

Inhalt

S. Bergt · A. Grub · A. Güter · C. Beltschany · B. Vollmar · G. Nöldge-Schomburg · K. Zacharowski · J. Roesner	463
TLR2-Defizienz verbessert die Überlebensrate und die funktionell-neurologische Regeneration von Mäusen nach einem Herz-Kreislaufstillstand und Reanimation	
M. Damm · S.N. Stehr · A. Hübler · L. Knels · J. Weichsel · A. Deussen · T. Koch	464
Gen-Knockout von CD73 und A2B-Adenosinrezeptoren führen zur Aufhebung der Sevofluran-induzierten Präkonditionierung	
M. Deile · I. Rentzsch · S. Meissner · M. Gama de Abreu · E. Koch · T. Koch	465
Luftströmungsinduzierte Scherkräfte an der apikalen Zellmembran von Alveolarepithelzellen steigern die alveoläre Zytokinfreisetzung in vitro	
S. Dömming · T. Schürholz · K. Brandenburg · M. Hornef · G. Marx	466
Synthetisch hergestelltes Lipopolysaccharid-bindendes Peptid hemmt bei intravenöser Gabe effektiv die Inflammation in einem murinen Sepsismodell	
B. Drexler · M. Balk · U. Rudolph · H. Hentschke · B. Antkowiak	468
Midazolam und dessen Metabolit 1-OH-Midazolam verändern die kortikale Netzwerkaktivität bereits in niedrigen nanomolaren Konzentrationen	
F. Echtermeyer · T. Harendza · A. Lorenz · C. Herzog · M. Mueller · A. Grund · J. Larmann · J. Heineke · G. Theilmeier	469
Syndecan-4 reguliert ERK-abhängig die kardiomyozytäre Apoptose und begrenzt über NFAT-Inhibition das adaptive Remodeling nach ischämischer Schädigung des Myokards in Mäusen	
R. C. Francis · K. Vaporidi · F. Ichinose · K. D. Bloch · W. M. Zapol	470
Natriumsulfid steigert die Expression Nrf2-abhängiger antioxidativer Proteine und limitiert den beatmungs-induzierten Lungenschaden im Mausmodell	
A. Güldner · N. Carvalho · A. Beda · I. Rentzsch · M. Deile · C. Uhlig · M. Kasper · P. Pelosi · Thea Koch · M. Gama de Abreu	472
Einfluss unterschiedlicher Anteile von Spontanatmung während Beatmung mit BIPAP auf Lungenfunktion und -schädigung im experimentellen Lungenversagen am Schwein	
D. Hackel · S. Krug · E. J. Wrede · S. Amasheh · M. Fromm · A. Brack · H. L. Rittner	473
Tight Junction-Proteine in der Regulation der Permeabilität des Perineuriums – neue Therapieansätze für eine nozizeptionsspezifische Blockade bei Regionalanästhesieverfahren	
R. Haseneder · C. Mattusch · S. Kratzer · E. Kochs · M. Eder · G. Rammes	474
Xenon blockiert die synaptische Langzeitpotenzierung im Hippocampus: Hinweise auf eine Reduktion des Kalziumeinstroms durch Blockade von NMDA-Rezeptoren	
D. Hauer · F. Weis · A. Papassotiropoulos · M. Vogeser · B. Roozendaal · D. de Quervain · G. Schelling	476
Der Bcl1-Polymorphismus des Glukokortikoid-Rezeptor-Genes beeinflusst das neuro-emotionale Outcome nach herzchirurgischen Eingriffen	
H. Hermanns · L. Schlösser · F. Barthel · A. Urban · R. Werdehausen · T. Brandenburger · I. Bauer	477
Die systemische Hemmung von Glycintransportern wirkt antinotizeptiv im Chronic Constriction Injury-Modell neuropathischer Schmerzen der Ratte	
J. Heyn · C. Ledderose · A. Beiras-Fernandez · F. Weis · S. Kreth	478
Expression und Regulation der myokardialen Adiponectin-Rezeptoren bei chronischer Herzinsuffizienz	
L. Hinske · C. Ledderose · E. Limbeck · S. Kreth	479
Identifikation funktionell relevanter miRNAs durch Kombination bioinformatischer und experimenteller Strategien am Beispiel des Adenosin- A_{2A} -Rezeptors	
S. Hoegl · D. Chappell · M. Flondor · K. Boost · C. Hofstetter · B. Zwissler · M. Rehm	480
Die prophylaktische Inhalation von Iloprost vermindert pulmonale Schäden und die Zerstörung der Glykokalyx beim beatmungsinduzierten Lungenschaden der Ratte	
H. Janßen · C. Wagner · J. Larmann · M. Müller · U. Tietge · G. Theilmeier	482
Die durch peroperativen Stress induzierte atherogene Last bei apoE-defizienten Mäusen ist Statin- und anti-Interleukin 6-Antikörper-sensibel	

Abstracts der 25. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI

11. - 12.02.2011, Würzburg

Die Vorträge, deren Abstracts nachfolgend publiziert werden, wurden in einem verblindeten Verfahren von sieben Gutachtern ausgewählt und auf den Wissenschaftlichen Arbeitstagen der DGAI vom 11. - 12.02.2011 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 2012 der Fresenius-Stiftung und das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung finden Sie auf der Seite 462.

RescuePro 3000®

Die Nr. 1 der Abrechnungssoftware für Anästhesisten:

- Sofort ohne Schulung / Handbuch anwendbar.
- Einfache, unkomplizierte Anwendung - auch ohne detaillierte Computerkenntnisse.
- Cross-Upgrade möglich: beim Umstieg auf RescuePro rechnen wir Ihnen den Kaufpreis Ihres aktuellen Abrechnungsprogrammes an.
- Bereits ab 8,55 € (inkl. MwSt.) pro Monat per EDV mit Ihrer KV abrechnen.
- Die Benutzerführung ist kontextsensitiv in die Oberfläche eingearbeitet: RescuePro spricht mit Ihnen und führt Sie sicher durch die Abrechnung.

Nähere Infos - Gratis und unverbindlich unter:
Tel.: 0800-112-1-112
und unter:
www.rescuepro.de.

RescuePro Production München • Postfach 15 11 06 • 80047 München • Tel.: 089 - 53 84 98 - 31 • E-Mail: email@rescuepro.de
Anzeige

D. Knoop · C. Lanckohr · A. Kühr · A. Meinders · J. Larmann · G. Torsello · B. Sahlmann · S. Ecklebe · K. Reher · C. Herzog · S. Immenschuh · C. Tiemann · G. Theilmeier	483
Betablocker und Statine regulieren die Expression der Hämoxigenase-1 in humanen mikrovaskulären Endothelzellen und in Thrombendarteriektomie-Proben der A. carotis	
M. Köppen · K. Brodsky · M. Moss · T. Eckle E. McNamee · D. A. Schwartz · H. K. Eltzschig	484
Die Rolle des Muzins MUC5AC beim akuten Lungenversagen	
K. König · D. Köhler · K. Zacharowski · P. Rosenberger	486
Die Rolle des UNC5b-Rezeptors beim hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden	
S. Kreth · C. Ledderose · J. Briegel · P. Möhne	487
Die differentielle Regulation der Isoformen des Glukokortikoidrezeptors durch Micro- RNA-124 ist ein Mechanismus für Glukokortikoidresistenz bei T-Zellen	
J. Larmann · H. Janßen · C. Wagner · C. Herzog · M. Luchtefeld · B. Schieffer · V. Brinkmann · J. R. Nofer · S. Immenschuh · F. Echtermeyer · G. Theilmeier	488
Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor-Agonisten induzieren Hämoxigenase-1-abhängig Makrophagenegress im Mausmodell	
P. Markowski · L. Goelz · S. C. Kim · A. L. Hakenberg · S. Klaschik · T. Hilbert · O. Boehm · H. Ehrentraut · R. Meyer · A. Hoeft · G. Baumgarten · P. Knüfermann ¹	489
Verminderung des kardialen Ischämie/Reperfusions-Schadens durch synthetische Oligonukleotide: Rolle von TLR9	
V. Mirakaj · C. Jennewein · T. Granja, K. Unertl · K. Zacharowski · P. Rosenberger	490
Der Neogeninrezeptor als pro-inflammatorischer Mediator beim beatmungsinduzierten akuten Lungenschaden	
F. Niedermirtl · M. Eberhardt · K. Kistner · A. Leffler · P. Reeh · C. Nau	492
Etomidat aktiviert nozizeptive Neurone über den Irritanzienrezeptor TRPA1 durch eine Interaktion mit intrazellulären Cystein-Resten	

C. Olotu · M. Kieffmann · A. Mecklenburg · S. Hammerschmidt · A. E. Goetz · R. Kieffmann	493
S. pneumoniae inhibiert Pneumolysin-abhängig purinerge Calcium-Signaltransduktionswege in Alveolarepithelzellen	
P. Paulus · P. Ockelmann · K. Zacharowski	494
Reduktion des Reperfusionsödems nach Transplantation durch VEGF-A-Reduktion mittels Deguelin in einem orthotopen Rattenmodell der Lungentransplantation	
A. Röhl · C. Bleilevens · S. Funcke, A. Goetzenich · R. Rossaint · M. Hein	495
Differenzierte Effekte der Kardoprotektion mit Isofluran und Xenon auf das Remodelling in einem chronischen Infarktmodell bei der Ratte	
S. T. Schäfer · S. Frede · P. Roshanger · A. Bick · J. Fandrey · J. Peters · M. Adamzik	497
Hypoxische Genregulation in humanen mononukleären Zellen bei Sepsis	
N. Schallner · L. Otterbein · C. Romão · S. Rodrigues · T. Loop · U. Göbel	499
Das CO-`releasing molecule` ALF-186 wirkt in vitro und in vivo neuroprotektiv	
F. S. Schenkhoff · L. G. Fischer · H. Freise	501
Einfluss cholinriger Substanzen auf die intestinale Dysfunktion, die Zytokinantwort von IL-6 / IL-10 und die Sterblichkeit bei der septischen Ratte	
J. Stumpner · A. Redel · J. Umminger · A. Neuwirth · T. Tischer-Zeitz · N. Roewer · M. Lange	502
Transkription und Neosynthese kardioprotektiver Proteine im Zweiten Fenster der Desfluran-induzierten Präkonditionierung: Die Bedeutung des Transkriptionsfaktors STAT3 und der Pim-1-Kinase	
R. Timaru-Kast · P. Gotthardt · C. Luh, K. Engelhard · C. Werner · S. C. Thal	503
Altersabhängiger Einfluss der Hemmung des Angiotensin-II-Typ-1-Rezeptors nach experimentellem Schädel-Hirn-Trauma der Maus	
T. Tischer-Zeitz · F. Gao · C. Blomeyer, N. Virstyuk · J. Stumpner · T. Smul · N. Roewer · M. Lange	504
Der PI3K/Akt-Signaltransduktionsweg: Entscheidender Vermittler der Kardioprotektion durch Ischämische und Beta ₂ -adrenerge Postkonditionierung	
C. Weisheit · D. R. Engel · G. Baumgarten · A. Hoeft · C. Kurts	505
TNF-Rezeptor-Defizienz führt zu einer Rekrutierungsverzögerung der neutrophilen Granulozyten bei einer bakteriell induzierten Zystitis	
R. Werdehausen · J. Hipp · M. Neukirchen, T. Brandenburger · I. Bauer · P. Kienbaum	506
Xenon hemmt die Noradrenalin-Aufnahme in humanen Neuroblastomzellen in vitro durch einen NMDA-Rezeptor-abhängigen Mechanismus	

Ausschreibung des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung

Die 26. Wissenschaftlichen Arbeitstage der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (DGAI) werden vom **10. - 11.02.2012** in Würzburg, Festung Marienberg, Hofstuben, veranstaltet.

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

Bewerbungen um das Forschungsstipendium bitten wir, entsprechend den Vorgaben auf der u.g. Internetseite nach Annahme des Abstracts einzureichen.

2012 wird das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung für eine hervorragende Forschungsarbeit mit 15.000 € dotiert. Grundlagenforschung und klinische Forschung sollen gleichermaßen gefördert werden.

Einsendeschluss:

08.01.2012

Nähere Informationen:

www.anaesthesia.uk-wuerzburg.de/wat-wissenschaftliche-arbeitstage.html
E-Mail: wat_wuerzburg@klinik.uni-wuerzburg.de

Anschrift:

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
Universitätsklinikum Würzburg
(Sekretariat Frau K. Geier)
Direktor: Prof. Dr. N. Roewer
Oberdürrbacher Straße 6
97080 Würzburg, Deutschland

Tel.: 0931 20130015
Fax: 0931 20130019

* siehe: Anästh Intensivmed 2001;52:460-462

TLR2-Defizienz verbessert die Überlebensrate und die funktionell-neurologische Regeneration von Mäusen nach einem Herz-Kreislaufstillstand und Reanimation

S. Bergt¹ · A. Grub¹ · A. Güter¹ · C. Beltschany¹ · B. Vollmar² · G. Nöldge-Schomburg¹ · K. Zacharowski³ · J. Roesner¹

1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Rostock,

2 Institut für Experimentelle Chirurgie, Universität Rostock

3 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Frankfurt, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/M.

Korrespondenz: stefan@bergt.de

Fragestellung

Trotz intensiver Forschungsarbeit sind Behandlungsergebnisse von Patienten nach Herz-Kreislaufstillstand und Reanimation (CA/CPR) in Bezug auf die funktionell neurologische Regeneration nach wie vor dramatisch schlecht. Nur 0,6-1,8 % der präklinisch reanimierten Patienten überleben ein solches Ereignis ohne neurologisches Defizit [1]. Toll-like-Rezeptoren (TLR) sind entscheidend in die inflammatorische Kaskade des Ischämie-Reperfusionschadens eingebunden [2]. TLR werden neben den Zellen des Immunsystems auch auf den Neuronen des Zentralen Nervensystems exprimiert, wo ihnen eine Rolle in der Regulation des Energiestoffwechsels zukommt [3]. Wir prüften die Hypothese, ob sich eine TLR2-Defizienz positiv auf das Überleben und die funktionell-neurologische Regeneration von Mäusen nach Herz-Kreislaufstillstand und kardiopulmonaler Reanimation auswirkt und ob ein solcher Effekt therapeutisch nutzbar ist.

Methodik

Das Rostocker Reanimationsmodell beinhaltet die maschinelle Beatmung ($FiO_2 0,21$) der intubierten Maus, die Induktion eines 8-minütigen Herz-Kreislaufstillstands durch KCl (2,0 mg) und die maschinelle Reanimation ($f = 450/min$) mit Injektion von Adrenalin (10 μ g). Nach behördlicher Genehmigung schlossen wir insgesamt 35 weibliche C57BL/6J-Mäuse (WT) und 35 weibliche B6.129-Tlr2^{tm1Kir}/J-Mäuse (TLR2^{-/-}) in die Versuche ein. Es erfolgte eine randomisierte Zuordnung der Versuchstiere zu den einzelnen Gruppen. Als Parameter zur Beurteilung des funktionell-neurologischen Status der Tiere nutzten wir das Überleben, das Körpergewicht und den RotaRod-Test. In einem zweiten Schritt wurden weitere 17 weibliche C57BL/6J-Mäuse untersucht, die unter einem therapeutischen Ansatz mit dem am TLR2 antagonistisch wirkenden Antikörper T2.5 behandelt wurden

(WT T2.5AK). Alle Tiere erhielten zu den Zeitpunkten 0 min und 60 min nach Beginn der Reanimation ein äquivalentes Volumen Kochsalz bzw. den Antikörper i.v. injiziert. Der Beobachtungszeitraum nach der Reanimation betrug 28 Tage. In die Auswertung gelangten insgesamt 76 Tiere (WT=31; TLR2^{-/-}=30; WT T2.5AK=15). Die Ergebnisse sind als Mittelwert (MW) \pm SEM bzw. als Median [25-75 Percentile] dargestellt. Statistik: Kolmogorov-Smirnov Test; Student's t-Test; Mann-Whitney-Rangsummentest; statistische Signifikanz bei $p < 0,05$.

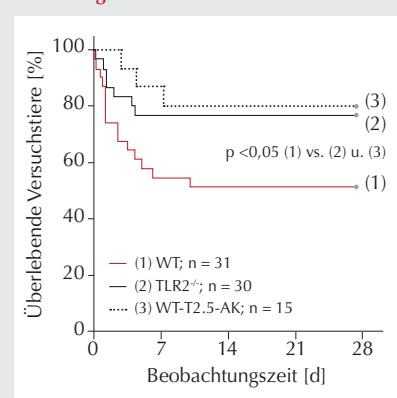
Ergebnisse

Im Vergleich zu den WT-Tieren zeigten die TLR2^{-/-}-Tiere an den Tagen 3, 5 und 28 nach CA/CPR eine deutlich schnellere Erholung ihres Körpergewichts als Ausdruck des besseren Allgemeinzustands. Im RotaRod Test erreichten die TLR2^{-/-}-Tiere an den Tagen 2, 3 und 5 längere Laufzeiten. 8 Stunden nach CA/CPR ließen sich im Plasma der TLR2^{-/-}-Tiere im Vergleich zu den WT-Tieren höhere Konzentrationen von Corticosteron und geringere Konzentrationen von IL-6 nachweisen. In Bezug auf die Inflammationsmarker gab es keinen Unterschied zwischen den WT-T2.5AK-Tieren und den unbehandelten WT-Tieren (Tab. 1). Die vorgeschaltete nukleäre Translokation von NF- κ B sowie die Freisetzung von TNF- α war 8 h nach CA/CPR nicht mehr nachweisbar. Die WT-T2.5AK-Tiere erzielten vergleichbar positive Ergebnisse in den funktionell-neurologischen Tests wie die TLR2-defizienten Tiere. Der verbesserte neurologische Status war mit einem signifikant besseren Überleben der TLR2^{-/-}-Tiere im Vergleich zu den WT Tieren assoziiert (76,7 vs. 51,6 %; $p < 0,05$). Ebenso zeigte sich ein Überlebensvorteil für die mit T2.5-AK behandelten WT-Tiere (80 %) (Abb. 1).

Interpretation

In unserem Reanimationsmodell an der Maus ist die TLR2-Defizienz mit einem signifikanten Überlebensvorteil und mit einem deutlich

Abbildung 1



besseren funktionell neurologischen Ergebnis der Versuchstiere verbunden. Die Inhibition von TLR2 könnte einen interessanten Therapieansatz zur Verbesserung des Behandlungsresultates nach kardiopulmonaler Reanimation darstellen.

Literatur

1. Laver S. Mode of death after admission to an intensive care unit following cardiac arrest. *Intensive Care Med* 2004;30:2126-2128.
2. Arumugam TV, Okun E, Woodruff TM. Toll-like Receptors in Ischemia-Reperfusion Injury. *Shock* 2009;32(1):4-16.
3. Tang SC, Arumugam TV, Mattson PM. Pivotal role for neuronal Toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits. *PNAS* 2007;104:13798-13803.

Tabelle 1

Übersicht – funktionell-neurologische Regeneration / Inflammation.

Parameter	Gruppe		
	WT (n = 31)	TLR2 ^{-/-} (n = 30)	WT-T2.5AK (n = 15)
Körpergewicht			in [%] vom Ausgangsgewicht
Tag 3	*	80,4 [±1,25]	85,8 [±1,17]
Tag 5	*	85,2 [±1,85]	90,3 [±1,41]
Tag 28	*	99,2 [±1,19]	104,2 [±0,90]
RotaRod			Zeit [s] - Median [25 - 75 Percentile]
Tag 2	*	291,5 [58 - 453]	900 [900 - 900]
Tag 3	*	379,5 [93 - 638]	900 [807 - 900]
Tag 5	*	667 [356 - 900]	900 [900 - 900]
Parameter	Gruppe		
	WT (n = 7)	TLR2 ^{-/-} (n = 6)	WT-T2.5AK (n = 6)
Inflammation (8 h post CPR)			
Corticosteron [nmol/l]	*	932,0 [±124,9]	1268,7 [±66,3]
IL-1 β [pg/ml]		0,72 [±0,28]	0,42 [±0,28]
IL-6 [pg/ml]	*	1949 [±449,3]	237,0 [±48,4]

* p <0,05 WT vs. TLR2^{-/-}

Gen-Knockout von CD73 und A_{2B}-Adenosinrezeptoren führen zur Aufhebung der Sevofluran-induzierten Präkonditionierung

M. Damm¹ · S.N. Stehr¹ · A. Hübler¹ · L. Knels² · J. Weichsel³ · A. Deussen⁴ · T. Koch¹

1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie,
2 Institut für Anatomie,
3 Klinik für Kinder- und Jugendmedizin,
4 Institut für Physiologie, Universitätsklinikum Dresden, Technische Universität Dresden

Korrespondenz:

Martin.Damm@uniklinikum-dresden.de

Fragestellung

Die membranständige Ekto-5'-Nukleotidase (CD73) wandelt extrazelluläres Adenosinmonophosphat in extrazelluläres Adenosin um, dessen Effekte wiederum über Adenosinrezeptoren (AR) vermittelt werden. Für die ischämische [1] und die Anästhetika-induzierte Präkonditionierung (APC) durch Sevofluran (Sevo) [2] ist eine Beteiligung von CD73 und A_{2B}-AR gezeigt worden. Die Applikation von Sevo führt zu einem koronaren Flussanstieg [2]. In dieser Studie untersuchten wir die Sevo-induzierte Präkonditionierung und den Sevo-induzierten koronaren Flussanstieg in isolierten Herzen von CD73- (CD73-KO) und A_{2B}-AR- (A_{2B}-AR-KO)-Knockout-Mäusen.

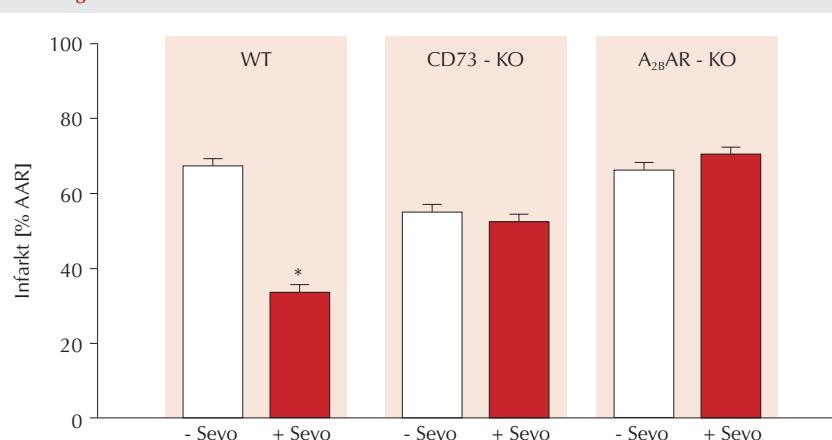
Methodik

Die Versuche wurden nach Genehmigung der zuständigen Tierschutzbehörde an jeweils 12 männlichen C57BL/6 Wildtyp (WT)-, CD73-KO- und A_{2B}-AR-KO-Mäuseherzen durchge-

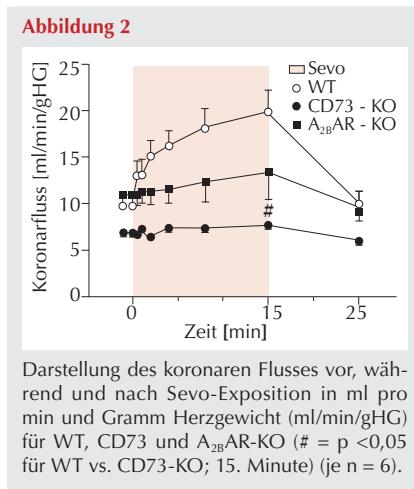
führt. Nach Präparation wurden die Herzen mit einer kristallinen Lösung druck-konstant nach Langendorff perfundiert. In allen drei Gruppen erfolgte in jeweils sechs Herzen die Applikation von 2,8 Vol.% Sevo für 15 Minuten und anschließend eine 10-minütige Auswaschphase, die jeweils anderen sechs Herzen dienten als Kontrolle. In allen Gruppen erfolgte eine 60-minütige Ligatur der linken Koronararterie (LAD) und anschließend eine 30-minütige Reperfusion. Herzfrequenz, linksventrikulärer Druck, maximale linksventrikuläre Druckanstiegs geschwindigkeit (+dP/dt_{max}) und koronarer Fluss wurden kontinuierlich gemessen. Arterielle und venöse Effluat-

proben 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 rechnergestützten Fluoreszenzmikroskopes bestimmt. Dabei wurde die myokardiale Infarzierung (Infarktgröße) als prozentualen Anteil der area at risk (AAR, von LAD versorgtes Myokard) ermittelt. Prüfung auf Signifikanz erfolgte mit Two-Way-ANOVA und post-hoc Analyse nach Bonferroni. Alle Werte wurden als Mittelwerte ± SEM dargestellt.

Abbildung 1



Darstellung der Infarktgröße in Prozent der AAR für: WT (ohne vs. mit Sevo; je n = 6; * = p <0,01), CD73-KO (ohne vs. mit Sevo; je n = 6) und A_{2B}-AR-KO (ohne vs. mit Sevo; je n = 6).



Ergebnisse

Nach 60-minütiger Ligatur der linken Koronararterie zeigten die Kontrollherzen von

WT ($67,3 \pm 2,3$ % der AAR), CD73-KO ($55,3 \pm 2,3$ % der AAR) und A_{2B}AR-KO ($66,2 \pm 1,8$ % der AAR) vergleichbare Infarktgrößen. Die Applikation von Sevo führte im WT zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße ($33,6 \pm 2,1$ % vs. $67,3 \pm 2,3$ % der AAR; mit vs. ohne Sevo; je n=6; p < 0,01; Abb. 1). In den Herzen von CD73-KO ($52,3 \pm 3,6$ % vs. $55,3 \pm 2,3$ % der AAR; CD73-KO mit vs. ohne Sevo; je n = 6) und A_{2B}AR-KO ($70,3 \pm 1,7$ % vs. $66,2 \pm 1,8$ % der AAR; A_{2B}AR-KO mit vs. ohne Sevo; je n=6) konnte durch die Gabe von Sevo keine Infarktgrößenreduktion beobachtet werden (Abb. 1). Die Sevo-induzierte Koronarflussteigerung war bei den CD73-KO ($7,7 \pm 0,4$ ml/min/gHG; p ≤ 0,05) und den A_{2B}AR-KO ($13,5 \pm 3,2$ ml/min/gHG; n.s.) gegenüber den WT ($19,8 \pm 2,3$ ml/min/gHG) deutlich geringer ausgeprägt (Abb. 2). Die in CD73-KO ($45,9 \pm 14,3$ pmol/min/gHG) gemessene basale Adenosinfreisetzung war gegenüber den WT ($158,6 \pm 27,9$ pmol/min/gHG) signifikant reduziert (p < 0,01).

Interpretation

Die Aufhebung der Sevo-induzierten Präkonditionierung in den Herzen von CD73-KO und A_{2B}AR-KO unterstreicht die Bedeutung von Ekto-5'-Nukleotidase und A_{2B}-AR für die APC im isolierten Mausherz. Für die Vermittlung der Sevo-induzierten Koronardilatation scheinen in CD73-KO und A_{2B}AR-KO die Ekto-5'-Nukleotidase und A_{2B}-AR von maßgeblicher Bedeutung zu sein.

Literatur

- Eckle T, et al. Cardioprotection by ecto-5'-nucleotidase (CD73) and A2B adenosine receptors. *Circulation* 2007;115:1581-90.
- Damm M, et al. Sevoflurane-induced preconditioning in the isolated mouse heart: role of the adenosine pathway. *Eur J Anaesth* 2009; 26. suppl. 45: 4AP 4-8.

Luftströmungsinduzierte Scherkräfte an der apikalen Zellmembran von Alveolarepithelzellen steigern die alveolare Zytokinfreisetzung in vitro

M. Deile¹ · I. Rentzsch¹ · S. Meissner² · M. Gama de Abreu¹ · E. Koch² · T. Koch¹

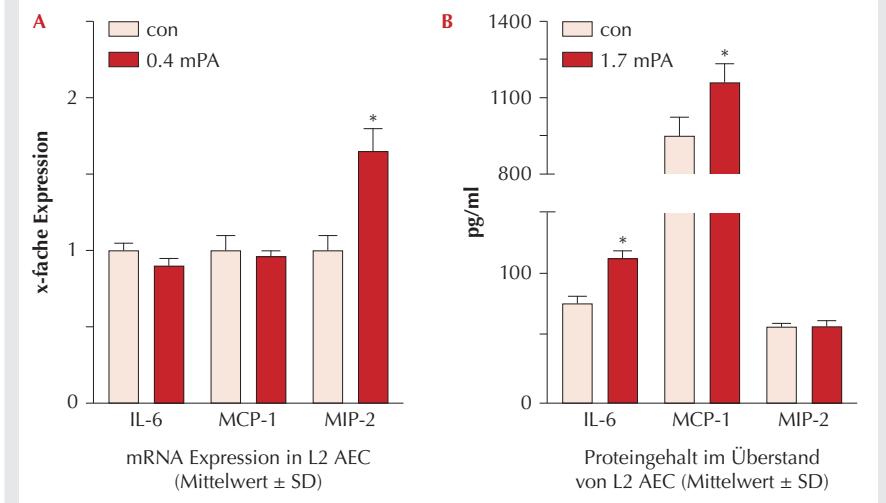
1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Dresden,
2 Institut für Klinisches Sensoring und Monitoring, Technische Universität Dresden

Korrespondenz: deilenski@yahoo.de

Fragestellung

Die durch mechanischen Stress getriggerten zellulären Mechanismen und Signalwege, welche bei mechanisch ventilierten Patienten zu einer beatmungsassoziierten Lungenschädigung führen können, sind nur unzureichend verstanden. Während zahlreiche Untersuchungen zu den Effekten von mechanischem Stress durch Dehnung der Basalmembran von Alveolarepithelzellen (AEC) existieren [1], fehlen sowohl Studien als auch Modelle, um die Auswirkungen von luftströmungsinduzierten Scherkräften auf Alveolarepithelzellen zu untersuchen. Erst kürzlich wurden die Luftströmungsgeschwindigkeiten in Alveolen und im Alveolarductus auf ca. 40 bis 400 µm/s bestimmt [2]. Daher ist die Etablierung eines in-vitro-Modells zur Untersuchung der Effekte von Luftströmung auf Alveolarepithelzellen ein Ziel dieser Arbeit. Außerdem soll in diesem Modell die mögliche luftströmungs-

Abbildung



induzierte Freisetzung von Signalmolekülen aus Alveolarepithelzellen untersucht werden, welche zur Genese des beatmungsassoziierten Lungenschadens beitragen könnte.

Methodik

Durch die Entwicklung einer speziellen Zellkulturmutter wurde es möglich die apikalen Membranen von Alveolarepithelzellen einer Luftströmung auszusetzen. Die Alveolarepithelzelllinien R3/1 und L2 werden dazu auf semi-permeablen Zellkulturfilters ausgesät

und ähnlich der in-vivo-Situation, von basolateral durch eine spezielle semipermeable Membran mit Medium versorgt. Die apikalen Membranen sind daher nicht mit Medium bedeckt und bilden so eine Epithel-Luft-Grenzfläche. Die luftströmungsinduzierten Scherspannungen betrugen 0,4 und 1,7 mPa und wurden nach den Angaben von Tarran et al. adjustiert [3]. Die Bestimmung der mRNA-Expression bzw. des Proteingehaltes von Interleukin-6 (IL-6), des Monocyten-chemotaktischen Proteins-1 (MCP-1) und des Makro-

phagen-inflammatorischen Proteins-2 (MIP-2) erfolgte nach 24 Stunden mittels Real-Time PCR und kommerziell erhältlichen ELISAs. Als Maß der Zellschädigung wurde die Aktivität der Laktatdehydrogenase bestimmt. Als statistische Tests wurden t-test oder einfaktorielle ANOVA mit anschliessender Bonferroni-Adjustierung durchgeführt.

Ergebnisse

Luftströmungsinduzierte Scherkräfte von 0,4 und 1,7 mPa führten nach 24 stündiger Exposition weder in R3/1- noch in L2-Alveolarepithelzellen zu signifikanten Unterschieden in der Aktivität der Laktatdehydrogenase. Allerdings konnte sowohl in R3/1- als auch in L2-(Abb. B)-Alveolarepithelzellen bei Scherkräften von 1,7 mPa ein signifikanter Anstieg des Proteingehalts des Chemokins MCP-1 registriert werden ($p < 0,05$; $n = 5$). Bei einer Amplitude von 1,7 mPa wurde außerdem ein signifikanter Anstieg des Zytokins IL-6 in R3/1- und L2-(Abb. B)-Alveolarepithelzel-

len beobachtet ($p < 0,05$; $n=4$). Auf mRNA-Ebene konnte in L2-Alveolarepithelzellen eine signifikante Zunahme der Expression für das Chemokin MIP-2 ab einer Scherkräft von 0,4 mPa bestimmt werden ($p < 0,05$; $n=4$; Abb. A). Die weiterhin untersuchte mRNA von IL-6 und MCP-1 zeigte in beiden Zelllinien keine signifikanten Unterschiede (Abb. A).

Interpretation

Mit der Etablierung dieses Modells wurde erstmalig ermöglicht, die Auswirkungen von Scherkräften auf den Metabolismus und die Signalwege von Alveolarepithelzellen in einem in-vitro-Modell zu untersuchen. Es konnte gezeigt werden, dass durch Luftströmung hervorgerufene Scherkräfte in der Lage sind, eine erhöhte Zytokinfreisetzung aus Alveolarepithelzellen zu induzieren. Somit müssen in der Pathogenese der beatmungsinduzierten Lungenschädigung neben den schon vielfach nachgewiesenen Effekten von mechanischem Stress durch Dehnung der basolateralen Membran, auch die Effekte von Luftströmung an

der apikalen Seite von Alveolarepithelzellen mitberücksichtigt werden. Es ist uns gelungen eine weitere schädigende Variable bei der Genese des beatmungsassoziierten Lungenschadens zu identifizieren. Zukünftige Untersuchungen an diesem Modell sollen dazu beitragen die strömungsmechanischen Effekte an der Epithel-Luft-Grenzfläche von verschiedenen Beatmungsmodi auf zellulärer Ebene zu entschlüsseln.

Literatur

- Platani M, Hubmayr RD. The physical basis of ventilator-induced lung injury. *Expert Rev Respir Med* 2010;4:373-85. Review.
- Chhabra S, Prasad AK. Flow and Particle Dispersion in a Pulmonary Alveolus – Part I: Velocity Measurements and Convective Particle Transport. *J Biomech Eng* 2010;132:0510091-11.
- Tarran R, Button B, Boucher RC. Regulation of normal and cystic fibrosis airway surface liquid volume by phasic shear stress. *Annu Rev Physiol* 2006;68:543-61. Review.

