

Inhalt

Vorwort zum 30-jährigen Jubiläum | N. Roewer
Grußworte | Th. Koch · M. Specker

397
 398

Abstracts

Direkte pharmakologische Aktivierung mitochondrialer Kalzium-abhängiger Kaliumkanäle führt zu einer verbesserten linksventrikulären Funktion nach Myokardinfarkt bei der Maus

F. Behnenburg · N. Hölscher · M. Dorsch · A. Heinen · U. Flögel · M.W. Hollmann · R. Huhn

400

Intraoperative Beatmungseinstellungen und Outcome nach chirurgischen Eingriffen – Ergebnisse der internationalen Beobachtungsstudie LAS VEGAS

T. Bluth · T. Kiss · C. Uhlig · P. M. Spieth · A. Güldner · T. Koch · S. N. T. Hemmes · A. Serpa Neto · P. Pelosi · M. J. Schultz · M. Gama de Abreu

401

Gemischtvenöse Sauerstoffoszillationen führen zu akuter Lungenschädigung und pulmonaler Inflammation im experimentellen In-vivo-Modell mittels veno-venöser extrakorporaler Membranoxygenierung am Schwein

S. Boehme · E.K. Hartmann · M. Hess · M. David · R. Ullrich · D. Abraham · K.U. Klein · K. Markstaller

402

Quantifizierung der pulmonalen, neutrophilen Inflammation durch Aufnahme von 18F-Fluorodeoxyglucose mittels statischer und dynamischer Positronen-Emissions-Tomographie in einem Modell des ARDS am Schwein

A. Braune · A. Güldner · T. Bluth · T. Kiss · L. Oehme · J. Kotzerke · T. Koch · M. Gama de Abreu

404

Effekte von 24 Stunden variabler volumenkontrollierter Beatmung auf die pulmonale neutrophilische Inflammation im schweren akuten Lungenversagen am Schwein

A. Güldner · T. Kiss · T. Bluth · A. Braune · R. Huhle · I. Rentzsch · L. Oehme · M. Andreeff · T. Winkler · M.F. Vidal Melo · J. Kotzerke · T. Koch · M. Gama de Abreu

405

Intravenös verabreichtes Amisulprid senkt das Auftreten von postoperativer Übelkeit und postoperativem Erbrechen

T. Harlander · T. J. Gan · J. Motsch · L. Eberhart · G. Fox · P. Diemunsch · P. Kranke – für die Amisulprid DP1001 Studiengruppe

406

Durch Targeting des Chemokinrezeptors CCR2 inhibiert micro-RNA 125a-5p die Chemotaxis primärer humaner Monozyten

S. Hinske · M. Hübner · S. Kreth

408

Eine reduzierte Zinkbindungskapazität im Serum führt nicht zu einer suffizienten intrazellulären freien Zinkkonzentration im septischen Schock

J. Hoeger · T.P. Simon · H. Haase · G. Marx · T. Schürholz

409

PHD1 Inhibierung vermittelt Lungenprotektion im murinen ARDS-Modell über eine HIF-abhängige Induktion der microRNA miR-16

S. Högl · K. S. Brodsky · B. Zwißler · H. K. Eltzschig

410

Vergleich von balancierter 6%iger Hydroxyethylstärke (130/0.4) und Humanalbumin 5% als perioperative Volumenersatzlösung: Einflüsse auf Nierenfunktion, Glomerulumschaden und Glykokalyxschädigung

T. Kammerer · N. Hulde · F. Brettnner · F. Klug · S. Schäfer · A. Karl · A. Crispin · M. Rehm

412

Eine zielgerichtete, hämodynamische Therapie mit semi-invasivem, hämodynamischem Monitoring reduziert perioperative pulmonale Komplikationen in der Thoraxchirurgie: eine prospektive, randomisierte klinische Studie

K.B. Kaufmann · L. Stein · L. Bogatyreva · D. Hauschke · T. Loop · U. Goebel

414

Variable versus konventionelle protektive Beatmung bei elektiven, offen abdominalchirurgischen Eingriffen: eine randomisierte kontrollierte Studie

T. Kiss · P. M. Spieth · A. Güldner · T. Bluth · C. Uhlig · A. Braune · R. Huhle · C. Conrad · T. Koch · M. Gama de Abreu

415

Abstracts der 30. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI

14. - 15.02.2016, 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 14. - 15.02.2016 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 2017 der Fresenius-Stiftung und das DGAI-Forschungstipendium der Fresenius-Stiftung finden Sie auf der Seite 396.

Identifizierung und funktionelle Charakterisierung eines GRK2-Promotor-polymorphismus und differentielle Regulation durch Egr-1	
S. Klenke · J. Gatzka · N. Danowski · W. Siffert · J. Peters · U. H. Frey	416
Die Rolle des Plexin-C1-Rezeptors bei polymikrobieller Sepsis	
K. König · J. Flock · J. Henes · M. Schlegel · P. Rosenberger	417
ω3-Lipidemulsionen fördern die Entzündungsresolution in einem murinen Peritonitismodell	
A. Körner · M. Schlegel · J. Theurer · V. Gudernatsch · M. Giera · V. Mirakaj	418
Reaktivität peripherer mononukleärer Blutzellen nach Stimulation mit OKT3 und Zytomegalievirus-Antigen bei Patienten mit Sepsis	
N. M. Malewicz · K. Walstein · T. Heine · A. Engler · A. Bick · L. Cox · A. Höcker · A. M. Westendorf · P. A. Horn · M. Lindemann · J. Peters · S. Schäfer	419
Das synthetische antimikrobielle Peptid 19-2.5 vermindert die septische Kardiomyopathie in einem murinen Sepsis-Modell	
L. Martin · A. Spiecker genannt Doehmann · A. Martincuks · G. Müller-Newen · K. Brandenburg · G. Marx · T. Schuerholz	420
Die entfernte ischämische Präkonditionierung verbessert das renale Outcome von Hochrisiko-Patienten nach herzchirurgischen Eingriffen – Follow-up-Studie	
M. Meersch · C. Schmidt · H. Van Aken · S. Martens · P. Rosenberger · D. Görlich · A. Zarbock	422
MicroRNA-223-Shuttling schützt im murinen akuten Lungenversagen	
V. Neudecker · K. Brodsky · E. Clambey · E. Schmid · T. Packard · B. Davenport · C. Evans · E.L. Burnham · M. Moss · K. Zacharowski · P. Henson · H.K. Eltzschig	423
Der Glycintransporter-1-Inhibitor Bitopertin wirkt antinozizeptiv bei tierexperimentell induzierten neuropathischen Schmerzen	
E. Neumann · V. Kötter · I. Bauer · T. Brandenburger · H. Hermanns · A. Armbruster · V. Eulenburg · R. Werdehausen	424

Ausschreibung des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung

Die 31. Wissenschaftlichen Arbeitstage der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (DGAI) werden vom **24. - 25.02.2017** 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.

2017 wird das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung für eine hervorragende Forschungsarbeit mit 15.000 € dotiert. Grundlagenforschung und klinische Forschung sollen gleichermaßen gefördert werden.

Einsendeschluss:

06.01.2017

Nähere Informationen:

E-Mail: wat_wuerzburg@ukw.de
www.anaesthesie.ukw.de/wat

Anschrift:

Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie
Universitätsklinikum Würzburg
Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. N. Roewer
(Sekretariat Frau Urenkov)
Oberdürrbacher Straße 6
97080 Würzburg, Deutschland
Tel.: 0931 20130015
Fax: 0931 20130019

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

Reaktive Sauerstoffspezies und deren Metabolit als Targets für neue analgetische Substanzen (D-4F Peptid- und E06 mAb) im Entzündungsschmerz bei Ratten

B. Oehler · J. Klocka · M. Mohammadi · C. Maritz · N. Roewer · R. Blum · A. Brack · H. Rittner

426

Hochregulation des Natriumkanals Nav1.3 nach Myokardischämie bei der Maus in polymorphkernigen Neutrophilen

M. Poffers · C. Herzog · A. Leffler · F. Echtermeyer

427

Die reduzierte Arrhythmievulnerabilität von Toll-like-Rezeptor 2 defizienten Mäusen ist mit einer Reduktion der reversiblen Oxidationen des myokardialen Proteoms assoziiert

F. Raimann · S. Dröse · I. Wittig · H. Heide · K. Zacharowski · J. Mersmann

428

Der transzelluläre Substrattransport durch Exosomen ist notwendig für die Immunantwort bei der murinen bakteriellen Pneumonie

J. Rossaint · A. Stadtmann · H. Van Aken · A. Zarbock

430

Die AQP5-Expression beeinflusst die Migration von neutrophilen Granulozyten im Mausmodell

K. Rump · M. Unterberg · M. Kreuzer · L. Bergmann · Z. Bazzi · A. Menon · M. Adamzik

431

Induktion der Autophagie hebt den HES-induzierten Schaden in humanen proximalen Tubuluszellen der Niere (HK-2) in vitro auf

M.A. Schick · W. Neuhaus · F. Stein · N. Roewer · C. Wunder

432

Neogenin vermindert die Entzündungsresolution in der murinen Peritonitis

M. Schlegel · C. Gerber · A. Körner · M. Giera · V. Mirakaj

433

Optimierung der intraoperativen maschinellen Beatmung bei morbid adipösen Patienten durch PEEP-Titration anhand der Elektrischen Impedanz-Tomographie: Eine randomisierte, kontrollierte klinische Studie

P. Simon · C. Nestler · D. Petroff · S. Hammermüller · D. Kamrath · A. Dietrich · LM. Camilo · A. Beda · A. Carvalho · A. Giannella-Neto · AW. Reske · H. Wrigge

436

Risikomodelle zur Prädiktion der Mortalität bei Sepsis in Abrechnungsdaten

D.O. Thomas-Rüddel · D. Schwarzkopf · C. Fleischmann · U. Dennler · K. Reinhard

437

Die Extravasation von Immunglobulin G führt über eine Aktivierung von Immunglobulin-G-Rezeptoren zu einer Vergrößerung des sekundären Hirnschadens nach Schädel-Hirn-Trauma der Maus

R. Timaru-Kast · C. Luh · S.P. Coronel-Castello · C. Götz · M.K.E. Schäfer · K. Engelhard · S. C. Thal

438

Effekte von Allgemeinanästhesie mit volatilen Anästhetika auf Letalität sowie postoperative Komplikationen nach chirurgischen Eingriffen: ein systematischer Review und Metaanalyse

C. Uhlig · T. Bluth · K. Schwarz · S. Deckert · L. Heinrich · J. Schmitt · T. Koch · M. Gama de Abreu

439

Die Postkonditionierung mit dem Kohlenmonoxid-freisetzenden Molekül (CORM) ALF-186 reduziert den Ischämie-Reperfusionsschaden in der Netzhaut der Ratte über die Phosphorylierung der p38-MAP-Kinase und der löslichen Guanylatzyklase

F. Ulbrich · A. Meske · C. Hagmann · H. Buerkle · T. Loop · U. Goebel

440

Kein Einfluss von Tranexamsäure auf die Kardioprotektion durch ischämische Präkonditionierung und ischämische Fernpräkonditionierung bei der Ratte

P. van Caster · S. Eiling · F. Behnenburg · M. Dorsch · A. Heinen · M.W. Hollmann · R. Huhn

441

Eine „Feedback-Schleife“ durch Makrophagen schützt das Gewebe in einem murinen Modell der bakteriellen Harnwegsinfektion vor ungezielter Zerstörung durch neutrophile Granulozyten

C. Weisheit · M. Schiwon · A. Dixit · A. Hoef · G. Baumgarten · C. Kurts · D. Engel

442

Vorwort

zum 30-jährigen Jubiläum der Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI



Prof. Dr. med. Dr. h.c. N. Roewer
Vorsitzender des Wissenschaftlichen Komitees

Am 19. und 20. Februar 2016 fanden die Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI zum 30. Mal statt. Anlässlich dieses Jubiläums haben die Veranstalter unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. N. Roewer in einem Jubiläumsband in chronologischer Reihenfolge die Lebensläufe und Abstrakte der jeweiligen Preisträgerinnen und Preisträger des auf diesen Arbeitstagen vergebenen DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius Stiftung abgedruckt. Anschließend drucken wir das Vorwort und die Grußworte dieses Jubiläumsbandes der Fresenius-Stipendiaten ab. Den vollständigen Band können Sie unter www.dgai.de einsehen.

Sehr geehrte Damen und Herren, liebe Kolleginnen und Kollegen,

Sie halten den Abstrakt-Jubiläumsband anlässlich der 30. Wissenschaftlichen Arbeitstage (WAT) der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (DGA) im Februar 2016 in Händen. Die folgenden Seiten zeigen in chronologischer Reihenfolge die Lebensläufe und die Abstrakte, mit denen die Stipendiaten im jeweiligen Jahr das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung errungen haben.

