0	111/7,47/-2,3	122/7,46/-3,6	112*7,37/-6,6*	114*7,36/-8,0*	111*7,33/-10,6*	97*7,28/-13,5*
CLI+LEVO-INH	116/7,56/4,7	124/7,50/1,5	125/7,46/0,1	125/7,41/-2,8	127/7,35/-6,0*	112*7,33/-8,2*	97*7,30/-10,1*	73*7,25/-12,9*

## Extrazelluläres Proteasom im Alveolarraum von Patienten mit ARDS

**S.U. Sixt<sup>1</sup>, J. Hakenbeck<sup>1</sup>, M. Adamzik<sup>1</sup>, D. Spyryka<sup>1</sup>, B. Saul<sup>1</sup>, B. Dahlmann<sup>2</sup> und J. Peters<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen  
<sup>2</sup> Institut für Biochemie, Humboldt-Universität Berlin

### Fragestellung

Das acute respiratory distress syndrome (ARDS) [1] ist charakterisiert durch interstitielles Lungenödem, hyaline Membranen, diffuse endotheliale und epitheliale Schäden sowie Fibrose im Alveolarraum. Da bei Überlebenden vergleichsweise geringe histologische und lungenfunktionsanalytische Veränderungen bestehen [2] existieren offenbar bislang weithin unbekannte pulmonale Reparaturmechanismen. Eigene Ergebnisse [3] bei Lungengesunden lassen vermuten, dass extrazelluläres, biologisch aktives 20S-Proteasom am Abbau intraalveolärer Proteine beteiligt ist. Wir testeten daher die These, dass bei ARDS a) alveoläres 20S-Proteasom nachweisbar, aber b) dessen Enzymaktivität verringert ist.

### Methodik

Nach Billigung der Ethikkommission wurde bei 64 ARDS-Patienten (lung injury score:  $3.4 \pm 0.4$  SD,  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2: 109 \pm 62$  mmHg, PEEP:  $17 \pm 4$  mbar) eine bronchoalveolare Lavage (BAL) untersucht, Lungengesunde ( $n=8$ ) dienten als Kontrolle. BAL-Überstand und Zellpellet wurden mittels radioaktiv markierten  $\text{I}^{125}$ -Albumins und fluorogenen Peptidsubstrate (BZ-VGR-AMC (tryptische Aktivität), Suc-LLVY-AMC (chymotryptische Aktivität) sowie Suc-LLE-AMC (caspaseähnliche Aktivität)), entsprechend den drei bekannten Proteasom-Einzelaktivitäten, ohne und mit spezifischem Proteasominhibitor (Epoxomicin) auf Proteasomaktivität getestet (Spektralphotometrie). Mittels Western-Blot und ELISA wurde zudem auf das Vorhandensein von Proteasomproteinen getestet. Eine Molekulargewichtsanalyse erfolgte mittels Gelfiltration. Statistik: Mittelwert  $\pm \sigma$ , t-Test für unverbundene Stichproben.

### Ergebnisse

Bei allen ARDS-Patienten konnten alle drei Proteasom-spezifischen Enzymaktivitäten nachgewiesen (Suc-LLVY-AMC:  $3.6 \pm 8.8$  pkat/mg, BZ-VGR-AMC:  $1.8 \pm 3.1$ , Suc-LLE-AMC:  $1 \pm 1.7$ ) sowie durch Epoxomicin signifikant ( $p < 0.0001$ ) inhibiert werden. Die Hauptproteinbanden des Proteasoms (20kDa-30kDa) konnten im Western-Blot bei allen ARDS-Patienten im BAL-Überstand nachgewiesen werden. Das native Molekulargewicht betrug 660 kDa, entsprechend dem Molekulargewicht von 20S-Proteasom. Die Hauptenzymaktivität (89-79 %) fand sich im BAL-Überstand und korrelierte nicht mit Markern für Zellschaden. ARDS-Patienten zeigten gegenüber Lungengesunden signifikant erniedrigte Enzymaktivitäten ( $p=0.014$ ) und Albuminabbau ( $p=0.0001$ ). Trotz erniedriger alveolärer Enzymaktivitäten und Albuminabbau bei ARDS-Patienten, konnte jedoch eine 17-fach höhere Enzymmenge ( $1069 \text{ ng/ml} \pm 1194$  vs.  $61 \pm 50$ ) nachgewiesen werden. Bei Zusatz von ARDS-BAL (25%) zum BAL-Überstand Lungengesunder fiel dessen proteasomale Aktivität um 90 % ab, nicht jedoch nach vorheriger Erhitzung (Denaturierung) der ARDS-BAL-Probe.

### Interpretation

Unsere Untersuchungen weisen erstmals im Alveolarraum von ARDS-Patienten sowohl proteasom-spezifische Proteolyseaktivität als auch 20S-Proteasom selbst nach. Da sowohl die proteosomalen Enzymaktivitäten als auch die Proteolyseaktivität für Albumin *in vitro* im Vergleich zu Lungengesunden signifikant vermindert sind, scheint der proteosomale vermittelte alveolare Proteinabbau bei ARDS vermindert, wobei die Inhibition des extrazellulären alveolären Proteasoms proteinvermittelt erscheint.

### Literatur

1. Bernard GR, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:818-824.
2. Maybauer MO, Maybauer DM, Herndon DN. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2006;354:416-417.
3. Sixt SU, et al. Extracellular proteasome in the human alveolar space: a new housekeeping enzyme? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 292:1280-1288.