Synthetisch hergestelltes Lipopolysaccharid-bindendes Peptid hemmt bei intravenöser Gabe effektiv die Inflammation in einem murinen Sepsismodell

S. Dömming¹ · T. Schürholz¹ · K. Brandenburg² · M. Hornef¹ · G. Marx¹

1 Klinik für Operative Intensivmedizin und Intermediate Care, Universitätsklinikum Aachen,

2 Abteilung Biophysik, Forschungszentrum Borstel

3 Institut für Medizinische Mikrobiologie, Medizinische Hochschule Hannover

Korrespondenz: SDömming@ukaachen.de

Fragestellung

Antimikrobielle Peptide (AMP) sind bei schwerer Sepsis oder septischem Schock im Vergleich zu nicht-septischen Patienten im Plasma erhöht [1]. Synthetische AMP können experimentell nach Lipopolysaccharid (LPS) Exposition die Bindung des Endotoxins an LPS-bindende Proteine (LBP) und CD14 verhindern und zu verminderter Zytokinexpression und besserem Überleben beitragen [2]. In einem murinen Sepsismodell sollte die Frage geklärt werden, ob eine intravenöse Therapie eines neu entwickelten, synthetischen AMP eine anti-inflammatorische Potenz aufweist.

Methodik

Nach Genehmigung durch die zuständige Landesbehörde wurde bei männlichen NMRI-Mäusen ($n=40$; Gewicht 38 ± 3 g) unter Iso-

flurannarkose eine Sepsis durch zörale Ligatur und Punktions (CLP) induziert. Die Tiere wurden randomisiert für folgende Gruppen: Kontrolle (CLP-Sepsis, nur Trägerlösung (NaCl 0,9%) infundiert), Polymyxin (CLP-Sepsis, 12 µg/ml Polymyxin B), Peptid (CLP-Sepsis, 20 µg/ml Peptid 19.2-5), Sham (Schein-OP ohne Sepsis, nur Trägerlösung infundiert). Die Infusion wurde innerhalb von 60 Minuten begonnen. 48 Stunden vor CLP wurden die Tiere unter Isoflurannarkose mit einem arteriellen Transmitter zur Messung von Herzfrequenz (HF) und mittlerem arteriellen Druck (MAP) (PA-C10, St. Paul, MN, USA) und einem zentralvenösen Katheter (Eigene Herstellung) katheterisiert. Die Aktivität der Tiere wurde mit Punkten von 1 (gesund) bis 5 (Agonie) beurteilt (3). Nach 24 Stunden Sepsis wurden Aktivität und Vitaldaten registriert und Blut- und Organproben (Herz, Niere, Leber) entnommen. Interleukin (IL)-6, IL-10 und Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) wurden mit einem Cytometer bead array (CBA, BD Biosciences, Heidelberg, Germany) in der Flow-Zytometrie im Plasma quantitativ bestimmt. RNA wurde aus tiefgefrorenem Gewebe isoliert (RNeasy, Qiagen, Hilden, Germany) und unter Verwendung von maus-spezifischen Primern für CD14 mit real-time-PCR (7300 Real-time PCR-System, Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) analysiert und gegen β-Actin normalisiert (alle: biomers, Ulm, Germany). Bei Vorliegen einer Normalverteilung erfolgte die Auswertung mit 1-way-ANOVA mit folgendem Dunnett t-test für multiple Vergleiche. Die PCR wurde

mit einem „Reallocation randomisation test“ (REST-MCS®) ausgewertet. Ein $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

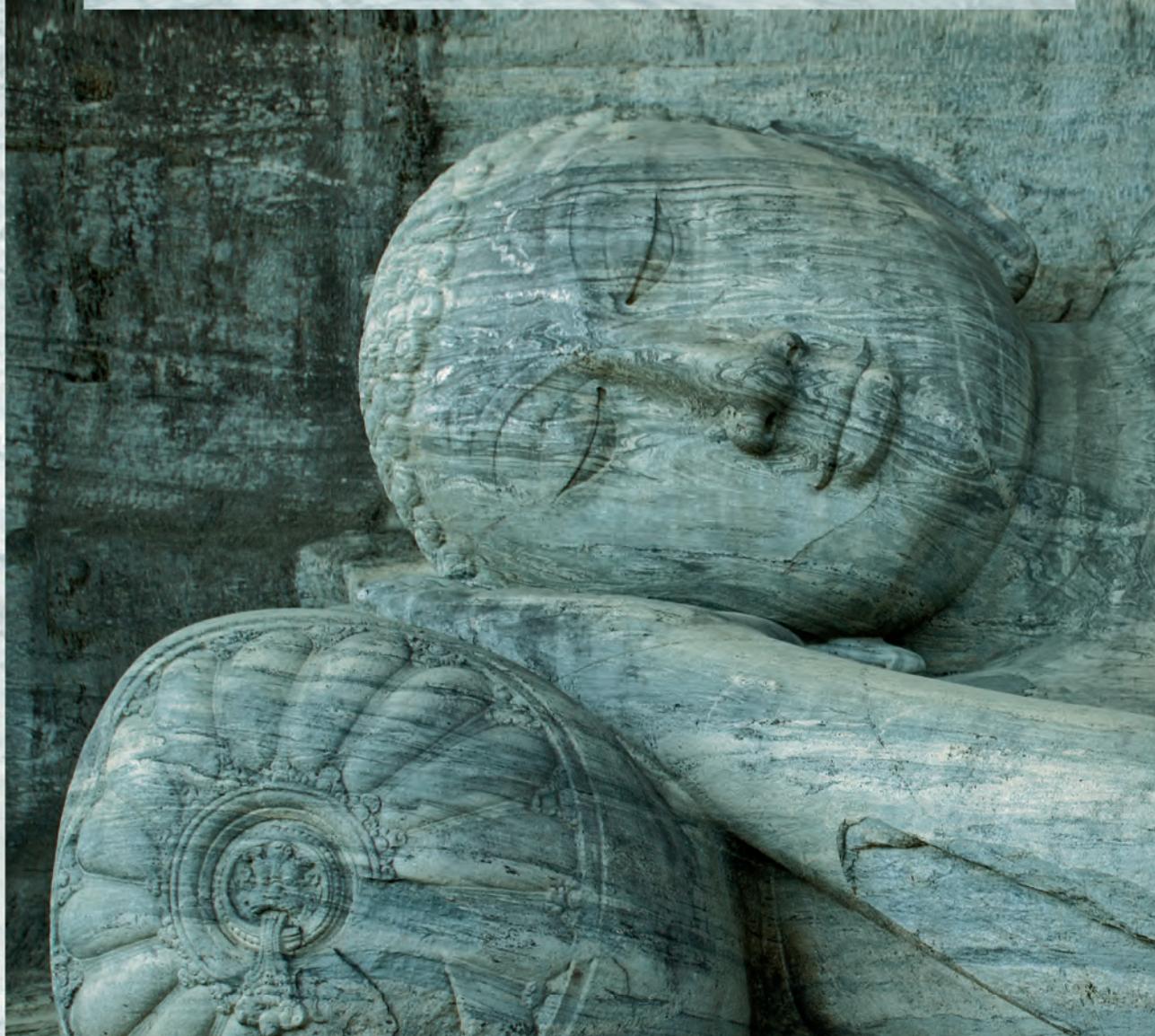
Ergebnisse

Die Aktivität der Tiere war in der Kontrollgruppe ($4,4\pm 0,8$ Punkte) signifikant niedriger als in der Sham- ($1,1\pm 0,3$ Punkte; $p < 0,001$), Polymyxin- ($3,2\pm 0,5$ Punkte; $p < 0,001$) und Peptidgruppe ($2,5\pm 0,7$ Punkte; $p < 0,001$) nach 24 Stunden Sepsis. Der MAP unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Die HF war signifikant höher bei Tieren der Sham-Gruppe (485 ± 197 min $^{-1}$; $p = 0,016$), nicht aber bei Tieren mit Polymyxin- (364 ± 140 min $^{-1}$; $p = 0,479$) oder Peptid-Behandlung (434 ± 196 min $^{-1}$; $p = 0,082$) im Vergleich zu Tieren der Kontrollgruppe (310 ± 88 min $^{-1}$). IL-6 war signifikant niedriger in der Sham- (15 ± 11 pg/ml; $p = 0,004$) und Peptidgruppe (687 ± 450 pg/ml; $p = 0,015$), aber nicht in der Polymyxingruppe ($2,177\pm 1,878$ pg/ml; $p = 0,176$) im Vergleich zur Kontrolle ($4139\pm 4,350$ pg/ml). IL-10 unterschied sich nicht signifikant zwischen allen Gruppen. MCP-1 war signifikant niedriger in der Sham-Gruppe (61 ± 77 pg/ml; $p = 0,003$) und nach Peptidtherapie (585 ± 244 pg/ml; $p = 0,041$), aber nicht in der Polymyxingruppe (990 ± 467 pg/ml; $p = 0,200$) verglichen mit der Kontrolle (1735 ± 1275 pg/ml).

Die Expressionsrate für CD14 aus Herzgewebe war nicht signifikant verschieden (Kontrolle $2,0\pm 1,2$; Polymyxin $1,8\pm 0,9$; Peptid $1,4\pm 0,9$). Im Lebergewebe war sowohl in der Kontrolle als auch in der Polymyxin-Grup-



SEDALAM®
Lormetazepam i. v.



SICHER SEDIEREN

SEDALAM® Wirkstoff: Lormetazepam. Lösung zur intravenösen Injektion. **Zusammensetzung:** 1 Ampulle zu 10 ml enthält 2 mg Lormetazepam. **Sonstige Bestandteile:** Macrogol-15-(12-hydroxystearat), Wasser für Injektionszwecke. **Anwendungsgebiete:** Zur symptomatischen Behandlung akuter Spannungs-, Erregungs- und Angstzustände im Rahmen operativer und diagnostischer Eingriffe sowie in der Intensivmedizin. Zur Narkoseeinleitung. **Gegenanzeigen:** Überempfindlichkeit gegen Lormetazepam, andere Benzodiazepine oder einen der sonstigen Bestandteile, Abhängigkeitsanamnese, akute Vergiftungen mit Alkohol, Schlafmitteln, Schmerzmitteln oder Psychopharmaka, Myasthenia gravis. **Nebenwirkungen:** Kopfschmerzen, Schwindelgefühl, Müdigkeit, Benommenheit am folgenden Tag, Koordinationsstörungen, Konzentrationsstörungen und verlängerte Reaktionszeiten, Verwirrtheit, Muskelschwäche, depressive Verstimmungen, anterograde Amnesien, Irritationen der Venenwand, Hautreaktionen, allergische Reaktionen, Atemdepressionen, Verstärkung einer vorhandenen depressiven Symptomatik, paradoxe Reaktionen, primäres Abhängigkeitspotential. **Verkaufsabgrenzung:** Verschreibungspflichtig.

Darreichungsform und Packungsgrößen: Ampullen zu 5 und 25 x 10 ml. **Stand der Information:** Mai 2011

Pharmazeutischer Unternehmer: Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Werner-von-Siemens-Str. 22-28, 64625 Bensheim,
Tel.: 06251-1083-0, Fax: 06251-1083-133, www.koehler-chemie.de

DR. F. KÖHLER CHEMIE

Arzneimittel



pe CD14-Expression signifikant hochreguliert ($16,8 \pm 14,8$ respektive $21,9 \pm 17,8$; $p < 0,05$), jedoch unter Peptidtherapie nicht signifikant erhöht ($6,1 \pm 5,1$; $p = 0,089$). Im Nierengewebe war die CD14-Expression signifikant erhöht in Kontrollgruppe ($26,5 \pm 20,3$; $p < 0,05$) und Polymyxin Gruppe ($18,6 \pm 14,3$; $p < 0,05$), aber nicht signifikant erhöht mit Peptidbehandlung ($9,2 \pm 7,5$; $p = 0,066$).

Interpretation

Kontinuierliche intravenöse Applikation eines synthetischen AMP kann die Inflammation in

einem murinen CLP-Modell der Sepsis hemmen und damit die Schwere der Erkrankung abmildern. Damit könnten AMP in der Sepsis therapeutisch von Bedeutung sein.

Literatur

1. Berkstedt I, Herwald H, Ljunggren L, et al. Elevated plasma levels of antimicrobial polypeptides in patients with severe sepsis. *J Innate Immun* 2010;2(5):478-482.
2. Gutzmann T, Razquin-Olazaran I, Kowalski I, et al. New antiseptic peptides to protect

against endotoxin-mediated shock. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(9):3817-3824.

3. van Griensven M, Dahlweid FM, Giannoudis PV, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA) modulates the activity and the expression of lymphocyte subpopulations induced by cecal ligation and puncture. *Shock* 2002;18(5):445-449.

Midazolam und dessen Metabolit 1-OH-Midazolam verändern die kortikale Netzwerkaktivität bereits in niedrigen nanomolaren Konzentrationen

B. Drexler¹ · M. Balk¹ · U. Rudolph² · H. Hentschke¹ · B. Antkowiak¹

1 Sektion Experimentelle Anästhesiologie, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

2 Laboratory of Genetic Neuropharmacology, McLean Hospital, Department of Psychiatry, Harvard Medical School, Belmont, USA

Korrespondenz:

berthold.drexler@uni-tuebingen.de

Fragestellung

Benzodiazepine induzieren in mikromolaren Konzentrationen Bewusstlosigkeit. Eine aktuelle, jedoch umstrittene, Hypothese besagt, dass bereits 100-1000fach niedrigere Konzentrationen die neuronale Aktivität im Kortex verändern. Dies wird mit negativen

Langzeitfolgen wie z.B. dem postoperativen kognitiven Defizit in Verbindung gebracht [1]. Dem sollen Wirkungen an bestimmten GABA_A-Rezeptoren zugrunde liegen, welche sehr empfindlich für Benzodiazepine sind. Das primär über GABA_A-Rezeptoren wirkende Midazolam findet in Anästhesie und Intensivmedizin breite Verwendung. Für die zentralnervösen Wirkungen von Midazolam wird sowohl die Substanz selbst, als auch ihr Hauptmetabolit, 1-OH-Midazolam verantwortlich gemacht [2].

Methodik

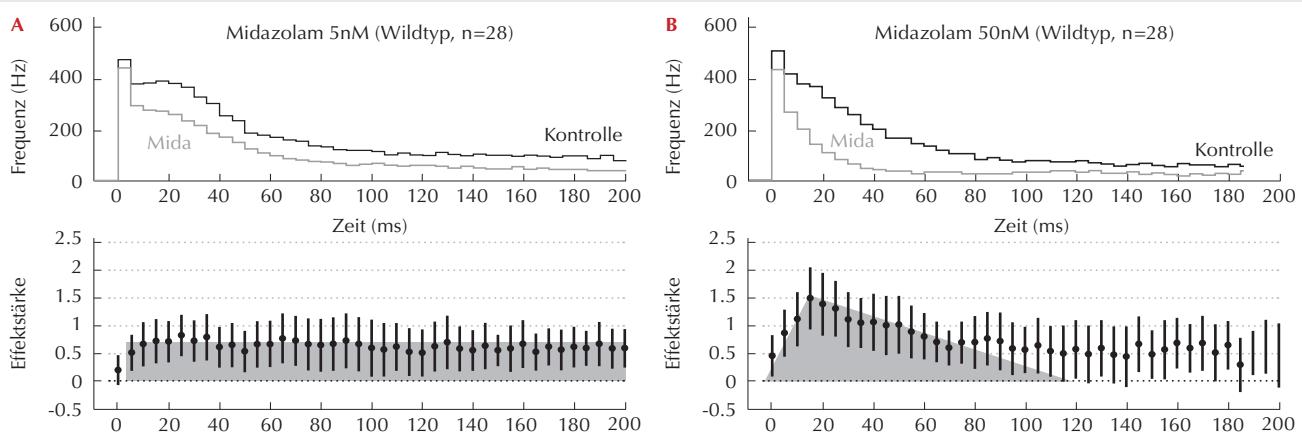
Zur Charakterisierung der Wirkung von Midazolam und 1-OH-Midazolam wurden organotypische Kulturen aus dem Kortex von C57/BL6-Wildtypmäusen und der GABA_A-R- α 1(H101R)-Knock-In-Mutante hergestellt und für 2 Wochen ex vivo kultiviert. In Kulturen der α 1(H101R)-Mutante sind GABA_A-Rezeptoren mit α 1-Untereinheit, welche den am häufigsten vorkommenden Subtyp darstellen,

für Benzodiazepine unempfindlich [3]. Die Organentnahme wurde dem zuständigen Regierungspräsidium angezeigt. Mittels extrazellulärer Elektroden wurde die Wirkung von Midazolam und 1-OH-Midazolam auf die elektrische Aktivität des neuronalen Netzwerkes registriert. Als statistisches Maß diente die Effektstärke (Hedges' d mit 95 %-Konfidenzintervall).

Ergebnisse

Das spontane Feuermuster der Gewebekulturen war gekennzeichnet durch abwechselnde Phasen hoher Netzwerkaktivität, unterbrochen von neuronaler Ruhe. In einer Konzentration von 5nM führte Midazolam in Kulturen des Wildtyps zu einer homogenen Hemmung des kortikalen Netzwerkes. Ab 50nM zeigte Midazolam einen qualitativ unterschiedlichen Effekt, welcher durch eine betonte Inhibition unmittelbar in den ersten 50ms nach Beginn einer Aktivitätsphase gekennzeichnet war (Abb. 1). Dieser typische

Abbildung 1



Wirkung von Midazolam (A: 5nM; B: 50nM) auf die Aktivität kultivierter kortikaler Neurone. Im oberen Teil ist die Frequenz von Aktionspotenzialen in bins à 5ms während der ersten 200ms einer Aktivitätsphase (Kontrolle schwarz; Midazolam grau) dargestellt. Darunter die korrespondierende Effektstärke. Ein signifikanter Effekt liegt vor, wenn das 95%-Konfidenzintervall den Nullwert nicht einschließt. Grau unterlegt ist der Bereich der Hauptwirkung von Midazolam.

Effekt war in Gewebekulturen der $\alpha 1(H101R)$ -Mutante nicht nachweisbar. Der Midazolam-Metabolit 1-OH-Midazolam hemmte ebenfalls ab Konzentrationen von 10nM die neuronale Aktivität. In Gegenwart des Benzodiazepin-Antagonisten Flumazenil waren die Effekte sowohl von Midazolam als auch von 1-OH-Midazolam nahezu aufgehoben.

Interpretation

Sowohl Midazolam als auch 1-OH-Midazolam verändern bereits in sehr niedrigen Konzentrationen die kortikale Netzwerkaktivität. Es erscheint plausibel, dass entsprechend niedrige Konzentrationen noch lange über den therapeutisch notwendigen Zeitraum hinzu Veränderungen der neuronalen Aktivität im zentralen Nervensystem führen. Diese

Wirkung könnte somit an Langzeitfolgen nach Anästhesie bzw. intensivmedizinischer Therapie wie kognitivem Defizit oder Konzentrationsstörungen beteiligt sein. Die unterschiedlichen Wirkprofile von Midazolam in Kulturen des Wildtyps und der $\alpha 1(H101R)$ -Mutante implizieren eine Beteiligung von $GABA_A$ -Rezeptoren mit $\alpha 1$ -Untereinheit für Konzentrationen ab 50nM. In Konzentrationen darunter scheinen jedoch andere Rezeptorsysteme beteiligt zu sein. Unsere Befunde legen nahe, dass Substanzen, welche diese ($\alpha 1$ - $GABA_A$ -Rezeptor-unabhängigen) Wirkungen in niedrigsten Konzentrationen nicht aufweisen, auch mit weniger unerwünschten Langzeitwirkungen behaftet wären als die gegenwärtig verfügbaren Benzodiazepine.

Syndecan-4 reguliert ERK-abhängig die kardiomyozytäre Apoptose und begrenzt über NFAT-Inhibition das adaptive Remodeling nach ischämischer Schädigung des Myokards in Mäusen

F. Echtermeyer¹ · T. Harendza¹ · A. Lorenz¹ · C. Herzog¹ · M. Mueller¹ · A. Grund² · J. Lermann¹ · J. Heineke² · G. Theilmeier¹

1 Experimentelle Anästhesiologie, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

2 Klinik für Kardiologie und Angiologie, Medizinische Hochschule Hannover

Korrespondenz:
echtermeyer.frank@mh-hannover.de

Fragestellung

Myokardinfarkte (MI) sind in der perioperativen Phase häufig und stellen eine vitale Gefährdung des Patienten dar, weil sie zu einer akuten Verschlechterung der Funktion des linken Ventrikels durch den Verlust von Myokard und langfristig durch adverses Remodeling zur Herzinsuffizienz führen können. Syndecan-4 (Sdc4) ist ein Membranrezeptor, dessen Verlust die Bildung von Granulationsgewebe und die Wundkontraktion nach Hautwunden reduziert [1]. Sdc4 ist in den Costameren von Kardiomyozyten lokalisiert [2] und die Expression von Sdc4 ist nach MI erhöht [3]. Wir untersuchen die Rolle von Sdc4 für den myokardialen Schaden nach Myokardischämie und Reperfusion (MI/R) sowie seinen Einfluss auf das linksventrkuläre Remodeling nach MI.

Methodik

Mit Genehmigung der Tierschutzkommission wurde der Ramus interventrikularis anterior (RIVA) in Sdc4-defizienten ($^{−/−}$) und Wild-

typ-Mäusen (WT) über einem Polyethylen-Schlauch (ED 0,1 mm) für 30 Minuten okklidiert und für die Reperfusion (24 h) wieder freigegeben. Die Infarktgröße wurde mittels 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid/Coomassie-Blau-Technik als Infarkt pro Risikoareal (AAR) morphometrisch bestimmt. Die Apoptose im Infarkt (aktive Caspase-3, Cell Signaling, Danvers, MA, USA) und die Phosphorylierung der extrazellulär-regulierten Kinase (ERK, Cell signaling, Danvers, MA, USA) wurden mittels Western-Blot im post-ischämischen Myokard quantifiziert. Zur Untersuchung des Remodelings wurde durch permanente Ligatur des RIVA ein MI induziert. In primären Rattenkardiomyozyten (RKM) wurde der Effekt eines siRNA-vermittelten Sdc4-knockdown auf die Apoptose nach 3-stündiger Hypoxie und 1-stündiger Reoxygenierung (H/R) mittels TUNEL (MBL, Woburn, MA, USA) bestimmt. Die Kardiomyozytentgröße wurde in vivo mittels Wheat Germ Agglutinin (WGA, Vektor Laboratories, Burlingham, CA, USA) Färbung bestimmt. Sdc4-siRNA-behandelte, mit Phenylephrin-stimulierte (PE, Sigma-Aldrich, München) RKM wurden nach 24 Stunden mittels Phasenkontrast vermesssen. Mittels Immunfluoreszenz an Gewebe von WT- und Sdc4 $^{−/−}$ -Mäusen nach MI/R und MI wurde die nukleäre Translokation des Nuklear factor of T-cells (NFAT) an der Infarktgrenze und im remote Myokard bestimmt, was die transkriptionelle Aktivierung von Hypertrophieprogrammen anzeigt. Die tatsächliche in vivo-Aktivität von NFAT wurde durch die Quantifizierung des NFAT-Zielgens rcan1.4 per RT-PCR untersucht. In PE-stimulierten RKM wurde die NFAT-Aktivität mittels adenoviralem NFAT-Reporter-Konstrukt mit einem Luziferase-Assay (Promega, Mannheim) untersucht. An Tag 7 nach MI wurden mittels 2D-geführter M-Mode-Echokardiographie (HP Sonos5500) die LV-Funktion und -geometrie

Literatur

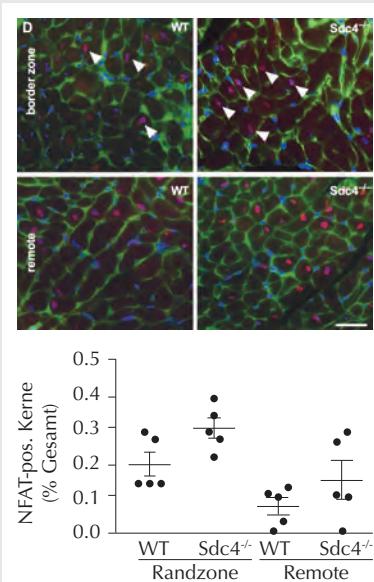
1. Saab BJ, Maclean AJ, Kanisek M, Zurek AA, Martin LJ, Roder JC, et al. Short-term memory impairment after isoflurane in mice is prevented by the $\alpha 5$ -GABA(A) receptor inverse agonist L-655,708. *Anesthesiology* 2010;113: 1061-1071.
2. Tuk B, van Oostenbruggen MF, Herben VM, Mandema JW, Danhof M. Characterization of the pharmacodynamic interaction between parent drug and active metabolite in vivo: midazolam and alpha-OH-midazolam. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;289:1067-1074.
3. Rudolph U, Crestani F, Benke D, Brünig I, Benson JA, Fritschy J-M, et al. Benzodiazepine actions mediated by specific GABA(A) receptor subtypes. *Nature* 1999;401:796-800.

charakterisiert. Die Daten wurden bei Normalverteilung wegen ihrer unterschiedlichen Varianzen nicht-parametrisch mittels Mann-Whitney-U Test getestet, jedoch als Mittelwert \pm SEM angegeben. $p < 0,05$ wurde als Signifikanzniveau gewählt.

Ergebnisse

Der Verlust von Sdc4 vergrößert nach MI/R den Infarkt um 40 % (66,2 \pm 6,5 vs 47,5 \pm 6,4; % Infarkt der AAR; Sdc4 $^{−/−}$ vs WT, $p < 0,01$, $n = 7$). Die Aktivierung von ERK ist reduziert

Abbildung 1



Aktivierung von NFAT (NFAT-positive Kerne sind lila, alle anderen blau dargestellt) ist während des Remodelings 7 Tage nach MI in Sdc4 $^{−/−}$ -Herzen gegenüber WT in der Randzone des Infarkts signifikant erhöht.

(80,1±6,6 vs 106,2±7,8; % phosphoERK/ERK Sham-WT; Sdc4^{-/-} vs WT, p <0,05, n=10) und führt zu einer vermehrten Apoptose im Infarktgewebe (2,1±0,3 vs 1,2±0,2; fache Expression von aktiver Caspase-3; Sdc4^{-/-} vs WT, p <0,05, n=6). In vitro erhöht Sdc4-siRNA die Zahl apoptotischer RKM nach H/R 1,7-fach (15,5±1,6 vs 9,4±1,6; % apoptotische Zellen; Sdc4^{-/-} vs WT, p <0,01, n=14). In Sdc4^{-/-}-Mäusen ist die Kardiomyozytengröße in der AAR 1,5-fach (53,6±1,7 vs 35,2±0,7; µm²; Sdc4^{-/-} vs WT, p <0,01, n=7) und die Aktivierung des NFAT-Signalweges 2-fach (0,15±0,05 vs 0,074±0,02; % NFAT-positive Zellkerne; Sdc4^{-/-} vs WT, p <0,05, n=7) gegenüber WT-Mäusen nach MI erhöht. In PE-stimulierten RKM steigert eine siRNA-

vermittelte Sdc4-Suppression die RKM-Größe um 15 % (2.229±226 vs 1.939±164; µm²; Sdc4-siRNA vs Kontroll-siRNA, n=8, p <0,05) und die Aktivität von NFAT 3-fach (94±36 vs 33±6; Luziferaseaktivität/µg Protein; Sdc4-siRNA vs Kontroll-siRNA, n=8, p <0,05). Sdc4^{-/-}-Mäuse zeigen 7 Tage nach MI eine bessere Ventrikelform (251±73 vs 767±77; % vs baseline ESV; Sdc4^{-/-} vs WT, p <0,01, n=5) und eine bessere linksventrkuläre Funktion (72±9 vs 43±5; % vs baseline EF; Sdc4^{-/-} vs WT, p <0,02, n=5).

Interpretation

In Sdc4-defizienten Mäusen kommt es trotz eines initial vergrößerten Infarktschadens zu einem hypertrophen adaptiven Remodeling

während des frühen Postinfarktremodelings in MI/R und MI Mausmodellen, das sich positiv auf die Funktion des linken Ventrikels auswirkt. Sdc4 könnte deshalb eine therapeutische Zielstruktur für das postischämische Myokard darstellen, wobei die unterschiedlichen Effekte in unterschiedlichen Phasen der postischämischen myokardialen Wundheilung berücksichtigt werden müssen.

Literatur

1. Echtermeyer, et al. J. Clin. Invest. 2001;107:R9.
2. Von Winkle, et al. Anat Rec. 2002;268(1):38.
3. Kojima, et al. Thromb Haemost. 2001;85(5):793.

Natriumsulfid steigert die Expression Nrf2-abhängiger antioxidativer Proteine und limitiert den beatmungs-induzierten Lungenschaden im Mausmodell

R. C. Francis¹ · K. Vaporidi² · F. Ichinose² · K. D. Bloch² · W. M. Zapol²

1 Klinik für Anästhesiologie m.S. operative Intensivmedizin, Campus Virchow-Klinikum, Charité – Universitätsmedizin Berlin

2 Anesthesia Center for Critical Care Research, Department of Anesthesiology, Critical Care, and Pain Medicine, Massachusetts General Hospital, Boston

Korrespondenz: roland.francis@charite.de

Fragestellung

Maschinelle Beatmung kann zu vermehrter Produktion reaktiver Sauerstoffspezies und zu einem gestörten Redox-Gleichgewicht im Lungengewebe führen [1]. Zusammen mit proinflammatorischen Prozessen trägt dies zur Gewebeschädigung, Ödembildung, und Infiltration mit Entzündungszellen im Rahmen des beatmungs-induzierten Lungenschadens bei. In anderen Modellen des Lungenschadens, z.B. durch Toxine oder Rauchinhaltung induziert, wurden Natriumsulfid (Na₂S) und anderen Sulfiden anti-inflammatorische, antioxidative, und somit protektive Wirkungen zugeschrieben [2]. Die vorliegende Studie prüft die Hypothese, dass 1) Na₂S den durch hohe Tidalvolumina verursachten beatmungs-induzierten Lungenschaden limitiert und ob 2) Na₂S die Expression Nrf2-abhängiger antioxidativer Proteine beim beatmungs-induzierten Lungenschaden steigert. Nrf2 (nuclear factor E2-related factor 2) ist ein Transkriptionsfaktor, der für die Expression anti-oxidativer Proteine als Adaptationsreaktion auf oxidativen Stress eine übergeordnete Rolle spielt [3].

Methodik

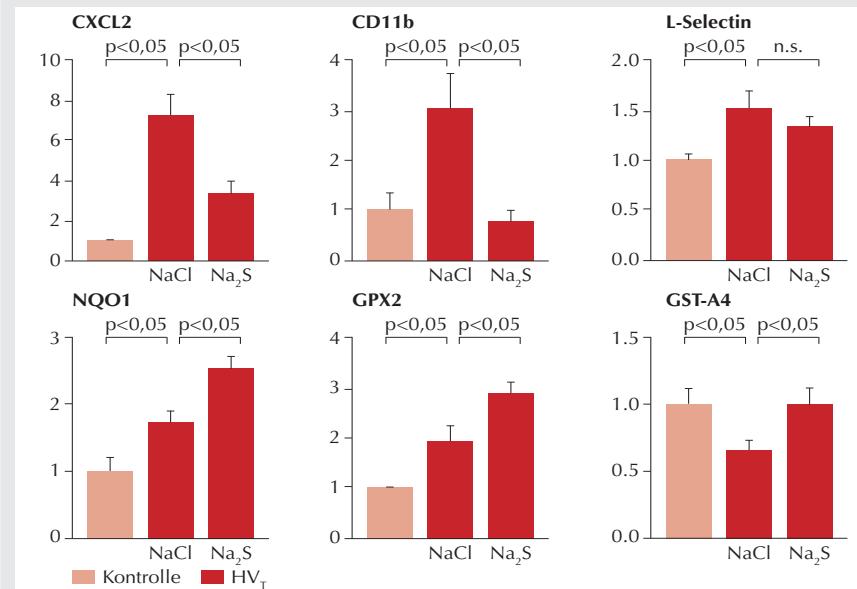
Mit Genehmigung der zuständigen Tierversuchskommission wurde anästhesisierte (Fentanyl, Ketamin) C57Bl6 Mäusen (23,3±1 g) entweder Na₂S (0,55 mg/kg, n=8) oder Trägerflüssigkeit (Dulbeccos PBS, n=8) als Bolusinfusion intraarteriell verabreicht und anschliessend eine Beatmung mit einem hohen Tidalvolumen (HV_T) Beatmung: 40 ml/kg KG, Frequenz 60/min, positiver end-expiratorischer Druck (PEEP) 1 cmH₂O, stündliche Rekruitmentmanöver) für bis zu 4 h durchge-

führt. Die Beatmung wurde entweder nach Ablauf von 4 h oder bei Unterschreiten eines mittleren arteriellen Blutdrucks von 60 mmHg (>5 min) abgebrochen, um Gewebepräparate zu entnehmen. Kontrolltiere ohne Bolusinfusion (n=4) wurden für 5 min mit einem niedrigen Tidalvolumen (10 ml/kg; Frequenz 90/min; PEEP 2 cmH₂O) beatmet.

Ergebnisse

HV_T Beatmung erhöhte die Anzahl an Neutrophilen in immunhistochemisch gefärbten Lungengewebsschnitten (99±4 vs. 5±1 pro

Abbildung 1



Pulmonale mRNA-Expression leukozytärer Chemokine, Adhäsionsmoleküle und Nrf2-abhängiger anti-oxidativer Gene bei gesunden Mäusen (Kontrolle) und Mäusen, die nach intraarterieller Bolusinfektion von NaCl oder Na₂S für bis zu 4 h mit einem hohen Tidalvolumen (HV_T) beatmet wurden.

11. - 12.02.2011 · Würzburg 25. Wissenschaftliche Arbeitstage der DGAI

Sichtfeld), erhöhte die Konzentration an Protein (1,6±0,0 vs. 0,1±0,0 mg/ml) und Interleukin-6 (IL-6; 1.105±81 pg/ml vs. „unterhalb des Detektionslimits“) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BAL) und verminderte die Lungencapillare Compliance (C_L ; 24±2 vs. 40±0 $\mu\text{l}/\text{cmH}_2\text{O}$) sowie die arterielle Oxygenierung ($P_a\text{O}_2$; 71±5 vs. 239±8 mmHg) im Vergleich zu Kontrolltieren. Darüberhinaus war der beatmungs-induzierte Lungenschaden von einer gesteigerten Expression des Chemokins CXCL2, sowie der leukozytären Adhäsionsmoleküle CD11b und L-Selectin begleitet (Abb. 1). Die Transkription der Nrf2-abhängigen antioxidativen Gene NQO1 (NAD(P)H:Quinon Oxidoreduktase) und GPX2 (Glutathion-peroxidase 2) nahm zu, die von GST-A4 (Glutathion-S-Transferase A4) nahm ab (Abb. 1). HV_1 -Beatmung verminderte die Konzentration des Antioxidans Glutathion im Lungengewebe (469±30 vs. 736±53 $\mu\text{mol/g}$), sowie die Verfügbarkeit der anti-oxidativen, reduzierten (nicht-oxidierten) Form des Glutathions (GSH). Nach Ablauf der maximalen Beatmungsdauer von 4 h waren 50% aller Tiere verstorben bzw. hatte die Abbruchkriterien für HV_1 -Beatmung erreicht. Im Gegensatz dazu ging HV_1 -Beatmung bei Tieren, die mit Na_2S behandelt wurden, mit verminderter pulmonaler Neutrophileninfiltration (45±4 pro Sichtfeld), verminderter Protein- (0,9±0,1 mg/ml) und IL-6 Konzentration (822±78 pg/ml) in der BAL, sowie verbesserter Lungencapillare Compliance (34±2 $\mu\text{l}/\text{cmH}_2\text{O}$) und arterieller Oxygenierung ($P_a\text{O}_2$; 157±16 mmHg) einher. Die Behandlung mit Na_2S verhinderte darüber hinaus die beatmungs-induzierte Expression von CXCL2 und CD11b, steigerte die Transkription von NQO1 und GPX2, und verhinderte die Reduktion der GST-A4-Transkription (Abb. 1) sowie die Abnahme der Glutathionkonzentration im Lungengewebe (742±28 $\mu\text{mol/g}$). Alle mit Na_2S behandelten Tiere überlebten die maximale Beatmungsdauer von 4 h.