Das Stipendium der Fresenius-Stiftung wurde erstmals 1992 im Rahmen der Wissenschaftlichen Arbeitstage vergeben. Die Veranstaltung hat sich im Laufe der Jahre beständig weiterentwickelt, und wir können feststellen, dass die WAT sich zu einer in Deutschland einmaligen Veranstaltung etabliert haben, auf der unveröffentlichte hochkarätige wissenschaftliche Arbeiten aus dem Gebiet der Anästhesiologie präsentiert und diskutiert werden. Mittlerweile sind die WAT der DGAI ein fester Treffpunkt junger sowie erfahrener Wissenschaftler

unseres Faches. Die daraus entstehenden wissenschaftlichen Netzwerke der jungen Nachwuchswissenschaftler bilden die Basis für die weitere nationale und internationale wissenschaftliche Entwicklung unseres Fachgebietes.

Der Erfolg dieser Veranstaltung hat viele Väter und Mütter. Die langjährige, großzügige Förderung durch die Fresenius-Stiftung, mit dem Stipendium für den besten Abstrakt, ist Ansporn und Motivation für alle Teilnehmer.

Besonderer Dank und Anerkennung gebührt dabei Herrn Dr. Manfred Specker, der von Anfang an diese Veranstaltung gefördert und wohlwollend begleitet hat. Über viele Jahre wurden die WAT durch Unterstützung der Else-Kröner-Fresenius-Stiftung ermöglicht. Die seit Beginn großzügige Finanzierung der WAT durch die DGAI war und ist die Basis für die Organisation dieser Veranstaltung. Nicht zuletzt sind es aber auch die von Jahr zu Jahr zunehmenden Teilnehmerzahlen und die eingereichten Abstrakte, welche

die WAT der DGAI zu einer hochkarätigen und anerkannten Plattform für die wissenschaftliche Präsentation und Diskussion der aktuellen Forschung im Fachgebiet der Anästhesiologie in Deutschland werden ließen.

„Wer aufhört, besser zu werden, hat aufgehört gut zu sein.“ In diesem Sinne wünsche ich mir als Leiter der WAT und als Vorsitzender des Wissenschaftlichen Komitees mit Ihrer Hilfe viele weitere erfolgreiche WAT und Ihnen eine gute Lektüre dieses Jubiläumsbandes.

Ihr

Prof. Dr. med. Dr. h.c. N. Roewer

Grußwort



Prof. Dr. med. Thea Koch
Präsidentin der DGAI

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

ich freue mich, Sie als Präsidentin der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin zu der Jubiläumsveranstaltung der nunmehr 30. Wissenschaftlichen Arbeitstage in Würzburg ganz herzlich begrüßen zu dürfen.

Wir sind stolz auf dieses einzigartige Forum für den wissenschaftlichen Nachwuchs unter der bewährten Leitung der Würzburger Ordinarien Prof. Weiß (1986-1995) und Prof. Roewer (seit 1996). Die Veranstaltung findet traditionell in der besonderen Atmosphäre der altherwürdigen Festung Marienberg statt. Rund 1.000 forschungsorientierte junge Anästhesistinnen und Anästhesisten haben in dieser Zeit ihre Studien auf den Wissenschaftlichen Arbeitstagen vorgestellt. Sie haben gezeigt, dass es mit Motivation und Leistungsbereitschaft gelingt, trotz des stressigen Klinikeinsatzes, exzellente Forschung zu betreiben. Viele sind heute in verantwortungsvollen Führungspositionen anzutreffen.

Die WAT bieten eine hervorragende Plattform für die Präsentation von aktuellen Forschungsergebnissen in allen Bereichen unseres Fachgebietes und die kritische fachliche Diskussion mit den eingeladenen Experten. Die anhaltend hohe Resonanz und die ständig steigende Qualität der eingereichten Abstracts reflektiert die große Begeisterung und Motivation unserer Kolleginnen und Kollegen für die anästhesiologische

Forschung. Während in der Vergangenheit die experimentelle Forschung die Veranstaltung dominierte, werden in diesem Jahr auch vermehrt klinische Studien vorgestellt.

Persönlich erinnere ich mich noch sehr gut an die aufregende Situation als Referentin Anfang der 1990er Jahre. Gefürchtet waren damals wie heute die kritischen Fragen aus den ersten Reihen! Nach Bestehen der inhaltlichen und formalen Diskussion kam dann die Abstimmung über die Publikation des Abstracts und bei positivem Votum dann die große Erleichterung! Am Abend wurde und wird traditionell in den Gewölben der Festung gefeiert.

Wieder wird das Forschungsstipendium der Fresenius Stiftung für die beste Präsentation und Abstract verliehen und ich darf hier noch einmal den hochambitionierten Preisträgern der vergangenen Jahre gratulieren, die ihre Ergebnisse erfolgreich verteidigt haben. Sie sind mittlerweile in verantwortungsvollen Führungspositionen anzutreffen. Mit Spannung sehen wir auch der diesjährigen Auszeichnung entgegen. Bewundernswert sind die Alumni-Kultur und der große Zusammenhalt der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, der durch das jährlich stattfindende traditionelle Preisträger-Meeting, das von Herrn Dr. Specker und seiner lieben Frau in besonderer Weise gepflegt und unterstützt wird.

Als Präsidentin der DGAI bin ich stolz auf die aktiven wissenschaftlichen Arbeitsgruppen an den deutschen Lehrstühlen. Denn die wissenschaftliche Profilierung und internationale Sichtbarkeit wird die Zukunft unseres Fachgebietes entscheidend gestalten.

Ich wünsche mir die erfolgreiche Fortführung dieser so wichtigen und einzigartigen Veranstaltung und danke den Ideengebern und der wissenschaftlichen und organisatorischen Leitung sowie ganz besonders Herrn Dr. Specker für die von Anfang an passionierte Begleitung und Unterstützung der WAT.

Ihre

Prof. Dr. Thea Koch

Grußwort

Dr. rer. nat. Manfred Specker

Vorstandsvorsitzender der Fresenius-Stiftung



Sehr geehrte Verantwortliche und Promotoren der Wissenschaftlichen Arbeitstage, verehrte Referentinnen und Referenten, liebe Preisträgerinnen und Preisträger des Forschungsstipendiums,

30 Jahre WAT bedeuten, dass rund 1.000 forschungsorientierte junge Anästhesistinnen und Anästhesisten den Weg zur Festung Marienberg in Würzburg gefunden haben, um vor kritischen Kolleginnen und Kollegen die Ergebnisse ihrer wissenschaftlichen Arbeiten vorzustellen und zu verteidigen. Allen gebührt höchstes Lob und aufrichtige Anerkennung. Haben sie doch unter Beweis gestellt, dass es mit Motivation und Leistungsbereitschaft gelingt, trotz stressigen klinischen Einsatzes exzellente Forschung zu betreiben.

Das geniale Konzept der Wissenschaftlichen Arbeitstage stellt nicht nur hohe Anforderungen an die Teilnehmer, sondern belohnt die Anstrengung und den Mut mit einmaligen Attributen. In fairer und offener Diskussion werden nicht nur die wissenschaftlichen Inhalte der Präsentationen kritisch beleuchtet, sondern gleichermaßen Form, Stil und Darstellung analysiert und textliche Verbesserungen für die Publikationen erarbeitet.

Wer das hohe Maß an Motivation miterleben durfte, das die jungen Wissenschaftler bis heute auszeichnet, kann nur mit Stolz und Anerkennung auf die seitherigen Arbeitstage zurück blicken, herzlich allen Akteuren gratulieren und mit Freude den zukünftigen Veranstaltungen

gegenüberstehen. Das leistungsintensive Kooperationsmodell ist nicht nur für die Teilnehmer ein Gewinn, sondern für das ganze Fach eine große Bereicherung.

So dürfen alle Beteiligten stolz auf das Erreichte sein. Die Ideengeber und Initiatoren sehen ihre Erwartungen erfüllt. Die Kritiker wurden eines Besseren belehrt. Die Akteure haben durch permanente Optimierungen ein Höchstmaß an Kompetenz und Objektivität geschaffen. Die Beteiligung fachunabhängiger Experten wurde zu einem unschätzbaren Gewinn. Zum begeisternden Stimulans trug der Wettbewerb um das Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung bei, dessen Gewinner heute in verantwortungsvollen und für das Fach richtungweisenden Positionen anzutreffen sind und die durch das traditionelle Preisträger-Meeting einen kollegialen Alumni-Kreis bilden, der in alle AINS-Bereiche hineinwirkt.

Als „passionierter Mitstreiter“ und als Ehrenmitglied der DGAI, der ich dem Fach Anästhesiologie, der DGAI und den WAT seit Anbeginn eng verbunden bin, beglückwünsche ich alle, die sich für den Erfolg der WAT mit Engagement und Tatkraft eingesetzt haben, und übermittle meinen tief empfundenen Dank. Die Fortsetzung der Erfolgsgeschichte erwarte ich mit Spannung und Freude.

Dr. Manfred Specker

Direkte pharmakologische Aktivierung mitochondrialer Kalzium-abhängiger Kaliumkanäle führt zu einer verbesserten linksventrikulären Funktion nach Myokardinfarkt bei der Maus

F. Behnenburg¹ · N. Hölscher¹ · M. Dorsch¹ · A. Heinen² · U. Flögel³ · M.W. Hollmann⁴ · R. Huhn¹

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf
- 2 Institut für Herz- und Kreislaufphysiologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- 3 Institut für Molekulare Kardiologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- 4 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Amsterdam, Niederlande

Korrespondenz:

Friederike.Behnenburg@med.uni-duesseldorf.de

Fragestellung

Mitochondriale Kalzium-abhängige Kaliumkanäle (mK_{Ca}) sind maßgeblich an einer Kardioprotektion durch Präkonditionierung beteiligt [1]. Eine Präkonditionierung durch eine pharmakologische Aktivierung der mK_{Ca} -Kanäle reduziert sowohl im jungen als auch im alten Herzen die Infarktgröße nach einer myokardialen Ischämie und Reperfusion im Akutversuch [2]. Allerdings ist ein wesentlicher Faktor für den Krankheitsverlauf nach Myokardinfarkt der langfristige Erhalt der linksventrikulären Funktion. Es war das Ziel dieser Studie zu untersuchen, ob eine Präkonditionierung durch Aktivierung von mK_{Ca} -Kanälen zu einer andauernden Verbesserung der kardialen Funktion nach Myokardinfarkt führt.

Methodik

Nach Genehmigung der zuständigen Behörde wurden die Versuche an männlichen C57BL/6-Mäusen (2-3 Monate, $n=6-8$ pro Gruppe) in vivo durchgeführt. Es wurden zwei experimentelle Serien untersucht, in denen die Tiere jeweils in zwei Gruppen randomisiert wurden. Bei Ketamin/Medetomidin-anästhesierten Mäusen wurde über eine laterale Thorakotomie durch Unterbinden eines Astes der linken Koronararterie eine 45-minütige regionale Myokardischämie ausgelöst mit anschließender Reperfusion. Eine Präkonditionierung wurde durch eine intraperitoneale Gabe von NS1619 (NS, $1\mu\text{g/g KG}$; mK_{Ca} -Kanalaktivator) 10 min vor Beginn der Ischämie induziert, die Kontrolltiere (Con) erhielten das Vehikel. In der ersten Serie wurde der akute Effekt von NS1619 auf die Infarktgröße untersucht. Hierfür wurde nach 2-stündiger Reperfusion die Infarktgröße mittels TTC-Färbung bestimmt.

In der zweiten Serie dauerte die Beobachtungsphase vier Wochen. Jeweils eine und vier Wochen nach der 45-minütigen Myokardischämie wurde zur Analyse der linksventrikulären Funktion eine transthorakale Echokardiographie (TTEW1/TTEW4) durchgeführt; in der vierten Woche wurde die myokardiale Funktion zusätzlich mittels Kardio-MRT bestimmt (jeweils Isofluran-Inhalationsanästhesie). Am Versuchsende wurden die Herzen in Formalin fixiert und die Infarktgröße (% des linken Ventrikels) mittels AZAN-Färbung dargestellt. Alle Funktionsuntersuchungen und Auswertungen wurden verblindet durchgeführt (Statistik: $MW \pm SD$, t-Test, $p < 0,05$).