Korrespondenzadresse: anaesthesixt@gmx.de

## Effekte der variablen Pressure-Support-Ventilation (noisy PSV) in der Therapie des experimentell induzierten akuten Lungenversagens

**P.M. Spieth<sup>1</sup>, A.R. Carvalho<sup>1</sup>, A. Guldner<sup>1</sup>, P. Pelosi<sup>2</sup>, M. Kasper<sup>3</sup>, T. Koch<sup>1</sup> und M.G. de Abreu<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Klinik und Poliklinik für Anaesthesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden

<sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università degli Studi dell'Insubria, Varese, Italien

<sup>3</sup> Institut für Anatomie, Medizinische Fakultät an der Technischen Universität Dresden

### Fragestellung

Im Rahmen dieser Studie untersuchten wir die Effekte der kürzlich entwickelten variablen Pressure Support Ventilation (noisy PSV) [1], druckkontrollierter Beatmung gemäß den Empfehlungen des ARDS-Network (PCV) und konventioneller Pressure Support Ventilation (PSV) in einem Surfactantdepletionsmodell des akuten Lungenversagens (ARDS) am Schwein. Ziel der vorliegenden

Studie war es zu prüfen, ob konventionelle PSV der druckkontrollierten Beatmung hinsichtlich Lungenfunktion und Gewebe- protektion überlegen ist und ob eine Variation der Druckunterstützung (noisy PSV) diese Effekte weiter verstärken kann.

### Methodik

Nach behördlicher Genehmigung wurden 24 Hausschweine (27,2-37,0 kg) mit Ketamin (15-20 mg/kg h<sup>-1</sup>) und Midazolam (1-2 mg/kg h<sup>-1</sup>) intravenös analgosediert, relaxiert (Atracurium, 0,5-2,5 mg/kg h<sup>-1</sup>), orotracheal intubiert (Magill 8,0 ID) und volumenkontrolliert beatmet (VCV, Ausgangswert 1:  $\text{FiO}_2 = 1,0$ , PEEP = 5 cmH<sub>2</sub>O,  $V_T = 10 \text{ ml/kg}$ ). Die Induktion des ARDS erfolgte durch repetitive Lavagen mit isotonischer Kochsalzlösung bis zum Erreichen der Schädigungskriterien (Schädigung:  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200 \text{ mmHg}$  für > 30 min.). Nach etablierter Schädigung wurde die Beatmung für 30 Minuten im PCV-Modus gemäß dem ARDS-Network-Protokoll durchgeführt (Ausgangswert 2:  $\text{FiO}_2 = 0,5$ , PEEP = 8 cmH<sub>2</sub>O,  $V_T = 6 \text{ ml/kg}$ ). Anschließend wurden die Tiere randomisiert einer der drei Therapiegruppen zugeordnet (PCV, PSV oder noisy PSV, n=8 pro Gruppe). In der PCV-Gruppe wurde dieses Beatmungsregime unverändert weitergeführt. Für PSV und noisy PSV wurde die Spontanatmung wiederhergestellt und die Druckunterstützung gemäß einem  $V_T$  von 6 ml/kg adjustiert. Noisy PSV wurde im ▶

► PSV-Modus des Beatmungsgerätes durch externe Computersteuerung (stochastische Zufallsauswahl der Druckunterstützungs niveaus, Streuung von 30 % um den eingestellten Mittelwert, Normalverteilung) durchgeführt. Die Beatmung wurde nach Randomisierung für insgesamt sechs Stunden durchgeführt, wobei stündlich Hämodynamik, Gasaustausch und Lungenmechanik gemessen wurden. Nach Ablauf der Versuche wurden die Tiere getötet und Gewebeproben aus schwerkraftabhängigen und -unabhängigen Lungenregionen zur histologischen Diagnostik entnommen. Die statistische Analyse der funktionellen Parameter erfolgte mittels zweiseitiger Varianzanalyse. Die histologischen Daten wurden nichtparametrisch nach Mann und Whitney getestet. Statistische Signifikanz wurde bei  $p < 0,05$  angenommen.

### Ergebnisse

Die Gruppen unterschieden sich weder im Hinblick auf die Anzahl der Lavagen noch bezüglich des Körpergewichts oder der funktionellen Parameter vor Randomisierung (Ausgangswert 1, Schädigung, Ausgangswert 2). Minutenventilation und Atemwegsspitzen- druck unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Arterielle Oxygenierung, venöse Beimischung, mittlerer Atem- wegsdruck, Elastance und histologische Lungenschädigung waren unter PSV und noisy PSV gegenüber PCV signifikant verbessert. Im Vergleich mit PSV zeigte noisy PSV eine signifikant verbesserte arterielle Oxygenierung und  $\text{CO}_2$ -Elimination.

### Interpretation

In diesem experimentellen Modell des akuten Lungenversagens waren PSV und noisy PSV der druckkontrollierten Beatmung hinsichtlich Lungenfunktion und Gewebe- protektion überlegen. Darüber hinaus verbesserte noisy PSV die  $\text{CO}_2$ -Elimination und Oxygenierung im Vergleich zur konventionellen PSV.

### Literatur

1. Gama de Abreu M, Spieth PM, Pelosi P, Carvalho AR, Walter C, Schreiber-Ferstl A, et al. Noisy pressure support ventilation: A pilot study on a new assisted ventilation mode in experimental lung injury. Crit Care Med 2008;36:818-827.

Korrespondenzadresse: peter.spieth@uniklinikum-dresden.de

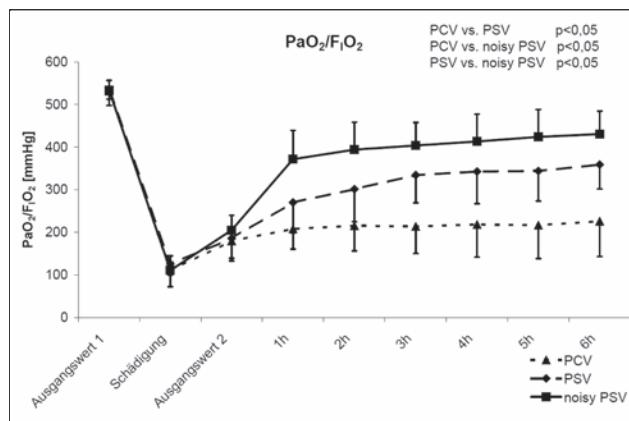


Abb. 1: Verlauf der arteriellen Oxygenierung ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ) über den Versuchszeitraum.