Interpretation

Während der Beatmung mit hohen Tidalvolumina ist Natriumsulfid dazu geeignet, die pulmonale Neutrophileninfiltration zu hemmen, sowie die Expression Nrf2-abhängiger antioxidativer Gene zu aktivieren und somit die Verknappung des Antioxidans Glutathion und die Entstehung eines beatmungs-induzierten Lungenschadens zu vermindern.

Literatur

1. Papaiahgari S, Yerrapureddy A, Reddy SR, et al. Genetic and pharmacologic evidence links oxidative stress to ventilator-induced lung injury in mice. *Am J Respirat Crit Care Med* 2007;176:1222-1235.
2. Esechie A, Kiss L, Olah G, et al. Protective effect of hydrogen sulfide in a murine model of acute lung injury induced by combined burn and smoke inhalation. *Clin Sci (Lond)* 2008;115:91-97.
3. Cho HY, Reddy SP, Kleeberger SR. Nrf2 defends the lung from oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling* 2006;8:76-87.

Einfluss unterschiedlicher Anteile von Spontanatmung während Beatmung mit BIPAP auf Lungenfunktion und -schädigung im experimentellen Lungenversagen am Schwein

A. Güldner¹ · N. Carvalho¹ · A. Beda¹ · I. Rentzsch¹ · M. Deile¹ · C. Uhlig¹ · M. Kasper² · P. Pelosi³ · T. Koch¹ · M. Gama de Abreu¹

1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Dresden

2 Institut für Anatomie, Technische Universität Dresden

3 Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Diagnostiche, Università degli Studi di Genova, Genova, Italien

Korrespondenz:

andreas.gueldner@uniklinikum-dresden.de

Fragestellung

Die frühe Induktion der Spontanatmung während der Beatmung beim akuten Lungenversagen (ARDS) kann zu einer Verbesserung der Lungenfunktion [1] und des klinischen Verlaufs [2] führen, aber es ist nicht bekannt, welches Ausmaß von Spontanatmung diese positiven Effekte hervorrufen kann. Im Rahmen dieser Studie untersuchten wir die Auswirkungen unterschiedlicher Anteile von Spontanatmung auf die Lungenfunktion und -schädigung während Beatmung mit biphasic positive airway pressure ventilation/airway pressure release ventilation (BIPAP) in einem Modell des ARDS.

Methodik

48 Hausschweine (28,0–40,0 kg) wurden analgosedierte, intubiert und kontrolliert beatmet (volumenkontrollierter Modus, $\text{FIO}_2=1,0$, positiver end-expiratorischer Druck (PEEP)=5 cmH₂O, Tidalvolumen (V_t)=10 ml/kg). Die Induktion des ARDS erfolgte mittels repetitiver Lungenlavagen mit isotonischer Kochsalzlösung bis zum Erreichen eines $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 200$ mmHg für >30 min. Nach Schädigung wurde eine protektive Beatmung unter BIPAP begonnen ($\text{FIO}_2=0,5$, P_{high} adjustiert für ein $V_t=6$ ml/kg, PEEP=10 cmH₂O, Inspiration zu Expiration 1:1) und die Tiere einer der folgenden Gruppen randomisiert zugeordnet: kontrollierte Beatmung (BIPAP_{0%}) bzw. BIPAP kombiniert mit Spontanatmung mit einem niedrigen (0–30%, BIPAP_{0-30%}), mittleren (30–60%, BIPAP_{30-60%}) oder hohen (>60%, BIPAP_{>60%}) Anteil der Spontanatmung an der Gesamtminutenventilation. In den Gruppen

BIPAP_{0-30%}, BIPAP_{30-60%} und BIPAP_{>60%} wurde die Analgosedierung reduziert. Bei BIPAP_{0%} wurde bei unverändertem Sedierungs niveau die kontrollierte Beatmung unter Muskelrelaxierung aufrechterhalten, während die mando ratische Atemfrequenz (AF) auf den arteriellen pH-Wert von >7,30 adjustiert wurde. In den anderen Gruppen wurde die AF nach dem angestrebten Prozentanteil von Spontanatmung adjustiert. Während der folgenden 6 Stunden erfolgten Messungen von Hämodynamik, Gasaustausch, Lungenmechanik und Verteilung der Ventilation mittels elektrischer Impedanztomographie sowie Blutentnahmen zur Bestimmung inflammatorischer Marker (IL-6, IL-8, TNF α). Postmortem wurden bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit (BAL) sowie Gewebe proben der Lunge zur Untersuchung der diffusen alveolären Schädigung (DAD-Score) und der inflammatorischen Antwort entnommen. Die statistische Analyse erfolgte durch ein allgemeines bzw. gemischt lineares Modell, Einweg ANOVA bzw. Test nach Kruskal Wallis.

Ergebnisse

Eine Erhöhung des Anteils der Spontanatmung führte zu einer Reduktion des mittleren V_t (BIPAP_{30-60%} und BIPAP_{>60%} < BIPAP_{0-30%}; BIPAP_{>60%} < BIPAP_{0%}, $p<0,05$). In den Gruppen BIPAP_{0-30%}, BIPAP_{30-60%} und BIPAP_{>60%} zeigte sich gegenüber BIPAP_{0%} eine Erhöhung des PaO_2 (BIPAP_{0-30%}, BIPAP_{30-60%} und BIPAP_{>60%} > BIPAP_{0%}, $p<0,05$). Das Druck-Zeit-Produkt des Ösophagusdruckes stieg proportional zum Spontanatmungsanteil an ($p<0,05$), wobei BIPAP_{>60%} mit einer Umverteilung der Ventilation auf dorsale Lungenareale gegenüber BIPAP_{0%} verbunden war ($p<0,05$). Außerdem zeigte BIPAP_{>60%} einen geringeren DAD-Score in der gesamten Lunge gegenüber den anderen Gruppen (Abb.1) und war mit einer reduzierten Genexpression von IL-6 gegenüber BIPAP_{0%} verbunden (0,01; 0,00–0,02 vs 0,02; 0,01–0,08; x-fache Genexpression; Median und 25% und 75% Perzentile, $p<0,05$). Für BIPAP_{30-60%} und BIPAP_{>60%} ließ sich gegenüber BIPAP_{0%} im Lungengewebe eine Reduktion von TNF α (19,7; 9,8–30,6 und 15,1; 10,3–19,6 vs. 36,0; 29,9–44,3; pg/mg Gesamtprotein; Median und 25% und 75% Perzentile, $p<0,05$) sowie für BIPAP_{30-60%} auch von IL-6 (212,1; 137,2–402,7 vs. 1172,0; 662,8–1510,0; pg/mg Gesamtprotein; Median und 25% und 75% Perzentile, $p<0,05$) nachweisen.

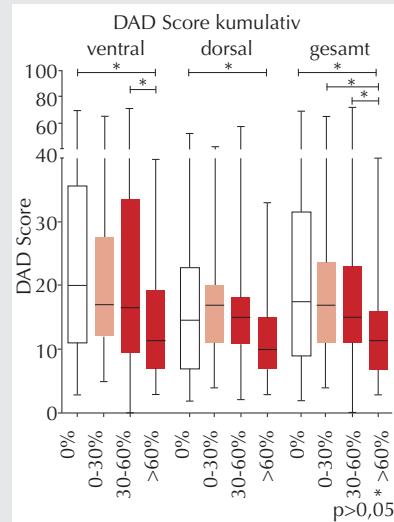
Interpretation

In diesem Modell des ARDS führte BIPAP mit einem hohen Anteil von Spontanatmung (>60% der Gesamtminutenventilation) zu einer Verbesserung der Oxygenierung und einer Reduktion der Lungenschädigung, sowie der pro-inflammatorischen Lungenantwort gegenüber protektiver kontrollierter Beatmung. Diese Effekte sind am ehesten durch eine Umverteilung der Ventilation auf dorsale Lungenareale sowie die Reduktion des mittleren VT zu erklären.

Literatur

- Putensen C, Mutz NJ, Putensen-Himmer G, Zinserling J. Spontaneous breathing during ventilatory support improves ventilation-perfusion distributions in patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1241–1248.
- Putensen C, Zech S, Wrigge H, Zinserling J, Stuber F, von Spiegel T, Mutz N. Long-term effects of spontaneous breathing during ventilatory support in patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:43–49.

Abbildung 1



Diffuse alveolare Schädigung (DAD-Score) in Abhängigkeit der Lungenregion (ventral, dorsal oder gesamte Lunge), Median und Interquartile bzw. Minimum und Maximum.

Tight Junction-Proteine in der Regulation der Permeabilität des Perineuriums – neue Therapieansätze für eine nozizeptionsspezifische Blockade bei Regionalanästhesieverfahren

D. Hackel¹ · S. Krug² · E. J. Wrede¹ · S. Amasheh² · M. Fromm² · A. Brack¹ · H. L. Rittner¹

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

2 Institut für Klinische Physiologie, Charité-Campus Benjamin Franklin, Berlin

Korrespondenz: hackel_d@klinik.uni-wuerzburg.de

Fragestellung

In der postoperativen Schmerztherapie durch Regionalanästhesieverfahren soll die Weiterleitung nozizeptiver Signale verhindert und Schmerz möglichst selektiv ausgeschaltet werden. Die benutzen Lokalanästhetika blockieren hingegen alle spannungsgesteuerten Natriumkanäle und wirken daher auf sensorische und motorische Fasern. Aktuell werden verschiedene Strategien verfolgt, eine nozizeptionsspezifische Blockade zu erzielen [1]. Eine selektivere Wirkung könnte durch spezifische Natriumkanalblocker (z.B. Nav1.7-1.9) [2] oder durch Opioide erreicht werden, deren Rezeptoren selektiv auf Nozizeptoren exprimiert werden. Bei perineuraler Injektion sind diese Pharmaka jedoch meist nicht analgetisch wirksam, weil sie vermutlich nicht effizient die den Nerven umgebene perineurale Barriere, das Perineurium, penetrieren. Das Perineurium besteht aus einer mehrlagigen Zellschicht mit Tight Junction Proteinen als Barrierefürbinder. In den Tight Junction ist u.a. das abdichtende Claudin-1 sowie Claudin-5 und Occludin exprimiert. Studien an der Blut-hirnschranke bzw. im peripheren Gewebe [3] zeigten bisher, dass hypertone Lösungen die Permeabilität von Barrieren verstärken können und dass hierbei Metalloproteininasen eine wesentliche Rolle spielen.

In der vorliegenden Studie untersuchten wir: i) die Wirksamkeit von perineural injizierten Blockern spannungsgesteuerter Natriumkanäle bzw. von hydrophilen Opioiden in Verhaltensexperimenten, ii) das Expressionsmuster von Tight Junction-Proteinen (Claudin-1) im Perineurium des N. ischiadicus sowie iii) den Einfluss und Wirkmechanismus von Metalloproteinase-9 (MMP9) und ihres Inhibitors auf die Permeabilität des Perineuriums sowie auf die Expression von Claudin-1.

Methodik

Wistar-Ratten wurden perineural (am N. ischiadicus) mit zwei Natriumkanalblockern (Tetrodotoxin (TTX); Nav 1.7-Blocker Pro-Toxin-II (ProTx-II)) (2), den zwei Opioiden DAMGO (MOR-Agonist; ± Antagonist Naloxone bzw. CTOP) und DPDPE (DOP-Agonist; ± Antagonist Naloxone bzw. NTI) zusammen mit 10% NaCl bzw. 0,9% NaCl als Kontrolle behandelt [3]. Anschließend wurden mit dem Pfotendrucktest (PPT) mechanische nozizeptive Schwellen gemessen. Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Messungen 10 min nach Injektion durchgeführt. Die Wirkung von MMP9 auf die nozizeptiven Schwellen wurde perineural die Koinjektion mit MMP9 bzw. von 10% NaCl mit einem MMP9-Inhibitor getestet. Claudin-1-Expression im Nervengewebe wurde mittels konfokaler Lasermikroskopie, semiquantitativer PCR und Western Blot 30-240 min nach Injektion analysiert.

Ergebnisse

Die perineurale Injektion von hypertoner, nicht aber isotoner NaCl-Lösung am N. ischiadicus bei Wistar-Ratten ermöglicht einen Anstieg der mechanischen nozizeptiven Schwellen durch TTX und ProTx-II bzw. durch DAMGO und DPDPE. Die antinozizeptionsfördernde Wirkung von 10% NaCl hält bis zu 4 h an (Abbildung A; Mittelwerte ± SEM, * p < 0,05, ANOVA, Student Newman Keuls, n=6 Ratten/Gruppe). Der Opioid-vermittelte Effekt ist mit den entsprechenden Antagonisten blockierbar.

Parallel hierzu kommt es zu einer reduzierten Expression des Tight-Junction-Proteins Claudin-1 im Perineurium des N. ischiadicus nach Behandlung mit 10% NaCl (B, Claudin-1 in grün und Zellkern in blau. Obere Reihe: 40x, untere Reihe: Ausschnitt 100x).

Die reduzierte Claudin-1-Expression konnte

im Western Blot sowie durch eine kompensatorisch gesteigerte Expression von Claudin-1-mRNA bestätigt werden. Die perineurale Injektion der Metalloproteinase MMP-9 ermöglicht ebenfalls einen Anstieg der mechanischen nozizeptiven Schwellen nach DAMGO-Applikation und reduziert die Expression von Claudin-1. Sowohl die Wirkung von MMP-9 als auch von 10% NaCl ist mit einem MMP-9-Inhibitor blockierbar.

Interpretation

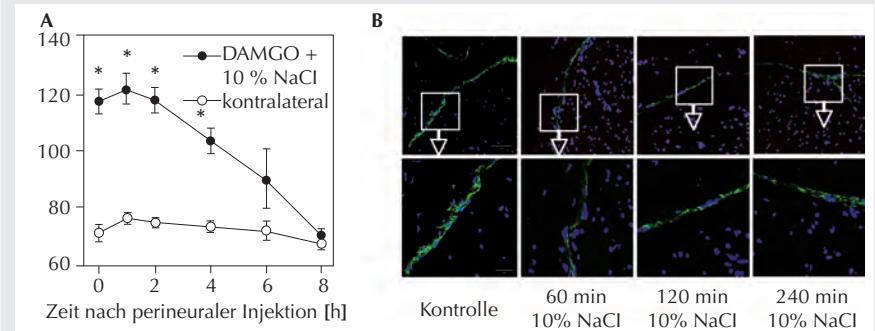
Eine reversible und gesteuerte Öffnung des Perineuriums stellt einen Ansatzpunkt für die Entwicklung einer nozizeptionsspezifischen Blockade in der Regionalanästhesie dar. Darauf hinaus könnten Substanzen mit einem günstigen Risikoprofil (z.B. Opioide) eingesetzt werden. Der zugrundeliegende Mechanismus und alternative Wirkstoffe sollen in weiteren Studien untersucht werden.

Gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG Ri-817/5-1/FOR 721/2 TP8).

Literatur

1. Binshtok AM, Bean BP, Woolf CJ. Inhibition of nociceptors by TRPV1-mediated entry of impermeant sodium channel blockers. *Nature* 2007;449(7162):607-610.
2. Schmalhofer WA, Calhoun J, Burrows R, Bailey T, Kohler MG, Weinglass AB, Kaczorowski GJ, Garcia ML, Koltzenburg M, Priest BT. ProTx-II, a selective inhibitor of NaV1.7 sodium channels, blocks action potential propagation in nociceptors. *Mol Pharmacol* 2008;74(5):1476-1484.
3. Rittner H, Hackel D, Yamdeu RS, Mousa SA, Schaefer M, Stein C, Brack A. Antinociception by neutrophil-derived opioid peptides in noninflamed tissue - role of hypertonicity and the perineurium. *Brain Behav Immun* 2009;23(4):548-557.

Abbildung 1



Xenon blockiert die synaptische Langzeitpotenzierung im Hippocampus: Hinweise auf eine Reduktion des Kalziumeinstroms durch Blockade von NMDA-Rezeptoren

R. Haseneder¹ · C. Mattusch¹ · S. Kratzer¹ · E. Kochs¹ · M. Eder² · G. Rammes¹

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

2 Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München

Korrespondenz: R.Haseneder@lrz.tu-muenchen.de

Fragestellung

Langzeitpotenzierung (LTP) ist eine länger dauernde Steigerung der synaptischen Übertragung ausgelöst durch einen tetanischen Reiz. Sie wird als neuronale Grundlage für Lern- und Gedächtnisvorgänge angesehen. Eine Blockade der LTP wurde unter verschiedenen Anästhetika beschrieben und ist möglicherweise an der Vermittlung der amnestischen Eigenschaften dieser Substanzen beteiligt [1]. In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung des Inhalationsanästhetikums Xenon auf LTP und die ursächlichen Mechanismen in vitalen Mäuse-Hirnschnittpräparaten untersucht.

Methodik

Mit Genehmigung der Tierschutzbehörde wurden in sagittalen Mäuse-Hirnschnittpräparaten in der CA1-Region des Hippocampus Feldpotentiale abgeleitet. Zur Auslösung einer LTP wurde ein tetanischer Reiz (100 Hz, 1 s) unter Kontrollbedingungen sowie unter Xenon appliziert. Darüber hinaus wurden mit Kalziumimaging Änderungen der intrazellulären Kalziumkonzentration während des Tetanus gemessen. In einer dritten Experimentserie wurde mit Patch-Clamp-Technik die Xenonwirkung auf N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptor-vermittelte Stromantworten untersucht. Extrasynaptische NMDA-Rezeptoren wurden durch Inkubation der Schnitte mit dem Glutamattransport-Inhibitor threo- β -Benzylxyloxyaspartat (DL-TBOA) aktiviert. Zur Xenonapplikation wurden die Hirnschnitte mit einem Medium perfundiert, welches mit 65 Vol.-% Xenon gesättigt war. Dies führte zu einer gelösten Xenonkonzentration von 1,9 mM (gaschromatographische Bestimmung). Die statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test, angegeben sind jeweils Mittelwert \pm Standardfehler.

Ergebnisse

Unter Kontrollbedingungen bewirkte ein tetanischer Reiz eine LTP der Feldpotentiale (relative Steigung $122,2 \pm 2,6\%$, $n=18$, $p<0,05$). In Gegenwart von Xenon wurden die Feldpotentiale um $29,6 \pm 3,5\%$ reduziert, und es konnte keine LTP ausgelöst werden ($105,1 \pm 5,5\%$). Während des tetanischen Reizes reduzierte Xenon den Kalziumeinstrom auf $30,2 \pm 6,9\%$ ($n=8$, $p<0,05$). NMDA-Rezeptor-vermittelte Stromantworten wurden durch Xenon auf $65,9 \pm 9,4\%$ reduziert ($n=7$, $p<0,05$ versus Kontrolle) (Abb. 1). Eine vergleichbare Reduktion der Antworten ($58,2 \pm 5,8\%$, $n=7$) unter Xenon fand sich, wenn extrasynaptische NMDA-Rezeptoren mitaktiviert wurden.

Interpretation

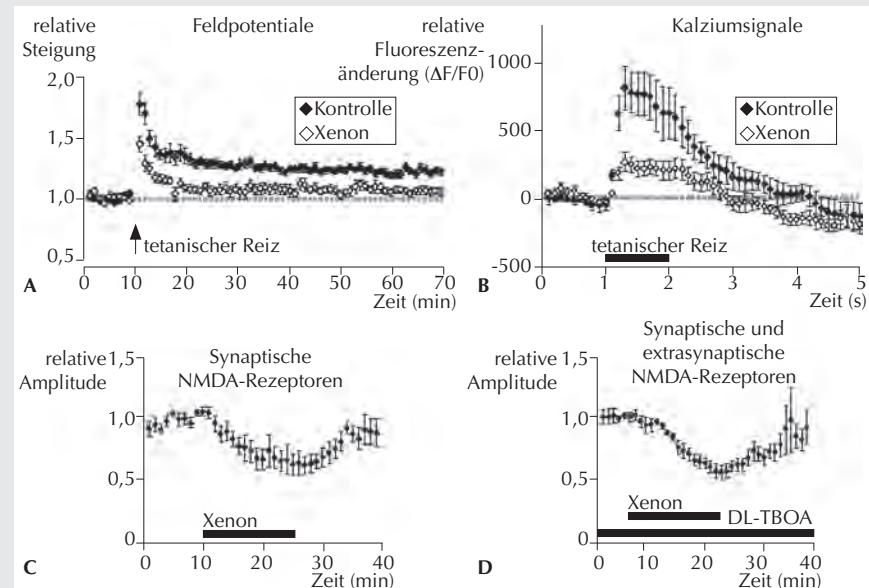
Bei der Bildung von LTP spielen neben Kalziumkanälen NMDA-Rezeptoren, und hierunter v.a. extrasynaptisch lokalisierte NMDA-Rezeptoren [2], eine wichtige Rolle. Während eine Wirkung von Xenon auf Kalziumkanäle unwahrscheinlich erscheint [3], konnten wir

zeigen, dass Xenon nicht nur synaptisch, sondern auch extrasynaptisch lokalisierte NMDA-Rezeptoren blockiert. Diese Wirkung könnte der Xenon-bedingten Hemmung der LTP ursächlich zugrunde liegen, und damit zur amnestischen Wirkung Xenons beitragen.

Literatur

- Ishizeki J, Nishikawa K, Kubo K, Saito S, Goto F. Amnestic concentrations of sevoflurane inhibit synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons through gamma-aminobutyric acid-mediated mechanisms. *Anesthesiology* 2008;108:447–456.
- Lozovaya NA, Grebenyuk SE, Tsintsadze TS, Feng B, Monaghan DT, Krishnal OA. Extrasynaptic NR2B and NR2D subunits of NMDA receptors shape 'superslow' afterburst EPSC in rat hippocampus. *J Physiology* 2004;558:451–463.
- Huneke R, Jüngling E, Skasa M, Rossaint R, Luckhoff A. Effects of the anesthetic gases xenon, halothane, and isoflurane on calcium and potassium currents in human atrial cardiomyocytes. *Anesthesiology* 2001;95:999–1006.

Abbildung 1



Xenon blockierte die LTP hippocampaler Feldpotentiale (A) und verringerte Kalziumsignale während des tetanischen Reizes (B). Xenon reduzierte Stromantworten von synaptischen NMDA-Rezeptoren (C). Wurden extrasynaptische NMDA-Rezeptoren durch Inkubation mit DL-TBOA mitaktiviert, stellte sich unter Xenon eine vergleichbare Wirkung ein (D).

Passion & Precision

For Medicines – since 1899



Daiichi Sankyo

Passion & Precision
For Medicines – since 1899

Verantwortung, Integrität und Innovation sind für uns moderne Unternehmenswerte – und tief verankerte Tradition! Denn seit mehr als 100 Jahren widmen wir uns erfolgreich der Erforschung und Entwicklung innovativer Arzneimittel und erstklassiger produktbegleitender Services von allerhöchster Qualität. Als eines der weltweit größten forschenden Pharmaunternehmen konzentrieren wir uns dabei auf die Bereiche Herz/Kreislauf, Metabolismus, Hämatologie und Onkologie.

Das Leben von Patienten und deren Angehörigen verbessern: Danach streben wir Tag für Tag, mit Leidenschaft und Präzision!

Entdecken auch Sie, wie viel Leidenschaft und Präzision in uns stecken: www.daiichi-sankyo.eu



Der BclI-Polymorphismus des Glukokortikoid-Rezeptor-Genes beeinflusst das neuroemotionale Outcome nach herzchirurgischen Eingriffen

D. Hauer¹ · F. Weis¹ · A. Papassotiropoulos^{3,4} · M. Vogeser² · B. Rozendaal⁵ · D. de Quervain⁶ · G. Schelling¹

- 1 Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München, München
- 2 Institut für Klinische Chemie, Ludwig-Maximilians Universität, München
- 3 Abteilung für Molekulare Psychologie,
- 4 Life Sciences Training Facility Biozentrum, Universität Basel, Schweiz
- 5 Abteilung für Anatomie, Institut für Neurowissenschaften, Medizinische Universität Groningen, Niederlande
- 6 Abteilung für kognitive Neurowissenschaften, Universität Basel, Schweiz

Korrespondenz:

Daniela.Hauer@med.uni-muenchen.de

Fragestellung

Bis zu 20 % aller Patienten entwickeln nach einem herzchirurgischen Eingriff die Symptomatik einer posttraumatischen Belastungsstörung (PTSD), die nicht nur die gesundheitsbezogene Lebensqualität dieser Patienten erheblich beeinträchtigt, sondern auch die langfristige Prognose von Patienten mit koronarer Herz-erkrankung signifikant verschlechtert [1]. Die Entstehung chronischer Stressreaktionen nach Herzchirurgie wird wesentlich durch traumatische Erfahrungen und Erlebnisse während der postoperativen Intensivbehandlung (z.B. Panikreaktionen, akute Atemnot, bedrohliche Alpträume und Halluzinationen, schwere Schmerzen) bestimmt, die durch Analgesie und Sedierung nur unvollständig zu verhindern sind. Traumatische Erinnerungen an solche Ereignisse werden unter dem Einfluss von Stresshormonen im emotionalen Gedächtnis konsolidiert, d.h. vermehrt gespeichert. Dabei führt insbesondere die stressinduzierte Steigerung der Glukokortikoid-Signalwirkung im ZNS zu einer verstärkten Gedächtniskonsolidierung. Die Glukokortikoidwirkung wird über Glukokortikoidrezeptoren (GR) vermittelt, für die eine Reihe von Single-Nucleotid-Polymorphismen (SNPs) bekannt sind. Der BclI *G SNP des GR-Genes ist mit einer Hypersensitivität des GR für Glukokortikide assoziiert, findet sich gehäuft bei Patienten mit Depression [2] und erhöht das kardiovaskuläre Risiko bei Männern. Wir untersuchten im Rahmen einer hypothesengesteuerten

Gen-Assoziationsstudie die Frage, ob dieser SNP mit einem negativen neuroemotionalen Outcome i.S. traumatischer Erinnerungen und einer PTSD-Symptomatik bei Patienten nach Herzchirurgie assoziiert ist.

Methodik

126 konsekutiv behandelte Patienten (Alter: $66,2 \pm 11,1$ Jahre, Mittelwert \pm SD; 30 Frauen) nach kardialer Bypasschirurgie (Bypasszeit: $123 \pm 48,3$ min) und anschließender Intensivbehandlung (Dauer: $3,1 \pm 8,7$ Tage) wurden nach Zustimmung der örtlichen Ethikkommission in diese prospektive Kohortenstudie eingeschlossen. Die Erfassung der neuroemotionalen Endpunkte (standardisierte traumatische Erinnerungen, PTSD-Stress-Symptom-Scores) erfolgte mittels eines bei Intensivpatienten validierten Fragebogens zu definierten Messzeitpunkten (1 Tag präoperativ, 1 Woche und 6 Monate nach dem Eingriff). Die Bestimmung von Plasma-Cortisolkonzentrationen und die Genotypisierung erfolgten mittels standardisierter Methoden.

Ergebnisse

Die Verteilung der Allele befand sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Verglichen mit heterozygoten oder nicht-Trägern des BclI G-Allels (n=105) fanden sich bei homozygoten Individuen (BclI GG, n=21) präoperativ signifikant niedrigere Plasma-Cortisolkonzentrationen (Abb. 1A, $*p=0,04$). Zum Zeitpunkt 6 Monate nach dem Eingriff beschrieben homozygote BclI GG Träger eine signifikant erhöhte Zahl durchschnittlicher traumatischer Erinnerungen an die p.o. Intensivtherapie (Abb. 1B, $#p=0,01$) sowie signifikant höhere PTSD-Stress-Symptom-Scores (Abb. 1C, $^{*}p=0,02$). Zwischen wichtigen demographischen und Behandlungsvariablen (z.B. Alter, Geschlecht, Schweregrad der Grunderkrankung, Bypassdauer, Katecholaminbedarf, p.o. Intensivbehandlungsdauer) fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Trägern der einzelnen BclI-Allele.

Interpretation

Homozygote Träger des BclI* G-Allels zeigen ein schlechteres neuroemotionales Outcome in Verbindung mit einer signifikant erniedrigten Plasma-Cortisolkonzentration, wie sie auch bei Patienten nach Intensivtherapie des ARDS von unserer Arbeitsgruppe beschrieben wurde [3]. Der BclI SNP könnte ein sinnvoller Biomarker zur Identifikation von Patienten sein, für die eine zielgerichtete Modifikation standardisierter Behandlungsalgorithmen i.S.

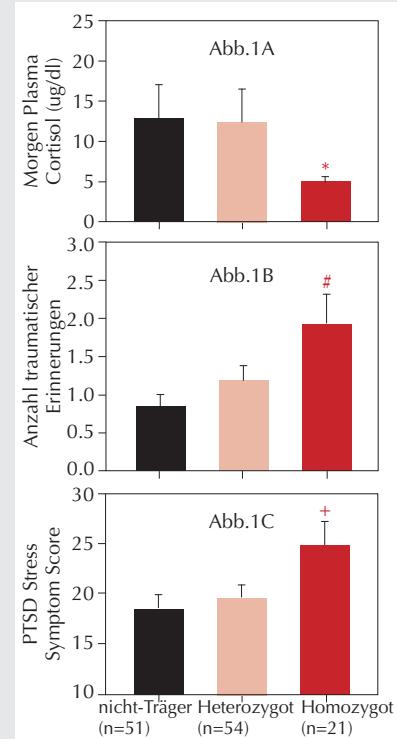
einer personalisierten Therapie von Nutzen sein könnte.

Literatur

1. Kubzansky LD, Koenen KC, Spiro A, 3rd, Vokonas PS, Sparrow D. Prospective study of posttraumatic stress disorder symptoms and coronary heart disease in the Normative Aging Study. *Arch Gen Psychiatry* 2007;64:109-116.
2. van Rossum EF, Binder EB, Majer M, Koper JW, Ising M, Model S, et al. Polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene and major depression. *Biol Psychiatry* 2006;59:681-688.
3. Hauer D, Weis F, Krauseneck T, Vogeser M, Schelling G, Rozendaal B. Traumatic memories, post-traumatic stress disorder and serum cortisol levels in long-term survivors of the Acute Respiratory Distress Syndrome. *Brain Research* 2009;1293:114-120.

Finanzierung: Else-Kröner-Fresenius Stiftung (G. S.), European Science Foundation (BALANCE) und teilweise durch den Schweizer Nationalfond (D. Q.).

Abbildung 1



Daten sind Mittelwert \pm Standardfehler
ANOVA mit Fisher's LSD Post-hoc-Test.

Die systemische Hemmung von Glycintransportern wirkt antinoizeptiv im Chronic Constriction Injury-Modell neuropathischer Schmerzen der Ratte

H. Hermanns · L. Schlösser · F. Barthel · A. Urban · R. Werdehausen · T. Brandenburger · I. Bauer

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

Korrespondenz:
Henning.Hermanns@uni-duesseldorf.de

Fragestellung

Die Dysfunktion der inhibitorischen Neurotransmission im Rückenmark ist ein wichtiger pathogenetischer Faktor bei der Entstehung neuropathischer Schmerzen [1]. Die Wiederherstellung der physiologischen Inhibition ist demnach eine denkbare therapeutische Strategie. Glycin ist neben GABA der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter. Die Glycinkonzentration im synaptischen Spalt wird durch die Glycintransporter GLYT1 und GLYT2 reguliert. Inhibitoren beider Transporter können nozizeptives Verhalten beeinflussen, wenn sie als Bolus appliziert werden [2]. Insbesondere die intrathekale Gabe führt jedoch zu erheblichen unerwünschten neuromotorischen Wirkungen, wie Paresen oder Atemdepression [3]. Wir überprüften daher die Hypothese, dass eine kontinuierliche systemische Applikation spezifischer GLYT-Inhibitoren nozizeptives Verhalten im Tiermodell für neuropathische Schmerz ohne diese Nebenwirkungen beeinflussen kann.

Methodik

Nach Genehmigung der zuständigen Behörde wurden männliche Wistar-Ratten randomisiert 9 Behandlungsgruppen zugeordnet (je n=6). Bei allen Tieren wurde ein Chronic Constriction Injury (CCI) des linken N. ischiadicus durchgeführt. Am Tag 10 nach CCI wurden subkutan osmotische Mini-Infusionspumpen implantiert, über die 14 Tage kontinuierlich die Testsubstanzen appliziert wurden. Je 4 Gruppen erhielten aufsteigende Dosierungen (0,2; 2; 20; 200 µg/kg/d) der spezifischen GLYT1- und GLYT2-Inhibitoren ALX-5407 und ALX-1393. Eine Kontrollgruppe erhielt Kochsalz. Die Entwicklung von mechanischer Allodynie und thermaler Hyperalgesie wurde mittels von Frey Filamenten und modifizierter Hargreaves-Methode vor und 10 Tage nach

CCI, sowie alle 2 Tage während der Substanzapplikation überprüft. Statistik: Einfaktorielle ANOVA und post-Hoc-LSD-Test, sowie Bonferroni-Korrektur für multiples Testen, $P<0,05$.

Ergebnisse

Alle Tiere entwickelten innerhalb von 10 Tagen eine Hyperalgesie und Allodynie der linken Pfote. Erste signifikante Effekte der kontinuierlichen systemischen Applikation der GLYT-Inhibitoren auf das nozizeptive Verhalten wurden ab dem 8. Tag der Zufuhr beobachtet (Abb. 1). Die Ausprägung der mechanischen Allodynie wurde ab dem 10. Tag durch Applikation beider GLYT-Inhibitoren in allen Dosierungen vergleichbar vermindert. Die thermale Hyperalgesie wurde jedoch nur in den höchsten Dosierungen der Inhibitoren vermindert. Hierbei wurden keine neuromotorischen Nebenwirkungen beobachtet. Effekte auf die rechte, nicht-neuropathische Pfote konnten nicht nachgewiesen werden.