Ergebnisse

In der ersten Akutversuchsserie betrug die Infarktgröße in der Kontrollgruppe $67 \pm 15\%$ des Risikogebiets. Eine Präkonditionierung mit NS1619 reduzierte die Infarktgröße auf $39 \pm 19\%$ des Risikogebiets ($p < 0,05$ vs. Con). Im Rahmen der chronischen zweiten Versuchsserie zeigte die transthorakale Echokardiographie, dass die Gabe von NS1619 zu einer deutlichen Verbesserung der Ejektionsfraktion im Vergleich zur Kontrollgruppe sowohl 1 Woche als auch 4 Wochen nach Infarkt führte (Tab. 1). Die Präkonditionierung mit NS1619 verminderte das endsystolische Volumen zu beiden Zeitpunkten der TTE-Untersuchung und führte zusätzlich zu einer Steigerung der Verkürzungsfraktion nach vier Wochen. Die MRT-basierte Analyse der linksventrikulären Funktion bestätigte die Ergebnisse der TTE-Messung nach 4 Wochen. NS1619 führte zu einer Steigerung der Ejektionsfraktion um ca. 45% im Vergleich zur Kontrolle. Des Weiteren zeigte die Kardio-MRT-Untersuchung ein verringertes enddiastolisches und -systolisches Volumen (EDV, ESV) durch NS1619 im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Präkonditionierung mit NS1619 reduzierte die Größe der Infarktgröße nach vier Wochen um 25% (Con: $12 \pm 3\%$, NS: $9 \pm 2\%$; $p < 0,05$).

Interpretation

Diese Ergebnisse zeigen, dass eine Präkonditionierung durch Aktivierung von mK_{Ca} -Kanälen mit NS1619 die kardiale Funktion nach 4-wöchiger Beobachtungsphase verbessert und die Größe der Infarktgröße reduziert.

Literatur

1. Xu W, Liu Y, Wang S, McDonald T, Van Eyk JE, Sidor A, O'Rourke B: Cytoprotective role of Ca^{2+} -activated K^{+} channels in the cardiac inner mitochondrial membrane. Science 2002; Nov 1;298(5595):1029-33
2. Huhn R, Weber NC, Preckel B, Schlack W, Bauer I, Hollmann MW, Heinen A: Age-related loss of cardiac preconditioning: impact of protein kinase A. Exp Gerontol 2012; Jan;47(1):116-21.

Tabelle 1

	TTE W1			TTE W4			MRT		
	EF (%)	ESV (μl)	FS (%)	EF (%)	ESV (μl)	FS (%)	EF (%)	ESV (μl)	EDV (μl)
Con	36 ± 4	60 ± 12	16 ± 5	33 ± 11	82 ± 31	12 ± 6	29 ± 6	79 ± 19	110 ± 19
NS	$45 \pm 4^*$	$45 \pm 8^*$	21 ± 6	$46 \pm 8^*$	$44 \pm 8^*$	$24 \pm 8^*$	$42 \pm 9^*$	$53 \pm 18^*$	$88 \pm 16^*$

* $p < 0,05$ versus Con.

Intraoperative Beatmungseinstellungen und Outcome nach chirurgischen Eingriffen – Ergebnisse der internationalen Beobachtungsstudie LAS VEGAS*

T. Bluth¹ · T. Kiss¹ · C. Uhlig¹ · P. M. Spieth¹ · A. Güldner¹ · T. Koch¹ · S. N. T. Hemmes² · A. Serpa Neto³ · P. Pelosi⁴ · M. J. Schultz² · M. Gama de Abreu¹

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

2 Department of Intensive Care, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Niederlande

3 Department of Critical Care Medicine, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, Brasilien

4 IRCCS AOU San Martino IST Hospital, University of Genoa, Italien

Korrespondenz:

thomas.bluth@uniklinikum-dresden.de

* mit Unterstützung der Europäischen Gesellschaft für Anästhesie (ESA)

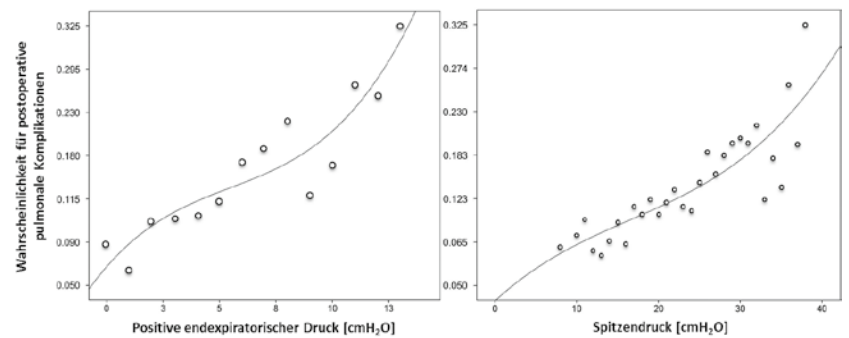
Fragestellung

Postoperative pulmonale Komplikationen (PPC) tragen wesentlich zur perioperativen Letalität und Morbidität bei und können durch intraoperative lungenprotektive Beatmung reduziert werden. Wir führten eine multizentrische observationelle Studie zur derzeitigen Praxis der intraoperativen Beatmung durch. Die Hypothese war, dass niedrige Tidalvolumina (V_T) (<10 ml/kg, predicted body weight – PBW) und moderater bis hoher PEEP (≥ 5 cmH₂O) häufig verwendet werden und mit einer niedrigeren Rate an PPC assoziiert sind.

Methodik

Die Studie wurde unter clinicaltrials.gov (NCT 01683578) registriert, die zugehörigen Ethikkommissionen bestätigten die Durchführung. Nach schriftlichem Einverständnis wurden alle Patienten, die eine Allgemeinanästhesie unter mechanischer Beatmung für eine elektive oder nicht-elektive Operation erhielten, innerhalb eines definierten, 7-tägigen Zeitraums pro Zentrum in die Studie eingeschlossen, im Gesamtzeitraum zwischen Januar und März 2013. Daten zu a priori de-

Abbildung 1



Wahrscheinlichkeit für das Auftreten postoperativer pulmonaler Komplikationen in Abhängigkeit von PEEP und Spitzendruck, PROBIT-Regression.

finierten Variablen wie präoperativen Risikofaktoren, intraoperativen Beatmungseinstellungen sowie PPC (Bedarf an zusätzlichem Sauerstoff oder (nicht-)invasiver Beatmung, respiratorisches Versagen, ARDS, Pneumonie, Pneumothorax) und Krankenhausaufenthalt/-letalität wurden erhoben und anonymisiert in eine passwortgeschützte elektronische Datenbank (OpenClinica, Boston, MA, USA) eingegeben. Als primärer Endpunkt galt das Auftreten von mindestens einer PPC in den ersten 5 Tagen nach Operation. Unter Annahme einer minimalen Rate von 120 PPC bei geschätzten Inzidenzen um 2,6-5% wurde eine Fallzahl von mindestens 4.800 Patienten kalkuliert. Patienten mit unvollständigen Datensätzen in den Beatmungseinstellungen (V_T , PEEP, Spitzendruck, FiO_2) wurden ausgeschlossen. Nach univariater Analyse wurde mit Hilfe einer multivariaten Regression (allgemeines lineares gemischtes Modell) der Effekt einzelner intraoperativer Beatmungsparameter auf das Auftreten von PPC zunächst in der nativen Kohorte und nach Propensity Score Matching hinsichtlich 20 Baseline-Variablen getestet. Statistische Signifikanz wurde für $p < 0,05$ angenommen.

Ergebnisse

In 146 Zentren (29 Länder) wurden 10.523 Patienten rekrutiert, davon wurden 8.241 mit komplettem Datensatz analysiert. PPC wurden bei 861 (10,4%) Patienten beobachtet, wovon 700 (8,5%) Patienten zusätzlichen Sau-

erstoff benötigten und 138 Patienten (1,7%) ein respiratorisches Versagen entwickelten. ARDS, Pneumonie und Pneumothorax traten sehr selten auf ($<1\%$). Das mediane V_T lag bei 500 ml (454-551 ml), entsprechend 8,1 (7,2-9,1) ml/kg PBW, nur ca. 10% der V_T waren >10 ml/kg PBW. Der am häufigsten eingesetzte PEEP betrug 0 und 5 cmH₂O (median 4 cmH₂O). Rekrutierungsmänoevr wurden in 9,5% aller Patienten eingesetzt. Die mediane Krankenhausverweildauer betrug einen Tag (0-4). Patienten mit PPC hatten einen längeren Krankenhausaufenthalt und eine höhere Krankenhausletalität (log rank Test je $p < 0,001$). Sowohl in der ursprünglichen Kohorte als auch nach Matching war das Auftreten von PPC mit höherem PEEP (Odds ratio (95%CI): 1,06 (1,01-1,12), $p=0,02$) und höherem Atemwegsspitzenndruck (1,03 (1,00-1,06, $p=0,04$)) assoziiert, nicht aber mit höherem V_T .

Interpretation

Im Rahmen der intraoperativen Beatmung werden niedrige Tidalvolumina häufig verwendet, hingegen höherer PEEP über 5 cmH₂O und Rekrutierungsmänoevr selten eingesetzt. Das Auftreten von PPC war unabhängig von anderen Variablen mit höherem intraoperativem PEEP und höheren Spitzendrücken assoziiert, jedoch nicht mit der Höhe der in dieser Studie erhobenen Tidalvolumina.

Gemischtenvenöse Sauerstoffoszillationen führen zu akuter Lungenschädigung und pulmonaler Inflammation im experimentellen In-vivo-Modell mittels veno-venöser extrakorporaler Membranoxygenierung am Schwein

S. Boehme^{1,2} · E.K. Hartmann² · M. Hess³ · M. David² · R. Ullrich¹ · D. Abraham¹ · K.U. Klein^{1,2} · K. Markstaller^{1,2}

- 1 Universitätsklinik für Anästhesie, Allgemeine Intensivmedizin und Schmerztherapie, Medizinische Universität Wien
- 2 Universitätsklinik für Anästhesiologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
- 3 Core Facility Bioinformatik, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
- 4 Zentrum für Anatomie und Zellbiologie, Medizinische Universität Wien

Korrespondenz:

stefan.boehme@meduniwien.ac.at

Fragestellung

Maschinelle Überdruckbeatmung kann per se zu einer beatmungsinduzierten Lungenschädigung (VILI) führen [1]. Neben mechanischen Kräften wie Volutrauma, Barotrauma und Atelektrauma werden auch nicht-mechanische Mechanismen bei der Pathogenese des VILI diskutiert. Eine dieser alternativen Ursachen stellen Sauerstoffpartialdruck (PO_2)-Oszillationen dar, welche durch atemzyklisches Rekrutieren von Atelektasen entstehen [2]. Ziel dieser Arbeit war zu untersuchen, ob PO_2 -Oszillationen als eigenständiger Mechanismus zur Schädigung der Lunge führen. Hierfür wurde ein In-vivo-Modell mittels veno-venöser extrakorporaler Membranoxygenierung (vv-ECMO) am Schwein etabliert, welches eine Exposition von PO_2 -Oszillationen auf nicht vorgeschädigte Lungen erlaubt.

Methodik

Mit Genehmigung des Landesuntersuchungsamtes Rheinland-Pfalz (23177-07/G09-1-029) wurden 20 weibliche Hausschweine (Gewicht: 50 ± 4 kg) untersucht. Vier Tiere waren zur Modellentwicklung nötig, zwei weitere verstarben vorzeitig. Mittels computergesteuerter Variation der Gasflüsse von Sauerstoff, Druckluft und Stickstoff über den Oxygenator der vv-ECMO (Stöckert S3, Sorin Group

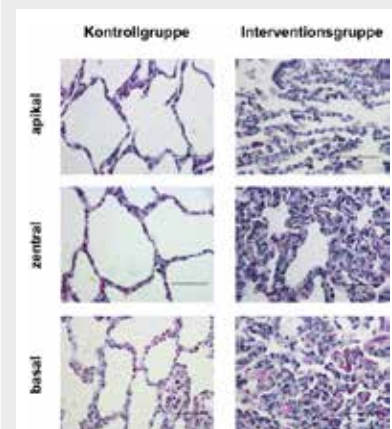
Deutschland) wurden die gesunden Versuchstiere randomisiert für 6 Stunden entweder einem konstanten PO_2 (Kontrollgruppe; $n=6$; konstante gemischtenvenöse Hämoglobin-Sauerstoffsättigung ($S_{mv}O_2$) 65%) oder einem oszillierenden PO_2 (Interventionsgruppe; $n=8$; oszillierende $S_{mv}O_2$ 40-90%; Frequenz 2 pro Minute) ausgesetzt. In beiden Gruppen wurden unter vv-ECMO dieselben minimalinvasiven Beatmungseinstellungen gewählt (kontinuierlicher Atemwegsdruck von 15 mbar; 2 ml/kg Tidalvolumen). Folgende Analysen wurden durchgeführt: Histologischer Lungenscore (LIS; Werte 0 bis max. 5) adaptiert nach Patel et al. [3]; Bestimmung der Konzentrationen von Interleukin (IL-) 1 beta (IL-1 β), IL-6 und Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α) mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) aus Blutplasma; Bestimmung der Genexpressionsunterschiede von IL-1 β , IL-6, TNF- α und der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) aus dem Lungengewebe mittels quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (qRT-PCR); sowie eine bioinformatische Analyse von Microarrays aus Lungenproben.