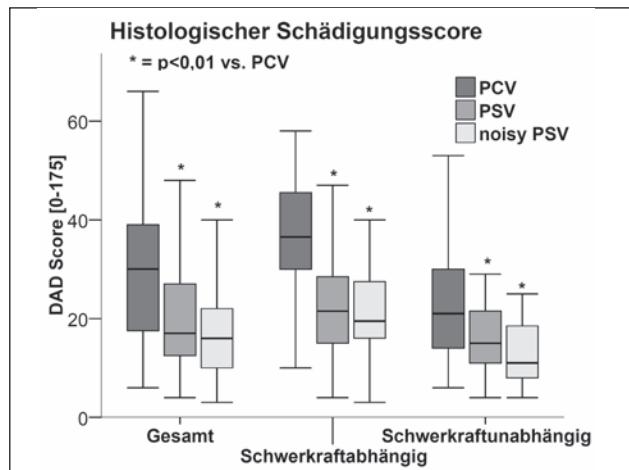


Abb. 2: Histopathologische Schädigung (Diffuse-Alveolar-Damage-Score) insgesamt und in schwerkraftabhängigen und -unabhängigen Lungenregionen.

Tab. 1

		Ausgangswert 1 (VCV)	Schädigung (VCV)	Ausgangswert 2 (PCV)	6h Therapie ( $p < 0,05$ )	Therapieeffekt
PaCO <sub>2</sub> [mmHg]	PCV	41,1±2,6	53,9±7,2	54,2±7,2	57,8±4,0	
	PSV	41,8±2,2	52,2±5,7	53,2±6,3	55,6±5,4	
	noisy PSV	42,7±2,5	53,8±6,9	52,2±6,2	47,6±4,5	vs. PSV
Venöse Beimischung [%]	PCV	14,5±4,8	42,6±10,3	27,1±6,9	24,1±11,0	
	PSV	13,6±4,0	38,7±3,4	28,6±6,7	12,1±2,6	vs. PCV
	noisy PSV	13,3±2,8	41,5±8,1	22,3±5,5	9,6±2,5	vs. PCV
Herzzeit- volumen [l/min]	PCV	4,0±1,0	3,3±0,8	3,3±0,5	3,2±0,5	
	PSV	4,2±1,1	3,3±0,7	3,3±0,6	3,0±0,6	
	noisy PSV	4,0±0,8	3,3±0,6	3,0±0,6	2,8±0,7	vs. PCV
Mittlerer Atemwegsdruck [cm H <sub>2</sub> O]	PCV	10,6±0,8	16,4±1,3	16,0±0,8	16,5±1,5	
	PSV	10,0±0,8	15,9±1,4	15,9±1,1	10,5±0,8	vs. PCV
	noisy PSV	10,4±0,8	15,9±1,4	15,9±1,4	11,0±0,8	vs. PCV
Elastance [cm H <sub>2</sub> O/l]	PCV	31,2±7,0	76,7±11,3	86,2±9,8	92,7±26,0	
	PSV	27,2±3,8	73,6±9,8	84,5±13,7	73,2±16,5	vs. PCV
	noisy PSV	29,7±4,5	73,9±11,3	83,5±10,5	63,6±13,4	vs. PCV
Variationsko- effizient des Tidal- volumens [%]	PCV	0,5±0,4	0,6±0,1	1,4±1,2	1,8±1,2	
	PSV	0,6±0,2	1,3±1,3	2,0±1,1	2,2±0,6	
	noisy PSV	0,4±0,2	0,9±0,5	1,2±0,4	22,3±2,4	vs. PCV & PSV

## Einfluss von PPAR $\gamma$ auf den sekundären Hirnschaden nach experimentellem Schädelhirntrauma

S.C. Thal, M. Heinemann, Dana Pieter, Kristin Engelhard und C. Werner

Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

### Fragestellung

Nach Schädelhirntrauma (SHT) führen sekundäre inflammatorische und ischämische Prozesse zu einer Vergrößerung des initialen mechanischen Gewebedefekts. Bisher existieren keine validierten pharmakologischen Therapieansätze, um diesen sekundären Hirnschaden bei Menschen zu verringern. Ein möglicher Ansatz ist die Modulation der Immunreaktion über „Peroxisome proliferator-activated receptor gamma“ (PPAR $\gamma$ ). PPAR $\gamma$  ist ein Liganden-aktivierter Transkriptionsfaktor, welcher nach Aktivierung über PPAR-response-Elemente (PPRE) von Promotoren u.a. eine Suppression proinflammatorischer Zielgene (TFAP1, Stat1, NF $\kappa$ B)[1] bewirkt. Selektive PPAR $\gamma$ -Agonisten, wie die Thiazolidinedion-Derivate Pioglitazon und Rosiglitazon, reduzieren in Modellen der fokalen zerebralen Ischämie [2] und Rückenmarkverletzung [3] den histopathologischen Schaden.

Ziel dieser Studie war 1.) die Untersuchung des mRNA-Expressionsprofils von PPAR $\gamma$  und der inflammatorischen Markergene TNF $\alpha$ , COX2 und iNOS. 2.) die Evaluation des therapeutischen Potentials von Pioglitazon und Rosiglitazon nach experimentellem SHT.