Interpretation

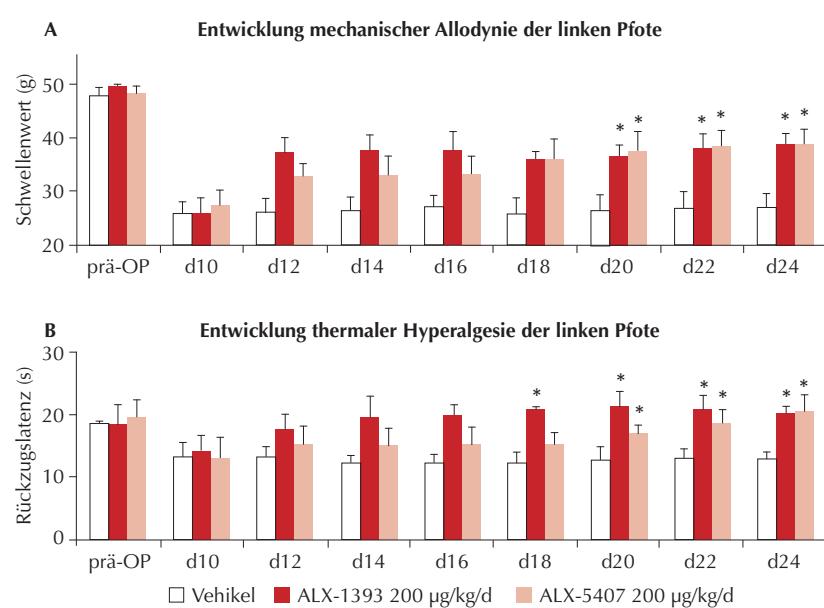
Die systemische Hemmung von GLYT1 und GLYT2 führt im Tiermodell für neuropathi-

schen Schmerz ohne neuromotorische Nebenwirkungen zu einer signifikanten Verminderung der thermalen Hyperalgesie und mechanischen Allodynie. Somit stellen Glycintransporter interessante Zielstrukturen für die experimentelle Schmerzforschung dar. Die genauen molekularen Mechanismen, über die GLYT-Inhibitoren ihre anti-neuropathische Wirkung entfalten, sowie die potentielle Eignung von GLYT als therapeutisch nutzbares Ziel im Rahmen der Therapie neuropathischer Schmerzen, bedürfen weitergehender Untersuchungen.

Literatur

1. Costigan M, Scholz J, Woolf CJ. Neuropathic Pain: A maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu Rev Neurosci* 2009;32(1):1-32.
2. Dohi T, et al. Glycine transporter inhibitors as a novel drug discovery strategy for neuropathic pain. *Pharmacol Ther* 2009;123(1):54-79.
3. Hermanns H, et al. Differential effects of spinally applied glycine transporter inhibitors on nociception in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 2008;445(3):214-219.

Abbildung 1



Effekte der jeweils höchsten Dosierung der GLYT-Inhibitoren auf die Entwicklung mechanischer Allodynie (A) und thermaler Hyperalgesie (B) der neuropathischen Extremität; MW +SF, *P<0,05 vs. Vehikel.

Expression und Regulation der myokardialen Adiponectin-Rezeptoren bei chronischer Herzinsuffizienz

J. Heyn¹ · C. Ledderose¹ · A. Beiras-Fernandez²
F. Weis¹ · S. Kreth¹

1 Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München (LMU)

2 Klinik für Herzchirurgie, Klinikum der Universität München (LMU)

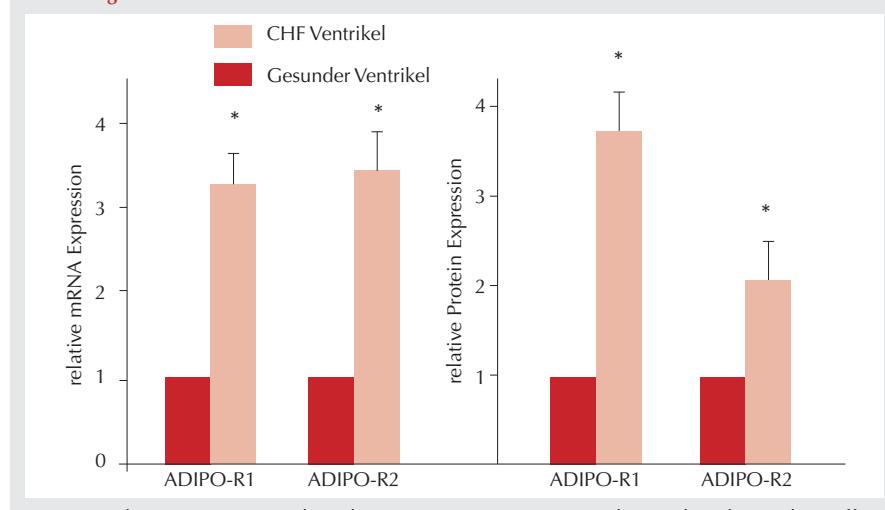
Korrespondenz:

Jens.Heyn@med.uni-muenchen.de

Fragestellung

Adiponectin ist ein im Plasma nachweisbares Zytokin, das hauptsächlich von Adipozyten synthetisiert wird. Es erfüllt eine wichtige Funktion im Energiestoffwechsel und weist starke anti-inflammatorische Eigenschaften auf. Für das kardiovaskuläre System konnten protektive Wirkungen von Adiponectin bei inflammationsbedingten Schädigungen gezeigt werden [1]. Adiponectin entfaltet seine biologische Wirkung durch Bindung an die Adiponectin-Rezeptoren 1 und 2 (ADIPO-R1 und ADIPO-R2), deren Expression im humanen Myokard bereits nachgewiesen werden konnte. Zwar ist bekannt, dass Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHF) erhöhte Plasma-Adiponectinspiegel aufweisen [2], die pathophysiologische Relevanz dieses Befundes ist jedoch bislang nicht bekannt. Insbesondere ist unklar, ob die myokardialen Adiponectin-Rezeptoren bei Patienten mit CHF einer veränderten Expression unterliegen und welche Regulationswege hierfür in Betracht kommen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die Rolle des Adiponectin-Systems in der Pathogenese der CHF zu charakterisieren.

Abbildung 1



mRNA- und Proteinexpression der Adiponectinrezeptoren in gesundem und in chronisch insuffizientem humanen Myokard (Mittelwerte \pm SD, *p<0,01).

Methodik

Die Zustimmung der Ethikkommission lag vor. Die myokardiale mRNA- und Protein-Expression der Adiponectin-Rezeptoren wurde mittels real-time-PCR und mittels Immunhistochemie aus Explantatgewebe von Transplantations-Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz bestimmt (n=10, jeweils linker Vorhof und Ventrikel, semi-quantitative Auswertung durch zwei unabhängige Untersucher). Als Kontrollen dienten Biopsate aus Autopsien Herzgesunder (n=8, für Immunhistochemie) bzw. kommerziell erhältliche mRNA aus gesundem Myokard (n=3, ethische Unbedenklichkeit bescheinigt). Eine Sequenzanalyse mittels BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) und TargetScan ergab, dass die ADIPO-R2-Expression miRNA-reguliert sein könnte. Zur weiteren Untersuchung wurde daher der 3'-untranslatierte Bereich (3'-UTR) des ADIPO-R2-Gens mittels PCR amplifiziert und in einen Luciferase-Reporter-Vektor kloniert. Zusätzlich wurde ein Vektor durch PCR und Klonierung erstellt, der die entsprechende Vorläufer-miRNA-150 exprimiert (pmR-miR-150). Beide Vektorkonstrukte wurden in HEK293-Zellen co-transfiziert (Elektroporation). Die Luciferase-Aktivität der verschiedenen Transfektionsansätze wurde mittels Luminometrie quantifiziert. Die Expression der miRNA wurde mittels eines spezifischen TaqMan Assays bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test.

Ergebnisse

Bei CHF konnte eine signifikant gesteigerte mRNA-Expression beider Adiponectin-Rezeptoren (etwa 3,5-fach) im Vergleich zu gesundem Myokard nachgewiesen werden (Abb.

1). Immunhistochemisch zeigte sich eine 3,8-fach höhere ADIPO-R1-Expression. Die ADIPO-R2-Expression hingegen war lediglich 2-fach erhöht (Abb.1). Als mögliche Ursache hierfür ergaben bioinformatische Untersuchungen eine hochwahrscheinliche Regulation des ADIPO-R2-Gens durch die miR-150. In Zellkultur-Transfektionsexperimenten konnte nachgewiesen werden, dass die ADIPO-R2-Expression tatsächlich maßgeblich durch miR-150 reguliert ist: Im Vergleich zum Leervektor konnte der pmR-miR-150-Vektor die Luciferase-Aktivität des Vektorkonstrukts, welches den ADIPO-R2-3'UTR enthielt, um 40 % reduzieren (n=10, Abb.2). Sowohl in gesundem als auch in CHF-Myokard konnte die Expression der miR-150 detektiert werden.

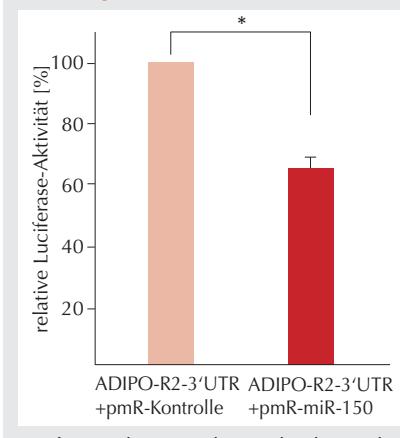
Interpretation

Unsere Experimente zeigen eine erhöhte Expression von Adiponectin-Rezeptoren bei terminal insuffizienten Herzen. Dies weist auf die Existenz eines funktional relevanten, lokalen kardialen Adiponectinsystems hin. Der erstmalige Nachweis der Regulation der Rezeptorexpression durch die myokardial exprimierte miR-150 zeigt eine potentielle therapeutische Zugänglichkeit des kardialen Adiponectinsystems auf.

Literatur

- Wang Y, et al. Cardiomyocyte-derived adiponectin is biologically active in protecting against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010;298:E663-70.
- Skurk C, et al. Description of a local cardiac adiponectin system and its deregulation in dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2008;29:1168-80.

Abbildung 2



Luciferase-Aktivität der Vektorkonstrukte (Mittelwert \pm SD, *p<0,01).

Identifikation funktionell relevanter miRNAs durch Kombination bioinformatischer und experimenteller Strategien am Beispiel des Adenosin- A_{2A} -Rezeptors

L. Hinske · C. Ledderose · E. Limbeck · S. Kreth
Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München, Ludwig-Maximilians-Universität München

Korrespondenz:
ludwig.hinske@med.uni-muenchen.de

Fragestellung

Micro-RNAs (miRNAs) sind wichtige post-transkriptionelle regulatorische Elemente der Genexpression mit weitreichendem Einfluss in der Pathogenese vieler Erkrankungen. Für den Adenosin- A_{2A} -Rezeptor (A_{2A} R), der wichtige anti-inflammatorische Zellantworten bei überschießenden Immunreaktionen – wie z.B. der Sepsis – vermittelt, wird ein komplexes Netzwerk miRNA-vermittelter Regulationswege vermutet, deren Aufklärung mit konventionellen experimentellen Strategien nur unzureichend möglich ist: Zwar konnte die miR-214 als relevantes regulatorisches Element der A_{2A} R-Genexpression in humanen PMN identifiziert werden, jedoch zeigten weiterführende Experimente, dass noch zusätzliche, bislang nicht identifizierte miRNAs an der Regulation der A_{2A} R-Expression entscheidend beteiligt sein müssen. Da mehr als 80 miRNAs potentiell am 3'-UTR des A_{2A} R-Gen binden könnten, haben wir diese Problemstellung mit einer Kombination aus bioinformatischen und experimentellen Methoden bearbeitet.

Methodik

Wir haben aus sechs verschiedenen miRNA-Zielsequenz-Erkennungsprogrammen ein sogenanntes „Prediction Agreement“ erstellt [1]: Vorhersagen von PITA, TargetScan, RNA22, PicTar, MirTarget2, miRanda und TarBase wurden zu einer Matrix zusammengefasst; das Prediction-Agreement wurde als die Anzahl übereinstimmender Methoden für eine miRNA-mRNA-Interaktion definiert. Zusätzlich wurde ein Vorhersage-Verhältnis (VV) berechnet, das angibt, wie viele der mit dem A_{2A} R interagierenden Genprodukte ebenfalls potentielle Ziele einer spezifischen miRNA sind. Die Interaktionen der Genprodukte wurden der Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) entnommen. Die Be-

rechnung des VV erfolgte nach der von uns erstellten Formel:

$$I(p_{ij}, p') = \begin{cases} 1 & \text{if } p_{ij} \geq p' \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}, A(i, p') = \sum_{j=1}^{|G|} I(p_{ij}, p')$$

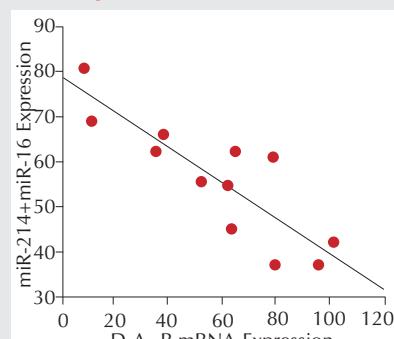
p=Prediction Agreement, i=miRNA-Index, j=mRNA-Index, G=Set interagierender mRNAs

Informationen über die Expression von miRNAs in Leukozyten wurde dem frei verfügbaren Datensatz von Vasilescu et al. entnommen [2]. Die vorhergesagten miRNAs wurden durch Luciferase-Assays in HEK293-Zellen (Co-Transfektion eines den 3'-UTR des A_{2A} R-Gens enthaltenden Luciferase-Reporter-Vektors und den entsprechenden Vorläufer-miRNAs) auf Funktionalität überprüft. Die statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test. Die physiologische Relevanz der so identifizierten miRNAs wurde in nativen und LPS-stimulierten PMN (5 µg/ml, 37 °C, 6 h) gesunder Probanden (Blutentnahme durch Ethikkommission genehmigt) nachgewiesen: mittels quantitativer RT-PCR wurden die Expressionsraten der miRNAs sowie die mRNA-Expression des A_{2A} R bestimmt und miteinander korreliert (Bestimmung r nach Spearman).

Ergebnisse

Es wurden eine Liste der miRNAs erstellt, die ein Prediction Agreement $\geq 1-3$ und ein VV oberhalb des Median aller berechneten VVs aufwiesen. Hierdurch wurde die Anzahl möglicher regulatorischer miRNAs auf 18 eingegrenzt. Nach Ausschluss nicht in Leukozyten nachweisbarer miRNAs verblieben außer der bereits voruntersuchten miR-214 die miRNAs miR-15, miR-16 und miR-342-3p. In Zellkultur-Transfektionsexperimenten konnten für miR-15 und miR-16, nicht jedoch für miR-342-3p, regulative Eigenschaften auf die A_{2A} R-Expression nachgewiesen werden: Co-Transfektion der beiden Vorläufer-miRNAs führte zu einer um 40 % reduzierten Luciferase-Aktivität des A_{2A} R-3'-UTR-Vektorkonstrukt (n=8, p<0,01). In nativen humanen PMN konnte eine interindividuell unterschiedliche Expression aller 3 relevanten miRNAs nachgewiesen werden, die sich nach LPS-Stimulation nicht signifikant änderte. Die Steigerung der mRNA-Expression des A_{2A} R nach LPS-Inkubation (Faktor 65±45, n=20, p<0,001) korrelierte signifikant invers mit der Summe aus den vorhandenen miR-214, miR-15 und miR-16 (r= -0,87, p<0,0001, Abb.1).

Abbildung 1



Korrelationsanalyse (n=12).

Interpretation

Wir haben eine neue, kombinierte bioinformatische/experimentelle Strategie entwickelt, mit der biologisch relevante miRNAs identifiziert und validiert werden können. Dieses Verfahren ermöglichte die weitere Aufklärung der komplexen miRNA-vermittelten Regulation der A_{2A} R-Genexpression in humanen PMN: Neben der bereits bekannten miR-214 konnten miR-15 und miR-16 als weitere relevante Regulatoren identifiziert werden.

Literatur

1. Hinske L, et al. A potential role for intragenic miRNAs on their hosts' interactome. *BMC Genomics* 2010;11:533.
2. Vasilescu C, et al. MicroRNA fingerprints identify miR-150 as a plasma prognostic marker in patients with sepsis. *PLoS One* 2009;4:e7405.

Die prophylaktische Inhalation von Iloprost verhindert pulmonale Schäden und die Zerstörung der Glykokalyx beim beatmungsinduzierten Lungenschaden der Ratte

S. Hoegl¹ · D. Chappell¹ · M. Flondor¹ · K. Boost¹ · C. Hofstetter² · B. Zwissler¹ · M. Rehm¹

1 Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München, Ludwig-Maximilians-Universität München

2 Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Mannheim gGmbH, Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg

Korrespondenz:

Sandra.Hoegl@med.uni-muenchen.de

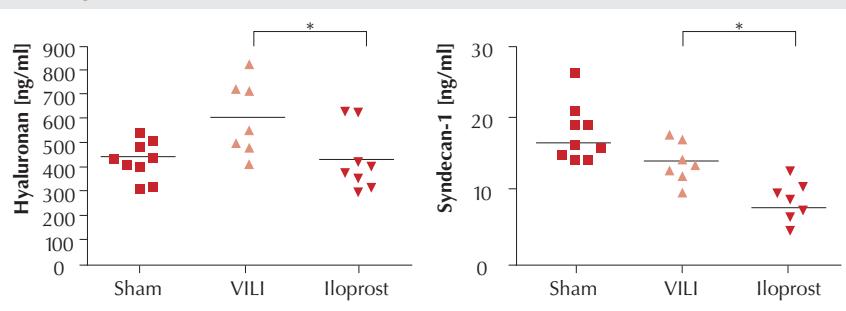
Fragestellung

Beim beatmungsinduzierten Lungenschaden (VILI) bewirkt ein mechanischer Reiz (Mechanotransduktion) die Aktivierung der Entzündungskaskade (Biotrauma) und die Freisetzung von Zytokinen. In der Folge kommt es zur Zerstörung der alveolokapillären Einheit. Auf vaskulärer Seite trägt die endotheliale Glykokalyx wesentlich zur Barrierefunktion bei, ihre Zerstörung führt zu Ödembildung und kapillärem Leck [1]. Das Prostazyklinanalogon Iloprost hat neben seiner vasodilatatorischen auch antiinflammatorischen und zellstabilisierenden Wirkungen und könnte sowohl auf pulmonal-epithelialer als auch vaskulär-endothelialer Seite protektiv wirken [2]. An einem VILI-Modell der Ratte sollte überprüft werden, ob die prophylaktische Inhalation von Iloprost Schäden an der alveolokapillären Membran und die Entstehung eines VILI verhindern kann.

Methodik

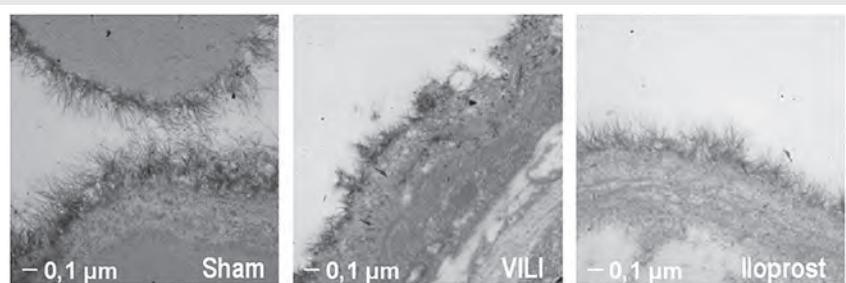
Nach Genehmigung durch die Tierversuchskommission erfolgte die Untersuchung an narkotisierten (Fentanyl/Pentobarbital, i.v.), kontrolliert beatmeten Sprague-Dawley-Ratten (σ , 614 ± 44 g). Nach Tracheotomie sowie Kanülierung der Leistengefäße wurden die Tiere zufällig folgenden Versuchsgruppen ($n=9$) zugeteilt: Sham: Beatmung der Tiere für 4 h (Stephanie®, p_{max} : 20 mbar, PEEP: 4 mbar, f: 30/min, FIO_2 : 0,21, I:E=1:2) ohne weitere Intervention; VILI: Induktion eines mechanischen Lungenschadens durch 20 min Beatmung mit p_{max} : 45 mbar, PEEP: 0, I:E=1:1; Iloprost (1 μ g/kgKG): vor VILI-Induktion 40 min Jet-Vernebelung von Iloprost. Nach einem maximalen Beobachtungszeitraum (unter kontinuierlichem Monitoring) 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 ausreichende und

Abbildung 1



Glykokalyxbestandteile im Serum, ELISA.

Abbildung 2



Elektronenmikroskopische Aufnahmen der endothelialen Glykokalyx. Ausschnitte aus pulmonalen Gefäßen nach Anfärbung auf Lanthanbasis. Bei den Sham-Tieren scheint die Glykokalyx intakt, während nach VILI die Glykokalyx weitgehend zerstört ist. Iloprost kann diese Zerstörung verhindern.

vergleichbare Entzündungsantwort und Lungenschädigung zu erreichen, wurden weiterführende Untersuchungen nur bei Tieren durchgeführt, die mindestens 2 h nach VILI-Induktion überlebten. Im Serum wurden die Konzentrationen der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β und MIP-2 (Macrophage Inflammatory Protein-2) und der Glykokalyxbestandteile Hyaluronan und Syndecan-1 bestimmt [3]. Zusätzliche Tiere wurden für die elektronenmikroskopische (EM) Darstellung der pulmonalen, endothelialen Glykokalyx präpariert (je $n=3$) und verblindet ausgewertet. Als Indikatoren der pulmonalen Stressantwort dienten Matrixmetalloproteininasen (MMP) und Hitzeschockprotein (HSP)-70. Als Hinweis auf eine pulmonale Schrankenstörung wurde der Proteingehalt der Bronchoalveolären Lavage (BAL) bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Rangsummentest mit post hoc Dunn's Test vs. VILI-Gruppe, * $p<0,05$. Angabe der Ergebnisse als Median [Semi-IQR].

Ergebnisse

Die Inhalation von Iloprost verhindert die makroskopisch sichtbare Lungenschädigung (Lungenscore: Sham: 0, VILI: 11,0[2,0], Ilo-

prost: 4,0[1,5]) und den Proteingehalt in der BAL signifikant (Sham ($n=9$): 245[15] μ g/ml, VILI ($n=7$): 1896[289] μ g/ml, Iloprost ($n=8$): 670[114] μ g/ml). Die Serumkonzentrationen von Hyaluronan und Syndecan-1 sind in der Iloprost- vs. VILI-Gruppe reduziert (Abb. 1). In den EM-Aufnahmen zeigt sich in der VILI-

Abbildung 3



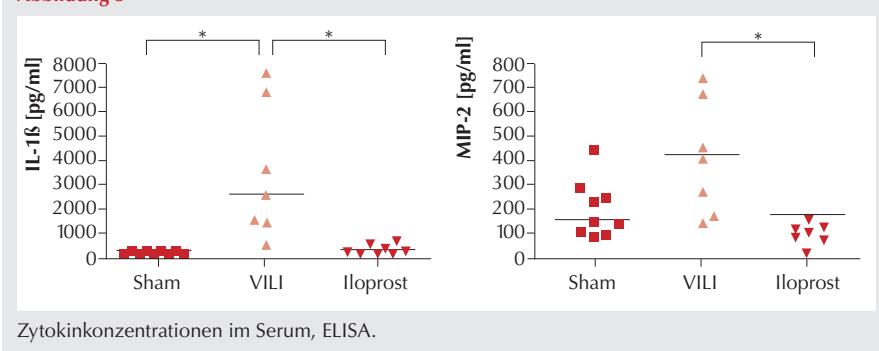
Zymographie, latente/aktive Formen von MMP, BAL (exemplarisch je 2 Tiere/Gruppe).

Abbildung 4



Western Blot gegen HSP-70, Lungenhomogenat, (exemplarisch je 2 Tiere/Gruppe).

Abbildung 5



Gruppe eine ausgeprägte Degradierung der Glykokalyx, in der Iloprost-Gruppe ist die Glykokalyx weitgehend intakt (Abb. 2). Die pulmonale Expression von MMP-9 und HSP-70 (Abb. 3+4), sowie die Serumkonzentration-

nen von IL-1 β und MIP-2 sind in der Iloprost- vs. VILI-Gruppe vermindert (Abb. 5). Bis auf einen Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks in der VILI-Gruppe, zeigten sich keine hämodynamischen Veränderungen.

Interpretation

Die prophylaktische Inhalation von Iloprost verhindert die Zerstörung der pulmonalen, endothelialen Glykokalyx durch Beatmung und vermindert die Ödembildung. Auch das pulmonale Biotrauma und die konsekutive systemische Zytokinfreisetzung werden verringert.

Literatur

1. Martins Mde F, Bairros VA. Glycocalyx of lung epithelial cells. *Int Rev Cytol* 2002;216:131-73.
2. Zhu Y, Liu Y, et al. A prostacyclin analogue, iloprost, protects from bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Respir Res* 2010; 11(1):34.
3. Becker BF, Chappell D, et al. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential. *Cardiovasc Res* 2010;87:300-310.

Die durch perioperativen Stress induzierte atherogene Last bei apoE-defizienten Mäusen ist Statin- und anti-Interleukin-6-Antikörper-sensibel

H. Janßen¹ · C. Wagner¹ · J. Larmann¹ ·
M. Müller¹ · U. Tietge² · G. Theilmeier¹

1 Experimentelle Anästhesiologie, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

2 Klinik für Pädiatrie, Universität Groningen, Groningen, Niederlande

Korrespondenz:

Janssen.Henrike@mh-hannover.de

Fragestellung

Weil Statine und Betablocker die Häufigkeit und Schwere kardiovaskulärer Komplikationen in der perioperativen Phase vermindern können, empfehlen die aktuellen Leitlinien bei kardiovaskulären Risikopatienten ihre präventive Anwendung [1]. Die Mechanismen der kardioprotektiven Wirkung beider Strategien sind nicht bekannt. Interleukin-6 (IL-6) soll die Plaqueinstabilität beeinflussen [2,3]. Tiermodelle für diese Phänomene sind bisher nicht verfügbar. Wir haben an der ApoE-defizienten Maus untersucht, ob perioperativer Stress, ausgelöst durch eine Operation in Kombination mit einem signifikanten Blutverlust, Plaquevolumen und -stabilität beeinflusst.

Methodik

Mit Genehmigung der Tierschutzzkommision wurden insgesamt 33 ApoE-defiziente Mäuse (7 Wochen alt, 15 w., 18 m.; 23±1 gKG) für 7 Wochen mit einer Western-Diät gefüttert. Perioperativer Stress (POS) wurde in geschlechtsgleichen Interventionsgruppen durch eine mediane Laparotomie für 30 Minuten und einen Blutverlust von 20 % des Gesamtblutvolumens (400µl) induziert. Die Kontrollgruppe erhielt 30 Minuten Allgemeinanästhesie (1,5Vol% Isofluran in O₂). Einer Untergruppe wurde nach 4 h Blut für IL-6- und Tumornekrosefaktor α -TNF α Bestimmungen (IBL, Hamburg, Deutschland) abgenommen. Nach 72 h erfolgte die finale Blut- und Organentnahme. Die Lipoproteinprofile wurden mittels FPLC ermittelt. Im Truncus brachiocephalicus wurde das Plaquevolumen auf Hämatoxilin- und Eosin-Färbungen morphometrisch bestimmt. Die Plaqueinstabilität wurde als % der Plaquefläche von Makrophagen (MØ: CD68, MCA1957, Serotec, Oxford, UK) und glatten Muskelzellen (VSMC: α SMA, A2547, Sigma, St. Louis, USA) abgeschätzt. Alle plaqetragenden Schnitte wurden im Abstand von 35 µm morphometriert (CellF, Olympus, Roxel) und das Plaquevolumen berechnet. Atorvastatin wurde drei Tage vor der Opera-

tion und postoperativ für weitere drei Tage (80mg/kg KG) per Magensonde verabreicht. 200 µg anti-IL6-Antikörper (MP5-20S3; BD Pharmingen) wurden vor der OP subkutan injiziert. Die Lipoproteinprofildaten sind normal verteilt, werden somit als Mittelwert und SEM angegeben und parametrisch (Student's t-test) getestet. Nicht normalverteilte Daten wurden einem Kruskal-Wallis-Test unterzogen, die Gruppen mittels eines Mann-Whitney-U-Tests verglichen und als Median (5 %; 95 %-Konfidenzintervalle) präsentiert.

Ergebnisse

POS führte zu einem Abfall des durch die Diät stark erhöhten Gesamcholesterins (579±38 vs. 468±15 mg/dl; n=8/11; p<0,01), des VLDL- (371±27 vs. 296±15 mg/dl; p<0,05) und des LDL-Cholesterins (155±11 vs. 123±4 mg/dl; p<0,01), während Triglyceride und HDL-Cholesterin sich nicht veränderten. POS verursachte eine signifikante Zunahme des Plaquevolumens gegenüber der Kontrollgruppe (Abb. 1). In den POS-Plaques finden sich bei 38 % der Läsionen Zeichen für Hämorrhagien, während in den Kontrollläsionen nur bei 14 % Erythrozyten zu finden waren. Plaquenekrosen finden sich bei 50 % der POS-Gruppe und bei nur 29 % der Kontrolltiere. Der MØ- und VSMC-Gehalt der Plaques blieb unverändert (MØ: 20,3 % (7,2;29,3) vs. 16,2 % (9,1;25,8); n=4/5, Kontrolle vs. POS; p=ns und VSMC: 26,4 %(-0,3;53,2) vs. 14,8 % (6,2;26,9); n=7, p=ns).

Atorvastatin reduzierte das Plaquevolumen auf das Niveau der nichtoperierten ApoE-Kontrolle. POS erhöhte den IL-6-Plasmaspiegel gegenüber der Kontrolle (35,3±5,1 vs. 90,1±19 pg/mL; n=5; p<0,05), während TNF α unverändert blieb. Ein funktionell hemmender anti-IL6-Antikörper reduzierte das Plaquevolumen signifikant.

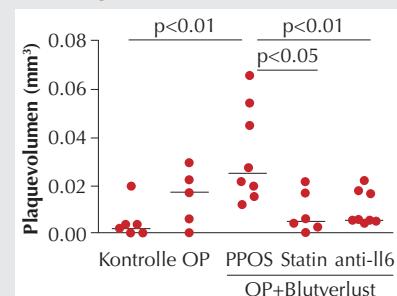
Interpretation

Die Induktion von POS mittels Laparotomie und 20 % Blutverlust ist ein gutes Modell für die perioperative Plaqueinstabilität. Die klinisch empfohlene Intervention der perioperativen Statingabe ist bei diesem Modell wirksam. Eine perioperative Plaquedestabilisierung könnte durch einen Anstieg des Plasma-IL-6-Spiegels verursacht sein, die eine IL-6-spezifische Intervention verhindert. Die Quelle des IL-6 bleibt unbekannt.

Literatur

1. Poldermans, et al. Eur Heart J 2009;30: 2769-2812.
2. Shouten, et al. N Engl J Med 2009;361: 980-989.
3. Kleemann R, et al. Cardiovasc Res 2008;79(3): 360-376.

Abbildung 1



Perioperativer Stress vergrößert das Plaquevolumen. Eine Operation vergrößert das Plaquevolumen nur im Zusammenhang mit einem deutlichen Blutverlust. Die Zunahme des Plaquevolumens lässt sich durch eine kurzfristige Statingabe ebenso verhindern wie durch Blockierung des Zytokines IL6 durch einen hemmenden Antikörper. Diese Daten legen einen kausalen Zusammenhang zwischen Inflammation und Plaqueinstabilität nahe.

Betablocker und Statine regulieren die Expression der Hämoxigenase-1 in humanen mikrovaskulären Endothelzellen und in Thrombendarteriekтомie-Proben der A. carotis

D. Knoop^{1,2} · C. Lanckohr³ · A. Kühr¹ ·
 A. Meinders¹ · J. Larmann¹ · G. Torsello⁴ ·
 B. Sahlmann¹ · S. Ecklebe¹ · K. Reher¹ ·
 C. Herzog¹ · S. Immenschuh⁵ · C. Tiemann² ·
 G. Theilmeier¹

- 1 Experimentelle Anästhesiologie, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin
- 2 Labcon-OWL, Bad Salzuflen
- 3 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
- 4 Centrum für vaskuläre und endovaskuläre Chirurgie, Universitätsklinikum Münster, Westfälische Wilhelms-Universität Münster
- 5 Institut für Transfusionsmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

Korrespondenz:
 danielaknoop@yahoo.de

Fragestellung

Perioperative kardiovaskuläre Ereignisse, namentlich Myokardinfarkte und Schlaganfälle, sind häufig und mit einer hohen Letalität behaftet [1]. Die Expression der Hämoxigenase-1 (HO-1) ist mit instabilen atherosklerotischen Plaques assoziiert, wobei die Rolle des Enzyms atheroprotektiv zu sein scheint [2]. Statine (Stat) und Betarezeptorenblocker (BRB) reduzieren kardiovaskuläre Komplikationen in der perioperativen Phase. Die aktuellen Leitlinien empfehlen daher die Gabe von BRB und Stat bei kardiovaskulären Risikopatienten [1]. Die Mechanismen der kardioprotektiven Wirkung beider Strategien in der perioperativen Phase sind nicht bekannt. Während für Stat transkriptionelle Effekte vor allem über Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR) auch auf die HO-1 beschrieben wurden [3], werden die kardioprotektiven Effekte von BRB der Reduktion der Herzfrequenz zugerechnet. Transkriptionelle Effekte sind für BRB bislang nicht beschrieben worden. Wir haben untersucht, ob BRB und Stat in vitro transkriptionelle und translationale Effekte auf die HO-1 in Endothel- und mononukleären

Zellen haben und haben diese Befunde bei Thrombendarteriekтомie (TEA)-Proben der A. carotis überprüft.

Methodik

Humane mikrovaskuläre Endothelzellen (hMVEC) wurden in DMEM mit Wachstumszusatz (Provitro) kultiviert und mit 20 µg/ml Kupferoxidiertem humanem LDL (oxLDL) mit oder ohne Metoprolol (10 µM; BRB) und Atorvastatin (2,5 µM, Stat) für 24 h inkubiert. Adhäsente humane mononukleäre Zellen (MNC) (je 2 Millionen/6-well) wurden mit oxLDL in RPMI oder oxLDL plus BRB und Stat für 24 h koinkubiert. Die HO-1-Expression wurde in hMVEC und MNC in der RT-PCR ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ HO-1/HPRT) und im Western Blot (HO1/GAPDH) untersucht. Mit Genehmigung der Ethikkommission wurden Thrombendarteriekтомieproben von Carotis-TEA Patienten gewonnen. Die Proben wurden in 1cm-Fragmente zerteilt und jeweils benachbarte Segmente wurden in N₂ für RNA- und Protein-Extraktion gefroren oder kryoeingebettet und geschnitten. Nach Färbungen für Endothelzellen (vWF), Kollagen (Col1a), Makrophagen (CD68) und glatte Muskelzellen (αSMA) wurde die Plaquestabilität nach Virmani abgeschätzt. Aus benachbarten Segmenten wurden RNA (RIN: 2,5 bis 4,5) und Protein extrahiert. HO-1-RNA aus Plaques wurde in der RT-PCR normalisiert für 3 Housekeeper (GAPDH, ATP-Synthase, Tubulin, qBase-Software) quantifiziert. Normal verteilte Daten (MW±SEM) wurden parametrisch getestet. Nicht normal verteilte Daten (Median (5 %; 95 %-Konfidenzintervalle)) wurden einem Kruskal-Wallis-Test und einem Mann-Whitney-U-Tests unterzogen.