Statistik: Wilcoxon-Rangsummentest für nicht-parametrische Daten; t-Test bzw. Varianzanalyse für parametrische Daten.

Ergebnisse

Histologisch zeigen sich in der Interventionsgruppe signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe im LIS ($2,29 \pm 0,35$ versus $1,15 \pm 0,3$; $p=0,0007$) (Median \pm Interquartilsabstand). Nach Exposition von PO_2 -Oszillationen fanden sich vermehrt neutrophile Granulozyten sowie ein alveolärer Umbau mit zum Teil verdickten Alveolarsepten (Abb. 1). Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurden in der Interventionsgruppe signifikant höhere Konzentrationen von IL-6 (66 ± 25 pg/ml versus 97 ± 24 pg/ml; $p=0,037$) und TNF- α (408 ± 90 pg/ml versus 529 ± 104 pg/ml; $p=0,041$) (Mittelwert \pm Standardabweichung) im Blutplasma gefunden. Auch die qRT-PCR Analysen aus dem Lungengewebe ergaben in der Interventionsgruppe eine signifikant höhere Messenger-Ribonukleinsäure (mRNA)-Expression von IL-1 β (2,9-fach; $p=0,006$), IL-6 (2-fach; $p=0,0002$), TNF- α (1,8-fach; $p=0,009$) und iNOS (2,1-fach; $p=0,003$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die bioinformatische Analyse der Genarrays zeigte ebenfalls Ände-

Abbildung 1



Darstellung repräsentativer Lungenschnitte in 60-facher Vergrößerung aus der Kontrollgruppe und der Interventionsgruppe; jeweils aus apikalen, zentralen und basalen Lungenarealen. Der abgebildete Maßstab beträgt 50 μ m.

rungen in Signaltransduktionswegen, die mit IL-1, IL-6, TNF- α und Interferon γ assoziiert sind. Die daran beteiligten Signalwege sind an der Superoxidproduktion, der Chemotaxis und Adhäsion von neutrophilen Granulozyten sowie an der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies involviert.

Interpretation

Artifizell generierte PO_2 -Oszillationen führen innerhalb kurzer Zeit an gesunden Lungen zu histologischer Lungenschädigung und pulmonaler Inflammation. Diese Daten legen den Schluss nahe, dass PO_2 -Oszillationen einen eigenständigen Mechanismus in der Pathogenese des VILI darstellen könnten.

Literatur

1. Slutsky AS, Ranieri VM: Ventilator-induced lung injury. N Engl J Med 2013;369:2126-36
2. Baumgardner JE, Markstaller K, Pfeiffer B, Doebrich M, Otto CM: Effects of respiratory rate, plateau pressure, and positive end-expiratory pressure on PaO_2 oscillations after saline lavage. Am J Respir Crit Care Med 2002;166:1556-62
3. Patel BV, Wilson MR, Takata M: Resolution of acute lung injury and inflammation: a translational mouse model. Eur Respir J 2012;39:1162-70.

Quantifizierung der pulmonalen, neutrophilen Inflammation durch Aufnahme von 18F-Fluorodeoxyglucose mittels statischer und dynamischer Positronen-Emissions-Tomographie in einem Modell des ARDS am Schwein

A. Braune¹ · A. Güldner¹ · T. Bluth¹ · T. Kiss¹ · L. Oehme² · J. Kotzerke² · T. Koch¹ · M. Gama de Abreu¹

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

Korrespondenz:

anja.braune@uniklinikum-dresden.de

Fragestellung

Bildgebung der Lunge mittels 18F-Fluorodeoxyglucose (18F-FDG) und dynamischer Positronen-Emissions-Tomographie (PET), gefolgt von mathematischer Modellierung der 18F-FDG-Aufnahme, ist ein etabliertes Verfahren zur Quantifizierung der neutrophilen Inflammation im akuten Lungenversagen (ARDS). Nachteil dynamischer PET-Aufnahmen ist die relativ lange Aufnahmedauer von 60-75 Min. sowie ein begrenzter kranial-kaudaler Aufnahmebereich von 15 cm. Eine

experimentelle Studie fand eine Korrelation zwischen der mittels Patlak bestimmten 18F-FDG-Aufnahmerate (K_{ip}) und dem Verhältnis von mittlerer Tracerkonzentration in einer Region von Interesse (ROI) zur Tracerkonzentration im Blutplasma (tissue-to-plasma activity ratios: TPR), wobei TPR unter Auswertung des letzten 300 Sek. Zeitabschnittes der 58 Min. dynamischen PET-Aufnahme bestimmt wurde [1]. In einem tierexperimentellen Modell des ARDS analysierten wir statische und dynamische 18F-FDG-PET-Messungen. Wir stellten die Hypothese auf, dass TPR-Werte (aus statischen PET-Aufnahmen) mit K_{ip} -Werten (aus dynamischen PET-Aufnahmen) korrelieren. Darüber hinaus analysierten wir, ob die Inflammation innerhalb eines kranial-kaudalen Lungenbereiches von 15 cm repräsentativ für die Inflammation der gesamten Lunge ist.

Methodik

Die Daten von 8 Hausschweinen einer begleitenden Studie wurden reanalysiert [2]. Nach Induktion eines schweren ARDS mittels kombinierter Lungenlavage mit Kochsalzlösung und beatmungsinduzierter Lungenschädigung wurden die Tiere 24 h mit variabler (noisyVCV) oder konventioneller, volumenkontrollierter Beatmung (VCV) beatmet. Die metabolische Aufnahmerate von intravenös injiziertem 18F-FDG wurde sowohl nach Induktion des ARDS (d1) als auch nach 24-stündiger Beatmung (d2) mittels dynamischer PET-Aufnahme erfasst. K_{ip} wurde unter

Anwendung der Patlak-Methode und Auswertung der PET-Zeitabschnitte 15-75 Min. nach 18F-FDG-Injektion bestimmt und für 5 isogravimetrische Regionen entlang dem ventro-dorsalen Gradienten des erfassten 15 cm kranial-kaudalen Lungenbereiches (ROIs_{15cm}) gemittelt. Unmittelbar nach dynamischer PET-Aufnahme – und damit 77-80 Min. nach Injektion von 18F-FDG – wurde die Tracer-Verteilung innerhalb der gesamten Lunge mittels statischer PET-Aufnahme erfasst. Für dieselben ROIs, welche für die Auswertung der dynamischen PET-Aufnahmen dienten, wurden unter Einbeziehung von 18F-FDG-Aktivitätsmessungen des Blutplasmas mittlere TPR-Werte berechnet (TPR_{15cm}). Unter Anwendung der ventral-dorsalen Grenzen der ROIs_{15cm}, aber den gesamten kranial-kaudalen Lungenbereich umfassend, wurden für 5 weitere ROIs mittlere TPR-Werte berechnet (TPR_{wholeLung}). Für d1 und d2 wurden K_{ip} - und TPR_{wholeLung}-Werte sowie TPR_{wholeLung}- und TPR_{15cm}-Werte aller ROIs und beider Versuchsgruppen mittels linearer Regression und Variationskoeffizienten (r^2) verglichen. Statistische Signifikanz wurde für $p < 0,05$ angenommen (Wilcoxon).

Ergebnisse

Sowohl an d1 als auch an d2 bestand ein linearer Zusammenhang zwischen TPR_{wholeLung} und K_{ip} -Werten aller ROIs (Abb.1: $r^2 = 0,859$ bzw. $0,969$, $p < 0,001$). TPR_{15cm} und TPR_{wholeLung} korrelierten an beiden experimentellen Tagen (d1: $r^2 = 0,907$ bzw. d2: $r^2 = 0,991$, $p < 0,001$).

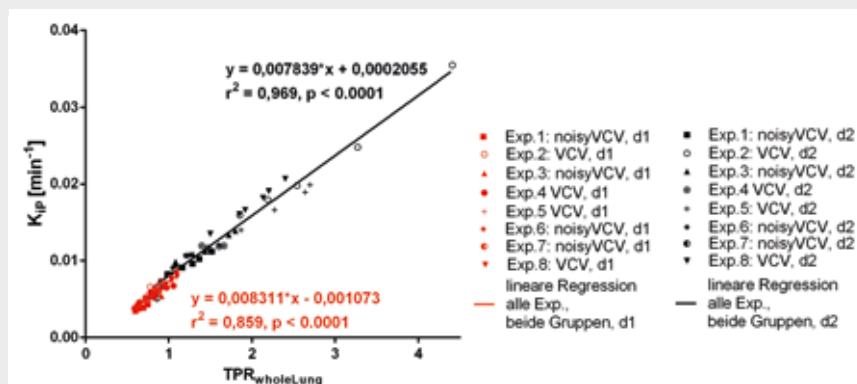
Interpretation

Für die Quantifizierung der pulmonalen, neutrophilen Inflammation können TPR-Werte alternativ zu K_{ip} -Werten genutzt werden. Inflammationswerte des mittels statischer PET-Aufnahmen erfassten, 15 cm kranial-kaudalen Lungenbereiches waren repräsentativ für die Inflammation der gesamten Lunge.

Literatur

1. Chen DL, Mintun MA, Schuster DP: Comparison of Methods to Quantitate 18F-FDG Uptake with PET During Experimental Acute Lung Injury. J Nucl Med 2004;45(9):1583-90
2. Güldner et al: Effekte von 24 Stunden variabler volumenkontrollierter Beatmung auf die pulmonale neutrophile Inflammation im schweren akuten Lungenversagen am Schwein. Anästh Intensivmed 2016;55

Abbildung 1



Lineare Korrelation zwischen metabolischer 18F-FDG-Aufnahmerate nach Patlak (K_{ip}) und tissue-to-plasma activity ratios der gesamten Lunge (TPR_{wholeLung}) innerhalb aller ROIs an beiden experimentellen Tagen (d1 und d2); noisyVCV: variable Beatmung; VCV: konventionelle, volumenkontrollierte Beatmung.

Effekte von 24 Stunden variabler volumenkontrollierter Beatmung auf die pulmonale neutrophilische Inflammation im schweren akuten Lungenversagen am Schwein

A. Güldner¹ · T. Kiss¹ · T. Bluth¹ · A. Braune¹ · R. Huhle¹ · I. Rentzsch¹ · L. Oehme² · M. Andreief² · T. Winkler³ · M.F. Vidal Melo³ · J. Kotzerke² · T. Koch¹ · M. Gama de Abreu¹

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

2 Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, TU Dresden

3 Department of Anesthesiology and Critical Care, Massachusetts General Hospital, Harvard University, Boston, USA

Korrespondenz:

andreas.gueldner@uniklinikum-dresden.de

Fragestellung

Die Beatmung mit variablen Tidalvolumina (V_T) im akuten Lungenversagen (ARDS) ist in der Lage, die Lungenfunktion zu verbessern und die beatmungsinduzierte Lungenschädigung (ventilator induced lung injury – VILI) zu minimieren [1]. Vorangegangene Untersuchungen waren jedoch auf einen kurzen Untersuchungszeitraum limitiert und konnten keine Aussagen zur regionalen Verteilung der pulmonalen Inflammation im Rahmen der VILI treffen. Mit Hilfe der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) mittels 18F-Fluorodesoxyglucose 18F-FDG können Ausmaß und regionale Verteilung neutrophilischer, inflammatorischer Prozesse in der Lunge quantifiziert werden. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, Effekte einer variablen volumenkontrollierten Beatmung während 24 h auf Ausmaß und regionale Verteilung

der pulmonalen Inflammation im schweren akuten Lungenversagen am Schwein zu untersuchen.