### Methode

Nach Genehmigung durch das Landesuntersuchungsamt Koblenz wurde bei männlichen C57Bl/6N-Mäusen unter Isofluran-Anästhesie (1,4 Vol%) rechts parietal ein pneumatisches Kontusionstrauma (Controlled Cortical Impact, CCI) erzeugt. 1.) Die Charakterisierung der lokalen Inflammation (TNF $\alpha$ , COX2, iNOS) und PPAR $\gamma$ -mRNA-Expression erfolgte im Hirngewebe von gesunden Tieren (nativ) und im traumatischen Fokus (15 Minuten, 3, 6, 12 und 24 Stunden nach CCI, je n=6 Tiere pro Gruppe) mit real-time Polymerasen-Kettenreaktion (real-time PCR). Die mRNA-Ergebnisse wurden gegen Cyclophilin A als Kontroll-Gen normalisiert. 2.) Der Einfluss der PPAR $\gamma$ -Stimulation auf den sekundären Hirnschaden wurde randomisiert und verblindet an Mäusen untersucht, welche 30 min nach CCI intraperitoneal mit 0,5 % DMSO (Vehicle), 0,5 mg/kg bzw. 1 mg/kg Pioglitazon+Vehicle oder 5 mg/kg bzw. 10 mg/kg Rosiglitazon+Vehicle behandelt wurden (je

n=8 Tiere pro Gruppe). 24 Stunden nach CCI wurden die Gehirne entnommen und der Hirnschaden volumetrisch in Kresylviolett gefärbten Gefrierschnitten bestimmt. Die Bestimmung der primären Läsion erfolgte in einer separaten Gruppe mit 15 Minuten Überleben nach CCI (n=8). Im Kontusionsareal wurde zusätzlich die mRNA-Expression von TNF $\alpha$ , iNOS und PPAR $\gamma$  analysiert.

### Statistik

Die Nullhypothese wurde mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von unter 5 % abgelehnt. Die Kontusionsvolumina und die mRNA-Expression wurden mit ANOVA on RANKS analysiert.

### Ergebnisse

1.) Nach CCI steigt die Expression von TNF $\alpha$  und COX2 prompt an und erreicht innerhalb von 3 bis 6 Stunden das Maximum. Die Expression von iNOS steigt verzögert, nach 24 Stunden signifikant an (Tab. 1). CCI führt zu keiner Änderung der PPAR $\gamma$ -Expression. 2.) Pioglitazon und Rosiglitazon reduzieren dosisabhängig das sekundäre Nekrosewachstum und den posttraumatischen Gewichtsverlust. Pioglitazon, nicht aber Rosiglitazon, führt zu einer signifikanten Verringerung der TNF $\alpha$ -Expression, während die iNOS- und PPAR $\gamma$ -Expression unverändert bleibt (Tab. 2).

### Interpretation

Anders als nach zerebraler Ischämie wird nach SHT die PPAR $\gamma$ -Expression nicht hochreguliert. Eine endogene Stimulation dieses anti-inflammatorischen Transkriptionsfaktors findet somit nach SHT nicht statt. Während Pioglitazon den histologischen Schaden und die TNF $\alpha$ -Expression signifikant reduzierte, bewirkte Rosiglitazon in äquipotenter Dosierung eine geringe Reduktion des histologischen Schadens und keine Verringerung der TNF $\alpha$ -Expression. Da beide Wirkstoffe nach fokaler zerebraler Ischämie den neuronalen Schaden vergleichbar potent reduzieren, deuten die Ergebnisse der vorliegenden Studie auf einen geringen Einfluss von PPAR $\gamma$  auf sekundäre Prozesse nach SHT und einen PPAR $\gamma$ -unabhängigen neuroprotektiven Effekt von Pioglitazon nach experimentellem SHT hin.

### Literatur

1. Ricote M, Li AC, Willson TM, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998;391:79-82.
2. Shimazu T, Inoue I, Araki N, et al. A peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist reduces infarct size in transient but not in permanent ischemia. *Stroke* 2005;36:353-359.
3. McTigue DM, Tripathi R, Wei P, et al. The PPAR gamma agonist Pioglitazone improves anatomical and locomotor recovery after rodent spinal cord injury. *Exp Neurol* 2007;205:396-406.

Korrespondenzadresse: thal@uni-mainz.de

Tab. 1

	Nativ	15 Minuten	3 Stunden	6 Stunden	12 Stunden	24 Stunden
TNF $\alpha$	100 $\pm$ 21 %	1600 $\pm$ 1600 %	*12300 $\pm$ 4800 %	*12300 $\pm$ 2800 %	*8300 $\pm$ 1300 %	7300 $\pm$ 4200 %
COX2	100 $\pm$ 6 %	396 $\pm$ 438 %	*698 $\pm$ 220 %	*373 $\pm$ 112 %	*328 $\pm$ 50 %	257 $\pm$ 86 %
iNOS	100 $\pm$ 10 %	125 $\pm$ 40 %	81 $\pm$ 21 %	*284 $\pm$ 138 %	*267 $\pm$ 111 %	*580 $\pm$ 420 %
PPAR $\gamma$	100 $\pm$ 14 %	104 $\pm$ 32 %	84 $\pm$ 38 %	112 $\pm$ 66 %	103 $\pm$ 32 %	81 $\pm$ 22 %

\* p<0,05 vs. nativ, Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, je n=6

Tab. 2

	15 Min.:	24 Std.:	24 Std.:	24 Std.:	24 Std.:	24 Std.:
	Vehicle	0,5 mg/kg	1 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	
		Pioglitazon	Pioglitazon	Rosiglitazon	Rosiglitazon	
Kontusion	15 $\pm$ 2 mm $^3$	34 $\pm$ 6 mm $^3$	*27 $\pm$ 4 mm $^3$	*20 $\pm$ 6 mm $^3$	28 $\pm$ 5 mm $^3$	*25 $\pm$ 6 mm $^3$
Gewicht	-2 $\pm$ 1 %	-9 $\pm$ 3 %	*-4 $\pm$ 3 %	*-6 $\pm$ 2 %	*-5 $\pm$ 1 %	*-5 $\pm$ 3 %
TNF $\alpha$	100 $\pm$ 77 %	1403 $\pm$ 1267 %	*364 $\pm$ 122 %	*396 $\pm$ 116 %	1143 $\pm$ 961 %	1262 $\pm$ 1415 %
iNOS	100 $\pm$ 44,4 %	345 $\pm$ 129 %	NS207 $\pm$ 50 %	NS207 $\pm$ 94 %	465 $\pm$ 245 %	407 $\pm$ 304 %
PPAR $\gamma$	100 $\pm$ 20 %	87 $\pm$ 21 %	94 $\pm$ 28 %	96 $\pm$ 16 %	91 $\pm$ 20 %	93 $\pm$ 20 %