Ergebnisse

OxLDL induzierte in hMVEC im Vergleich zum Vehikel einen signifikanten Anstieg der HO-1 auf RNA-Niveau (1,0±0,01 vs 19,4±3,4; n=6; p<0,01). Stat steigerte die HO-1-Expression weiter signifikant (23±3,6; n=6; p<0,05) während BRB zu einer signifikanten Suppression der HO-1-RNA führte (10,8±0,75; n=6; p<0,01). Während oxLDL in MNC die HO-1-Expression nur 3-fach induzierte (p<0,05; n=6), war ein Effekt von BRB und Stat nicht zu beobachten. Auf Pro-

teinebene wurde die HO-1 in hMVEC durch oxLDL induziert (1,0±0,14 vs 31,8±11,2; n=5; p<0,05). Stat steigerte die HO-1 weiter (41,7±14; n=5; p<0,05), während BRB die HO-1 im Vergleich zu oxLDL reduzierte (22,8±7,3; n=5; p<0,05).

Um die in vitro Daten zu überprüfen wurden insgesamt 89 TEA-Proben untersucht. Auf RNA-Ebene ergab sich im Vergleich zu unbehandelten Patienten (0,59(0,4;1,2); n=31) bei Stat-Patienten keine signifikante Induktion der HO-1-RNA (0,65(0,3;1,55); n=27), die aber in BRB-Patienten signifikant war (1,1(0,64;4,92); n=27; p<0,01). HO-1-Protein wurde in 35 Carotis-TEAs quantifiziert. Es fand sich nur ein Trend für eine stärkere HO-1-Expression in instabilen vs. stabilen Plaques und keine Assoziation der Stabilität mit BRB oder Stat. In Patienten, die mit einem Statin behandelt waren (888(267;8008); n=12), war die HO-1-Expression, verglichen mit unbehandelten Patienten (248(-836;4001); n=11; p<0,05), signifikant höher. BRB-Therapie (650(343;1546); n=12; p<0,05) war mit einer Induktion der HO-1-Expression assoziiert. In instabilen Plaques waren diese Effekte deutlicher.

Interpretation

Statine und BRB regulieren auf transkriptionellem und translationalem Niveau atherosklerose-relevante Genprodukte in EC in vitro und sind mit solchen Regulationsvorgängen in Plaques *in vivo* assoziiert. BRB sind mit einer stärkeren HO-1-Expression in Plaques assoziiert, während die Effekte auf EC diskordant sind. Eine Induktion von HO-1 in Plaques könnte eine Stabilisierung der Läsionen bewirken und zu den Effekten der perioperativen Stat- und BRB-Therapie beitragen. Die HO-1-exprimierenden Zellen in Plaques müssen identifiziert werden, um diese Beobachtung therapeutisch nutzen zu können.

Literatur

1. Poldermans, et al. European Heart Journal 2009;30:2769–2812.
2. Cheng, et al. Circulation 2009;119(23):3017.
3. Lee, et al. Circulation 2004;110(10):1296.

Die Rolle des Muzins MUC5AC beim akuten Lungenversagen

M. Köppen^{1,2} · K. Brodsky¹ · M. Moss³ · T. Eckle¹
E. McNamee¹ · D. A. Schwartz⁴ · H. K. Eltzschig¹

1 Mucosal Inflammation Program, Department of Anesthesiology, University of Colorado, Aurora, USA

2 Klinik für Anästhesiologie, Klinikum der Universität München, Ludwig-Maximilians-Universität, München

3 University of Colorado, Division of Pulmonary Sciences and Critical Care, Aurora, USA

4 National Jewish Health, Center for Genes, Environment, and Health, Denver, USA

Korrespondenz:

Michael.koeppen@ucdenver.edu

Fragestellung

Das akute Lungenversagen (ALI) ist eine lebensbedrohliche Erkrankung, der pathophysiologisch eine Entzündungsreaktion des Lungengewebes zugrunde liegt (1). Als Bestandteil des Atemwegsmucus können Muzine wesentlich zu einer Entzündungsreaktion der Lunge beitragen. Daher untersuchten wir die Hypothese, dass Muzine eine entzündungsverstärkende Rolle beim akuten Lungenversagen spielen könnten.

Methodik

Alle Tierversuche wurden durch die zuständigen Behörden genehmigt und waren im Einklang mit den Richtlinien der National Institutes of Health. Die Untersuchung der bronchoalveolaren Lavage (BAL) von Patienten war durch die Ethikkommission genehmigt; Patientenaufklärung und -einwilligung lagen vor. In einem in-vitro-Modell für akutes Lungenversagen wurden humane pulmonale Epithelzellen (Calu-3 oder A549) zyklischem Stretch ausgesetzt. Die transkriptionellen Änderungen aller 17 bekannten Muzine wurden zunächst in einer Microarray-Untersuchung quantifiziert. Spezifische Veränderungen des MUC5AC-Transkript-Levels wurden mittels Echtzeit-Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) weiter verfolgt. Änderungen auf Proteinebene wurden mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) analysiert. Im verwendeten in-vivo-Modell für ALI wurde durch Hochdruckbeatmung (P_{insp} 45 mbar, P_{EEP} 3 mbar, Atemfrequenz 80/min, I:E=1:1) bei Muc5ac-defizienten Mäusen (Muc5ac^{-/-}) ein Lungenschaden induziert (Ventilator-induced-lung-injury; VILI) (2). Die erhobenen Befunde wurden mit denen von Wurfgeschwistern verglichen. Die Versuchsgruppen waren hinsichtlich Alter, Geschlecht

und Gewicht angeglichen. Zur Quantifizierung des Lungenschadens wurden nach Beendigung des Experiments der arterielle Sauerstoffpartialdruck und der Albumin-Gehalt in der BAL ermittelt. Das Ausmaß der pulmonalen Inflammation wurde durch Bestimmung des Myeloperoxidase-Gehalts in der bronchoalveolaren Lavage (BAL) quantifiziert. Die Daten wurden auf Normalverteilung hin getestet und als Mittelwert±Standardfehler angegeben. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mittels t-Test ermittelt; ein p-Wert unter 0,05 wurde als statistisch signifikant angenommen.

Ergebnisse

Die Microarray-Untersuchung der Calu-3 Zellen zeigte eine 28-fache±4 Induktion des MUC5AC-Transkripts nach Stretch ($p<0,05$), während andere in Atemwegen exprimierte Muzine nicht reguliert waren (Abb. 1). Dies konnte mittels RT-PCR bestätigt werden ($p<0,05$; $n=4$). In der bronchoalveolaren Lavage von Patienten mit ALI war MUC5AC 59-fach±30 erhöht ($p<0,05$; $n=5$ pro Gruppe; Abb. 2). In den tierexperimentellen Studien beobachteten wir eine signifikante Induktion von Muc5ac-mRNA nach Hochdruckbeatmung (2,8±0,2-fach; $n=4$ pro Gruppe; $p<0,05$). Muc5ac-defiziente Tiere hatten nach

Abbildung 1 - 3

Abbildung 1

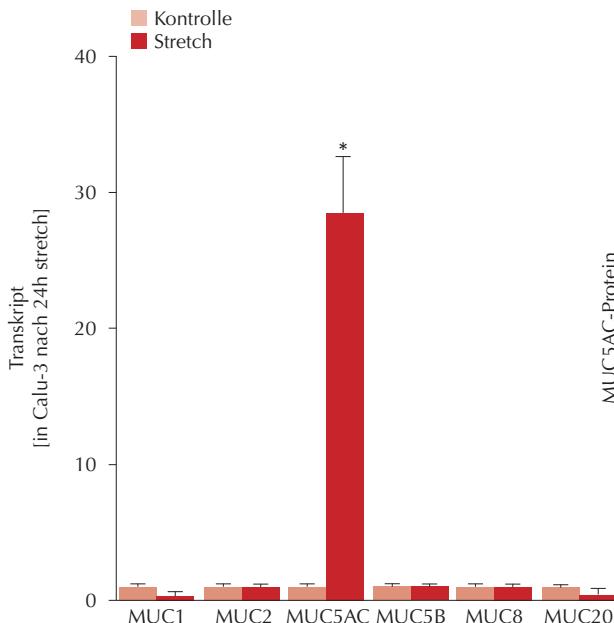


Abbildung 2

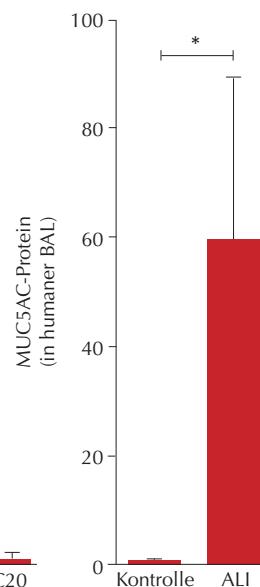
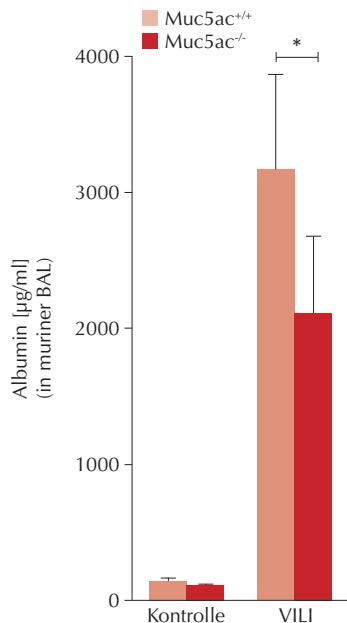


Abbildung 3



(1) Microarray-Analyse in pulmonalen Epithelzellen (Calu-3) nach Stretch (vs. Kontrolle * $p<0,05$; $n=3$).

(2) MUC5AC Proteingehalt in der BAL von Patienten mit akutem Lungenversagen (ALI) (vs. gesunde Kontrollpatienten; $n=5$; * $p<0,05$).

(3) Albumingehalt der murinen BAL nach VILI in Muc5ac-defizienten Mäusen (Muc5ac^{-/-} mice) im Vergleich zu Kontrolltieren ($n=4$; * $p<0,05$).

11. - 12.02.2011 · Würzburg 25. Wissenschaftliche Arbeitstage der DGAI

Hochdruckbeatmung sowohl einen geringeren Albumingehalt in der BAL (1583 ± 255 vs 2505 ± 146 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Albumin; $n=4-5$; $p<0,05$; Abb. 3) als auch eine deutliche Reduktion der Myeloperoxidase in der Lunge ($2,3 \pm 0,3$ vs $6,0 \pm 0,9$ ng/mg Protein; $n=6$; $p<0,05$). Außerdem war der Horovitz-Index von Muc5ac-/- Mäusen im VILI-Modell gegenüber Kontrolltieren (302 ± 32 mmHg vs 189 ± 32 bei $\text{F}_\text{O}_2 1,0$; $n=6$; $p<0,05$) verbessert.

Interpretation

Die vorliegende Studie weist erstmals auf eine schädigende Wirkung des Muzins MUC5AC beim akuten Lungenversagen hin. Sowohl im Tiermodell als auch in der BAL von Patienten war MUC5AC induziert. Daher bietet unsere Studie einen Ausgangspunkt für weiterführende Untersuchungen, die sich darauf konzentrieren, die Bildung oder Freisetzung von MUC5AC beim akuten Lungenversagen pharmakologisch zu verhindern.

Literatur

1. Eltzschig H.K., Carmeliet P. Hypoxia and inflammation. *N Engl J Med* 2011;364:656-665.
2. Eckle T, Grenz A, Laucher S, Eltzschig H.K. A2B adenosine receptor signaling attenuates acute lung injury by enhancing alveolar fluid clearance in mice. *J Clin Invest* 2008;118:3301-3315.

Die Rolle des UNC5b-Rezeptors beim hepatischen Ischämie-Reperfusions-schaden

K. König¹ · D. Köhler² · K. Zacharowski¹ · P. Rosenberger¹

1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Klinikum und Fachbereich Medizin, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/M.

2 Klinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Korrespondenz:

Klemens.Koenig@kgu.de

Fragestellung

Der UNC5b-Rezeptor gehört zur Familie der neuronalen Guidance-Rezeptoren, die bei der Steuerung des axonalen Wachstums von zentraler Bedeutung sind [1]. Der UNC5b-Rezeptor wird in Herz, Lunge, Niere, Leber sowie hämatopoetischen Zellen exprimiert [2] und spielt eine Rolle bei der Leukozyteninvasion während einer renalen Ischämie mit nachfolgender Reperfusion (IR) [3]. Bisher unbekannt ist die Rolle des UNC5b-Rezeptors beim Ischämie-Reperfusionschaden der Leber.

Methodik

Die Tierversuchsgenehmigung des zuständigen Regierungspräsidiums lag vor. Nach Anästhesie, Laparotomie und Mobilisation des Darmes wurde das Ligamentum hepatoduodenale der Versuchstiere (Wildtyp (WT)- vs. UNC5b^{+/−}-Mäuse) dargestellt und die portale Trias ligiert, was zu einer Ischämie des medianen und linken Leberlappens führte. Nach 30-minütiger Ischämiezeit und 3-stündiger Reperfusion wurde das Blut, sowie medianer und linker Leberlappen der Tiere für weitere Analysen gewonnen. Zusätzliche Versuchsgruppen beinhalteten die Repression mittels UNC5b-siRNA bzw. die funktionelle Blocka-

de des UNC5b-Rezeptors durch Antikörperinjektion. Zur Ermittlung des Leberschadens wurde die Laktatdehydrogenase (LDH), Aspartat- (AST) und Alanin- (ALT) Aminotransferase in U/l im Serum gemessen. Als Maß für eine systemische Entzündungsantwort wurden im Serum die Zytokinspiegel (µg/ml) von TNF-α und Interleukin(IL)-6 bestimmt. Die Aktivität polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten (PMN) wurde mittels Myleoperoxidase (MPO, U/l) evaluiert sowie das Ausmaß der leukozytären Infiltration durch immunhistochemische Färbung dargestellt und quantifiziert (Leukozyten pro Gesichtsfeld bei 400-facher Vergrößerung). Alle Werte sind als Mittelwert±SEM angegeben, die statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test-Analyse.

Ergebnisse

UNC5b^{+/−}-Mäuse zeigten einen signifikant reduzierten Schaden nach Leber-IR (LDH WT 340±44 vs. UNC5b^{+/−} 222±17, ALT WT 175±27 vs. UNC5b^{+/−} 86±12, AST WT 229±33 vs. UNC5b^{+/−} 129±11; n=6, alle p<0.05). Dies war mit einer signifikanten Reduktion der MPO-Aktivität (MPO WT 0.118±0.008 vs. UNC5b^{+/−} 0.082±0.001; n=6, p<0.05) in der Leber der UNC5b^{+/−}-Mäuse und einer reduzierten Infiltration neutrophiler Granulozyten (PMN WT 6.35±0.54 vs. UNC5b^{+/−} 3.57±0.17; n=6, p<0.05) assoziiert. Des Weiteren konnten signifikant reduzierte Zytokinspiegel bei UNC5b^{+/−}-Mäusen gemessen werden (TNF-α WT 16.88±2,49 vs. UNC5b^{+/−} 3,07±0.48, IL-6 WT 468±97 vs. UNC5b^{+/−} 194±44; n=6, p<0.05). Die Injektion des Antikörpers (UNC5b-Ab) führte zu einer signifikanten Reduktion der Serumenzyme nach Leber-IR (LDH WT + IgG 420±94 vs. WT + UNC5b Ab 168±18, ALT WT + IgG 98±20 vs. WT + UNC5b Ab 45±8, AST WT + IgG 129±22 vs. WT + UNC5b Ab 76±6; n=6, p<0.05). Die MPO Aktivität in der Leber (MPO WT + IgG 0.106±0.014 vs. WT + UNC5b Ab 0.045±0.006; n=6, p<0.05) und die Infiltration neutrophiler Gra-

nulozyten war bei mit UNC5b-Antikörpern behandelten Mäusen signifikant gemindert (PMN WT + IgG 3.80±0.58 vs. WT + UNC5b Ab 2.20±0.006; n=6, p<0.05). Der protektive Effekt war auch in den Zytokinspiegeln (TNF-α WT + IgG 12.31±1.08 vs. WT + UNC5b Ab 8,40±0,97, IL-6 WT + IgG 160±21 vs. UNC5b Ab 75±13; n=6, p<0.05) nachweisbar. Eine weitere Bestätigung der Ergebnisse erbrachte der in-vivo-Knock-down mittels siRNA. Der Leberschaden in der siRNA-Gruppe war im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant reduziert (LDH WT + ntRNA 365±44 vs. WT + UNC5b siRNA 212±30, ALT WT + ntRNA 179±38 vs. WT + UNC5b siRNA 46±3, AST WT + ntRNA 307±67 vs. WT + UNC5b siRNA 73±7; n=4, p<0.05).

Interpretation

Die Inhibition der Wirkung des UNC5b-Rezeptors bei heterozygoten UNC5b-Knock-out-Tieren, mit Antikörpern und durch siRNA wirkt sich protektiv beim IR-Schaden der Leber im murinen Modell aus. Dies geht mit einer verminderten Leukozyteninvasion und Aktivität im betroffenen Lebergewebe einher.

Literatur

1. Tessier-Lavigne M, Goodman CS. The molecular biology of axon guidance. *Science* 1996;274:1123-1133.
2. Ly NP, et al. Netrin-1 inhibits leukocyte migration in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:14729-14734.
3. Tadagavadi RK, Wang W, Ramesh G. Netrin-1 regulates Th1/Th2/Th17 cytokine production and inflammation through UNC5B receptor and protects kidney against ischemia-reperfusion injury. *J Immunol* 2010;185:3750-3758.

Die differentielle Regulation der Isoformen des Glukokortikoidrezeptors durch Micro-RNA-124 ist ein Mechanismus für Glukokortikoidresistenz bei T-Zellen

S. Kretz¹ · C. Ledderose^{1,2} · J. Briegel¹ · P. Möhnle¹

1 Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München, Ludwig-Maximilians-Universität München

2 Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Mannheim gGmbH, Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg

Korrespondenz:

Simone.Kretz@med.uni-muenchen.de

Preisträgerin des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung 2011

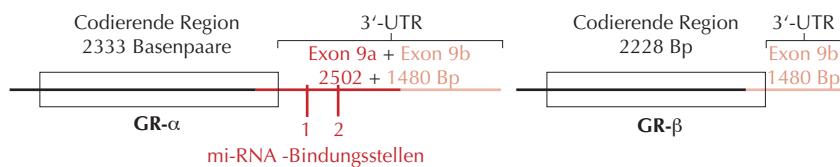
Fragestellung

Die Therapie inflammatorischer Krankheitsbilder, wie z.B. der Sepsis, wird häufig durch das Auftreten einer Glukokortikoidresistenz kompliziert. Prinzipiell wird als mögliche Ursache für eine Resistenzentwicklung eine differenzielle Expression unterschiedlicher Subtypen des Glukokortikoidrezeptors (GR) diskutiert: Aus einem primären Transkript können die Splice-Varianten GR- α und GR- β entstehen (Abb.1), wobei GR- α die immunsuppressiven und antiinflammatorischen Wirkungen vermittelt, während GR- β auf die Aktivität der α -Form suppressiv wirkt [1,2]. Der molekulare Mechanismus der differenziellen Expression ist jedoch völlig ungeklärt. Da sich die beiden Splice-Varianten vorwiegend im 3'-untranslasierten Bereich (3'-UTR) unterscheiden, wäre eine Splice-Varianten-spezifische Regulation durch Micro-RNAs (miRNAs) denkbar. Diese Fragestellung wurde im vorgestellten Forschungsprojekt untersucht.

Methodik

Mittels bioinformatischer Methoden (Target Scan) wurde der ausschließlich in der GR- α -Form exprimierte Teil des 3'-UTRs auf potentielle miRNA-Bindungsstellen hin untersucht. Von gesunden Probanden (n=6, Blutentnahme durch Ethikkommission genehmigt) wurde RNA aus *in vitro* mit und ohne Hydrocortison stimulierten (24 h, anti-CD3/CD28) T-Zellen (über magnetische Zellseparation gereinigt) gewonnen und revers transkribiert. Die Expressionsraten der miR-124- und der GR-Splicevarianten wurden mit spezifischen real-time PCR Assays bestimmt. Der 3'-UTR des GR- α -Gens wurde mittels PCR amplifiziert und in einen Luciferase-Reporter-Vektor kloniert; Kontrollkonstrukte mit deletierten miR-124-Bindungstellen wurden mittels gerichteter Mutagenese erstellt. Zusätzlich wurde ein

Abbildung 1



mRNA der α - und β -Form des Glukokortikoidrezeptors.

Vektor kloniert, der die entsprechende Vorläufer-miR-124 exprimiert (pmR-miR-124). Beide Vektorkonstrukte wurden in HEK293-Zellen co-transfiziert (Elektroporation). Die Luciferase-Aktivität der verschiedenen Transfektionsansätze wurde luminometrisch quantifiziert. Die mRNA-Expression der GR-Splice-Varianten nach Transfektion des miR-124-Vektors in Jurkat-T-Zellen wurde durch real-time-PCR bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels t-test (+ Bonferroni-Korrektur, Darstellung der Werte: MW \pm SD).

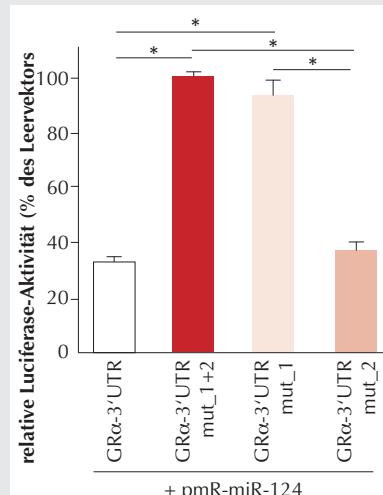
Ergebnisse

Bioinformatische Untersuchungen identifizierten zwei potentielle Bindungsstellen für miR-124 im ausschließlich in der α -Form exprimierten Anteil des GR-3'-UTR (Abb.1). In humanen T-Zellen konnte die Expression beider GR-Splice-Varianten und der miR-124 nachgewiesen werden; Inkubation mit Hydrocortison führte zu einer erhöhten miR-124-Expression (Faktor 3.5 \pm 2, n=6, p<0.05). In Zellkultur-Transfektionsexperimenten konnte gezeigt werden, dass miR-124 tatsächlich die Expression des GR- α reguliert. Dieser Effekt wird hauptsächlich über Bindungsstelle 1 des 3'-UTR vermittelt: Nur die beiden Vektorkonstrukte mit erhaltener Bindungsstelle 1 zeigten eine signifikant reduzierte Luciferase-Aktivität (>60%, n=6, p<0.05, Abb.2) im Vergleich zur Kontrolle (ohne miR-124). Durch Transfektion von Vorläufer-miR-124 in Jurkat-T-Zellen konnte die mRNA-Expression von GR- α um etwa 30 % vermindert werden (29 \pm 5 %, n=5, p<0.05).

Interpretation

Unsere Experimente identifizieren einen neuen, miRNA-vermittelten Mechanismus der Glukokortikoidresistenz bei T-Zellen: Die Expression der antiinflammatorisch wirksamen GR- α -Form unterliegt einer posttranskriptionellen negativen Regulation durch miR-124. Die Induktion der miR-124-Expression nach Glukokortikoidbehandlung mit konsekutiver Reduktion der GR- α -Form legt die Existenz eines negativen Feedback-Mechanismus in T-Zellen nahe.

Abbildung 2



Luciferase-Aktivität der Vektorkonstrukte.

Literatur

1. Nicolaides NC, Galataa Z, Kinob T, Chrousosa GP, Charmandaria E. The human glucocorticoid receptor: molecular basis of biologic function. *Steroids* 2010;75:1-12.
2. Gross KL, Lu NZ, Cidlowski JA. Molecular mechanisms regulating glucocorticoid sensitivity and resistance. *Mol Cell Endocrinol* 2009;300:7-16.

Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor-Agonisten induzieren Hämoxigenase-1-abhängig Makrophagenegress im Mausmodell

J. Larmann¹ · H. Janßen¹ · C. Wagner¹ · C. Herzog¹ · M. Luchtefeld² · B. Schieffer² · V. Brinkmann³ · J. R. Nofer³ · S. Immenschuh³ · F. Echtermeyer¹ · G. Theilmeier¹

1 Experimentelle Anästhesiologie, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

2 Klinik für Kardiologie und Angiologie, Medizinische Hochschule Hannover

3 Institut für Transfusionsmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

4 Novartis Institutes for Biomedical Research, Basel

5 Zentrum für Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum Münster, Rheinische Wilhelms-Universität Münster

Korrespondenz:

larmann.jan@mh-hannover.de

Fragestellung

Rupturen vulnerabler Plaques sind ursächlich für Myokardinfarkte. Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor (S1PR)-Agonisten wirken im Mausmodell antiatherogen und stabilisieren komplexe Plaques durch rasche Reduktion der Makrophagen (MØ)-last [1]. Vulnerable Plaques sind durch gesteigerte Hämoxigenase-1 (HO-1)-Expression gekennzeichnet [2]. HO-1 wirkt anti-inflammatoryisch und ihre Induktion führt zu einer reduzierten MØ-Migration. Dem Chemo-kin-Rezeptor-7 (CCR7) wird eine zentrale Rolle für den MØ-Egress zugeschrieben [3]. Wir haben in-vitro-Effekte des unselektiven S1PR-Agonisten FTY720 sowie des selektiven S1P1-Agonisten AUY954 auf Adhäsions- und Transmigrationseigenschaften, sowie auf reverse, baso-apikale Transmigration von MØ durch einen Endothelzell (EC)-Monolayer untersucht und die Hypothese getestet, dass S1PR-Agonisten durch Modulation der HO-1-Expression die CCR7-Expression induziert und so den reversen MØ-Egress vermittelt.

Methodik

Peritoneale MØ wurden nach 12 h Inkubation mit FTY720 (50ng/ml), AUY954 (100ng/ml) oder Vehikel in einem 30 min Adhäsions-

assay und einem 4 h Transwellfilter-basierten Transmigrationsassay mit TNF α (10ng/ml, 12h)-aktivierten EC getestet. In einem modifizierten Assay wurde die reverse Transmigration von MØ in Gegenwart von AUY954 quantifiziert. Die Expression von CCR7 und HO-1 in peritonealen MØ wurde mittels realtime rtPCR und FACS bzw. Westernblot nach Inkubation mit FTY720 oder AUY954 sowie in Gegenwart des HO-1-Induktors Hämin und des HO-1-Inhibitors Zink-Protoporphyrin (zincPPIX) quantifiziert. 10⁶ peritoneale MØ-eGFP transgener Mäuse wurden für 12 h mit 10 μ g/ml oxidiertem LDL (oxLDL), Hämin, oxLDL plus zincPPIX oder Vehikel inkubiert und nach Genehmigung durch die Tierschutzkommission FTY720 (1 μ g/g KG per Magensonde)- oder Vehikel-behandelten C57Bl6/J-Mäusen IP injiziert. Zur Quantifizierung des MØ-Egress wurden eGFP-positive MØ im Blut des Plexus retroorbitalis, in regionalen Lymphknoten sowie in der Peritoneallavage durchflußzytometrisch quantifiziert. Daten wurden auf Normalverteilung überprüft, entsprechend parametrisch oder nicht parametrisch auf Signifikanz ($p<0,05$) getestet und sind als Mittelwert \pm Standardfehler dargestellt.

Ergebnisse

FTY720 reduziert MØ-Adhäsion an aktivierte EC (1.050 \pm 73 vs. 495,1 \pm 73; % d. Kontr., Vehikel vs. FTY720, n=7/9, $p<0,001$) und Transmigration (4.917 \pm 518 vs. 1.878 \pm 186; Zellen, Vehikel vs. FTY720, n=7, $p<0,01$). Der selektive S1P1-Agonist zeigt in beiden Assays keine signifikanten Effekte, während die reverse MØ-Transmigration durch AUY954 induziert wird (100 \pm 5,12 vs. 371 \pm 55,2; Vehikel vs. AUY954; % d. Kontr.; n=6-8; $p<0,05$). HO-1 Expression wird durch S1PR-Agonisten auf RNA (1,0 \pm 0,09 vs. 0,49 \pm 0,13 vs. 0,5 \pm 0,14; rel. Expression; Vehikel vs. FTY720 vs. AUY954; n=5/6, $p<0,05$) und Proteinebene (1,47 \pm 0,17 vs. 0,66 \pm 0,15 vs. 0,55 \pm 0,19; rel. Expression; Vehikel vs. FTY720 vs. AUY954; n=3; $p<0,05$) reduziert. Ex vivo oxLDL-Aktivierung von MØ verhindert in vivo ihren Egress aus dem Peritoneum (172 \pm 85 vs. 443 \pm 53; eGFP pos./10⁶ Zellen; Kontr. vs. oxLDL; n=3/4; $p<0,05$). FTY720 induziert den Egress von oxLDL-MØ aus dem Peritoneum (385,5 \pm 42,5 vs. 92,5 \pm 39,8; eGFP pos./10⁶ Zellen; Vehikel vs. FTY720; n=11/8) ins Blut (11,4 vs. 54,1; eGFP pos./10⁶ Zellen; Vehikel

vs. FTY720; n=9/8; $p<0,05$) und in regionale Lymphknoten (100 \pm 25 vs. 1415 \pm 569; eGFP pos. Zellen/% der Kontr.; Vehikel vs. FTY720; n=9/8; $p<0,05$). Nach HO-1-Induktion mittels Hämin verbleiben oxLDL-MØ im Peritoneum (436 \pm 221; eGFP pos./10⁶ Zellen). Egress in die Blutbahn (3,5 \pm 2,4; eGFP pos./10⁶ Zellen) und in Lymphknoten (60 \pm 19; eGFP pos. Zellen/% der Kontrolle) unterscheidet sich im Umfang nicht von Vehikel-behandelten Tieren (jeweils $p=n.s.$ vs. Vehikel). Der HO-1-Inhibitor zincPPIX induziert Egress von oxLDL-MØ aus dem Peritoneum (82,1 \pm 52,5; eGFP pos./10⁶ Zellen; n=4; $p<0,05$ vs. Vehikel) ins Blut (24,5 \pm 10,6; eGFP pos./10⁶ Zellen) und in Lymphknoten (552 \pm 134; eGFP pos. Zellen/% der Kontrolle, n=4; $p=n.s.$ vs. FTY720). S1PR-Agonisten und Hämin induzieren CCR7-mRNA (1,0 \pm 0,04 vs. 1,7 \pm 0,3 vs. 3,3 \pm 0,7 vs. 6,6 \pm 0,5; rel. Expression; Vehikel vs. FTY720 vs. AUY954 vs. Hämin; n=4-7, $p<0,05$). Durchflußzytometrisch vergrößert sich die CCR7-pos. Population nach oxLDL-Aktivierung (61,7 \pm 8,2 vs. 89,3 \pm 5,5; % d. Population; Vehikel vs. oxLDL; n=4, $p<0,05$). Weder Hämin noch S1PR-Agonisten induzieren die CCR7-Proteinexpression in ruhenden oder oxLDL-aktivierten MØ (n=3; $p=n.s.$).

Interpretation

S1P-Rezeptor-Agonisten induzieren in vitro die reverse Transmigration von MØ über einen EC-Monolayer und antagonisieren den oxLDL-induzierten MØ-Arrest in vivo. Für den in vivo beobachteten S1PR-abhängigen MØ-Egress spielt CCR7 eine untergeordnete Rolle. S1P₁-Agonisten induzieren HO1-abhängig MØ-Egress über einen zu CCR7 alternativen Signalweg.

Literatur

1. Larmann, et al. Circulation 2009;120:S1138.
2. Cheng, et al. Circulation 2009;119(23):301.
3. Llodra, et al. PNAS 2004;101(32):11529.

Verminderung des kardialen Ischämie/Reperfusions-Schadens durch synthetische Oligonukleotide: Rolle von TLR9

P. Markowski¹ · L. Goelz² · S. C. Kim¹ ·
A. L. Hakenberg² · S. Klaschik¹ · T. Hilbert¹ ·
O. Boehm¹ · H. Ehrentraut¹ · R. Meyer² ·
A. Hoeft¹ · G. Baumgarten¹ · P. Knüfermann¹

1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin,
2 Institut für Physiologie II,
Universitätsklinikum Bonn,
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Korrespondenz:
pmarkows@uni-bonn.de

Fragestellung

Für verschiedene TLR-Liganden (LPS, LTA) konnte gezeigt werden, dass die systemische Applikation vor einem Ischämie/Reperfusion-Ereignis (I/R) im Herzen das Ausmaß der Schädigung verringern kann (Präkonditionierung).

Aufgrund des Nebenwirkungsspektrums ist die Anwendung von z.B. LPS in der Klinik eher ungeeignet. Im Gegensatz dazu befinden sich synthetische Oligonukleotide (CpG-ODN) zur Behandlung bestimmter Erkrankungen bereits in klinischer Erprobung (Adjuvans eines Hepatitis-B Impfstoffes). Die Erkennung von bakterieller DNA/synthetischen Oligonukleotiden (CpG-ODN) erfolgt via Toll-Like-Rezeptor 9 (TLR9) [1]. TLR9 selbst wurde in verschiedenen parenchymatösen Organen einschließlich Myokard nachgewiesen [2,3]. Inwiefern synthetische TLR9-Liganden einen kardialen I/R-Schaden modulieren können ist bisher nicht bekannt. Ziel dieser Studie war es daher, den Einfluss von CpG-ODN auf einen kardialen I/R-Schaden in Abhängigkeit von TLR9 zu untersuchen.

Methodik

Zur Induktion eines kardialen Ischämie/Reperfusions-Schadens wurde bei 10-12 Wochen alten männlichen Wildtyp (WT)- und TLR9-defizienten (TLR-D) Mäusen nach medianer

Thorakotomie ein Faden um die linke Koronararterie (LAD) geführt. Nach einer 7-tägigen Erholungsphase erfolgte die intraperitoneale Gabe von D-Galaktosamin (200mg/kgKG) sowie verschiedener CpG-Oligonukleotide (1668-, 1612-, H154-Thioat, jeweils 5 nmol). 1668-Thioat besitzt stimulatorische Eigenschaften, wohingegen 1612- und H154-Thioat als Kontrolle dienten. Nach weiteren 16 h wurde unter EKG-Kontrolle eine einstündige kardiale Ischämie durch eine reversible Ligatur der LAD erzeugt. Nach einer 24-stündigen Reperfusionsphase wurde die Herzinfarktgröße (IA) histologisch mittels TTC-Färbung dargestellt und anschließend planimetrisch vermessen. Zusätzlich wurde das Troponin-T als ein Marker für das Ausmaß der Myokardschädigung im Serum bestimmt (CARDIAC READER® Fa. Roche). Um den modulierenden Einfluss der Inflammation auf die IA zu analysieren, wurde mittels qRT-PCR die mRNA-Expression verschiedener TLR und Entzündungsmediatoren zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Stimulation (2, 4, 6 und 16

h) und im Verlauf der Reperfusion (0.30 und 3 h nach Infarkt) untersucht. Die statistische Auswertung der Infarktgrößen erfolgte mit Student's t-Test und die Auswertung der Zytokinalyse mit einem 2-Weg-Anova und einer Bonferroni post-hoc-Analyse (signifikanter Unterschied: $p<0.05$).