Methodik

Nach behördlicher Genehmigung wurden 14 Hausschweine analgosediert, intubiert und im volumenkontrollierten Modus beatmet: $\text{FIO}_2 = 1,0$, $\text{PEEP} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$, $V_T = 6 \text{ ml/kg}$, Atemfrequenz (AF) adjustiert nach Normokapnie, $\text{I:E} = 1:1$. Die Induktion des ARDS erfolgte durch ein „double hit“-Modell mittels Surfactantdepletion mit 8 repetitiven Lavagen mit isotonischer Kochsalzlösung, gefolgt von einer beatmungsinduzierten Lungenschädigung ($V_T = 20 \text{ ml/kg}$). Die Dauer derselben wurde bis zum Erreichen eines $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100 \text{ mmHg}$ titriert. Nach Etablierung der Lungenschädigung wurden die Tiere randomisiert einer konventionellen (VCV) oder variablen (Noisy) volumenkontrollierten Beatmung mit folgenden Einstellungen zugeordnet: PEEP und FIO_2 wurden anhand der Tabelle des ARDS Netzwerkes titriert [2], die AF wurde anhand eines arteriellen $\text{pH} > 7,30$ adjustiert. Für die konventionelle Beatmung wurde das V_T auf 6 ml/kg eingestellt und der Plateaudruck (P_{plat}) auf $30 \text{ cmH}_2\text{O}$ limitiert. Für die variable Beatmung wurde das mittlere V_T auf 6 ml/kg eingestellt, jedoch atemzugweise zufällig gemäß einer Normalverteilung mit einem Variationskoeffizienten von 30% variiert, während der mittlere P_{plat} auf $30 \text{ cmH}_2\text{O}$ und der maximale P_{plat} auf $45 \text{ cmH}_2\text{O}$ limitiert wurden. Während einer Therapiezeit von 24 h wurden Gasaustausch, Hämodynamik und Lungenmechanik erfasst. Jeweils nach Induktion des ARDS (Tag 1) und nach 24 h (Tag 2) wurden eine CT zur Quantifizierung der Lungenbelüftung sowie PET Untersuchungen mittels ^{68}Ga -markierter Mikrosphären bzw. 18F-FDG zur Quantifizierung von Ausmaß und regionaler Verteilung der Lungenperfusion sowie Inflammation (spezi-

fische Aufnahme von 18F-FDG: K_{IS}) durchgeführt. Post mortem wurden Gewebeproben der Lungen zur Quantifizierung von inflammatorischer Reaktion und histologischer Lungenschädigung entnommen. Die Analysen von Gasaustausch, Hämodynamik und Lungenmechanik erfolgten mittels eines allgemeinen linearen Modells. Alle Parameter der bildgebenden sowie der postmortalen Untersuchungen wurden für den Vergleich zwischen den Gruppen mittels Test nach Mann-Whitney und für den Vergleich zwischen Tag 1 und 2 mittels Wilcoxon-Test analysiert.

Ergebnisse

Die beatmungsinduzierte Lungenschädigung wurde für 180; 100 bis 240 und 130; 90 bis 210 min (Median; Minimum bis Maximum; VCV und Noisy) aufrechterhalten. Es wurden Spitzendrücke von $38 \pm 1,5$ und $38 \pm 1,4 \text{ cmH}_2\text{O}$ erreicht, wobei aus dem „double hit“-Modell ein schweres ARDS resultierte ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$: 64 ± 14 und 69 ± 15 ; Mittelwert \pm Standardabweichung; VCV und Noisy). In beiden Gruppen nahmen zwischen Tag 1 und 2 globale (ΔK_{IS} 0,037; 0,002 bis 0,054 und 0,016; 0,006 bis 0,042; $p = 0,338$; Median; Minimum bis Maximum; VCV und Noisy) sowie regionale spezifische Aufnahme von 18F-FDG (Abb. 1) zu, während der Anteil normal belüfteter Lungenareale abnahm ($\Delta\%$ Masse normal belüftet -16,1; -8,7 bis -23,6 und -22,4; -11,3 bis -39,7; $p = 0,110$; Median; Minimum bis Maximum; VCV und Noisy). In beiden Gruppen wurde die Lungenperfusion in ventrale und kraniale Lungenareale umverteilt. Für Gasaustausch, Hämodynamik, Lungenmechanik sowie inflammatorische Reaktion und histologische Lungenschädigung konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen werden.

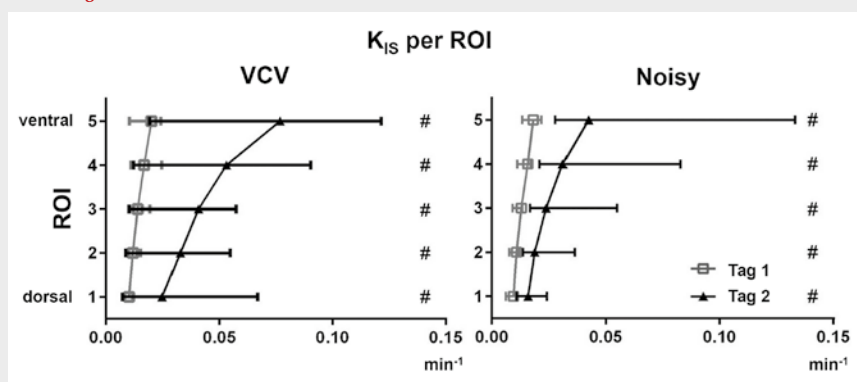
Interpretation

In einem Modell des schweren ARDS führte eine variable im Vergleich zu einer konventionellen volumenkontrollierten Beatmung über 24 Stunden weder zu einer Verbesserung der Lungenfunktion noch zu einer Reduktion von Inflammation und Schädigung in der Lunge.

Literatur

1. Spieth PM, Carvalho AR, Pelosi P, et al: Variable tidal volumes improve lung protective ventilation strategies in experimental lung injury. Am J Respir Crit Care Med 2009; 179:684-693
2. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. N Engl J Med 2000;342:1301-1308.

Abbildung 1



Spezifische Aufnahme von 18F-FDG (K_{IS}) in 5 ROI (region of interest) entlang der dorso-ventralen Achse für konventionelle (VCV) und variable (Noisy) Beatmung während Tag 1 und 2; # $p < 0,05$ Tag 1 versus 2.

Intravenös verabreichtes Amisulprid senkt das Auftreten von postoperativer Übelkeit und postoperativem Erbrechen

T. Harlander¹ · T. J. Gan² · J. Motsch³ · L. Eberhart⁴ · G. Fox⁵ · P. Diemunsch⁶ · P. Kranke¹ – für die Amisulprid DP10017 Studiengruppe

- 1 Universitätsklinikum Würzburg
- 2 StonyBrookMedicine NY
- 3 Universitätsklinikum Heidelberg
- 4 Universitätsklinikum Marburg
- 5 Acacia Pharma Cambridge
- 6 Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Korrespondenz: harlander_t@ukw.de

Fragestellung

Postoperative Übelkeit und postoperatives Erbrechen (PONV) ist nach wie vor ein häufiges Problem und tritt ohne wirksame Prophylaxe mit einer Inzidenz von rund 30% auf. Besonders bei Hochrisikopatienten (mit einer PONV-Rate bis zu 80%) ist daher eine multimodale Antiemetikaprophylaxe vonnöten, um die Auftretenswahrscheinlichkeit bedeutsam zu senken. Gleichwohl steht nur eine begrenzte Anzahl antiemetisch wirksamer Substanzklassen zu Verfügung, die bei individuellen Patienten gegebenenfalls weiter eingeschränkt wird (Nebenwirkungen, Kon-

traindikationen). Für Amisulprid konnte bereits durch eine abgeschlossene Phase-II-Studie gezeigt werden, dass es das PONV-Risiko senkt. Ziel dieser Studie war die Beurteilung von Wirksamkeit und Nebenwirkungsprofil im Rahmen einer Phase-III-Studie.

Methodik

Nach Erhalt eines positiven Ethikvotums wurden Patienten, die sich einem chirurgischen Eingriff (OP-Dauer länger 1 Stunde) in Allgemeinanästhesie mit volatilen Anästhetikum unterzogen und mindestens zwei Risikofaktoren für PONV (weibliches Geschlecht, Nicht-Raucher-Status, PONV nach früheren Narkosen/Reisekrankheit, erwartete postoperative Opioid-Gabe) aufwiesen, bei Vorliegen des schriftlich dokumentierten Einverständnisses in die Studie eingeschlossen. Die Randomisierung wurde mit verborgener Zuordnung durchgeführt. Nach Narkoseeinkleitung wurde den Studienteilnehmern entweder Amisulprid 5 mg oder das gleiche Volumen eines Placebos intravenös appliziert, wobei die Anwendung des Prüfmedikamentes doppelt-verblindet erfolgte. Der primäre Endpunkt war erreicht, wenn innerhalb von 24 Stunden nach OP-Ende kein Erbrechen oder Würgen aufgetreten war und keine Gabe einer antiemetisch wirkenden Medikation erforderlich war. Als sekundärer Endpunkt war das Auftreten von Übelkeit festgelegt.

Ergebnisse

Es wurden 732 Patienten an 19 Prüfbazentren in Europa und USA randomisiert, 689 Studienteilnehmer erhielten die Prüfmedikation, insgesamt konnten 626 Datensätze ausgewertet werden. 52,1% der Patienten in der Amisulprid-Gruppe erreichten im Gegensatz zu 40,5% in der Placebo-Gruppe den primären Endpunkt. Das Auftreten ausgeprägter Übelkeit war bei den Patienten, welche das Verum erhalten hatten, mit 41,6% signifikant niedriger als in der Placebo-Gruppe (53,1%). Unter jeglicher Art von Übelkeit litten postoperativ 52,1% (Amisulprid) gegenüber 62,7% (Placebo), der dringlich erforderliche Einsatz einer antiemetischen „Rettungsmedikation“ war bei 45,1% vs. 56,9% (Amisulprid vs. Placebo) erforderlich. Es traten keine der für Dopaminrezeptor-Antagonisten beschriebenen extrapyramidalen Störungen und im EKG keine Unterschiede der QT-Zeit zwischen der Amisulprid- und der Placebo-Gruppe auf. Patienten, die Amisulprid erhalten hatten, wiesen vorübergehend einen höheren Prolaktin-Spiegel im Serum auf.

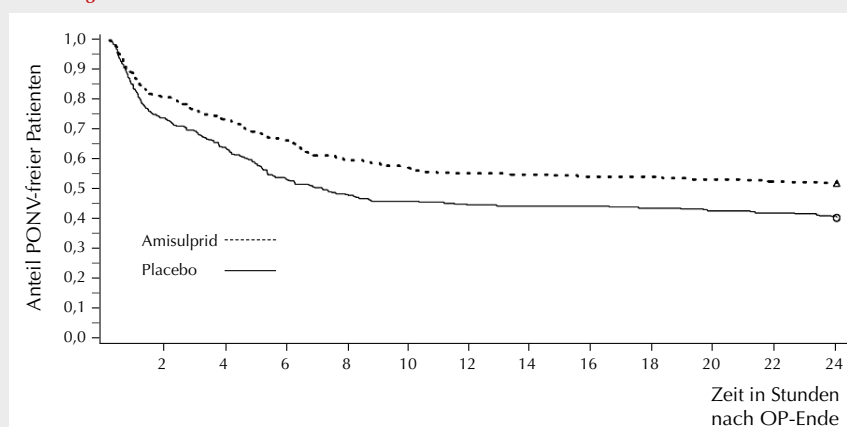
Interpretation

Amisulprid ist hinsichtlich des Auftretens von PONV gegenüber Placebo überlegen. Dadurch, dass Amisulprid keine Veränderungen in der QT-Zeit verursacht, erweist sich dieser Wirkstoff als vorteilhaft gegenüber anderen Dopaminrezeptor-Antagonisten. Aufgrund der vorliegenden Daten erscheint Amisulprid als vielversprechende neue antiemetische Substanz zur Prophylaxe von PONV.

Literatur

1. Apfel CC, Kortilla K, Abdalla M, Kerger H, Turan A, Vedder I, et al: A factorial trial of six interventions for the prevention of postoperative nausea and vomiting. *N Engl J Med* 2004;350(24):2441-51
2. Gan TJ, Diemunsch P, Habib AS, Kovac A, Kranke P, Meyer TA, et al: Consensus guidelines for the management of postoperative nausea and vomiting. *Anesth Analg* 2014;118(1):85-113
3. Kranke P, Eberhart L, Motsch J, Chassard D, Wallenborn J, Diemunsch P, et al: I.V. APD421 (amisulpride) prevents postoperative nausea and vomiting: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Br J Anaesth* 2013;111(6):938-45.

Abbildung 1



Anteil PONV-freier Patienten nach Placebo- bzw. Amisulprid-Behandlung (Prophylaxe) dargestellt im zeitlichen Verlauf (Stunden nach OP-Ende).

Durch Targeting des Chemokinrezeptors CCR2 inhibiert micro-RNA 125a-5p die Chemotaxis primärer humaner Monozyten

S. Hinske · M. Hübner · S. Kreth

Klinik für Anaesthesiologie, Universität München

Korrespondenz:

stephanie.hinske@med.uni-muenchen.de

Fragestellung

Monozyten spielen bei der Aufrechterhaltung und Resolution inflammatorischer Prozesse eine zentrale Rolle. Sie gelangen durch zielgerichtete Migration (Chemotaxis) an den Würzburg der Inflammation, wosiesich zu Makrophagen ausdifferenzieren. Die monozytäre Chemotaxis wird maßgeblich durch eine differenzielle Expression von Chemokinrezeptoren (CCRs) beeinflusst, wobei der Rezeptor CCR2 eine zentrale Rolle einnimmt [1,2]. Wie die CCR-Expression reguliert wird, ist weitgehend unklar. Wir haben untersucht, ob inflammatorische Stimuli in humanen Monozyten Expressionsänderungen spezifischer micro-RNAs (miRNAs) induzieren, die die CCR2-Expression modulieren und damit die Migrationsfähigkeit der Zellen entscheidend beeinflussen können.