\* p<0,05 vs. 24 Std., NS nicht signifikant, Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, je n=8

## Analgetische und antihyperalgetische Effekte von Physostigmin und Alfentanil in einem experimentellen Schmerzmodell am Menschen

**A. Wehrfritz, S. Schmidt, C. Müller, H. Ihmsen und W. Koppert**  
Anästhesiologische Klinik, Universitätsklinikum Erlangen,  
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

### Fragestellung

Aus einer Vielzahl präklinischer Untersuchungen ist bekannt, dass das cholinerge System eine zentrale Bedeutung für die Modulation von Schmerzen im menschlichen Körper einnimmt [1]. Verschiedene Untersuchungen im Tiermodell weisen auf eine effektive antihyperalgetische Wirkung nikotinreger und muscarinreger Agonisten bzw. von Acetylcholinesterasehemmern hin [2]. Ziel dieser Studie war es, den analgetischen und antihyperalgetischen Effekt des Cholinesteraseinhibitors Physostigmin alleine und in Kombination mit dem Opioid Alfentanil in einem experimentellen Schmerzmodell am Menschen zu untersuchen [3].

### Methodik

Nach Zustimmung durch die Ethikkommission der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg wurden 20 gesunde Probanden (Alter: 24,6±3,5 Jahre) in die Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie im Crossover-Design eingeschlossen. Eine

transkutane elektrische Stimulation mit hoher Stromdichte (44,3±22,3 mA) induzierte einen Spontanschmerz, der auf einen Wert von 6 auf einer Numerischen Rating Skala von 0 bis 10 (0=kein Schmerz, 10=stärkster vorstellbarer Schmerz) eingeregt wurde. Gleichzeitig wurden dadurch stabile Hyperalgesieareale gegen mechanische Reize um die Stimulationsstelle erzeugt („Pinprick“-Hyperalgesie). Schmerzwerte und Hyperalgesieareale wurden vor, während und nach einer fünfzehnminütigen Infusion von Physostigmin (30 µg/kg KG), Alfentanil (20 µg/kg KG), einer Kombination beider Substanzen (30 µg/kg KG Physostigmin + 20 µg/kg KG Alfentanil), oder 0,9%iger Kochsalzlösung (Placebo) über insgesamt 180 Minuten wiederholt bestimmt. Der zeitliche Verlauf des analgetischen und antihyperalgetischen Effektes in den drei Gruppen (Physostigmin, Alfentanil und Kombination) wurde mit einem pharmakokinetisch-dynamischen Interaktionsmodell analysiert. Der Typ der Interaktion wurde mittels der aus der Modellbildung resultierenden Isobole charakterisiert.

### Ergebnisse

Die maximale Schmerzreduktion betrug 50±5 % (MW±SEM) für Alfentanil, 35±5 % für Physostigmin und 60±4 % für deren Kombination im Vergleich zur Placebobehandlung (Abb. 1). Die Hyperalgesieflächen wurden um 54±7 % (MW±SEM) 47±7 % und 55±7 % im Vergleich zur Placebobehandlung reduziert (Abb. 2). Sowohl für den analgetischen (Abb. 3) als auch für den antihyperalgetischen (Abb. 4) Effekt zeigte sich eine infra-additive Interaktion von Physostigmin und Alfentanil. ▶

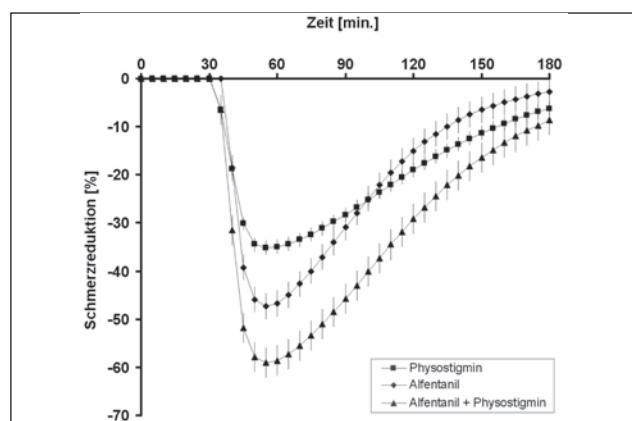


Abb. 1: Analgetischer Effekt von Physostigmin (30 µg/kg KG), Alfentanil (20 µg/kg KG) bzw. der Kombination aus beiden Präparaten bei gleicher Dosierung (MW±SEM).

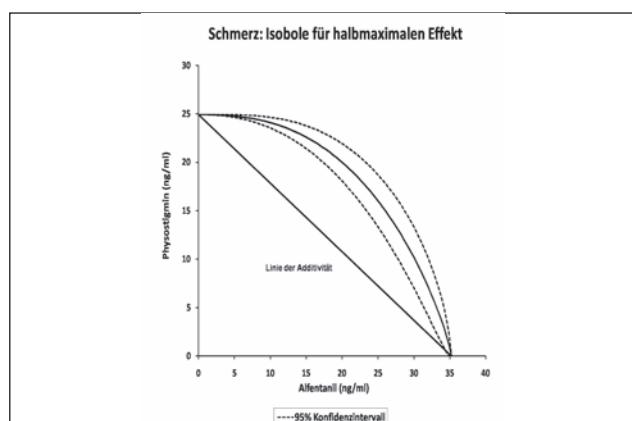


Abb. 3: Isobogramm (----: 95 %-Konfidenzintervall) von Physostigmin und Alfentanil für eine Schmerzreduktion um 50%.