Ergebnisse

In der Kontrollgruppe (KG) betrug die IA $35,3\pm2,9$ % der Area at Risk (AAR). Eine 16-stündige Präkonditionierung mit 1668-Thioat führte zu einer Reduktion der IA um ca. 70 % auf $8,2\pm1,9$ %, ($n=10$, $p<0,0001$). Die beiden Kontroll-DNA-Sequenzen zeigten keine präkonditionierende Wirkung; die IA in diesen Gruppen lag bei $39,3\pm5,2$ % für 1612-Thioat ($n=11$, $p=0,5244$) und $33,25\pm3,5$ % für H154-Thioat ($n=7$, $p=0,6478$). D-Gal allein zeigte ebenfalls keine Veränderung der IA im Vergleich zur KG ($37,2\pm5,4$ %, $n=4$ vs $35,8\pm2,9$ %, $n=10$, $p=0,7590$). Während die Tiere der Kontrollgruppe nach I/R einen durchschnittlichen Troponin T-Wert von $6,6\pm0,9$ ng/ml ($n=11$) aufwiesen, lag er bei den Tieren mit einer 1668-Thioat Vorbehandlung (5 nmol) bei $2,2\pm0,6$ ng/ml ($n=10$) und

war somit signifikant niedriger als in der KG ($p<0,001$). 1668-Thioat führte im Vergleich zu den Kontrolloligonukleotiden zu einem signifikanten Anstieg der mRNA-Expression von TLR2 zum Zeitpunkt 2 h nach Stimulation ($0,7\pm0,2$ als KG vs. $8,4\pm2,8$ für 1668, $n=6$, $p<0,0001$), verschiedener inflammatorischer Zytokine; (TNF α : $2,4\pm0,4$ als KG vs. $102,8\pm11,8$ für 1668, $n=5$, $p<0,05$; IL-1 β : $1,4\pm0,1$ als Kontrolle vs. $34,7\pm6,4$ für 1668, $n=5$, $p=0,017$; IL-6: $4,4\pm2,1$ als KG vs. $140,1\pm36,9$ für 1668, $n=5$, $p<0,05$, sowie des antiinflammatorischen Zytokins Interleukin IL-10 ($2,6\pm0,8$ als KG vs. $223,4\pm59,7$ für 1668, $n=6$, $p<0,05$ zum Zeitpunkt 16 h nach 1668-Applikation). Die Untersuchung der Zytokinexpression während der Reperfusion zeigte eine Erhöhung der Expression der TLR 2 und 9 ($3,8\pm0,9$ als KG vs. $7,1\pm1,7$ für 1668, $n=5$, $p=0,1385$ für TLR 2; $5,1\pm0,7$ als KG vs. $30,6\pm7,2$ für 1668, $n=5$, $p<0,05$ für TLR9 zum Zeitpunkt 3 h nach Infarkt), der proinflammatorischen Zytokine TNF α und IL-6 ($22,2\pm5,4$ als KG vs. $57,1\pm12,8$ für 1668, $n=5$, $p<0,05$ für TNF α ; $133,0\pm32,3$ als KG vs. $341,8\pm76,7$ für 1668, $n=5$, $p<0,05$ für IL-6 zum Zeitpunkt 3 h nach Infarkt). Die Auswertung der IL-10

Expression im Verlauf der Reperfusion zeigte eine deutliche Erhöhung ($45,8\pm14,0$ als KG vs. $1.042\pm331,6$ für 1.668, $n=5$, $p<0,05$ für den Zeitpunkt 3 h nach Infarkt). In TLR9-D-Tieren konnte durch eine Vorbehandlung mit 1.668-Thioat keine signifikante Reduktion der IA erzielt werden. Ein Anstieg der TLR- und Zytokinexpression war ebenfalls nicht nachweisbar.

Interpretation

In vorliegendem I/R-Modell führte eine Präkonditionierung mit dem stimulatorischen Oligonukleotid 1.668-Thioat zu einer TLR9-abhängigen Verminderung des kardialen Ischämie/Reperfusions-Schadens. Insbesondere scheint eine frühe inflammatorische Antwort wesentlich für die Reduktion der Infarktgröße mitverantwortlich zu sein.

Literatur

1. Hemmi, et al. Nature 2000;408(6813):659-660.
2. Kneuermann, et al. Cardiovasc Res 2008;78:26-35.
3. Boyd, et al. Cardiovasc Res 2008;78:26-35.

Der Neogeninrezeptor als proinflammatorischer Mediator beim beatmungsinduzierten akuten Lungenschaden

V. Mirakaj¹ · C. Jennewein¹ · T. Granja¹,
K. Unertl² · K. Zacharowski¹ · P. Rosenberger¹

1 Klinik für Anaesthesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Klinikum und Fachbereich Medizin, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/M.

2 Klinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Eberhard-Karls Universität Tübingen

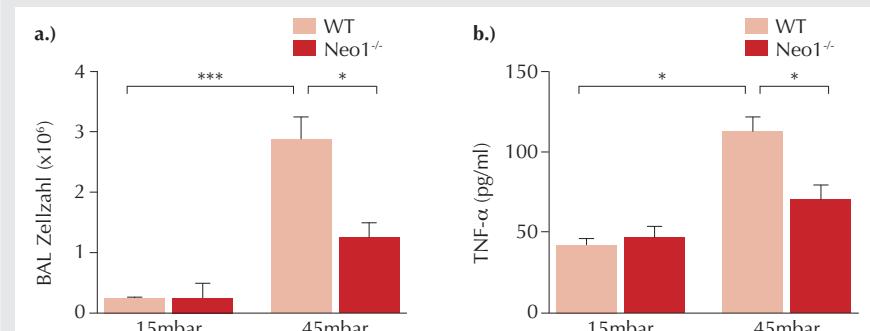
Korrespondenz:

Valbona.Mirakaj@kgu.de

Fragestellung

Eine akute Entzündungsreaktion ist begleitet von einer Extravasation und Infiltration von Leukozyten in das betroffene Gewebeareal und wird vor allem durch Chemokine gesteuert [1,2]. Neuronale Guidance Proteine (NGP), die das axonale Wachstum im Zentralnervensystem steuern, können ebenfalls die leukozytäre Migration beeinflussen [3]. Die Funktion der Zielrezeptoren der NGP während einer akuten Entzündungsreaktion ist weitgehend unbekannt. Wir untersuchten in der vorliegenden Arbeit, welche Rolle der Neogeninrezeptor als einer dieser Zielre-

Abbildung 1



Nach Induktion eines mechanischen Lungenschadens durch Überdruckbeatmung (15mbar bzw. 45mbar) für 3 Stunden in WT und Neo1^{-/-} Mäusen wurde eine bronchoalveolare Lavage (BAL) entnommen und a.) die Zellzahl ($\times 10^6$) in der BAL und b.) die Konzentration von TNF- α (pg/ml) bestimmt ($n=7$ / Gruppe, * $p<0,05$, *** $p<0,001$).

zeptoren beim experimentell induzierten inflammatorischen Lungenschaden spielt.

Methodik

Die Tierversuchsgenehmigung des zuständigen Regierungspräsidiums lag vor. Die Expression von Neogenin auf Leukozyten wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Humans Mikrovaskuläre Endothelzellen (HMEC-1) und die alveolare Epithelzelllinie A549 wurden mit pro-inflammatorischen Zytokinen

stimuliert und die Neogenin-Expression durch RT-PCR, Immunhistochemie und Luziferase-Assay gemessen. Die Rolle von Neogenin auf die Migration neutrophiler Granulozyten wurde mittels Chemotaxis (fMLP 10ng/ml) untersucht. Durch Neogeninrepression (mittels siRNA) oder Überexpression (mittels CMV-basiertem Vektor) wurde der Einfluss auf die mikrovaskuläre Permeabilität ermittelt. In-vivo wurde bei Wildtyp-Mäusen (WT; +/- Neogenin-Antikörper Injektion), Neogenin-

Knockout-Mäusen ($\text{Neo1}^{-/-}$) und chimären Mäusen mittels Überdruckbeatmung (15 mbar oder 45 mbar; je $n=7$ für 3 Stunden) ein mechanischer Lungenschaden (VILI = ventilator induced lung injury) induziert. Eine bronchoalveolare Lavage (BAL) wurde zur Messung der Myeloperoxidase (MPO) -Aktivität, der Proteinkonzentration, der Konzentration von TNF- α , Interleukin (IL)-6, IL-1 β und IL-8 vorgenommen. Histologische Schnitte des Lungengewebes wurden angefertigt und untersucht. Die Daten wurden mittels Student's t-test und ANOVA evaluiert.

Ergebnisse

Neogenin-positive Leukozyten zeigten sich vermehrt in der BAL nach Induktion des Lungenschadens. Die Neogeninexpression war im Lungengewebe verstärkt. Auch in-vitro zeigte sich in HMEC-1- und A549-Zellen nach Stimulation mit TNF- α und IL-6 eine signifikant erhöhte Expression von Neogenin-mRNA sowie ein gesteigertes immunhistochemisches Neogenin-Signal und der Luziferase-Aktivität. Durch Blockade des Neogeninrezeptors mittels Antikörper wurde in einem Transmigrationsassay die

Migration neutrophiler Granulozyten signifikant gehemmt (HMEC $0,59 \pm 0,07$ fach; A549 $0,45 \pm 0,05$ fach). Die Repression der Neogeninexpression (siRNA) oder Überexpression (pCMV-NEO1) zeigten keinen Einfluss auf den parazellulären Flux. In-vivo führte die Induktion eines VILI bei $\text{Neo1}^{-/-}$ -Mäusen im Vergleich zu Kontrolltieren zu einer signifikanten Reduktion der Zellzahl in der BAL ($\times 10^6$; WT 45 mbar $2,92 \pm 0,4$; $\text{Neo1}^{-/-}$ 45 mbar $1,23 \pm 0,24$, $p < 0,05$; Abb. 1) der MPO-Aktivität (OD 405; WT 45 mbar $1,59 \pm 0,04$; $\text{Neo1}^{-/-}$ 45 mbar $0,40 \pm 0,07$, $p < 0,05$) und dem Proteingehalt (mg/ml; WT 45 mbar $0,98 \pm 0,15$; $\text{Neo1}^{-/-}$ 45 mbar $0,59 \pm 0,03$, $p < 0,05$). Auch die Konzentration der Zytokine war in $\text{Neo1}^{-/-}$ -Mäusen im Vergleich zu WT-Tieren signifikant reduziert (pg/ml; TNF- α WT 45 mbar 113 ± 27 ; $\text{Neo1}^{-/-}$ 45 mbar 67 ± 8 , $p < 0,05$; Abb. 1). Die histologische Beurteilung des Lungengewebes bestätigte die verminderte Entzündungsreaktion bei $\text{Neo1}^{-/-}$ -Mäusen. Bei WT-Tieren wurde durch Blockade des Neogenin-Rezeptors mittels Antikörper die Entzündungsreaktion im Lungengewebe signifikant reduziert. In chimären Mäusen fand sich eine signifikante Reduktion des Lungenschadens in der Gruppe mit hä-

matopoetischem $\text{Neo1}^{-/-}$ -Phänotyp (Zellzahl $\times 10^6$: 45 mbar hämatopoetisch WT $2,9 \pm 0,2$, hämatopoetisch $\text{Neo1}^{-/-}$ $1,7 \pm 0,3$; TNF- α pg/ml: hämatopoetisch WT 146 ± 57 , hämatopoetisch $\text{Neo1}^{-/-}$ 87 ± 17)

Interpretation

Der Neogeninrezeptor wirkt als pro-inflammatorischer Stimulus beim experimentell induzierten VILI. Eine maßgebliche Rolle spielt dabei die hämatopoetische Komponente der Neogeninexpression. Durch Blockade des Neogeninrezeptors wird die inflammatorische Reaktion im Lungengewebe signifikant reduziert.

Literatur

1. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med* 2006;354:610-621.
2. Ware LB, Matthay MA. The Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med* 2000;342:1334-1349.
3. Mirakaj V, et al. Netrin-1 dampens pulmonary inflammation during acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:815-824.

Etomidat aktiviert nozizeptive Neurone über den Irritanzienrezeptor TRPA1 durch eine Interaktion mit intrazellulären Cystein-Resten

F. Niedermirtl¹ · M. Eberhardt² · K. Kistner² · A. Leffler³ · P. Reeh² · C. Nau¹

1 Anästhesiologische Klinik, Universitätsklinikum Erlangen

2 Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

3 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

Korrespondenz:

Florian.Niedermirtl@kfa.imed.uni-erlangen.de

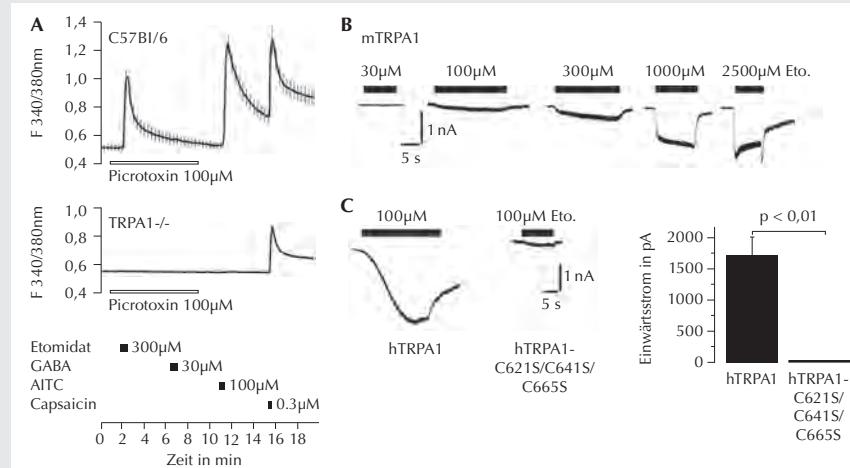
Fragestellung

Anästhetika können prämonitive „Transient receptor potential (TRP)“-Kanäle in nozizeptiven Neuronen aktivieren. So ist der Injektionsschmerz durch Propofol und die Reizung der Atemwege durch volatile Anästhetika auf die Aktivierung von TRPA1 (TRP-„Ankyrin“-Familie, Mitglied 1) und TRPV1 (TRP-„Vanilloid“-Familie, Mitglied 1) zurückzuführen [1,2]. TRPV1 wird durch Hitze (>42°C) und zahlreiche endogene und exogene Substanzen aktiviert und ist verantwortlich für die thermische Hyperalgesie bei Entzündung. TRPA1 gilt als Detektor multipler endogener und exogener algogener Substanzen oder Irritantien wie Senföl, Acrolein oder Prostaglandine und ist verantwortlich für die Bradykinin-induzierte Hyperalgesie sowie die Kälte-Hyperalgesie bei Entzündung oder Neuropathie. Substanzen wie Acrolein aktivieren TRPA1 durch kovalente Modifikation reaktiver Cystein-Reste [3]. Auch Etomidat kann bei intravenöser Injektion lokale Schmerzen verursachen. Ziel dieser Studie war zu untersuchen, ob – und wenn ja welche – TRP-Kanäle nozizeptiver Neurone durch Etomidat aktiviert werden und auf welchen molekularen Mechanismen eine Aktivierung beruht.

Methodik

Humane (h) oder murine (m) TRPA1- sowie TRPV1-, TRPV2-, TRPV3-, TRPV4- oder TRPM8- (TRP-„Melastatin“-Familie, Mitglied 8)- Kanäle der Ratte wurden heterolog in HEK293t-Zellen exprimiert und mit der Whole-Cell-Konfiguration der Patch-Clamp-Technik untersucht. Wildtyp (WT)-C57BL/6-Mäuse, TRPA1- bzw. TRPA1/TRPV1-Knockout-Mäuse wurden zur Entnahme von Spinalganglionzellen (DRGs) oder peripheren Nerven mit CO₂ getötet (Haltung und Tötung gemäß TierSchG). In kultivierten DRGs dieser Tiere wurde der Anstieg der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration [Ca²⁺]_i mittels der Ca²⁺-Imaging-Technik gemessen. Mit Hilfe eines ELISA wurde die Etomidat-vermittelte Ausschüttung von Calcitonin Gene-related Pepti-

Abbildung 1



(A) 300 μM Etomidat induziert einen Anstieg der [Ca²⁺]_i in DRGs von WT, nicht aber von TRPA1-Knockout-Mäusen. Etomidat, GABA, Senföl (AITC) oder Capsaicin wurden für 30, 30, 20 bzw. 10 s appliziert. Die Abbildung zeigt die gemittelten Antworten±Standardfehler (n=50 Zellen für C57/BL6 bzw. n=616 Zellen für TRPA1-/-).

(B) Etomidat induziert Einwärtsströme in HEK293t-Zellen mit mTRPA1. Zellen wurden bei einem Haltepotential V_h von -60 mV gehalten und Etomidat bis zum Erreichen des Steady-state appliziert. Es wurde nur eine Konzentration pro Zelle getestet.

(C) Die Stromantwort auf Etomidat ist in der Mutante hTRPA1-C621S/C641S/C665S im Vergleich zum WT signifikant verringert (n=13). 100 μM Etomidat wurde bei V_h =-60 mV bis zum Erreichen des Steady-state appliziert.

de (CGRP) aus dem N. ischiadicus bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte bei Normalverteilung mit einem t-Test nach Student, lag keine Normalverteilung vor, so wurde ein Mann-Whitney-U-Test verwendet, $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

Ergebnisse

Die Applikation von 30 μM, 100 μM, 300 μM, 1.000 μM bzw. 2.500 μM Etomidat (Sigma-Aldrich, Taufkirchen) führte zu Einwärtsströmen durch mTRPA1 von (Mittelwert±SEM) 0±0 pA (n=5), 100±27 pA (n=13), 322±33 pA (n=17), 1.182±178 pA (n=15) und 1.134±308 pA (n=6, Abb. 1B). Durch Anpassung der Daten an eine Hill-Funktion ergab sich eine EC₅₀ von 379±55 μM. Entsprechende Experimente mit hTRPA1 zeigten einen biphasischen Verlauf der Stromantworten mit einem EC₅₀-Wert für die erste Sigmoidale von 77±2 μM. TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4 und TRPM8 wurden durch Etomidat nicht aktiviert. Die Stromantwort auf 300 μM Etomidat konnte durch den selektiven TRPA1-Rezeptor-Antagonisten AP-18 (50 μM) gehemmt werden (96,4±3,2 %, n=5). 300 μM Etomidat (klinische Zubereitung: 2 mg/ml=8,2 mM) induzierte einen Anstieg der [Ca²⁺]_i in Senföl- und Capsaicin-sensiblen WT-DRGs, nicht aber in DRGs von TRPA1-Knockout-Mäusen (Abb. 1A). Die durch Etomidat vermittelte Aktivierung von GABA_A-Rezeptoren in DRGs, die für die Aktivierung peripherer sensorischer

Neurone keine Rolle spielt, wurde in diesen Experimenten durch den selektiven GABA_A-Rezeptor-Antagonisten Picrotoxin (100 μM) blockiert. 8 mM Etomidat induzierte eine signifikante CGRP-Ausschüttung aus dem N. ischiadicus von WT-, nicht aber von TRPA1/TRPV1-Knockout-Mäusen. Die Acrolein-insensible Mutante hTRPA1-C621S/C641S/C665S zeigte bei Applikation von 100 μM Etomidat signifikant reduzierte Einwärtsströme im Vergleich zum WT (65±24 pA bzw. 1.709±323 pA; $p < 0,01$, Abb. 1C).

Interpretation

Etomidat ist ein potenter Agonist von TRPA1, führt zur Aktivierung nozizeptiver Neurone und Ausschüttung von CGRP. Die Aktivierung wird durch reaktive Cystein-Reste des Proteins vermittelt. Die Aktivierung von TRPA1 könnte dem Injektionschmerz wässriger Etomidat-Lösung zu Grunde liegen und zu einer Modulation des nozizeptiven Systems führen.

Literatur

1. Matta JA, Cornett PM, Miyares RL, Abe K, Sahibzada N, Ahern GP. PNAS 2008;105: 8784-8789.
2. Fischer MJM, Leffler A, Niedermirtl F, Kistner K, Eberhardt M, Reeh PW, Nau C. J Biol Chem 2010;285:34781-92.
3. Hinman A, Chuang HH, Bautista DM, Julius D. PNAS 2006;103:19564-8.

S. pneumoniae inhibiert Pneumolysin-abhängig purinerge Calcium-Signaltransduktionswege in Alveolarepithelzellen

C. Olotu¹ · M. Kieffmann¹ · A. Mecklenburg¹ ·

S. Hammerschmidt² · A. E. Goetz¹ · R. Kieffmann¹

1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Universität Hamburg

2 Interfakultäres Institut für Genetik und Funktionelle Genomforschung, Universität Greifswald

Korrespondenz:

c.olotu@uke.de

Fragestellung

S. pneumoniae verursacht schwere Pneumonien, einhergehend mit der Ausbildung von Lungenödemen und Atelektasen. Purinrezeptoren können diese Vorgänge über ihre Wirkung am epithelialen Natriumkanal ENaC, der die alveoläre Flüssigkeitsrückresorption reguliert [1], sowie über die Steuerung der Surfactantsekretion beeinflussen. Es werden zwei Gruppen von Purinrezeptoren unterschieden: die Ionenkanal-gekoppelten P2X-Rezeptoren bewirken einen extrazellulären Einstrom von Calcium (Ca^{2+}), die G-Protein gekoppelten P2Y-Rezeptoren vermitteln eine Ca^{2+} -Freisetzung aus intrazellulären Speichern. Es wurde untersucht, ob S.pneumoniae bzw. seine Virulenzfaktoren Pneumolysin und Polysaccharidkapsel die Purinrezeptor-vermittelte Ca^{2+} -Signaltransduktion in Alveolarepithelzellen beeinflussen.

Methodik

Die zelluläre Expression der Purinrezeptor-subtypen auf Alveolarepithelzellen wurde mittels RT-PCR und Western Blot charakterisiert. Funktionell wurden die Purinrezeptor-subtypen mit Hilfe folgender Agonisten untersucht [2]: ATP (10 μ M; P2X, P2Y), UTP (100 μ M; P2Y_{2,4,6}), BzATP (100 μ M; P2X₇, P2Y₁₁) α , β -MeATP (100 μ M; P2X), Adenosin (100 μ M, P1). Zur Überprüfung des extrazellulären

Ca^{2+} -Einstroms wurde ATP unter Ca^{2+} -freien Bedingungen appliziert, hingegen wurde zur Untersuchung der internen Ca^{2+} -Freisetzung ATP nach Vorbehandlung mit Thapsigargin (5 μ M), einem Inhibitor der Ca^{2+} -Pumpe des endoplasmatischen Retikulums, zugegeben. Durch einen siRNA-knockdown konnte der für das purinerge Calciumsignal verantwortliche Rezeptor identifiziert werden. Alveolarepithelzellen Typ I (AT I, R3/1 [3]) und Typ II (AT II, A549) wurden mit 100 CFU / Zelle S. pneumoniae D39 (Wildtyp), D39Δcps (kapselfeinfizierte Variante), sowie D39Δply (pneumolysindefizierte Variante) 2 h inkubiert. Die Bestimmung der zytosolischen Ca^{2+} -Konzentration ($[Ca^{2+}]_{zyt}$) erfolgte durch Ratio-Imaging von Fura-2-beladenen Zellen. Die Daten sind als MW \pm SE angegeben und mittels Varianzanalyse nach Dunn's und Signed Rank-Test auf Signifikanz geprüft.

Ergebnisse

In AT I erfolgte der Nachweis der Purinrezeptor-subtypen P2Y₁, P2Y₂ und P2Y₆ auf mRNA-, sowie von P2Y₂ und P2Y₆ auf Proteinebene. In AT II konnten P2Y₂ und P2Y₆ Rezeptoren auf mRNA- und Proteinebene nachgewiesen werden. Die Stimulation mit ATP führte bei AT I und II zu einem Anstieg von $[Ca^{2+}]_{zyt}$ (AT I: Baseline (BL) 0,3 \pm 0,06 μ M, ATP 95 \pm 27 μ M, n=6; AT II: BL 0,1 \pm 0,01 μ M, ATP 6,7 \pm 5 μ M, n=9, p<0,05). Auch in Ca^{2+} -freier Umgebung bewirkte ATP in beiden Zelltypen einen Anstieg von $[Ca^{2+}]_{zyt}$, der sich nicht von dem in unter Kontrollbedingungen durchgeföhrten Versuchen unterschied. Nach vorheriger Behandlung der Zellen mit Thapsigargin in Ca^{2+} -haltiger Umgebung blieb der ATP-vermittelte $[Ca^{2+}]_{zyt}$ -Anstieg aus. α , β -MeATP und BzATP erhöhten $[Ca^{2+}]_{zyt}$ weder bei AT I noch II im Vergleich zum Ausgangsniveau, ebenso verhielt es sich mit Adenosin. Die vorherige Inkubation der AT I und II mit S.pneumoniae D39Δcps blockierte den ATP-vermittelten $[Ca^{2+}]_{zyt}$ -Anstieg (AT I: BL 0,2 \pm 0,02 μ M, ATP 0,3 \pm 0,08 μ M, n=6; AT II: BL 0,1 \pm 0,01 μ M, ATP 0,2 \pm 0,05 μ M, n=6), gleiches konnte

auch nach der Inkubation mit S.pneumoniae D39 beobachtet werden. UTP führte ebenfalls zu keiner Calciumantwort mehr. Dabei unterschieden sich D39 und D39Δcps nicht. Nach Inkubation mit D39Δply konnte mit ATP ein $[Ca^{2+}]_{zyt}$ -Anstieg im Vergleich zum Ausgangsniveau ausgelöst werden (AT I: BL 0,1 \pm 0,04 μ M, ATP 26 \pm 25 μ M, n=5; AT II: BL 0,08 \pm 0,01 μ M, ATP 0,2 \pm 0,08 μ M, n=7, p<0,05). Isoliertes Pneumolysin veränderte den $[Ca^{2+}]_{zyt}$ -Anstieg in AT I und II nach ATP im Vergleich zu Kontrollbedingungen nicht.

Interpretation

Nach Typisierung der Purinrezeptorexpression auf Alveolarepithelzellen kommen wir zu dem Schluss, dass der Ca^{2+} -Anstieg auf ATP in AT I und II durch P2Y₂- und/oder P2Y₆-Rezeptoren vermittelt wird. Gleichzeitig konnten wir erstmals nachweisen, dass S. pneumoniae purinerge Signaltransduktionswege in Alveolarepithelzellen Typ I und II direkt inhibiert. Dieser Effekt tritt bei S. pneumoniae mit und ohne Polysaccharidkapsel gleichermaßen auf, ist aber an die Anwesenheit von Pneumolysin gebunden. Dabei führt Pneumolysin isoliert nicht zu einer Inhibition des Ca^{2+} -Signals, sodass an dieser Interaktion noch weitere bakterielle Strukturen beteiligt sein müssen. Inwiefern S.pneumoniae und Pneumolysin über eine Interaktion mit purinergen Signaltransduktionswegen an der Entstehung von Lungenödem und Atelektasen im Rahmen einer Pneumonie beteiligt sind und welche therapeutischen Ansätze sich daraus ergeben, wird Gegenstand zukünftiger Experimente sein.

Literatur

1. O'Mullane LM, et al. Purinergic regulation of the epithelial Na^+ channel. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009;36(10):1016-1022.
2. Burnstock G. Purine and pyrimidine receptors. *Cell Mol Life Sci* 2007;64:1471-1483.
3. Koslowski R, et al. A new rat type I-like alveolar epithelial cell line R3/1: bleomycin effects on caveolin expression. *Histochem Cell Biol* 2004;121(6):509-519.

Reduktion des Reperfusionsödems nach Transplantation durch VEGF-A-Reduktion mittels Deguelin in einem orthotopen Rattenmodell der Lungentransplantation

P. Paulus · P. Ockelmann · K. Zacharowski

Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Klinikum und Fachbereich Medizin, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/M.

Korrespondenz:

Paulus@med.uni-frankfurt.de

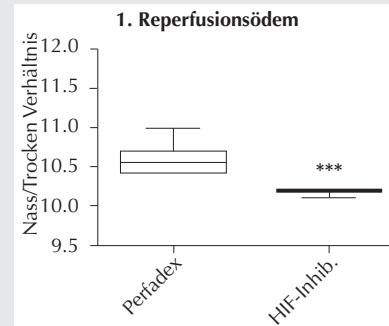
Fragestellung

Das frühe Lungentransplantatversagen ist durch das Auftreten eines Gewebsödems, aufgrund einer Schädigung der Endothelkohärenz charakterisiert. Hierbei nimmt der durch den Transkriptionsfaktor Hypoxia Inducible Factor (HIF)-1 induzierte Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-A eine zentrale Stellung ein. Generell kann man sagen, dass HIF-1 eine Vielzahl an Genen induziert, welche das zelluläre Milieu und die Grundversorgung aufrechterhalten sollen. Einige Regulierungsmechanismen sind jedoch unter den kontrollierten Bedingungen der Transplantation nicht erwünscht und hier deutet alles darauf hin, dass vor allem die durch HIF-1 hochregulierte VEGF-A-Expression sich negativ auf das Outcome nach Transplantationen auswirken kann [1-3]. Wir untersuchten in der vorliegenden Arbeit den Effekt einer VEGF-A-Reduktion in einem orthotopen Modell der Lungentransplantation bei der Ratte.

Methodik

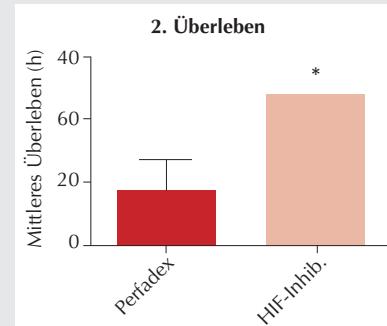
Für die durch die zuständige Behörde genehmigten Tierversuche ergab die Poweranalyse eine Gruppengröße von $n=12$. Eine statistische Evaluierung mittels ANOVA und Student's t-Test bei Erreichen von 50 % des Kontingents wurde durchgeführt. Für die Versuche wurden 225-250g schwere männliche Sprague-Dawley-Ratten verwendet. Die Wirkung des HIF-1-Inhibitors Deguelin wurde in einem Pilotversuch *in vivo* überprüft. Hierfür wurden Ratten, mit und ohne Deguelin-Vorbehandlung (4 mg/kg KG für 3 Tage; $n=6$ /Gruppe) die Lungen entnommen und anschließend 1 h bei 37°C unter Ischämie belassen. Die Genexpression wurde mittels RT-PCR überprüft und mit nativen Lungen verglichen. Um zu zeigen, dass eine orale Deguelin-Gabe auch *in vivo* ein Reperfusionsödem verhindert und somit einen Überlebensvorteil bietet, wurde das Modell der orthotopen unilateralen Lungentransplantation bei der Ratte verwendet. Hierbei wurde die intubierte und druckkontrolliert-beatmete (Isoflurane 1,5 Vol%, Pmax=25 mbar, AF=80/min) Ratte links-an-

Abbildung 1



Nach erfolgter Transplantation war das Ödem signifikant niedriger in Deguelin behandelten Tieren. ($n=6$ /Gruppe; $p=0,0008$).

Abbildung 2



Dies führte zu einem signifikanten Überlebensvorteil für die Tiere unter Deguelin Behandlung ($n=6$ /Gruppe; $p=0,01$). Abb: MW+SEM.

terolateraler thorakotomiert und die Lunge freigelegt. Nach selektiver Ligatur von Arterie, Bronchus und Vene wurden diese lungennah inzidiert. Die vorbereitete und entsprechend vorbehandelte Spenderlunge wurde dann mittels „cuff-sleeve“-Technik anastomosiert. Danach wurden sukzessive Venen-, Arterien- und Bronchusligatur eröffnet und bei korrekten Perfusions- und Ventilationsverhältnissen die Empfängerlunge entfernt und der Thorax schichtweise verschlossen. Die Nachbeobachtung ging über 48 h nach Transplantation. Deguelin wurde den Tieren noch 2 Tage nach der Transplantation verabreicht. Die Lungen der Deguelin-Gruppe ($n=6$) wurden mittels Ringerlösung perfundiert. Jene der Perfadex-Gruppe ($n=6$) mittels der Standard-Perfusionslösung Perfadex.

Ergebnisse

Durch die Ischämie wird das durch HIF-1 induzierte Gen VEGF-A gegenüber der Basisexpression von $125,00 \pm 15,36$ auf $272,30 \pm 56,25$ signifikant hochreguliert ($p=0,0338$). Oral verabreichter HIF-1-Inhibitor Deguelin unterdrückt erfolgreich die Hochregulation von VEGF-A-mRNA ($86,00 \pm 22,38$; $p=0,0042$) während der warmen Ischämie. Im Transplantationsmodell zeigte sich, dass Deguelin das Reperfusionsödem alleine signifikant erniedrigen kann (Abb.1). Tiere welche Lungen erhielten die mit Deguelin vor und nach Transplantation behandelt wurden, zeigten einen signifikant niedrigen Wassergehalt ($10,19 \pm 0,01$) gegenüber Tieren welche Lungen erhielten die mittels Perfadex ($10,59 \pm 0,08$; $p=0,0008$) perfundiert wurden. Im Beobachtungsverlauf, konnten wir zeigen, dass die Tiere mit Deguelin einen deutlichen Überlebensvorteil innerhalb der ersten 48 Stunden nach Transplantation haben. Das mittlere Überleben der Deguelin-behandelten Tiere betrug mit 100 % Überlebenden

$48,00 \pm 0,00$ Stunden und jenes der Perfadex-behandelten Tiere mit 33,3 % Überlebenden $17,42 \pm 9,67$ Stunden und war somit signifikant unterschiedlich ($p=0,01$) (Abb.2).

Interpretation

Der Transkriptionsfaktor HIF-1 bewirkt unter Ischämiebedingungen die Induktion einer Vielzahl an Genen, unter anderem VEGF-A, welches die Permeabilität von Blutgefäßen erhöht. Durch die Blockade VEGF-A wird die Entstehung eines Reperfusionsödems in der Lunge nach Transplantation verhindert. Durch den verminderten Wassergehalt in der transplantierten Lunge, ist die Organfunktion verbessert und bietet somit einen Überlebensvorteil.

Literatur

1. Aharinejad S, et al. Donor myocardial HIF-1alpha is an independent predictor of cardiac allograft dysfunction: a 7-year prospective, exploratory study. *Am J Transplant* 2007;7:2012-9.
2. Krenn K, et al. Vascular endothelial growth factor increases pulmonary vascular permeability in cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007;1:35-41.
3. Abraham D, et al. Upregulated hypoxia-inducible factor-1 DNA binding activity to the vascular endothelial growth factor-A promoter mediates increased vascular permeability in donor lung grafts. *Ann Thorac Surg* 2004;77:1751-5.

Differenzierte Effekte der Kardoprotektion mit Isofluran und Xenon auf das Remodelling in einem chronischen Infarktmodell bei der Ratte

A. Röhl · C. Bleilevens · S. Funcke,
A. Goetzenich · R. Rossaint · M. Hein

Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum
Aachen, RWTH Aachen

Korrespondenz:

aroehl@ukaachen.de

Fragestellung

Die Langzeitprognose sowie der Grad der Herzinsuffizienz nach einem Myokardinfarkt sind abhängig von dem Ausmaß des initialen myokardialen Schadens und den davon abhängigen pathologischen Remodelingvorgängen. Für die akute Phase konnte nach-

gewiesen werden, dass Xenon und Isofluran den initialen Myokardschaden nach einer transienten Ischämie sowie die resultierende Funktionsstörung reduzieren [1]. Unbekannt ist jedoch, wie sich diese myokardprotektiven Effekte im Langzeitverlauf auf das kardiale Remodelling und die Funktion auswirken.