Methodik

Primäre Monozyten gesunder Spender (Einverständnis lag vor) wurden mit prä-miR-125a-5p bzw. Kontroll-miR transfiziert (Elektroporation mittels NEON) und für 24 h inkubiert. Danach wurde a) RNA extrahiert, revers transkribiert und die Expressionsrate von CCR2 mittels real-time PCR (qPCR) bestimmt und b) Protein extrahiert und die Expression von CCR2 mittels Western Blot untersucht. Der 3'UTR des CCR2-Gens wurde durch PCR amplifiziert und in einen Reportervektor kloniert. Mittels gerichteter Mutagenese wurden Kontrollkonstrukte mit deletierten miR-125a-5p-Bindungsstellen erstellt. Die Konstrukte wurden jeweils mit prä-miR-125a-5p oder Kontroll-miR in HEK 293-Zellen co-transfiziert; die Reporteraktivität wurde luminometrisch gemessen. Für Migrationsuntersuchungen wurden Monozyten wie zuvor beschrieben – transfiziert und nach 8 h für 1 h in Boyden-Kammern mit dem CCR2-Liganden CCL2 im unteren Kompartiment co-inkubiert (50 ng/ml). Die Migrationsrate wurde durchflusszytometrisch quantifiziert. Ausdifferenzierung zu Makrophagen wurde durch Zugabe von 100 ng/ml GM-CSF über 6 d induziert. Primäre humane Monozyten wurden mit LPS (50 ng/ml) für 24 h inkubiert, anschließend wurde die Expression des CCR2 bzw. der miR-125a-5p mittels qPCR bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte

mittels Paired-t- bzw. Mann-Whitney-U-Test. Angegeben werden Mittelwerte±SEM.

Ergebnisse

Mittels bioinformatischer Algorithmen wurde die monozytär exprimierte miR-125a-5p als potenzieller Regulator des Chemokinrezeptors CCR2 identifiziert. Primäre humane Monozyten zeigten nach Transfektion von miR-125a-5p eine deutliche Reduktion der CCR2-Expression (Abb.1A, mRNA: Reduktion um 49±5,7%, Protein: Reduktion um 71±6,5%. Mittels Reporterexperimenten konnte eine direkte Regulation von CCR2 durch miR-125a-5p nachgewiesen werden, hierbei handelt es sich um einen additiven Effekt der beiden miR-125a-5p Bindungsstellen im CCR2-3'-UTR (n=9; Reduktion Luciferase vs. Kontrolle 51,5±4,3%, p<0,001). LPS-Stimulation führte in primären humanen Monozyten zu einer drastischen Reduktion des CCR2 (Reduktion um 94±6,6%, n=4, p<0,001); gleichzeitig wurde die Expression der miR-125a-5p um das 6,4-fache±2,4 induziert (n=4, p<0,001). Ausdifferenzierung von Monozyten zu Makrophagen induzierte gleichgerichtete Expressionsänderungen (CCR2: Reduktion um 97±1,9%, n=4, p<0,01, miR-125a-5p: Induktion 18-fach±4,7; n=3, p<0,01). Nach miR-125a-5p-Transfektion von primären Monozyten verringerte sich die CCR2-spezifische Chemotaxis deutlich gegenüber der Kontrolle (Abb.1B, Reduktion um 32±1,4% n=3, p<0,001).

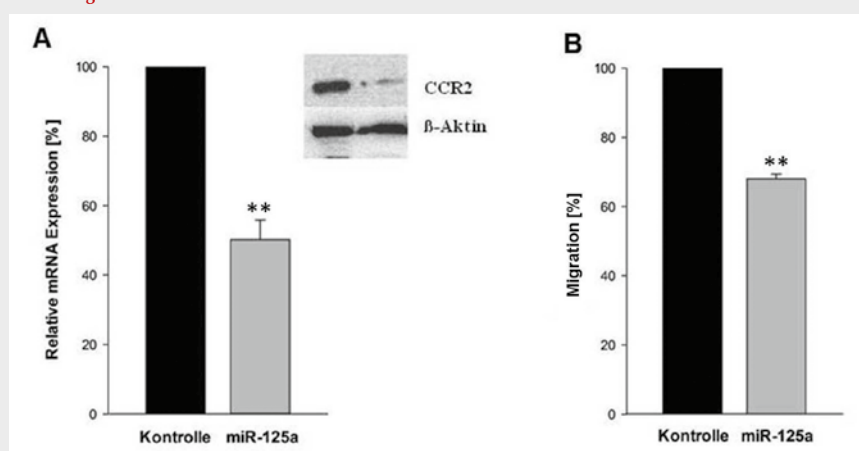
Interpretation

Monozytäre Chemotaxis kann miR-vermittelt reguliert werden: miR-125a-5p inhibiert über spezifisches Targeting die Expression des CCR2 und kann damit die monozytäre Migrationsfähigkeit vermindern. Im inflammatorischen Milieu und bei Ausdifferenzierung zu Makrophagen kann durch Induktion von miR-125a-5p das Verbleiben des Monozyten am Würzburg der Inflammation gefördert werden.

Literatur

1. Allen S, Crown S, Handel TM: Chemokine: Receptor Structure, Interaction and Antagonism. *Annu. Rev. Immunol* 2007; 25:787-820
2. Kurihara T, Warr G, Loy J, Bravo R: Defects in macrophage recruitment and host defense in mice lacking the CCR2 chemokine receptor. *J. Exp. Med* 1997;186(10):1757-62.

Abbildung 1



Primäre humane Monozyten wurden mit miR-125a-5p bzw. mit Kontroll-miR transfiziert
 A) CCR2-Expression (n=6; **p<0,01), B) Migration (n=3, **p<0,01).

Eine reduzierte Zinkbindungskapazität im Serum führt nicht zu einer suffizienten intrazellulären freien Zinkkonzentration im septischen Schock

J. Hoeger¹ · T.P. Simon¹ · H. Haase² · G. Marx¹ · T. Schürholz¹

1 Klinik für Operative Intensivmedizin und Intermediate Care, Uniklinik RWTH Aachen
2 Institut für Lebensmittelchemie, Technische Universität Berlin

Korrespondenz: janine.hoeger@rwth-aachen.de

Fragestellung

Zink als essenzieller Faktor für die zelluläre Immunfunktion zeigt sich bei Sepsispatienten erniedrigt. Dabei führen sowohl zu niedrige als auch zu hohe Zink-Konzentrationen im Serum zu einer Immundysfunktion [1,2]. Eine Reduktion des Serum-Albumins resultiert in einer erniedrigten Zinkbindungskapazität im porcinen Sepsismodell und kann primär unbedenkliche Mengen an Zink toxisch wirken lassen [3]. Wir untersuchten die Zinkbindungskapazität bei Sepsispatienten und bestimmten die intrazelluläre Zink-Aufnahme in Abhängigkeit von der Zinkbindungskapazität.

Methodik

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission (EK 032/12) wurden 44 Patienten mit Sepsis im postoperativen Verlauf (n=11 Sepsis, n=7 schwere Sepsis, n=26 septischer Schock) und 20 gesunde Probanden eingeschlossen. Zur Messung der Zinkbindungskapazität des Serums wurde die freie Säure der Fluoreszenzsonde FluoZin3 (Invitrogen, Eugene, OR, USA) verwendet. 10 µl Serum wurden zu 50 µl Assay-Puffer zugefügt (50 mM HEPES Lösung, pH=7,4, 0,3 µM FluoZin3, Chelex (Sigma-Aldrich) behandelt) und unterschiedliche Mengen ZnSO₄ in 40 µl Assay-Puffer gelöst. Die minimale Fluoreszenz (F_{min}) wurde durch die Zugabe von 50 µM TPEN (N,N,N,N-tetrakis-(2-pyridyl-methyl)ethylen-diamine; Sigma-Aldrich), die maximale (F_{max}) durch Zugabe von 100 µM ZnSO₄ erreicht. Die Messung erfolgte in Dubletten auf einer 96-Well-Platte bei 485 nm und 535 nm (Tecan Ultra 384 Fluorescence). Die freie Zinkkonzentration berechnete sich wie folgt: $[Zn] = K_D \times [(F - F_{min}) / (F_{max} - F)]$. Zur Messung des intrazellulären freien Zinks wurden 300 µl Vollblut (Lithium-Heparin) mit 10 µM FluoZin3 für 30 min bei 37°C inkubiert. Nach Inkubation teilten wir die Probe in 3 Ansätze auf: Kontrolle, F_{min} (200 µM TPEN) und F_{max} (1mM ZnSO₄ und 50 µM Pyrithion)

und inkubierten wiederum für 30 min bei 37°C. Die Lyse erfolgte nach Hersteller-vorgabe mit BD FACS Lysing Solution (BD Biosciences). Die Fluoreszenz wurde mittels FACSscan (BD Biosciences) bestimmt. Periphere mononukleäre Zellen (PBMC) wurden von gesunden Probanden isoliert und mit der Fluoreszenzsonde FluoZin3 für 30 min bei 37°C beladen. Anschließend wurden die Zellen mit und ohne Bovinem Serumalbumin (BSA) zusammen mit 10 µM ZnSO₄ inkubiert. Die Fluoreszenz wurde im Intervall von 2 min über 50 min bestimmt. Die Auswertung erfolgte mit 1-way-ANOVA und folgendem Tukey-Test oder mit 2-way-ANOVA mit folgendem Bonferroni-Test. Ein p<0,05 wurde als signifikant angesehen.

Ergebnisse

Patienten im septischen Schock zeigten eine signifikant verminderte Zinkbindungskapazität im Vergleich zu Gesunden (Septischer Schock 2,62±0,89 µM vs. Gesunde 0,31±0,02 µM freies Zink nach Zugabe von 2,5 µM ZnSO₄; p<0,001) (Abb. 1 A). Das freie intrazelluläre Zink war in den Lymphozyten und den Granulozyten signifikant bei den Sepsispatienten vermindert (Lymphozyten: Septischer Schock 0,55±0,07 nM vs. Gesunde 2,17±0,37 nM, p<0,001; Granulozyten: Septischer Schock 0,47±0,05 nM vs. Gesunde 1,35±0,16 nM freies Zink, p<0,001) (Abb. 1 C und D). In den PBMC Gesunder zeigte sich ohne BSA im Vergleich zur Inkubation mit BSA ein signifikanter Unterschied im Anstieg des intrazellulären Zinks nach Zugabe von 10 µM ZnSO₄ (Abb. 1 B).

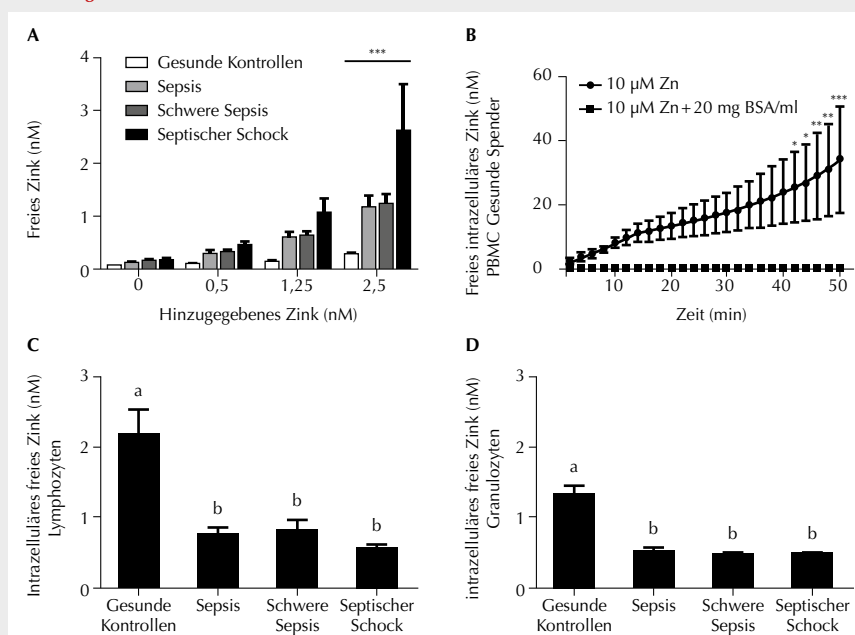
Interpretation

Die Zinkbindungskapazität ist im Serum septischer Patienten deutlich vermindert. Intrazellulär zeigten die Immunzellen signifikant verminderte freie Zinkkonzentrationen. Die erhöhte Verfügbarkeit des Serum-Zinks durch die reduzierte Zinkbindungskapazität führt nicht zu einer ausreichenden intrazellulären Kompensation und kann damit zur Immundysfunktion beitragen. Eine nach Zinkbindungskapazität adjustierte Zinksupplementierung könnte von Vorteil sein, um den Immunstatus septischer Patienten zu verbessern.