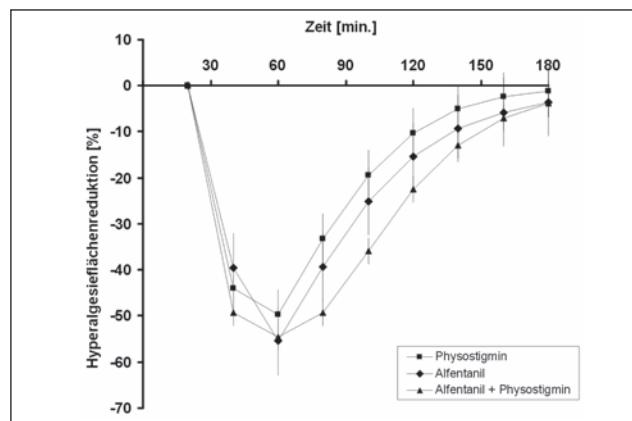


Abb. 2: Antihyperalgetischer Effekt von Physostigmin (30 µg/kg KG), Alfentanil (20 µg/kg KG) bzw. der Kombination aus beiden Präparaten bei gleicher Dosierung (MW±SEM).

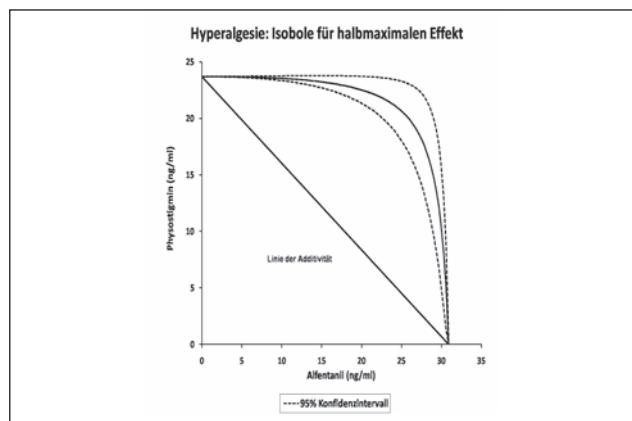


Abb. 4: Isobogramm (----: 95 %-Konfidenzintervall) von Physostigmin und Alfentanil für eine Reduktion der Hyperalgesiefläche um 50%.

### ► Interpretation

In der vorliegenden Studie wurde für Physostigmin und Alfentanil erstmals die Interaktion bezüglich des analgetischen und antihyperalgetischen Effektes in einem experimentellen Schmerzmodell am Menschen quantitativ analysiert. Diese Ergebnisse können als Rationale für den klinischen Einsatz der Kombination beider Medikamente in der balancierten Schmerztherapie dienen.

### Literatur

1. Hartvig P, Gillberg PG, Gordh T Jr, Post C. Cholinergic mechanisms in pain and analgesia. *Trends Pharmacol Sci* 1989;(Suppl):75-79.
2. Beilin B, Nemirovsky AY, Zeidel A, Maidbord E, Zelman V, Katz RL. Systemic physostigmine increases the antinociceptive effect of spinal morphine. *Pain* 1997;70(2-3):217-221.
3. Koppert F, Dern SK, Sittl R, Albrecht S, Schüttler J, Schmelz M. A new model of electrically evoked pain and hyperalgesia in human skin. *Anesthesiology* 2001;95:395-402.

Korrespondenzadresse: andreas.wehrfritz@kfa.imed.uni-erlangen.de

## Nachweis eines humanen kardialen Endocannabinoidsystems und des Einflusses von Kardiochirurgie unter Inhalationsanästhesie

F. Weis<sup>1</sup>, D. Hauer<sup>1</sup>, A. Beiras-Fernandez<sup>2</sup>, A. Beiras<sup>3</sup>, M. Vogeser<sup>3</sup>, C. Kowalski<sup>1</sup>, T. Englmeier<sup>1</sup>, M. Landinger<sup>1</sup>, E. Kilger<sup>1</sup>, S. Azad<sup>1</sup> und G. Schelling<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anaesthesiologie,

<sup>2</sup> Herzchirurgische Klinik und Poliklinik,

<sup>3</sup> Institut für Klinische Chemie,

Klinikum der Universität München, Ludwig-Maximilians-Universität München

<sup>4</sup> Institut für Pathologie, Universität Santiago de Compostella, Spanien

### Hintergrund und Fragestellung

Das Endocannabinoidsystem (ECS) besteht aus den G-Protein-gekoppelten Cannabinoid-Rezeptoren CB1 und CB2 sowie den Endocannabinoiden (EC) N-Arachidonyl ethanolamid (Anandamide) und 2-Arachidonylglycerol (2-AG) als natürliche Liganden. Es ist an der Regulation von Gedächtnis, Schmerzwahrnehmung, Emesis und Schlaf, sowie des arteriellen und des pulmonal-arteriellen Blutdruckes, des Fettstoffwechsels und der systemischen Inflammation beteiligt. Tierexperimentelle Untersuchungen weisen darauf hin, dass das ECS bei experimenteller Myokardischämie kardioprotektive Effekte hat und auch an der Pathogenese bestimmter Formen der Herzinsuffizienz beteiligt ist. In eigenen Studien konnte zudem gezeigt werden, dass es unter Inhalationsanästhesie zu einer Deaktivierung des peripheren ECS kommt [1]. Aus diesen Voruntersuchungen ergaben sich für uns zwei Fragestellungen, die an herzchirurgischen Patienten untersucht wurden:

(1) Gibt es ein spezifisches, herzeigenes ECS beim Menschen, das bei Myocardinsuffizienz Veränderungen zeigt? (2) Wie verhält sich das periphere ECS während eines herzchirurgischen Eingriffs unter Allgemeinanästhesie mit einem volatilen Anästhetikum (Isofluran)?