Methodik

Mit der Zustimmung der örtlichen Tierschutzkommission wurden 46 männliche Sprague-Dawley-Ratten (350-420 g) unter Ketamin-S-Narkose (200 mg/kg i.p.) untersucht. Nach dem Vorlegen einer Ligatur um den R. interventricularis anterior der linken Koronararterie, erfolgte die randomisierte Zuordnung der Tiere zu den vier Versuchsgruppen vor Beginn der 1-stündigen Ischämie.

Die Kontroll- (n=12) und die Shamgruppe (n=10) erhielten weiterhin bei Bedarf 50 mg/kg S-Ketamin i.p., während die Isofluran-

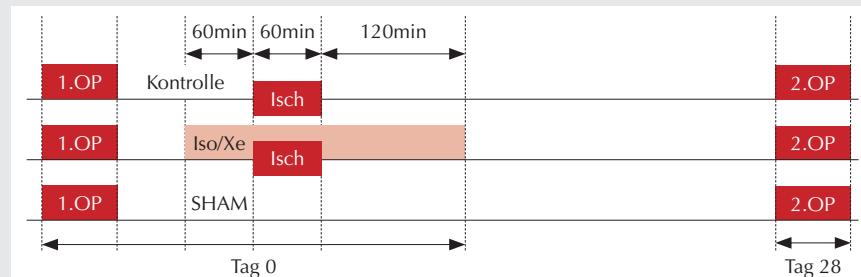
(n=12) und Xenongruppe (n=12) mit jeweils 0,43 MAC (entsprechend 0,6 bzw. 70 Vol%) des Gases beatmet wurden. Das Ausmaß des initialen Myokardschadens wurde anhand der Messung von Troponin T (TnT) aus dem Serum und echokardiographischer Messung der radialen globalen Deformations- (Strain) Rate (GSr) bestimmt [2] (Abb.1, Tag 0). Vier Wochen nach Induktion des Myokardinfarktes wurde in erneuter Ketamin-Narkose die Myokardfunktion anhand von Druck-Volumen-Diagrammen (Conductance-Katheter) und dem Brain-Natriuretischen-Peptid (BNP)-Spiegel im Serum beschrieben. Das kardiale Remodelling wurde mit Hilfe des Herzgewichtes bezogen auf die Tibialänge, dem Grad der Hypertrophie (posteriore Wanddicke) und Dilatation (Verhältnis von Cavum zu Muskelquerschnittsfläche), dem Ausmaß der Fibrose in der Perinfarktregion (Picosirus-

Red-Färbung, Kollagen-III-Expression) und dem Verhältnis der Expression von α -MHC (Myosin Heavy Chain) zu β -MHC mittels rt-PCR quantifiziert (Abb.2, Tag 28).

Ergebnisse

Der initiale Myokardschaden wurde durch Isofluran und Xenon gleichermaßen im Verhältnis zur unbehandelten Kontrollgruppe reduziert. Die Troponin-Serumspiegel wurden um 38 % in der Isofluran- bzw. um 31 % in der Xenongruppe reduziert. Ebenso konnte echokardiographisch eine geringere Beeinträchtigung der globalen linksventrikulären Funktion (GSr) gemessen werden. Diese war auch nach vier Wochen anhand niedrigerer BNP-Werte in der Isofluran- ($61,9 \pm 9$ pg/ml) und Xenongruppe ($63,1 \pm 11,4$ pg/ml) im Vergleich zur Kontrollgruppe ($91,6 \pm 25,6$ pg/ml) nachweisbar. Jedoch zeigte sich jetzt eine bessere Ejektionsfraktion (Conductance-Katheter) in der Xenon- im Vergleich zur Isofluran-Gruppe (Abb. 2B). Nach Isofluran-Narkose konnte ein signifikant geringeres Herzgewicht (Abb. 2A) gemessen werden. Erstaunlicherweise konnte keine Reduktion der Größe der Infarktnarbe bzw. des Ausmaßes der Fibrose in der Perinfarktregion in den Therapiegruppen nachgewiesen werden, auch wenn eine Reduktion der Kollagen-III-Expression zu beobachten

Abbildung 1



Versuchsablauf: Nach Instrumentierung (1. OP) am Tag 0 wurde 60 min vor Ischämie (Isch) bis zum Ende der Reperfusion (120 min) in den Therapiegruppen zusätzlich Xenon oder Isofluran appliziert. Als Vergleich dienten eine Kontroll- und SHAM-Gruppe. Am Tag 28 erfolgte nach Messung der kardialen Funktion (Conductance-Katheter) die Entnahme des Herzen.

war. Interessanterweise verhindert Xenon besser als Isofluran den Switch der MHC-Expression von der α - zur β -Form (Abb.2C).

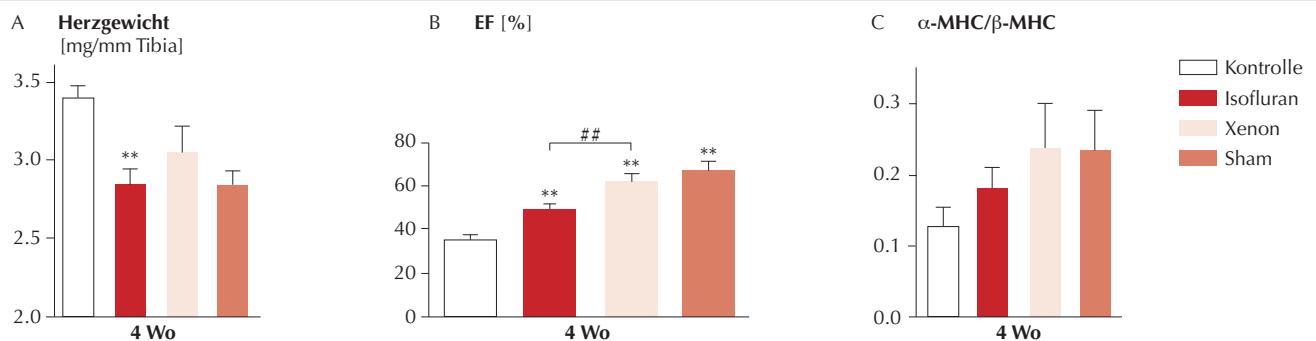
Interpretation

Erstmals konnte in einem chronischen myokardialen Ischämie-Reperfusionmodell an der Ratte gezeigt werden, dass Isofluran und Xenon das Remodelling nach vier Wochen positiv beeinflussen. Die Effekte von Xenon sind dabei günstiger als die von Isofluran.

Literatur

- Hein M, et al. Xenon and isoflurane improved biventricular function during right ventricular ischemia and reperfusion. *Acta Anaesthesiol Scand* 2010;54:470-8.
- Treguer F, et al. Speckle tracking imaging improves *in vivo* assessment of EPO-induced myocardial salvage early after ischemia-reperfusion in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;298:H1679-86.

Abbildung 2



A) Herzgewicht bezogen auf die Tibialänge, B) Ejektionsfraktion (EF) und C) Verhältnis von α - zu β -MHC
(** p<0,01, ***p<0,005 vs Kontrolle, #p<0,001 vs Isofluran, 1-way Anova, Bonferroni post-hoc Test).

Hypoxische Genregulation in humanen mononukleären Zellen bei Sepsis

S. T. Schäfer^{1,2} · S. Frede² · P. Roshanger¹ · A. Bick¹ · J. Fandrey² · J. Peters¹ · M. Adamzik¹
 1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin,
 2 Institut für Physiologie, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen

Korrespondenz:
 simon.schaefer@uni-due.de

Fragestellung

Der Hypoxie-induzierbare Faktor (HIF), bestehend aus hypoxie-induzierbarer α - und konstitutiver β -Untereinheit, spielt bei der Adaptation an Hypoxie eine Schlüsselrolle [1]. Während es eine HIF-abhängige Änderung der Genexpression mononukleären Zellen ermöglicht, ihre Abwehrfunktion unter regionaler Hypoxie auszuüben [1], beeinflusst auch Lipopolysaccharid, Hypoxie-unabhängig, die HIF-Expression [2,3]. Unklar ist jedoch, ob mononukleäre Zellen von Patienten mit Sepsis eine HIF-Induktion aufweisen. Wir testeten die Hypothesen, dass 1) Patienten mit Sepsis eine Induktion der HIF-1 α -mRNA-Expression aufweisen und 2) diese mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert.

Abbildung 1a und 1b

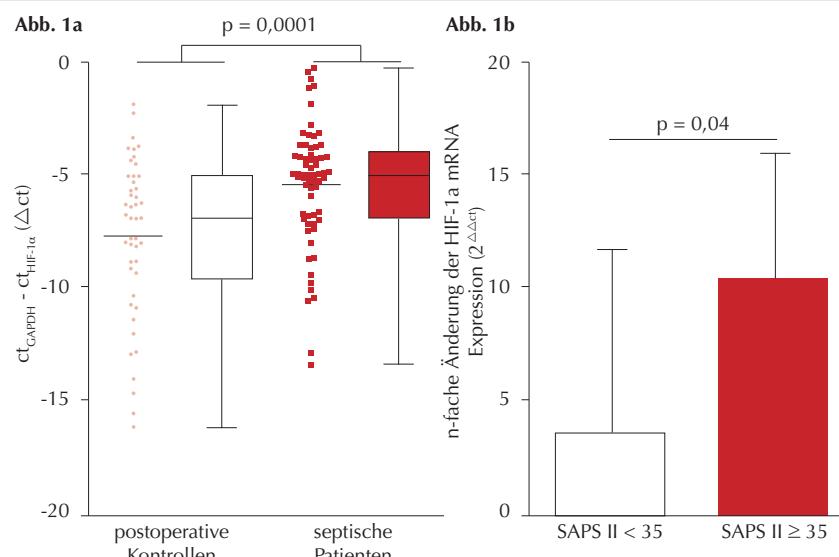


Abb. 1a: Δct -Werte der HIF-1 α mRNA-Expression bei septischen Patienten und postoperativen Kontrollen normiert auf Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase (GAPDH). Individuelle Werte und Boxplots.

Abb. 1b: N-fache Induktion der HIF-1 α mRNA-Expression bei septischen Patienten in Abhängigkeit vom SAPS II. Mittelwerte und Standardabweichung.

Methodik

118 Patienten (70 mit Sepsis, 48 postoperative Kontrollen) wurden nach Billigung durch die Ethikkommission prospektiv eingeschlossen. Nach Extraktion von Gesamt-RNA aus mononukleären Zellen wurde die mRNA-Expression von HIF-1 α sowie Adrenomedullin (ein HIF-Zielgen) bestimmt (real-time-PCR) und auf die Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase-Expression normiert. Patientencharakteristika, klinische sowie laborchemische Variablen und Schweregrad der Erkrankung (Simplified Acute Physiology Score II, SAPS II) wurden dokumentiert. Statistik: Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$.

Ergebnisse

Die HIF-1 α -mRNA-Expression war bei Sepsispatienten im Vergleich zu postoperativen Kontrollen 4,6-fach erhöht ($p=0,0001$, Abb. 1a) und ging mit einer 2,1-fachen Expressionssteigerung ($p=0,04$) des HIF-Zielgens Adrenomedullin einher. Patienten mit schwerer Sepsis (SAPS ≥ 35) zeigten eine signifikant höhere HIF-1 α -mRNA-Expression als Patienten mit moderater Sepsis (SAPS<35; $p=0,04$, Abb. 1b). Es bestand keine Korrelation ($p=0,7$) zwischen HIF-1 α -mRNA-Expression und Letalität. Sepsis- und Kontrollpatienten unterschieden sich nicht hinsichtlich Patientencharakteristika (Tab.1) oder arteriellem Sauerstoffpartialdruck (88 mmHg ± 25 vs. 83 ± 20 ; $p=0,12$).

Interpretation

Wir konnten somit erstmals zeigen, dass mononukleäre Zellen von Patienten mit Sepsis eine HIF-1 α -mRNA-Induktion aufweisen. Diese beeinflusste auch die nachgeschaltete Genregulation, nämlich von Adrenomedullin, einem vasodilatatorisch wirkenden Protein aus der HIF-Zielengruppe. Des Weiteren bestand ein Zusammenhang zwischen HIF-Expression und Sepsis-Schweregrad, nicht jedoch zwischen HIF-Expression und Letalität. Diese Daten zeigen trotz systemischer Normoxie eine Aktivierung des „hypoxic signalling“ und der HIF-Signalkaskade in mononukleären Zellen bei Sepsis, mutmaßlich bedingt durch inflammatorische Stimuli. Ob diese HIF-Aktivierung bei Sepsis funktionelle und/oder zellprotektive Wirkungen zu entfalten vermag bedarf der Klärung.

Tabelle 1

Daten von 70 Sepsispatienten und 48 postoperativen Kontrollen. Mittelwerte (\pm Standardabweichung) bzw. Prozentangaben.

Patientencharakteristika	Sepsispatienten	Postoperative Kontrollpatienten	p-Werte
Alter (Jahre)	58,6 (15,8)	58,5 (16,3)	0,940
Körpergröße (cm)	173,3 (11,0)	171,2 (8,8)	0,285
Gewicht (kg)	80,1 (17,8)	76,0 (15,1)	0,223
Frauen (%)	31,4	50,0	0,046
Körpertemperatur (°C)	37,6 (1,0)	37,3 (0,7)	0,187
Herzfrequenz (min $^{-1}$)	86,7 (20,0)	86,5 (21,5)	0,964
Systolischer arterieller Druck (mmHg)	121,6 (17,1)	126,1 (20,0)	0,224
Diastolischer arterieller Druck (mmHg)	59,9 (11,4)	60,8 (12,9)	0,709
pO ₂ arteriell (mmHg)	88,3 (25,1)	83,4 (20,4)	0,121
Erythrozyten (10 ⁶ μ l $^{-1}$)	3,4 (0,4)	3,6 (0,5)	0,111
Hämoglobinkonzentration (g l $^{-1}$)	101 (14)	106 (13)	0,055
Leukozytenkonzentration (10 ⁹ l $^{-1}$)	16,5 (10,1)	11,0 (3,3)	0,001
Procalcitoninkonzentration (μ g l $^{-1}$)	20,6 (55,9)	2,5 (3,1)	0,014
CRP-Konzentration (g l $^{-1}$)	0,15 (0,12)	0,11 (0,06)	0,016
SAPS II	41,6 (16,4)	21,3 (10,2)	0,001
SOFA Score	11,4 (6,4)	3,2 (2,8)	0,001
PEEP (mbar)	9,2 (4,9)	6,3 (2,0)	0,008
FiO ₂ ^a	0,36 (0,15)	0,32 (0,23)	0,003
Krankenhausaufenthalt (d)	34,1 (23,5)	17,9 (12,8)	0,001
30 Tage Letalität (%)	31,4	2,1	0,001

CRB = C-reaktives Protein

FiO₂ = inspiratorischer Sauerstoffkonzentration

PEEP = positiver endexpiratorischer Druck

pO₂ = Sauerstoffpartialdruck

SAPS II = Simplified Acute Physiology Score II

SOFA Score = Sequential Organ Failure Assessment Score

^an = 81 (62 Sepsispatienten, 19 postoperative Kontrollen)

Literatur

1. Frede S, Berchner-Pfannschmidt U, Fandrey J. Regulation of hypoxia inducible factors during inflammation. Methods Enzymol 2007;435:403-419.
2. Peysonnaux C, Cejudo-Martin P, Doedens A, Zinkernagel AS, Johnson RS, Nizet V. Cutting edge: Essential role of hypoxia inducible factor-1alpha in development of lipopolysaccharide-induced sepsis. J Immunol 2007;178:7516-7519.
3. Frede S, Stockmann C, Freitag P, Fandrey J. Bacterial lipopolysaccharide induces HIF-1 activation in human monocytes via p44/42 MAPK and NF- κ B. Biochem J 2006;396:517-527.

Das CO-'releasing molecule' ALF-186 wirkt *in vitro* und *in vivo* neuroprotektiv

N. Schallner¹ · L. Otterbein² · C. Romão³ · S. Rodrigues³ · T. Loop¹ · U. Göbel¹

1 Anästhesiologische Universitätsklinik, Universitätsklinikum Freiburg, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

2 Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, USA

3 Alfama Lda., Porto Salvo, Portugal

Korrespondenz:

nils.schallner@uniklinik-freiburg.de

Fragestellung

Kohlenmonoxid (CO) zeigt *in vitro* und *in vivo* neuroprotektive Eigenschaften [1,2]. Die CO-'releasing molecules' (CORMs) besitzen durch Unterdrückung der Mikroglia-vermittelten Neuroinflammation neuroprotektive Wirkung [3]. Ziel der Untersuchung war die Klärung des molekularen Mechanismus dieser CORM-vermittelten neuronalen Protektion. Es wurde das wasserlösliche CORM ALF-186 mit Neuroblastomzellen inkubiert, in der Annahme, dass dies 1. vor induzierter Apoptose schützt und dass 2. bei retinalen Ganglienzellen der Ratte *in vivo* durch ALF-186 ein Ischämie-Reperfusions-Schaden (I/R) inhibiert wird.

Methodik

Neuroblastomzellen (SH-SY5Y, ATCC, Nr. CRL-2266) wurden nach Kultivierung un-

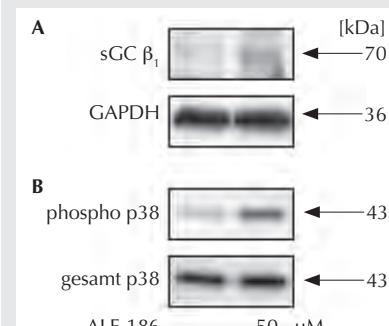
ter Standardbedingungen mit ALF-186 (10-100 μ M) oder inaktiviertem ALF-186 (iALF-186) inkubiert. Nach 30min erfolgte die Induktion der Apoptose durch Inkubation mit Rotenon (100 nM, 4 h). Anschließend wurde die Apoptose mittels Durchflusszytometrie (Annexin V positive Zellen, mitochondriales Membranpotential) und Procasparse-3-Spaltung im Western Blot analysiert. Die Protein-Expression der löslichen Guanylatcyclase (sGC) und die Phosphorylierung der Mitogen-aktivierten Proteinkinase (MAPK) p38 wurde mit Western-Blot-Technik untersucht. Nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium wurden für die tierexperimentellen Untersuchungen retinale Ganglienzellen von Sprague-Dawley-Ratten (280-350 g) unter Isoflurannarkose durch retrograde Anfärbung mit 3 % Fluorogold (FG)-Lösung sieben Tage vor der Ischämie markiert. Nach intraperitonealer Anästhesie mit Ketamin und Xylazin erfolgte 30 min vor der retinalen Ischämie die intravenöse Applikation von ALF-186 (10 mg/kg KG in PBS; Kontroll-Tiere: PBS, je n=6, m:w 1:1). Die retinale Ischämie wurde durch Punktation der Vorderkammer des linken Auges mit einer 30G Kanüle und Anlage eines hydrostatischen Drucks von 120 mmHg etabliert und für 1 h aufrechterhalten, gefolgt von der mikroskopisch kontrollierten Reperfusion. Das kontralaterale Auge diente als Kontroll-Augen. Sieben Tage nach dem I/R-Schaden erfolgte *ex vivo* die fluoreszenzmikroskopische Quantifizierung der FG-gefärbten retinalen Ganglienzellen im Flachpräparat. Die Messwerte

wurden statistisch mit einer Varianzanalyse (ANOVA und Holm-Sidak-Test; Signifikanzniveau $p < 0,05$) verglichen.

Ergebnisse

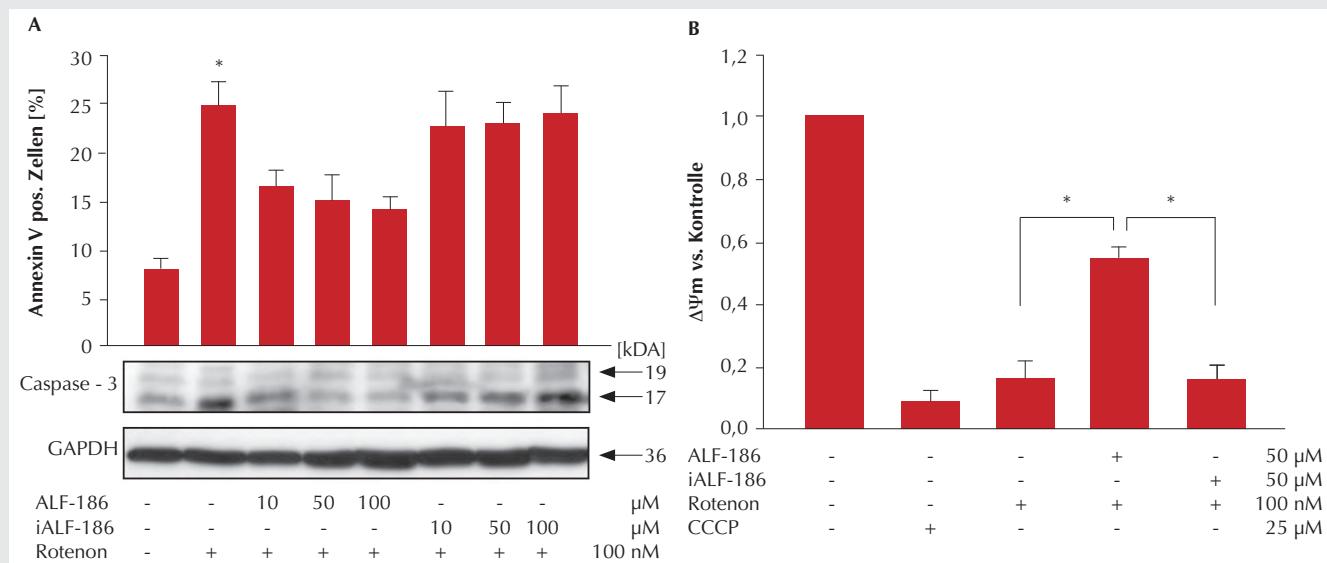
ALF-186 hemmte die Rotenon-induzierte Apoptose (Abb. 1), gemessen an einer geringeren Anzahl Annexin-V-positiver Zellen (A), Hemmung der Procasparse-3-Spaltung (A) und Inhibition der mitochondrialen Depolarisation (B). iALF-186 zeigte keine inhibitorische Wirkung auf die Rotenon-induzierten Apoptose (Abb. 1 A und B). ALF-186 führte zu einer Protein-Expression der sGC β_1 -Untereinheit (Abb. 2 A) und zu einer Phosphorylierung der MAPK p38 (Abb. 2 B). Eine Blockade der

Abbildung 2



A: sGC β_1 Protein-Expression;
B: p38 MAPK Phosphorylierung.

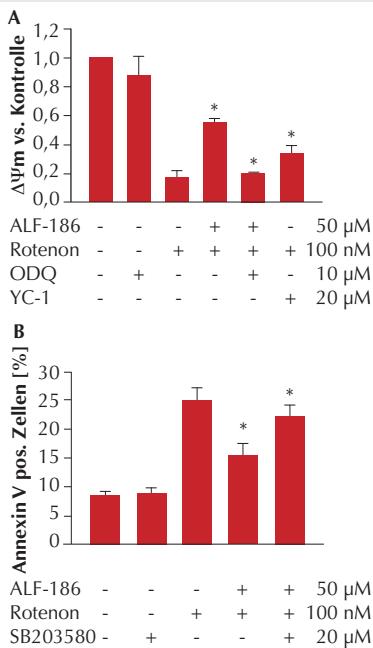
Abbildung 1



A: Annexin V positive Zellen (Mittelwert \pm Standardabweichung, n=6; * $p < 0,001$ Rotenon vs. ALF-186 10, 50, 100 μ M + Rotenon) und Caspase-3 Western Blot.

B: Mitochondriales Membranpotential (Mittelwert \pm Standardabweichung, n=6; * $p < 0,05$ Rotenon vs. ALF-186 + Rotenon und ALF-186 + Rotenon vs. iALF + Rotenon); iALF-186 = inaktiviertes ALF-186; CCCP = carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone.

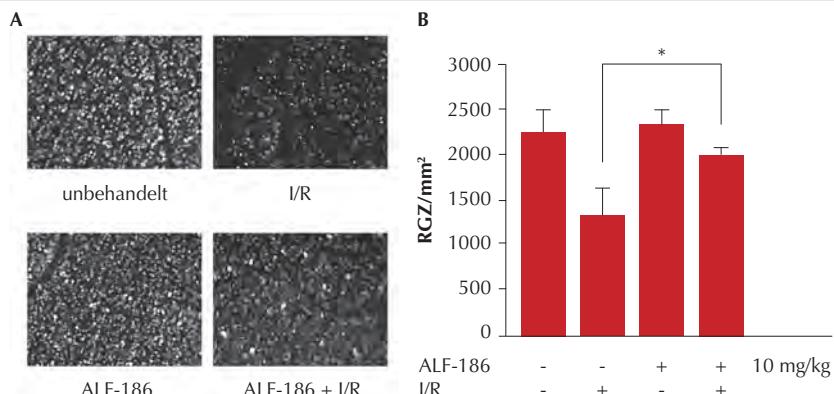
Abbildung 3



A: Mitochondriales Membranpotential (Mittelwert \pm Standardabweichung, n=6, *p<0,05 Rotenon vs. ALF-186 + Rotenon und vs. YC-1 + Rotenon, ALF-186 + Rotenon vs. ODQ + ALF-186 + Rotenon).

B: Annexin V positive Zellen (Mittelwert \pm Standardabweichung, n=6, * p <0,001
Rotenon vs. ALF-186 + Rotenon und
ALF-186 + Rotenon vs. SB203580 + ALF-186
+ Rotenon).

Abbildung 4



Exemplarische Einzelaufnahmen (**A**) und Quantifizierung (**B**) der FG-markierten retinalen Ganglienzellen in der Fluoreszenz-Mikroskopie. Gesamt n=6 Tiere pro Gruppe, 12 systematische Einzelaufnahmen pro Retina; Quantifizierung als retinale Ganglienzellen (RGZ) pro mm²; Mittelwert \pm Standardabweichung, * $p<0,001$ I/R vs. ALF-186 + I/R.

sGC (ODQ, 10µM, Abb.3 A) oder von p38 (SB203580, 20µM, Abb.3 B) hatte eine Aufhebung des ALF-186-vermittelten Schutz vor Apoptose zur Folge. Der sGC-Induktor YC-1 (20 µM) zeigte einen antiapoptotischen Effekt (Abb. 3 A). Die ALF-186-Behandlung *in vivo* vor dem I/R-Schaden bewirkte einen signifikant geringeren Untergang retinaler Ganglienzellen (Abb.4 A und B).

Interpretation

Das CORM ALF-186 wirkt durch den Schutz vor induzierter Apoptose zytoprotektiv auf

SH-SY5Y-Neuroblastomzellen. Die protektiven Wirkungen von ALF-186 werden über den sGC-Signaltransduktionsweg und die Aktivierung der MAPK p38 vermittelt. Darüber hinaus schützt ALF-186 *in vivo* retinale Ganglionzellen der Ratte vor einem I/R-Schaden.

Literatur

1. J Neurochem 2008;107:375-84.
 2. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010;51:3784-91.
 3. J Pharmacol Exp Ther 2006;318:1315-22.

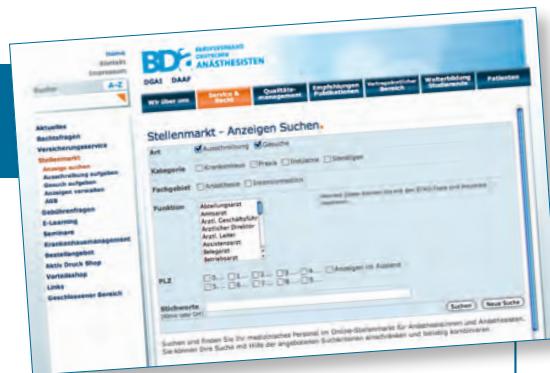


Suchen Sie gerade einen neuen Mitarbeiter oder Mitarbeiterin für Ihre Abteilung?

Möchten Sie sich neu auf dem Arbeitsmarkt orientieren?

Unter dem Stellenmarkt (www.bda.de) können Mitglieder kostenlos Ihre Personalausschreibung einstellen oder auch ihr Stellengesuch aufgeben. Alles was Sie hierzu benötigen, ist Ihr Nutzerzugang für Mitglieder des geschlossenen Bereiches.

Auskünfte: S. Peinlich · Tel.: 0911 93378-23 · E-Mail: speinlich@bda-ev.de



BDA-STELLENMARKT

Einfluss cholinriger Substanzen auf die intestinale Dysfunktion, die Zytokinantwort von IL-6 / IL-10 und die Sterblichkeit bei der septischen Ratte

F. S. Schenkhoff · L. G. Fischer · H. Freise

Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Münster, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

Korrespondenz:

felix.schenkhoff@web.de

Fragestellung

Die Stimulation des nikotinergen $\alpha 7$ -Acetylcholinrezeptors ($\alpha 7$ -AchR) über vagale Efferenzen reguliert inflammatorische Reaktionen [1]. Der Einfluss der cholinergen Immunregulation auf die intestinale Dysfunktion in der Sepsis ist unbekannt. Diese Studie beleuchtet die Effekte unspezifischer und spezifischer $\alpha 7$ -AchR-Stimulation auf die intestinale Schädigung, die Immunreaktion und das Überleben in der Ratten-Sepsis.

Tabelle 1

Mukosale Mikrozirkulation nach 24 h Sepsis.

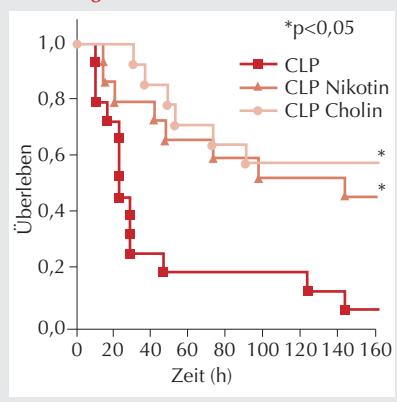
§ p<0,05 vs. Sham	Sham	CLP	CLP Nikotin	CLP Cholin
ZKF total (μm^2)	1.175,0±70,3	1.672,3±90,5 §	1.428,7±110,5 §	1.531,6±148,1 §
ZKF cont. (μm^2)	1.225,5±80,0	1.850,6±131,6 §	1.533,8±131,6 §	1.626,0±151,9 §
V mukosal ($\mu\text{m/s}$)	1.193,1±136,4	719,3±130,4 §	973,6±173,2	1.024,4±54,2

Methodik

Nach Genehmigung durch die Tierschutzkommission wurde die Sepsis bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten durch coecale Ligatur und Punktions (CLP) induziert. Alle Tiere erhielten als Basistherapie 1ml/100g/h Sterofundin Iso, 0,4 $\mu\text{g}/100\text{g/h}$ Fentanyl sowie eine einmalige Gabe von 30 mg/kg Imipenem/Cilastin. Kontrolltiere wurden scheinoperiert. Die unspezifische nikotinerge Stimulation erfolgte mit 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Nikotin i.p., die spezifische $\alpha 7$ -AchR-Stimulation erfolgte mit 90 mg/kg Cholin i.p. [2]. Zunächst wurde in den Gruppen CLP, CLP Nikotin und CLP Cholin (je n=15) die Effektivität

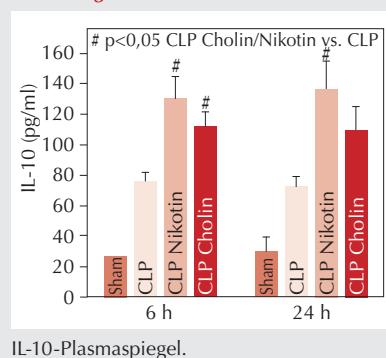
der unspezifischen und spezifischen $\alpha 7$ -AchR-Stimulation in einer 7-Tages-Überlebensstudie untersucht. Danach wurden die Tiere randomisiert und geblendet den folgenden Gruppen zugeteilt: I Sham, II Sham Nikotin, III Sham Cholin, IV CLP, V CLP Nikotin, VI CLP Cholin. 24 h nach Sepsisinduktion erfolgte eine Fluoreszenzmikroskopie der Ileummukosa (je n=8) [3]. Hierbei wurde die Zwischenkapillarfläche aller perfundierten Kapillaren (ZKF_{total}), die ZKF der kontinuierlich perfundierten Kapillaren (ZKF_{kont}) und die arterioläre Blutflussgeschwindigkeit gemessen. Nach 6 h und 24 h wurden die Plasmakonzentrationen (je n=8) von Interleukin 6 (IL-6) und Interleukin 10

Abbildung 1a



Überleben.

Abbildung 1c



induzierte IL-6-Anstieg verstärkt ($p<0,05$) (Abb. 1B). Ebenso wurde auch der Anstieg der Plasmakonzentration des anti-inflammatorischen IL-10 in CLP Nikotin und in CLP Cholin verstärkt ($p<0,05$) (Abb. 1C). Die un behandelte CLP induzierte einen Anstieg von ZKF_{total} und ZKF_{kont} als Zeichen einer gestörten kapillären Perfusion ($p<0,05$ vs. Sham). Die mukosale Blutfluss-Geschwindigkeit war reduziert ($p<0,05$ vs. Sham) (Tab. 1). Nach 24 h stieg in der un behandelten CLP-Gruppe die Zahl apoptotischer Epithelzellen von $9,2\pm1,0$ / Sichtfeld auf $24,3\pm5,0$ / Sichtfeld ($p<0,05$ vs. Sham). Weder die Mikroperfusionsstörung noch der sepsisinduzierte Anstieg der mukosalen Apoptose konnten durch die Gabe von Nikotin oder Cholin beeinflusst werden.

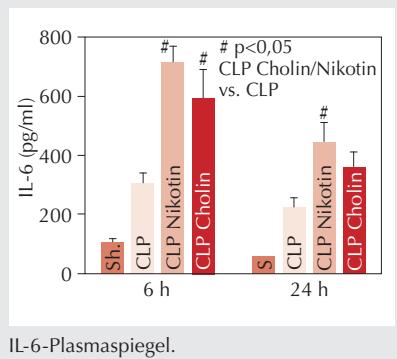
Interpretation

Sowohl die unspezifische als auch die spezifische Stimulation der cholinergen Immunregulation beeinflussen die Immunreaktion in der Sepsis und verbessern das Überleben. Demgegenüber lässt sich jedoch kein Einfluss auf die funktionelle und morphologische Schädigung der intestinalen Mukosa nachweisen.

Literatur

1. Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol* 2009;9:418-428.
2. Parrish WR, Rosas-Ballina M, Gallowitsch-Puerta M, et al. Modulation of TNF release by choline requires alpha7 subunit nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling. *Mol Med* 2008;14:567-574.
3. Freise H, Lauer S, Anthonsen S, et al. Thoracic epidural analgesia augments ileal mucosal capillary perfusion and improves survival in severe acute pancreatitis in rats. *Anesthesiology* 2006;105:354-359.

Abbildung 1b



(IL-10) mittels ELISA analysiert. Darüber hinaus wurden der arterielle Blutdruck und die Herzfrequenz bestimmt sowie eine Leukozy-

tenzählung und eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt. Nach 24 h wurde die Anzahl der apoptotischen mukosalen Epithelzellen/Sichtfeld in HE-Schnitten bestimmt.

Die Überlebensraten wurden mittels Log-Rank-Test analysiert. Die weiteren Daten wurden mittels 1-Way-ANOVA mit post-hoc Student-Newman-Keuls-Testung untersucht. Das Signifikanzniveau wurde mit $p<0,05$ definiert. Die Darstellung erfolgt als Mittelwerte \pm SEM.