Literatur

1. Ibs KH, Rink L: Zinc-altered immune function. *Nutr* 2003;133:1452S-1456S
2. Knoell DL, Julian MW, Bao S, Besecker B, Macre JE, Leikauf GD, et al: Zinc deficiency increases organ damage and mortality in a murine model of polymicrobial sepsis. *Crit Care Med* 2009;37:1380-1388
3. Hoeger J, Simon TP, Doemming S, Thiele C, Marx G, Schuerholz T, et al: Alterations in zinc binding capacity, free zinc levels and total serum zinc in a porcine model of sepsis. *Biometals* 2015;28:693-700.

Abbildung 1



(A) Zinkbindungskapazität im menschlichen Serum; *** p<0,001. (B) Anstieg der freien intrazellulären Zinkkonzentration isolierter mononukleärer Zellen des peripheren Blutes (PBMC) gesunder Spender (n=3) nach Zinksupplementierung mit 10 µM ZnSO₄ in Anwesenheit oder Abwesenheit von Bovinem Serumalbumin (BSA), * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001. (C) Freie intrazelluläre Zinkkonzentration in Lymphozyten, und Granulozyten (D); Signifikante Unterschiede sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.

PHD1 Inhibierung vermittelt Lungenprotektion im murinen ARDS-Modell über eine HIF-abhängige Induktion der microRNA miR-16

S. Högl^{1,2} · K. S. Brodsky¹ · B. Zwißler² · H. K. Eltzschig¹

1 Organ Protection Program, Department of Anesthesiology, University of Colorado, School of Medicine, Aurora, Colorado, USA

2 Klinik für Anaesthesiologie, LMU München

Korrespondenz:

Sandra.Hoegl@med.uni-muenchen.de

Fragestellung

Das Enzym Prolyl-Hydroxylase-Domäne 1 (PHD1) ist ein wichtiger Regulator des zellulären Sauerstoffmetabolismus und vermittelt unter Normoxie die Hydroxylierung und darauf folgende Degradation des Transkriptionsfaktors „hypoxia-inducible factor“ HIF-1 α . Wir stellten die Hypothese auf, dass beim beatmungsinduzierten Lungenschaden (VILI)

die Inhibierung von PHD1 über eine Stabilisierung von HIF-1 α zur Verbesserung der alveolären Barrierefunktion beitragen könnte [1,2].

Methodik

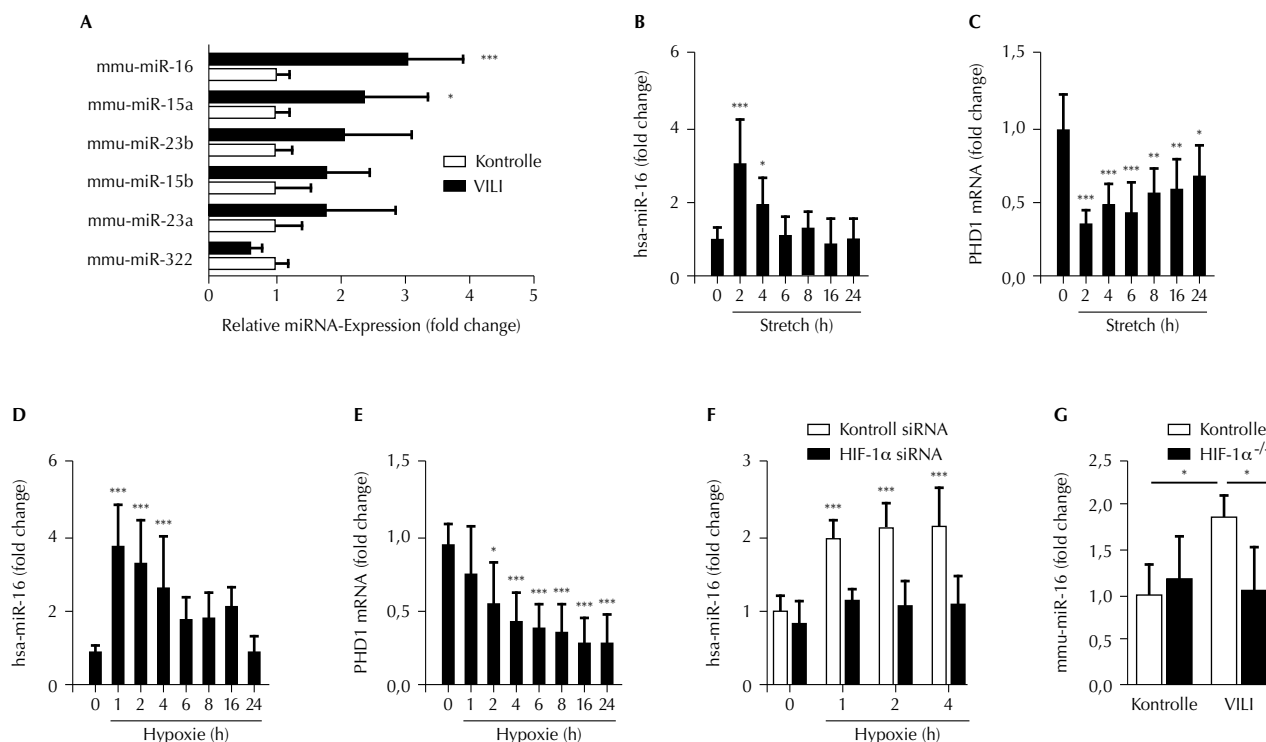
Alle Tierversuche wurden durch die zuständigen Behörden genehmigt. Zur VILI-Induktion wurden Mäuse für 3 h druckkontrolliert beatmet (p_{max} : 45 mbar, PEEP: 3 mbar, AF: 80/min, FiO_2 : 100%) [3]. Folgende Mauslinien wurden verwendet: Wild-Typ (WT; C57/BL6), PHD1^{-/-}, HIF-1 α ^{-/-} und korrespondierende Cre⁺-Kontrollen. Transkriptionelle Veränderungen wurden mittels RT-PCR, Änderungen auf Proteinebene mittels ELISA analysiert. Um potenzielle PHD1 regulierende microRNAs (miRNAs) zu identifizieren, führten wir eine In-silico-Suche durch und verifizierten diese mittels RT-PCR. In einem In-vitro-Modell wurden pulmonale Epithelzellen (humane Tumorzelllinie Calu-3) zyklischem Stretch ausgesetzt. Protein-DNA-Interaktionen wurden mit Hilfe von Chromatin-Immunpräzi-

pitation (ChIP) untersucht. Zur statistischen Auswertung verwendeten wir die zweifaktorielle Varianzanalyse (Bonferroni-Post-hoc-Test) bzw. t-Tests, Ergebnisse als Mittelwert (SD).

Ergebnisse

Mäuse mit genetischem PHD1-Knockout zeigten nach VILI eine geringere histologische Lungenschädigung und Durchlässigkeit der alveolo-kapillären Barriere (Albuminkonzentration (BAL): WT = 5431 (2166) $\mu\text{g/ml}$ vs. PHD1^{-/-} = 667 (184) $\mu\text{g/ml}$), die pulmonale mRNA-Expression inflammatorischer Zytokine war ebenfalls signifikant reduziert. Da WT-Mäuse nach VILI eine pulmonale PHD1-Repression zeigten, könnte dies über eine posttranskriptionelle Genregulation mittels miRNA vermittelt sein. Bei der RT-PCR-Analyse potenzieller Target-miRNAs für PHD1 kam es nur beim miR-15a/16-Cluster zu einer signifikanten Induktion im Lungengewebe nach VILI (A). In-vitro-Untersuchungen an Calu-3 zeigten eine frühe Induktion von miR-16 durch Zellstretch, welche für die

Abbildung 1



(A) Screening von miRNAs mit PHD1 mRNA-Bindungsstellen (Lungenhomogenat). (B) Induktion von miR-16 durch Stretch (Calu-3). (C) Suppression von PHD1 durch Stretch (Calu-3). (D) Hypoxische Induktion von miR-16 (Calu-3). (E) Hypoxische Suppression von PHD1 (Calu-3). (F) Fehlende hypoxieabhängige miR-16-Induktion nach Repression von HIF-1 α mittels siRNA (Calu-3). (G) Fehlende miR-16-Induktion nach VILI bei HIF-1 α ^{-/-} Mäusen (Lungenhomogenat). MW (SD); n=5-7; * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,005.

beobachtete PHD1-Repression verantwortlich war (B, C). Wir konnten drei mögliche HIF-Bindungsstellen in der Promoterregion von miR-15a/16 identifizieren (hypoxia-response elements, HREs), über die eine HIF-bedingte Induktion vermittelt sein könnte. ChIP zeigte eine Bindung von HIF-1 α an zwei HREs des Promoters. Nach Hypoxie zeigte sich in Calu-3-Zellen eine zeitlich abhängige Induktion von miR-16 mit entsprechender PHD1-Suppression (D, E). In Calu-3-Zellen mit siRNA-vermittelter Repression von HIF-1 α war die Hypoxie-abhängige miR-16-Induktion komplett geblockt (F). Im VILI Tiermodell machten wir ähnliche Beobachtungen, da HIF-1 $\alpha^{-/-}$ Mäuse nach VILI keine Induktion von miR-16 zeigten (G).

Interpretation

Eine verminderte Expression von PHD1 und Stabilisierung von HIF-1 α kann das Lungenepithel während VILI vor Schädigung schützen. Dieser protektive Mechanismus könnte über eine HIF-1 α -abhängige Induktion von miR-15a/16 im Lungenepithel vermittelt werden.

Literatur

1. Hoegl S, Zwissler B, Eltzschig HK, Vohwinkel C: Acute respiratory distress syndrome following cardiovascular surgery: current concepts and novel therapeutic approaches. *Curr Opin Anaesthesiol* 2016;29(1):94-100
2. Schneider M, Van Geyte K, Fraisl P, et al: Loss or silencing of the PHD1 prolyl hydroxylase protects livers of mice against ischemia/reperfusion injury. *Gastroenterology* 2010;138(3):1143-1154 e1141-1142
3. Hoegl S, Brodsky KS, Blackburn MR, Karmouty-Quintana H, Zwissler B, Eltzschig HK: Alveolar Epithelial A2B Adenosine Receptors in Pulmonary Protection during Acute Lung Injury. *J Immunol* 2015;195(4):1815-1824.

Vergleich von balancierter 6%iger Hydroxyethylstärke (130/0.4) und Humanalbumin 5% als perioperative Volumenersatzlösung: Einflüsse auf Nierenfunktion, Glomerulumschaden und Glykokalyxschädigung

T. Kammerer¹ · N. Hulde¹ · F. Brettner¹ · F. Klug¹ · S. Schäfer¹ · A. Karl² · A. Crispin³ · M. Rehm¹

¹ Klinik für Anaesthesiologie

² Urologische Klinik und Poliklinik

³ Institut für Biometrie und Epidemiologie
Ludwig-Maximilians-Universität München

Korrespondenz:

tobias.kammerer@med.uni-muenchen.de

Fragestellung

Die Anwendung künstlicher Kolloide wird kontrovers diskutiert. Bei septischen Intensivpatienten zeigten Studien in der jüngsten Vergangenheit einen negativen Einfluss von Hydroxyethylstärke (HES) auf Morbidität und Mortalität [1]. Dies führte 2013 zu einem kurzzeitigen Verbot der Anwendung von HES-Produkten durch die europäische Arzneimittelbehörde. Zum Einsatz bei nicht kritisch-kranken, elektiven chirurgischen Patienten fehlen bislang ausreichende Daten. Eine mögliche Alternative zu künstlichen Kolloiden stellt die Anwendung von Huma-

nalbumin dar. Ziel dieser Untersuchung war es, die Auswirkungen einer modernen balancierten 6%igen Hydroxyethylstärke sowie Humanalbumin 5% auf Nierenfunktion, Glomerulumschaden und Glykokalyxschädigung bei elektiven chirurgischen Patienten zu vergleichen.