### Methodik

(1) Wir untersuchten die Expression von CB1- und CB2-Rezeptoren mittels Immunhistochemie an gesunden (Gewebe-proben obduzierter gesunder Männer unter 30 Jahren; n=3) und schwer insuffizienten Herzen (Gewebeproben explantierter Herzen von Herztransplantierten, n=3). Es wurde jeweils linksventrikuläres Myokard untersucht. Die Proben wurden mit den entsprechenden Antikörpern inkubiert. Es erfolgte eine Positiv-Kontrolle an menschlichen Gehirnproben und eine Negativ-Kontrolle mit nicht-immunogenem Kaninchenserum. (2) Die Aktivität des peripheren ECS im Verlauf des herzchirurgischen Eingriffs wurde durch serielle Messung von Anandamide und 2-AG im Plasma unter Verwendung einer eigens dafür entwickelten Methode mittels HPLC-Tandem-MS bei 14 Patienten quantifiziert [2]. Die Induktion der Allgemeinanästhesie wurde mittels Etomidate und Sufentanil vorgenommen, die Aufrechterhaltung mittels Isofluran und Sufentanil. Alle Untersuchungen waren durch die örtliche Ethikkommission genehmigt.

### Ergebnisse

(1) Gesundes Myokard weist immunhistochemisch eine hohe Dichte an CB1-Rezeptoren auf, die im hochgradig insuffizienten Myokard kaum mehr nachweisbar sind (Abb. 1). Keine Unterschiede fanden sich bezüglich der Verteilung von CB2-Rezeptoren. (2) Verglichen mit dem Wachzustand kam es nach Narkoseeinleitung und vor OP-Beginn zu einem Abfall der EC-Plasmakonzentration (Anandamide: von 0,32±0,15 auf ▶

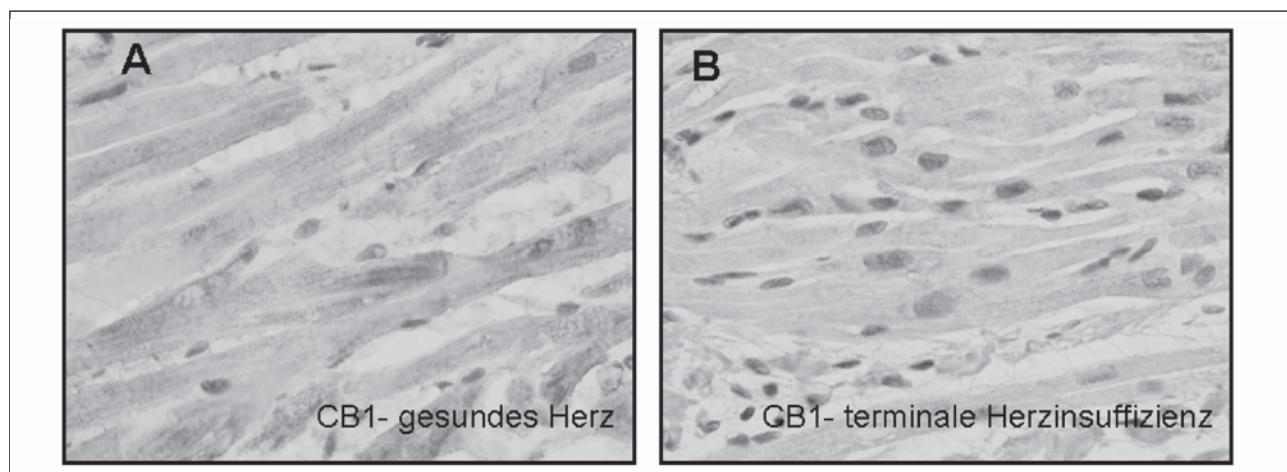


Abb. 1: Verteilung immunfluoreszenz-markierter CB1-Rezeptoren (braune Bereiche) in gesundem (A) und terminal insuffizientem Myokard (B).

►  $0,24 \pm 0,10 \text{ ug/l}$ ,  $n=14$ ,  $p=0,04$ ; 2-AG: von  $3,57 \pm 3,96$  auf  $1,47 \pm 1,08 \text{ ug/l}$ ,  $p=0,03$ ). Im folgenden operativen Verlauf fielen die Anandamide-Werte weiter ab und erreichten gegen Ende des kardiopulmonalen Bypasses (CPB) ihr Minimum ( $0,15 \pm 0,06 \text{ ug/l}$ ,  $p < 0,01$  verglichen mit den Werten im Wachzustand und nach Einleitung). Demgegenüber zeigte sich ein massiver Anstieg der 2-AG-Plasmakonzentration während CPB (auf  $112,7 \pm 59,4 \text{ ug/l}$ ,  $p < 0,01$  verglichen mit den Werten nach Narkoseeinleitung). Die 2-AG-Plasmakonzentration blieb bis zur Aufnahme auf die Intensivtherapiestation erhöht ( $9,83 \pm 6,97 \text{ ug/l}$ ,  $p < 0,01$  im Vergleich zu den Werten nach Einleitung).

#### Interpretation

Diese Studie beschreibt die differentielle Expression von Endocannabinoidrezeptoren bei Menschen mit und ohne Herzinsuffizienz. Die deutlich reduzierte Dichte der CB1-Rezeptoren in schwer insuffizientem Myokard kann als Downregulation bei stark aktiviertem peripherem ECS interpretiert werden. Unter

Inhalationsanästhesie kommt es zu einer Reduktion der Aktivität des peripheren ECS. 2-AG ist möglicherweise im Rahmen der systemischen Inflammation unter extrakorporaler Zirkulation deutlich erhöht. Der Verlauf entspricht dem von Zytokinen mit kurzer Halbwertszeit (z.B. TNF $\alpha$ ). Die vorliegenden Daten weisen auf eine bedeutende Rolle des EC-Systems bei Herzerkrankungen und in der Kardioanästhesie hin.