Ergebnisse

Weder Sham Nikotin noch Sham Cholin wiesen gegenüber der un behandelten Sham-Gruppe Unterschiede auf. Unabhängig von der Gruppenzuordnung zeigten alle CLP-Tiere eine Tachykardie, Hyperlaktämie sowie eine Leukopenie (jeweils $p<0,05$ vs. Sham). Die Überlebensrate war sowohl in CLP Nikotin (53,3 %) als auch in CLP Cholin (46,67 %) gegenüber der un behandelten CLP (6,67 %) deutlich erhöht ($p<0,05$) (Abb. 1A). In CLP Nikotin und in CLP Cholin war der sepsis-

Präkonditionierung, u.a. durch eine Steigerung der Neosynthese kardioprotektiver Proteine [1]. Pim-1-Kinase wirkt im Kardiomiozyten antiapoptotisch und infarktgrößenreduzierend [2] und wird durch STAT3 reguliert [3]. Wir testeten in der vorliegenden Untersuchung die Hypothese, dass das Zweite Fenster der Desfluran-induzierten Präkonditionierung (DES-SWOP) über STAT3 und Pim-1-Kinase vermittelt wird.

Methodik

Nach Genehmigung durch die zuständige Behörde wurden männliche C57BL/6-Mäuse (n=84) mit Pentobarbital narkotisiert, intubiert, mechanisch beatmet und zur kontinuierlichen Messung von Herzfrequenz und mittlerem arteriellen Blutdruck instrumentiert. Nach einer linksseitigen Thorakotomie wurde der LAD umschlungen. Alle Tiere erhielten

Transkription und Neosynthese kardioprotektiver Proteine im Zweiten Fenster der Desfluran-induzierten Präkonditionierung: Die Bedeutung des Transkriptionsfaktors STAT3 und der Pim-1-Kinase

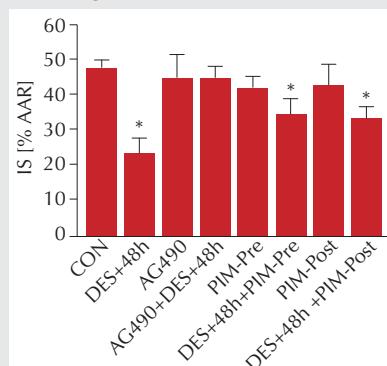
J. Stumpner · A. Redel · J. Umminger · A. Neuwirth · T. Tischer-Zeitz · N. Roewer · M. Lange

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

Korrespondenz:
Stumpner_J@klinik.uni-wuerzburg.de

Fragestellung

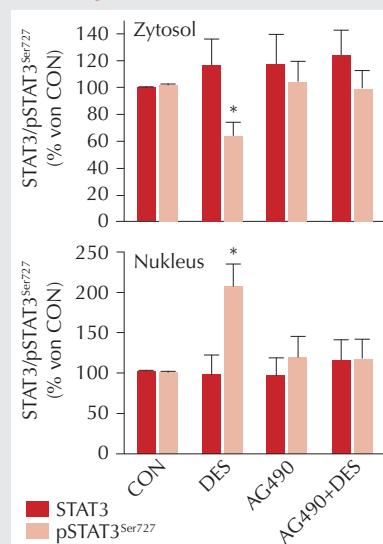
Der Transkriptionsfaktor „Signal Transducer and Activator of Transcription“ (STAT) 3 vermittelt das Zweite Fenster der Ischämischen

Abbildung 1

Infarktgröße als Prozentwert des Risiko-areals (IS/AAR)

Angegeben sind Mittelwert \pm SEM.

*signifikant ($p<0,05$) verschieden von CON.

Abbildung 2

Expression von STAT3 und p-STAT3^{Ser727} in zytosolischer und nukleärer Zellfraktion
Angegeben sind Mittelwert \pm SEM.

*signifikant ($p<0,05$) verschieden von CON und AG490+DES.

min nach Desfluran-Gabe Myokardgewebe entnommen, zytosolische und nukleäre Zellfraktion voneinander getrennt und die Proteinexpression von STAT3 sowie aktiviertem phospho-STAT3^{Ser727} und phospho-STAT3^{Tyr705} mittels Western-Immunoblot bestimmt. Die Daten wurden statistisch mittels Ein- bzw. Zwei-Wege-ANOVA und posthoc Duncan's Test analysiert und sind als Mittelwert \pm SEM angegeben, $p<0,05$.

Ergebnisse

Die IS (Abb. 1) betrug $47\pm2\%$ in der Kontrollgruppe (CON; $n=7-8$ pro Gruppe). Desfluran reduzierte die IS auf $23\pm4\%*$ ($*p<0,05$

vs. CON). JAK/STAT3-Blockade mittels AG-490 beeinflusste die IS nicht ($44\pm7\%$), hob jedoch das DES-SWOP komplett auf ($44\pm4\%$). Inhibition der Pim-1 Kinase sowohl vor CAO (PIM-Pre: $42\pm3\%$) als auch vor Beginn der Reperfusion (PIM-Post: $42\pm6\%$) veränderte die IS gegenüber CON nicht und blockierte zu beiden Zeitpunkten die Protektion

durch DES-SWOP (DES+48h+PIM-Pre: $34\pm4\%$; DES+48h+PIM-Post: $33\pm3\%$) nicht. Desfluran-Gabe führte zu einer reduzierten Expression von phospho-STAT3^{Ser727} in der zytosolischen Fraktion, verbunden mit einer Steigerung der Expression in der nukleären Zellfraktion. Die Expression von STAT sowie phospho-STAT3^{Tyr705} unterschied sich zwischen zytosolischer und nukleärer Fraktion nicht. (Abb. 2)

Interpretation

Diese Resultate deuten auf eine wichtige Rolle des Transkriptionsfaktors STAT3 im Kontext des DES-SWOP hin und bestätigen somit die Hypothese, dass die Aktivierung und nukleäre Translokation des Transkriptionsfaktors STAT3 essentieller Bestandteil der Signaltransduktionskaskade des DES-SWOP ist. Die Bedeutung der Pim-1-Kinase für das DES-SWOP kann aufgrund der bisherigen Daten nicht eindeutig beurteilt werden. Inwieweit die Aktivierung von STAT3 im Kardiomyozyten die Transkription und Translation der Pim-1-Kinase reguliert ist Gegenstand aktueller Experimente.

Literatur

1. Xuan YT, Guo Y, Zhu Y, et al. Mechanism of cyclooxygenase-2 upregulation in late preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35:525-537.
2. Muraski JA, Rota M, Misao Y, et al. Pim-1 regulates cardiomyocyte survival downstream of Akt. *Nat Med* 2007;13:1467-1475.
3. Shirogane T, Fukada T, Muller JM, et al. Synergistic roles for Pim-1 and c-Myc in STAT3-mediated cell cycle progression and antiapoptosis. *Immunity* 1999;11:709-719.

Altersabhängiger Einfluss der Hemmung des Angiotensin-II-Typ-1-Rezeptors nach experimentellem Schädel-Hirn-Trauma der Maus

R. Timaru-Kast · P. Gotthardt · C. Luh,
K. Engelhard · C. Werner · S. C. Thal

Klinik für Anästhesiologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Korrespondenz:

timaruka@uni-mainz.de

Fragestellung

Die Hemmung des Angiotensin-II-Typ-1-Rezeptors (AT1) reduziert das neurologische Defizit und den sekundären Hirnschaden bei 2 Monate alten Mäusen 24 Stunden nach Schädel-Hirn-Trauma (SHT) [1]. Da ältere Mäuse den neuronalen Verlust nach SHT schlechter kompensieren können als junge Tiere [2],

wird in der vorliegenden Studie der neuroprotektive Effekt einer AT1-Inhibition bei alten und jungen Tieren verglichen.

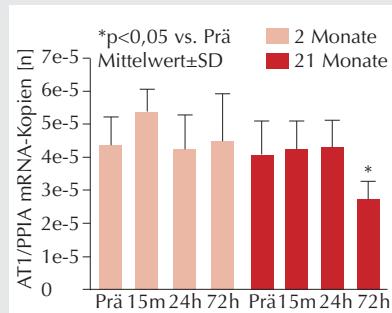
Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzzkommission wurden junge (2 Monate) und alte (21 Monate) männliche C57Bl6-Mäuse unter Fentanyl-Midazolam-Medetomidin-Anästhesie einer kontrollierten kortikalen Kontusion mittels pneumatisch beschleunigtem Stempel unterzogen (controlled cortical impact: CCI). Versuch 1: Messung der Genexpression von AT1 vor und bis zu drei Tage nach SHT im perikontusionellen Gewebe von jungen und alten Mäusen ($n=7$ /Gruppe). Versuch 2: junge und alte Mäuse erhielten randomisiert den AT1-Inhibitor Candesartan (0,1 mg/kg s.c.) oder die Vehikellösung 30 min nach SHT und danach täglich bis zum 4. Tag (jung: Vehikel $n=7$, Candesartan $n=7$; alt: Vehikel $n=10$, Candesartan $n=8$). Vor SHT und am 1., 3. und

5. Tag nach SHT wurden die Tiere anhand des modifizierten Neurological Severity Scores (NSS) neurologisch untersucht (keine Beeinträchtigung: 0, höchstes neuromotorisches Defizit: 15 Punkte). Das Kontusionsvolumen 5 Tage nach SHT wurde in Nissl-gefärbten Kryo-Schnitten bestimmt. Die zerebrale Genexpression der Inflammationszytikone IL1 β , IL6 und TNF α wurde gemessen. Tiere, die vor dem fünften Tag verstarben wurden ersetzt, um eine Gruppenstärke von mindestens $n=7$ zu erhalten und gingen nicht in die statistische Auswertung ein. Statistik: Wilcoxon-Test für paarweise Vergleiche und Korrektur nach Bonferroni bei Mehrfachtestung, $p<0,05$.

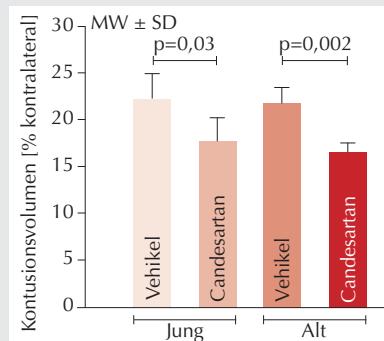
Ergebnisse

Bei jungen Mäusen wurde die AT1-Expression durch SHT nicht beeinflusst, während sie bei alten Tieren 72 h nach SHT reduziert war (Abb. 1). Bei alten Tieren senkte Candesartan die Mortalitätsrate (12,5 % vs. 30,0 %),

Abbildung 1

Die perikontusionale AT1-Genexpression (normalisiert nach dem nicht-regulierten Housekeeping-Gen Cyclophillin A) vor SHT (Prä) sowie, 15 Minuten (15 m), 24 (24 h) und 72 Stunden (72 h) nach SHT. AT1 bleibt in jungen Tieren unverändert, während es in alten Tieren nach drei Tagen herunterreguliert wird ($p<0,05$).

wohingegen alle jungen Mäuse die 5 Tage Beobachtungszeit überlebten. Candesartan verbesserte den NSS älter (NSS $8,8 \pm 3,9$ vs. NSS $4,5 \pm 1,9$; Vehikel vs. Candesartan, Tag 3; Mittelwert±SD, $p<0,05$) und junger Tiere (NSS $3,3 \pm 1,4$ vs. NSS $1,6 \pm 0,8$; Vehikel vs. Candesartan, Tag 5; Mittelwert±SD, $p<0,05$) und reduzierte das Kontusionsvolumen (Abb. 2). Die Genexpression der Inflammationszytine IL1 β und IL6 im perikontusionalen Gewebe war 5 Tage nach CCI bei alten Tieren,

Abbildung 2

Das Kontusionsvolumen 5 Tage nach SHT in jungen und alten Mäusen, mit Candesartan oder Vehikel-Behandlung, gemessen in Nissl-gefärbten Hirnschnitten (angegeben in Prozent der kontralateralen Hemisphäre). Der Vergleich der Kontusionsvolumina zeigt eine deutliche Reduktion des Hirnschadens in Candesartan-behandelten Mäusen gegenüber Vehikel-behandelten Tieren in beiden Altersgruppen ($p<0,05$).

Candesartan noch effektiver zu sein, da sich die neurologische Funktion bei alten Tieren bereits nach 3 Tagen und bei jungen Mäusen erst nach 5 Tagen verbessert. Angiotensin-II stimuliert sowohl AT1 als auch Angiotensin-II-Typ-2-Rezeptoren (AT2). Durch Blockade der pro-inflammatorisch und pro-apoptotisch wirksamen AT1 könnte es zu einer verstärkten Stimulation der AT2 durch Angiotensin-II kommen, welche über die Freisetzung neurotropher Mediatoren protektiv wirken [3]. AT1 wird im vorliegenden Versuch bei alten Tieren nach drei Tagen herunterreguliert und könnte so zu einem natürlichen Schutz vor neuronaler Schädigung beitragen. Es ist bekannt, dass alte Tiere eine früher einsetzende und länger anhaltende Neuroinflammation aufweisen [2]. Dies könnte durch AT1-Hemmung limitiert sein [1], obgleich der Effekt nach 5 Tagen anhand der Genexpression nicht mehr nachweisbar ist. Die Hemmung der AT1-Rezeptoren scheint somit ein vielversprechender therapeutischer Ansatz zur Behandlung des sekundären Hirnschadens nach SHT zu sein, der möglicherweise bei alten Individuen noch potenter ist.

Literatur

1. Timaru-Kast R et al. Anästh Intensivmed 2009;50:457.
2. Timaru-Kast R et al. Anästh Intensivmed 2010;51:428-429.
3. Mogi M, et al. Hypertension 2006;48(1):141-148.

Der PI3K/Akt-Signaltransduktionsweg: Entscheidender Vermittler der Kardioprotektion durch Ischämische und Beta₂-adrenerge Postkonditionierung

T. Tischer-Zeitl · F. Gao · C. Blomeyer,
N. Virstyuk · J. Stumpner · T. Smul ·
N. Roewer · M. Lange

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

Korrespondenz:
Tischer_T@klinik.uni-wuerzburg.de

Fragestellung

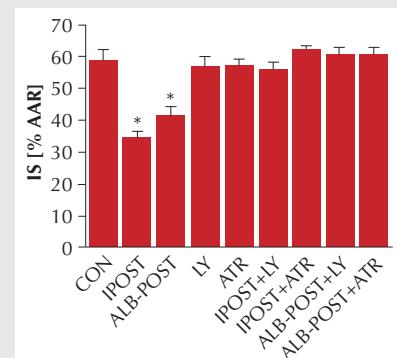
Die Kardioprotektion durch Ischämische Postkonditionierung (IPOST) führt über die Aktivierung der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) [1] und die nachgeschaltete Inhibition der mitochondrialen Permeabilitätsspalte (MPTP) [2] zur Reduktion des Ischämie-/Reperfusionsschadens (I/RI) nach prolongierter

Myokardischämie. Beide Moleküle sind Bestandteile des PI3K/Akt-Signaltransduktionsweges, der durch Stimulation beta₂-adrenerger Rezeptoren (beta₂-AR) induziert wird. In einer vorangehenden Untersuchung konnten wir zeigen, dass die Anästhetika-induzierte Postkonditionierung über beta₂-AR vermittelt wird [3]. Ob ein direkter Agonismus an beta₂-AR kardioprotektiv ist und wie dieser intrazellulär vermittelt wird, ist nicht bekannt. Wir testeten daher die Hypothese, dass die direkte Aktivierung von beta₂-AR eine Pharmakologische Postkonditionierung induziert, die wie die IPOST über die PI3K/Akt-Signaltransduktionskaskade vermittelt wird.

Methodik

Weiße männliche Neuseelandkaninchen wurden nach Genehmigung durch die zuständige Behörde unter Pentobarbital-Narkose tracheotomiert und mechanisch ventiliert. Herzfrequenz und mittlerer arterieller Blutdruck wurden kontinuierlich aufgezeichnet. Ein prominenter Ast der linken Koronararterie

(LAD) wurde nach linksseitiger Thorakotomie dargestellt und ligiert. Im Anschluss an die postoperative Äquilibrierungsphase erhielten

Abbildung 1

Infarktgröße als Prozentanteil des Risikoareals (IS/AAR).

Daten sind angegeben als Mittelwerte ± SEM. *Signifikant ($p<0,05$) vs. CON.

alle Tiere eine 30-minütige Koronararterien-Okklusion gefolgt von einer dreistündigen Reperfusion. Bei Tieren der Kontrollgruppe (CON) fand keine weitere Intervention statt. Ischämische bzw. Pharmakologische Postkonditionierung wurde entweder durch vier je einminütige Zyklen Ischämie/Reperfusion oder durch die Gabe des selektiven Beta₂-Mimetikums Albuterol (ALB, 30 mg/kg KG i.v.) induziert. Die Inhibition der PI3K erfolgte durch die Applikation von LY294002 (LY, 0,3 mg/kg KG i.v.) und die Öffnung der MPTP durch die Gabe von Atractyloside (ATR, 5 mg/kg KG i.v.), entweder allein oder in Kombination mit IPOST bzw. ALB. Nach Demarkierung mittels Patentblau/TTC konnten das Risikoareal (AAR) und die Infarktgröße (IS) gravimetrisch bestimmt werden. Die Daten wurden mittels Ein- bzw. Zwei-Wege-ANOVA und posthoc-Duncan's-Test statistisch ausgewertet und als Mittelwert±SEM angegeben, wobei $p<0,05$ als signifikant angenommen wurde.

Ergebnisse

Sowohl die Ischämische ($34\pm2\%$, $n=7$; $*p<0,05$ vs. CON) als auch die Pharmakologische Postkonditionierung durch ALB ($41\pm3\%$, $n=8$) reduzierten die IS im Vergleich zu CON ($59\pm3\%$, $n=8$). Die IS-Reduktion durch IPOST wurde durch LY ($56\pm2\%$, $n=8$) und ATR ($62\pm1\%$, $n=7$) aufgehoben. Auch die IS-Reduktion durch ALB wurde durch LY ($60\pm2\%$, $n=8$) und ATR ($60\pm2\%$, $n=8$) aufgehoben. Die alleinige Gabe von LY ($57\pm3\%$, $n=7$) bzw. ATR ($57\pm2\%$, $n=8$) hatte keinen Einfluss auf die IS. Die Herzfrequenz und der mittlere arterielle Blutdruck wurden durch die Gabe von ALB nicht beeinflusst.

Interpretation

Die pharmakologische Aktivierung von beta₂-AR mittels einer hämodynamisch nicht wirksamen Dosierung von ALB zu Beginn der Reperfusion minimiert den I/RI vergleichbar der IPOST. Die Vermittlung durch den PI3K/

Akt-Signaltransduktionsweg ist entscheidend für beide Formen der Kardioprotektion. Somit könnte die direkte Aktivierung beta₂-AR eine neuartige Möglichkeit der pharmakologischen Myokardprotektion darstellen.

Literatur

1. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, et al. Postconditioning: a form of „modified reperfusion“ protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res* 2004;95(3):230-232.
2. Bopassa JC, Ferrera R, Gateau-Rosch O, et al. PI 3-kinase regulates the mitochondrial transition pore in controlled reperfusion and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006;69(1):178-185.
3. Lange M, Redel A, Lotz C, et al. Desflurane-induced postconditioning is mediated by beta-adrenergic signalling: role of beta 1- and beta 2-adrenergic receptors, protein kinase A, and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. *Anesthesiology* 2009;110:516-528.

TNF-Rezeptor-Defizienz führt zu einer Rekrutierungsverzögerung der neutrophilen Granulozyten bei einer bakteriell induzierten Zystitis

C. Weisheit¹ · D. R. Engel² · G. Baumgarten¹ · A. Hoeft¹ · C. Kurts²

1 Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin,

2 Institut für Molekulare Medizin und Experimentelle Immunologie, Universitätsklinikum Bonn, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Korrespondenz:

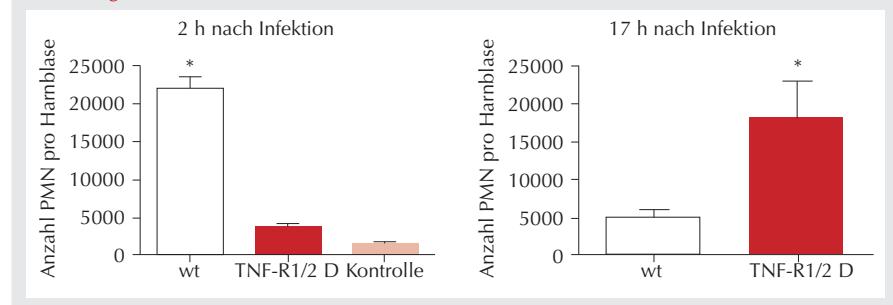
christina.weisheit@ukb.uni-bonn.de

Fragestellung

Die durch uropathogene *E. coli* (UPEC) verursachte Zystitis ist die zweithäufigste bakterielle Infektion des Menschen [1]. Dehnt sich die Entzündung durch aszendierende Bakterien auf das Nierenbecken aus, kommt es zu einer Pyelonephritis [2], die sich bis hin zu einer Urosepsis ausweiten kann. Allein in den vereinigten Staaten belaufen sich die jährlichen durch Zystitiden verursachten Kosten auf mehr als drei Milliarden Dollar [3].

Insbesondere die neutrophilen Granulozyten (PMN) sind an der Beseitigung der UPEC beteiligt und werden durch Zytokine an den Infektionsherd rekrutiert. Hierbei ist der Einfluss des Tumornekrosefaktor- α (TNF α)-Signalweges auf die Rekrutierung und Funktion der neutrophilen Granulozyten in der akuten bakteriellen Zystitis noch vollkommen unverstanden.

Abbildung 1



* $p<0,05$ n=6; Datenanalyse: t-Test

Von daher wurde in dieser Arbeit die Frage untersucht, welchen Einfluss der Tumornekrosefaktor α (TNF α) auf die Rekrutierung und Funktion der neutrophilen Granulozyten in der akuten bakteriellen Zystitis hat.

Methodik

Die Tierversuchsgenehmigung des zuständigen Regierungspräsidiums lag vor. Durchflusszytometrische und histologische Analysen von Harnblasengewebe aus transurethral mit UPEC infizierten weiblichen C57Bl6/N-Wildtypmäusen (Wt) und TNF-Rezeptor 1/2-defizienten (TNF-R. 1/2 D) Mäusen. Einsatz von Wt (Stamm 536) und GFP-markierten UPEC zur Infektion der Tiere. Erstellung von knochenmarkchimären Mäusen. Zur Analyse der Daten wurde der t-Test angewandt. P-Werte sind in dieser Arbeit wie folgt vermerkt: * $p<0,05$; ** $p<0,01$. Ein p-Wert kleiner 0,05 wird als signifikant bezeichnet.

Ergebnisse

Der Vergleich von infizierten TNF-R.-1/2-D-Mäusen mit infizierten Wt-Mäusen zeigt eine deutliche Zunahme der Infektion bei Fehlen des TNF-Signalwegs. Dies äußert sich in einer signifikant (Wt: 26460 ± 11830 n=8; TNF-R. 1/2 D: 182500 ± 53670 n=8 bei $p<0,05$) erhöhten Dichte der UPEC im Harnblasengewebe der TNF-R.-1/2-D-Mäuse. Darüber hinaus zeigt die Infektionskinetik beim Vergleich der Zeitpunkte 2 h und 17 h post infectionem (p.i.) eine massive, verzögert einsetzende Infiltration des infizierten Gewebes durch die TNF-R def.-neutrophilen Granulozyten (PMN). Zum Zeitpunkt 2 h p.i. lassen sich signifikant (Wt: 21800 ± 3456 n=6; TNF-R. 1/2 D: 3695 ± 832.3 n=6 bei $p<0,05$) weniger PMN in der Harnblase der TNF-R.-def.-Mäuse nachweisen als in der Harnblase der Wt-Tiere. Hingegen kann 17 h p.i. eine signifikante Zunahme der

PMN-Anzahl in den TNF-R.-1/2-D-Harnblasen gezeigt werden (Wt: 4793 ± 1215 n=6; TNF-R def.: 18020 ± 4930 n=6 bei p<0,05) bei gleichzeitigem Abfall der PMN-Anzahl bei den Wt-Mäusen (s. Abbildung). Durch den Einsatz von GFP-markierten UPEC kann der Anteil an PMN, der Bakterien aufgenommen hat, bestimmt werden. Hierbei zeigt sich, dass 17 h p. i. der Anteil an PMN, der UPEC aufgenommen hat, bei den TNF-R.-1/2-D-Mäusen signifikant (Wt: 14.45 ± 4.442 % n=10, TNF-R. 1/2 D: 36.49 ± 9.263 % n=10 bei p<0,05) höher ist als bei den Wt-Tieren.

Die Verwendung von knochenmarkchimären Mäusen zeigt einen signifikant erhöhten Anteil an GFP-positiven TNF-R.-1/2-D-PMN (Wt-knochenmarkchimäre Mäuse: 5.630 ± 1.560 % n=4; TNF-R def. knochenmarkchimäre Mäuse: 80.07 ± 9.273 % n=3 bei p<0,01) in den infizierten Harnblasen. Untersuchungen in vitro an isolierten TNF-R.-1/2-D-PMN und Wt-PMN zeigen in Kokultur mit UPEC keine deutlichen Unterschiede in der Aufnahme und Vernichtung der Bakterien.

Interpretation

Die wahrscheinlichste Erklärung für die stärkere Infektion der TNF-R-def. Tiere liegt in einer Rekrutierungsverzögerung der TNF-R.-1/2-D-PMN. Die Ergebnisse der Untersuchungen an knochenmarkchimären Mäusen, sowie die Analyse der in-vitro-Versuchsreihe zeigen, dass die gestörte Signaltransduktion der TNF-R-def. PMN mit ihrer Umwelt sehr wahrscheinlich als Ursache für die Rekrutierungsverzögerung und die Zunahme der Bakteriendichte zu sehen ist.

Aus der Literatur ist bereits bekannt, dass ein ubiquitäres Fehlen des TNF-Signalwegs zu einer verminderten Zytokinproduktion führt [4], die die chemotaktisch gesteuerten Abläufe in der akuten Infektion stören. Unsere Ergebnisse unterstützen im Zusammenspiel mit diesen Literaturerkenntnissen die Hypothese, dass in TNF-R.-1/2-D-Mäusen die PMN durch eine veränderte Chemotaxis das infizierte Harnblasengewebe erst erreichen, wenn die Bakterien sich bereits stark vermehrt und ausgebreitet haben.

Literatur

1. Song J, Abraham SN. Innate and adaptive immune responses in the urinary tract. *Eur J Clin Invest* 2008;38:21-28.
2. Foxman B, Klemstine KL, Brown PD. Acute pyelonephritis in US hospitals in 1997: hospitalization and in-hospital mortality. *Ann Epidemiol* 2003;13:144-150.
3. Litwin MS, Saigal CS, Yano EM, Avila C, Geschwind SA, Hanley JM, et al. Urologic disease in America Project: analytical methods and principal findings. *J Urol* 2005;173:933-937.
4. Hunstad DA, Justice SS, Hung CS, Lauer SR, Hultgren SJ. Suppression of bladder epithelial cytokine responses by uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2005;73:3999-4006.

Xenon hemmt die Noradrenalin-Aufnahme in humanen Neuroblastomzellen in vitro durch einen NMDA-Rezeptor-abhängigen Mechanismus

R. Werdehausen · J. Hipp · M. Neukirchen, T. Brandenburger · I. Bauer · P. Kienbaum

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

Korrespondenz:
robert.werdehausen@uni-duesseldorf.de

Fragestellung

Xenon (Xe) senkt im Gegensatz zu den meisten anderen Anästhetika weder den systemisch vaskulären Widerstand noch das Herzzeitvolumen [1]. Obwohl diese unter Xe beobachtete hämodynamische Stabilität nicht mit einer Steigerung der efferenten Sympathikusaktivität einhergeht, ist die Noradrenalin (NA)-Plasmakonzentration nahezu verdoppelt [2]. Während lediglich etwa 10 % des aus sympathischen Nervenfasern freigesetzten NA den Blutkreislauf erreicht und damit die NA-Plasmakonzentration beeinflusst, wird der wesentliche Anteil des sympathisch freigesetzten NA über Noradrenalintransporter (NAT) nach intrazellulär aufgenommen. So mit könnte auch eine wie für den NMDA-Rezeptorantagonisten Ketamin bekannte Hem-

mung der NAT den beobachteten Anstieg der NA-Plasmakonzentration, unabhängig von der sympathischen Aktivität, erklären. Daher überprüften wir die Hypothese, dass Xe die NA-Aufnahme in vitro durch einen NMDA-Rezeptor (NMDAR)-vermittelten Mechanismus hemmt.

Methodik

Die Untersuchungen wurden an HEK-293-Nierentumorzellen ohne NMDAR-Expression (Wildtyp und NAT-überexprimierend) sowie an humanen Neuroblastomzellen (SH-SY5Y), die sowohl NAT als auch NMDAR exprimieren (nachgewiesen mittels RT-PCR) durchgeführt. Zunächst wurden die Zellkulturen für 20 min ohne Zusätze (Negativkontrolle) sowie mit Ketamin (1 mM; bekannte NAT-Hemmung), dem spezifischen NMDA-Antagonisten MK-801 (2 μ M) oder der Kombination aus NMDA (25 μ M) und seinem essentiellen Koagonisten Glycin (10 μ M) behandelt. Im Anschluss erfolgte eine Inkubation ohne oder mit Xe (65 %) bei 37 °C für weitere 20 min. Danach wurde unter diesen Inkubationsbedingungen ein fluorogenes Substrat des NAT (Neurotransmitter Uptake Kit; Molecular Devices) hinzugegeben und die innerhalb von weiteren 20 min entstandene intrazelluläre Fluoreszenz als Maß für die NAT-Aktivität gemessen (n=3). Der unspezifische Anteil der Fluoreszenzintensität wurde während maximaler Blockade der NAT durch Desipramin (5 μ M) bestimmt und subtrahiert. Zur Untersuchung der Spezi-

fität der Effekte auf die Aufnahme von Noradrenalin wurde diese in einem separaten Versuchsansatz radiometrisch nach Inkubation mit 3H-Noradrenalin bestimmt (n=6).

Statistik: Mittelwert \pm Standardabweichung, Varianzanalyse, Bonferroni-post-hoc-Test, p<0,05.

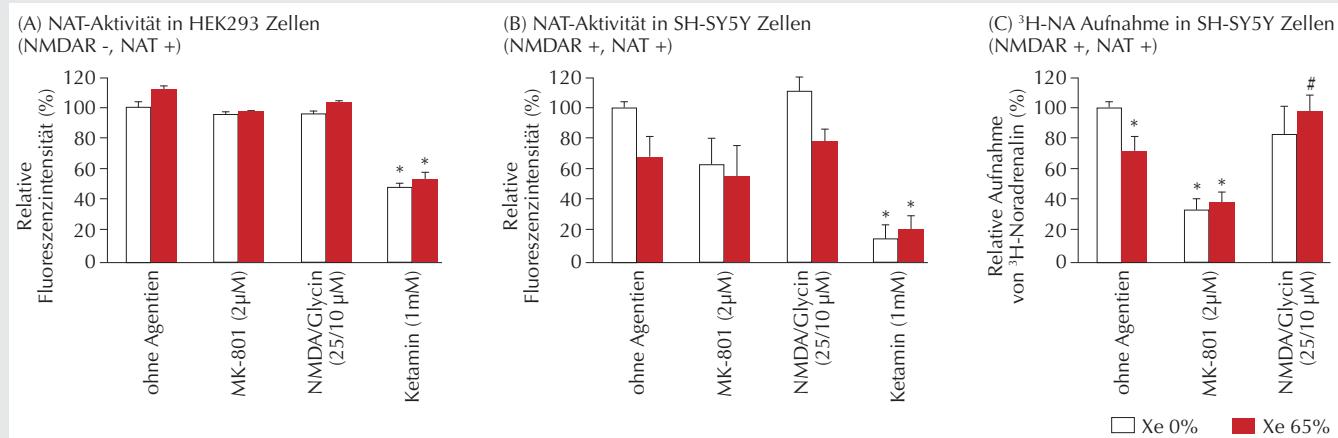
Ergebnisse

In HEK-293-Wildtypzellen kam es erwartungsgemäß zu keiner spezifischen Zunahme der intrazellulären Fluoreszenz nach Inkubation mit fluorogenem Substrat für NAT. In NAT-überexprimierenden HEK 293 Zellen (ohne Expression des NMDAR) wurde die Aufnahme durch Ketamin gehemmt (-53 \pm 3%), während Xe, MK-801 sowie die Kombination von NMDA und Glycin zu keinen signifikanten Veränderungen führten (Abb. 1A).

Im Gegensatz dazu hemmte Xe die NAT-Aktivität in humanen Neuroblastomzellen (-35 \pm 14%). Während MK-801 (-48 \pm 16%) und Ketamin (-87 \pm 10%) die Aufnahme ebenfalls reduzierten, hatte eine Kombination mit Xenon jeweils keinen additiven Effekt (Abb. 1B). Die radiometrischen Ergebnisse bestätigten die Hemmung der NA-Aufnahme durch Xe, wobei die Kombination von NMDA und Glycin diesen Effekt aufhob (Abb. 1C).

Interpretation

Xe in einer klinisch relevanten Konzentration hemmt die NA-Aufnahme in NMDAR-exprimierenden humanen Neuroblastomzellen,

Abbildung 1

Einfluss von Xenon auf die Aufnahme von Noradrenalin. Werte wurden auf die Ergebnisse unter Kontrollbedingungen ohne Xenon (Xe) normiert. Weisse Balken: Xe 0 %; Schwarze Balken: Xe 65 %; Mittelwerte±SD; *P<0,05 versus Xe 0 % ohne Agentien; #P<0,05 versus Xe 65 % ohne Agentien.

während sich in Zellen ohne NMDAR kein Effekt zeigt. Im Gegensatz zu Ketamin, das in einer sehr hohen Konzentration (1 mM) auch ohne Anwesenheit von NMDAR die NA-Aufnahme partiell hemmt, hängt die Xebedingte NAT-Hemmung wesentlich von dem bekannten Antagonismus am NMDAR [3] ab. Dieser Mechanismus könnte für die Anstiege der NA-Plasmakonzentration unter Xe-Anästhesie und die beobachtete hämodynamische Stabilität verantwortlich sein.

Dieses Projekt wurde durch Air Liquide Santé International (Paris, Frankreich) gefördert.

Literatur

1. Baumert JH, Hein M, Hecker KE, Satlow S, Neef P, Rossaint R. Xenon or propofol anaesthesia for patients at cardiovascular risk in non-cardiac surgery. Br J Anaesth 2008;100:605-11.
2. Neukirchen M, Schäfer M, Billoet C, Winterhalter M, Kienbaum P. Xenon increases norepinephrine plasma concentration despite of unchanged muscle sympathetic activity. ASA Annual Meeting, San Diego 2010:A1550.
3. Dickinson R, Peterson BK, Banks P, Similis C, Martin JC, Valenzuela CA, et al. Competitive inhibition at the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor by the anesthetics xenon and isoflurane: evidence from molecular modeling and electrophysiology. Anesthesiology 2007;107:756-67.