#### Literatur

1. Schelling G, Hauer D, Azad SC, Schmoelz M, Chouker A, Schmidt M, et al. Effect of General Anesthesia on Anandamide Blood Levels in Humans. *Anesthesiology* 2006;104:273-277.
2. Vogeser M, Hauer D, Azad SC, Huber E, Storr M, Schelling G. Ex-vivo release of anandamide by blood cells. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:488-491.

Mit Unterstützung der Else-Kröner-Fresenius-Stiftung (Projektnummer P50/06/A40/06).

Korrespondenzadresse: Florian.Weis@med.uni-muenchen.de



## Die Eliminierung oder die Blockade von 12/15-Lipoxygenase reduziert die Proteinextravasation und vermindert die Ausbildung des akuten Lungenversagens (ALI)

A. Zarbock<sup>1,2</sup>, E. Smith<sup>1</sup>, J. Sanders<sup>1</sup>, G. Kronke<sup>1</sup>, B. Harry<sup>1</sup>, H. Van Aken<sup>2</sup>, J.L. Nadler<sup>1</sup> und K. Ley<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Robert M. Berne Cardiovascular Research Center, University of Virginia, Charlottesville, USA

<sup>2</sup> Klinik und Poliklinik für Anaesthesiologie und operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Münster, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

#### Fragestellung

Trotz aller Fortschritte bei der Einführung neuer Beatmungsstrategien geht das akute Lungenversagen (ALI) immer noch mit einer hohen Letalität einher [1]. Die Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten (PMN) in die Lunge, induziert durch infektiöse oder nicht-infektiöse Ursachen, konnte als ein wesentlicher Faktor in der Pathogenese des ALI identifiziert werden. Vor dem Hintergrund der pulmonalen Entzündung und des ALI im Rahmen einer direkten, durch die Aspiration von Mageninhalt induzierten Schädigung der Lunge erscheinen Thrombozyten und Lipid-Mediatoren von außerordentlichem Interesse [2]. Die Interaktion zwischen Leukozyten, Thrombozyten und Endothelzellen und die damit verbundene Freisetzung und Präsentation von Chemokinen und Lipid-Mediatoren führt zu einer gegenseitigen Aktivierung der beteiligten Zellen. Das Enzym 12/15-Lipoxygenase (12/15-LO) produziert den proinflammatorischen Mediator 12-Hydroxyeicosatetraensäure (HETE) aus Arachidonsäure. Um die Rolle von 12-HETE für die Pathogenese der pulmonalen Entzündung zu untersuchen, wurden zwei Modelle des ALI verwendet.

#### Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzkommision wurden Mäuse (C57/Black 6-Mäuse, Alox15<sup>-/-</sup>-Mäuse) 30 Minuten vernebeltem LPS ausgesetzt, um eine pulmonale Entzündung zu induzieren. Nach der LPS-Inhalation wurde die Proteinextravasation mittels der Evans-Blue-Methode und die Rekrutierung von PMN in die verschiedenen Kompartimente der Lunge (intravaskuläres, inter-

stitueller und alveoläres Kompartiment) mittels Durchfluszytometrie untersucht. Um ein akutes Lungenversagen (ALV) zu induzieren, wurde Mäusen 2 l/g HCl (pH: 1,5) intratracheal appliziert, gefolgt von zwei Stunden maschineller Beatmung (inspiratorische Sauerstoffkonzentration: 21 %, Atemfrequenz: 150/min.). Der Verlauf des akuten Lungenversagens wurde anhand der Anzahl an PMN und der Proteinkonzentration im Alveolarraum sowie des Gasaustausches (arterieller Sauerstoffpartialdruck/inspiratorische Sauerstofffraktion) am Ende des Experiments gemessen. In einem weiteren Experiment wurde die Überlebenszeit von WT- und Alox15<sup>-/-</sup>-Mäusen im Säure-induzierten ALI bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA und anschließenden Student-Newman-Keul-Tests (Daten als Mittelwert $\pm$ SEM,  $n=4-6$ ) und Kaplan-Meier-Tests für die Überlebenszeit.

#### Ergebnisse

Alox15<sup>-/-</sup>-Mäuse und WT-Mäuse, bei denen die 12/15-LO pharmakologisch inhibiert wurde, wiesen nach LPS-Inhalation sowohl eine verminderte Proteinextravasation als auch eine reduzierte Rekrutierung von PMN in die verschiedenen Kompartimente der Lunge auf. In dem Modell des Säure-induzierten ALI wiesen Alox15<sup>-/-</sup>-Mäuse einen verbesserten pulmonalen Gasaustausch, eine reduzierte Rekrutierung von PMN in die Lunge und Proteinextravasation auf. Des Weiteren zeigten Alox15<sup>-/-</sup>-Mäuse, verglichen mit WT-Mäusen, eine verlängerte Überlebenszeit nach intratrachealer Säureapplikation. Rekonstitutionsexperimente und Experimente mit knochenmarkstransplantierten Mäusen belegten, dass das in Makrophagen und Monozyten produzierte 12-HETE die Proteinextravasation reguliert.

#### Interpretation

Diese Daten zeigen, dass das durch die 12/15-LO produzierte 12-HETE ein wichtiger proinflammatorischer Mediator in der Pathogenese des akuten Lungenversagens ist.

#### Literatur

1. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2005;353:1685-1693.
2. Zarbock A, Singbartl K, Ley K. Complete reversal of acid-induced acute lung injury by blocking of platelet-neutrophil aggregation. *J Clin Invest* 2006;116:3211-3219.

Korrespondenzadresse: zarbock@liai.org