Methodik

Nach Genehmigung durch die lokale Ethikkommission wurden insgesamt 100 urologische Patienten zwischen 18 und 85 Jahren in eine prospektiv randomisierte monozentrische Studie eingeschlossen. Alle Patienten erhielten eine chirurgische Zystektomie mit Anlage eines Ileumconduits (n=50) oder einer Neoblase (n=50). Ausschlusskriterien waren u.a. eine palliative Situation oder Metastasierung, Koagulopathie, Krea-Clearance <30 ml/min und präop. Therapie mit nephrotoxischen Substanzen. Perioperativ bis zum dritten postoperativen Tag wurden entweder balancierte 6%ige Hydroxyethylstärke (HES, n=47) oder Humanalbumin 5% (HA, n=53) als Volumenersatzmittel nach einem speziellen Infusionsalgorithmus angewandt. Flüssigkeitsverluste (Urin, Perspiratio) wurden 1:1 mit einer balancierten Ringer-Acetat-Lösung ersetzt. Eiweiß- und Blutverluste wurden 1:1 mit HES 6% bzw. HA 5% bis zum Erreichen eines Transfusions triggers oder einer Maximaldosis von 30 ml/kg KG/d ersetzt. Die Volumen- und

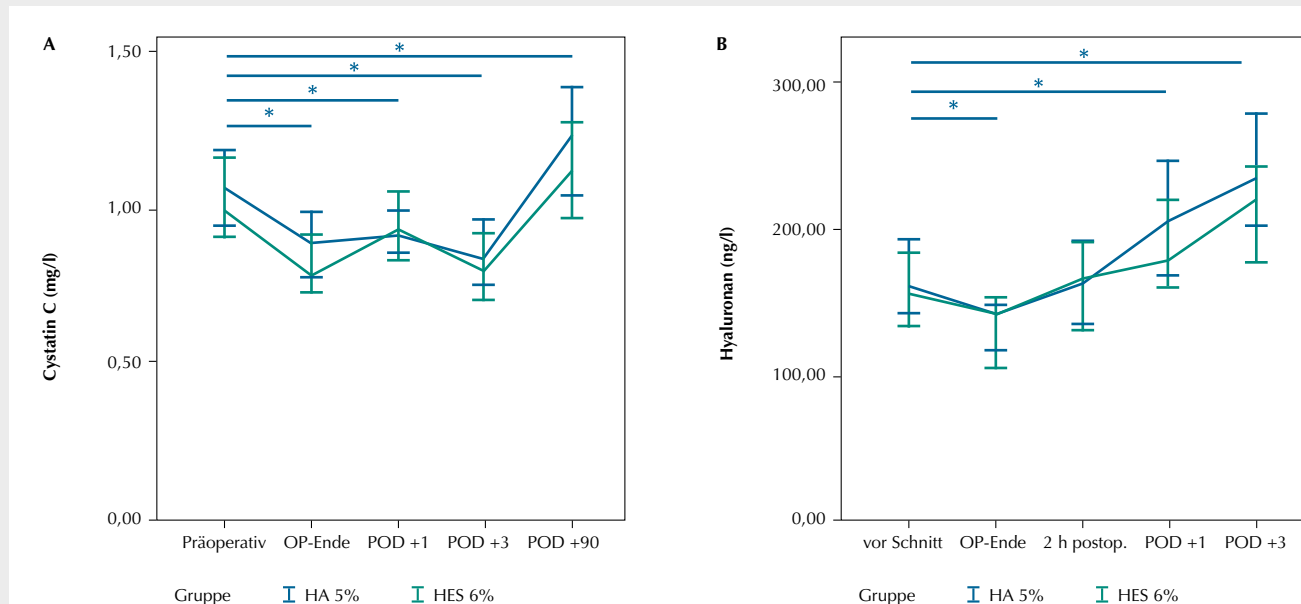
Katecholamintherapie wurde anhand eines erweiterten hämodynamischen Monitorings mit folgenden Zielparametern gesteuert: ASA-1- und 2-Patienten ohne kardiale/zerebrovaskuläre Risikofaktoren: SVV <12%; CI >2,5 L/min/m²; MAD >60 mmHg; ASA-3- und 4-Patienten oder Patienten mit kardialen/zerebrovaskulären Risikofaktoren: SVV <12%; CI >2,5 L/min/m²; MAD >70 mmHg; ScvO₂ >70% oder SvO₂ >65%. Das ausführliche Studienprotokoll wurde bereits publiziert [2]. Primärer Endpunkt war die Änderung des Cystatin-C-Wertes im Serum (Δ CystC) bis zum Tag +90 nach OP. Sekundäre Endpunkte waren u.a. die aus dem Cystatin C kalkulierte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) [3], neutrophilengelatine-assoziertes Lipocalin (NGAL), Syndecan-1 (CD-138) und Hyaluronan. Die statistische Auswertung durch das Institut für Biometrie erfolgte verblindet.

Statistik: Normalverteilte Werte als Mittelwerte \pm Standardabweichung, nicht normalverteilte Werte als Median \pm Standardabweichung; Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman, nichtparametrischer Test nach Wilcoxon, p < 0,05 bzw. p < 0,0125 nach Bonferroni-Korrektur bei wiederholten Messungen.

Ergebnisse

Die demographischen Daten waren in beiden Gruppen vergleichbar. Die mittlere Kristal-

Abbildung 1



A: Verlauf Cystatin C im Serum von Visite 1 (präoperativ) bis Visite 5 (postoperativer Tag (POD) +90). Werte im Median mit Standardabweichung (95% Konfidenzintervall). * p < 0,001.

B: Verlauf Hyaluronan im Serum von Visite 1 (präoperativ) bis Visite 4 (postoperativer Tag (POD) +3). Werte im Median mit Standardabweichung (95% Konfidenzintervall). * p < 0,001.

loidmenge bis zum dritten postoperativen Tag betrug 11.110 ml (± 2840 ml) in der HES-Gruppe versus 10.900 ml (± 2532 ml) in der HA-Gruppe ($p=0,745$); die mittlere perioperative Kolloidmenge betrug 1.896 ml (± 875 ml) für HES bzw. 1.617 ml (± 651 ml) für Humanalbumin ($p=0,088$). Die intraoperative Transfusionsrate betrug 27.8% (HES 23.4%; HA 32.1%; $p=0,319$). Cystatin C und die daraus berechnete GFR wurden präoperativ, bei OP-Ende, am ersten, dritten und neunzigsten postoperativen Tag bestimmt. Bezüglich des primären Endpunktes (Δ CystC am Tag +90) fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Δ CystCHES 1.09; Δ CystCHA 1.18; $p=0,4804$). Syndecan-1, Hyaluronan und NGAL wurden präoperativ, bei OP-Ende, 2 h postoperativ, am ersten und am dritten postoperativen Tag gemessen. Für keinen der Parameter zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Die mediane Krankenhausverweildauer unterschied sich nicht signifikant (HES 20 d (± 9 d); HA 22 d (± 16 d); $p=0,056$ (Wilcoxon)).

Interpretation

Die vorliegende Untersuchung vergleicht prospektiv, randomisiert, teilverblindet Albumin 5% und HES 6% (balanciert) in einem Kollektiv nicht kritisch-kranker operativer Patienten mit einem Beobachtungszeitraum von 90 d. Bezüglich der Nierenfunktion (Cystatin C im Serum) und der kalkulierten GFR zeigten sich keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Abb. 1A). Lediglich ein Patient (1.9%) in der Albumingruppe benötigte postoperativ temporär ein Nierenersatzverfahren. Unabhängig von der verabreichten Substanz zeigten sich Änderungen von NGAL und Glykokalyxparametern. Hyaluronan fiel perioperativ bis zum Zeitpunkt der Hautnaht zunächst ab, um dann bis zum dritten postoperativen Tag erneut über das Ausgangsniveau anzusteigen (Abb. 1B). Der intraoperative Konzentrationsabfall ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf einen Dilutionseffekt zurückzuführen. Zwischen den beiden Gruppen fanden sich zu keinem Zeitpunkt relevante Unterschiede. In Hinblick auf einen potenziell nephrotoxischen Effekt zeigten

sich zwischen Humanalbumin 5% und einer modernen balancierten 6%igen HES-Lösung keine signifikanten Unterschiede bzgl. Nierenfunktion (Cystatin C) und Glomerulumschaden (NGAL). Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass im perioperativen Setting beide Kolloide hinsichtlich des Outcomes gleich sicher sein könnten.

Literatur

1. Perner A, et al: 6S Trial Group, Scandinavian Critical Care Trials Group: Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N Engl J Med* 2012; Jul 12;367(2):124-34
2. Kammerer T, et al: Comparison of 6% hydroxyethyl starch and 5% albumin for volume replacement therapy in patients undergoing cystectomy (CHART): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2015; Aug 28;16:384
3. Grubb, et al: Simple Cystatin C-Based Prediction Equations for Glomerular Filtration Rate Compared with the Modification of Diet in Renal Disease Prediction Equation for Adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt Prediction Equations for Children. *Clinical Chemistry* 2005; v. 51, p.1420-143.

Eine zielgerichtete, hämodynamische Therapie mit semi-invasivem, hämodynamischem Monitoring reduziert perioperative pulmonale Komplikationen in der Thoraxchirurgie: eine prospektive, randomisierte klinische Studie

K.B. Kaufmann¹ · L. Stein¹ · L. Bogatyreva² · D. Hauschke² · T. Loop¹ · U. Goebel¹

¹ Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin

² Institut für Medizinische Biometrie und Medizinische Informatik

Universität Freiburg

Korrespondenz:

Kai.Kaufmann@uniklinik-freiburg.de

Fragestellung

Bei Patienten mit Lungenresektionen tragen pulmonale und renale Komplikationen mit einer Prävalenz von bis zu 24% bzw. 5,9% perioperativ zu einer erhöhten Morbidität bei [1]. Intraoperative Hyper- bzw. Hypovolämie werden als Risikofaktoren beschrieben [1]. Die ERAS (Enhanced Recovery After Surgery)-Empfehlungen beschreiben für viszerale chirurgische Operationen auf der Grundlage eines semi-invasiven, hämodynamischen Monitorings mittels Ösophagusdoppler einen Evidenzbasierten Algorithmus der Volumenapplikation, welcher Komplikationsraten signifikant senkt [2]. Wir haben die Hypothese aufgestellt, dass bei Patienten mit Lungenresektionen eine Ösophagusdoppler-basierte, zielgerichtete Volumentherapie anhand des ERAS-Algorithmus zu einer Reduktion perioperativer pulmonaler Komplikationen führt.

Methodik

Nach positivem Votum der Ethikkommission der Universität Freiburg (EK 502/14) und Registrierung im Deutschen Register Klinischer Studien (DRKS 00006961) wurden 100 Patienten, die sich einer Lungenresektion unterzogen, eingeschlossen. Die Patienten wurden in zwei Gruppen randomisiert: eine konventionelle (K)- und eine „Goal directed therapy“ (GDT)-Gruppe, in welcher zur Steuerung der Volumentherapie das Schlagvolumen, der Herzindex und der mittlere arterielle

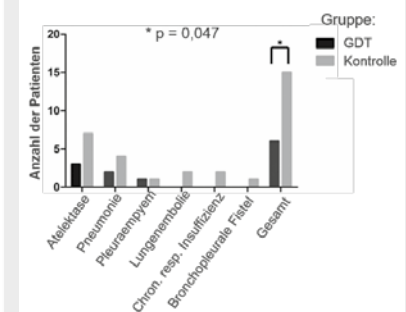
Druck gemessen wurden. Bei Patienten der K-Gruppe waren die Werte der Dopplermessung für den Anästhesisten nicht einsehbar, und die Steuerung der Volumentherapie erfolgte anhand der üblichen klinischen Routine. Bei Patienten der GDT-Gruppe wurden Volumenboli von 200 ml kristalloider Lösung infundiert, solange sich ein Anstieg des Schlagvolumens um 10% (bezogen auf den Ausgangswert) oder mehr als direkte Reaktion zeigte. Weiterhin erhielten die Patienten der GDT-Gruppe, deren Herz-Index (CI) kleiner als 2,5 L/min/m² war, einen Bolus mit 10 mg Ephedrin, bis der CI größer als 2,5 L/min/m² war. Bei kontinuierlicher Aufzeichnung der Doppler-gemessenen Werte wurde die Flüssigkeitssubstitution per Bolus immer dann wiederholt, wenn das Schlagvolumen um mehr als 10% (bezogen auf den Ausgangswert) gesunken war. Primärer Endpunkt war die Inzidenz pulmonaler Komplikationen (u.a. Atelektasen und die Pneumonierate). Die sekundären Endpunkte beinhalteten die Notwendigkeit einer differenzierten Katecholamintherapie, hämodynamische Variablen (u.a. CI und Schlagvolumen) sowie die Analyse der Krankenhausverweildauer. Nominale Daten wurden mittels Fisher-exact-Test, metrische Daten je nach Normalverteilung mittels t-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test analysiert (Signifikanzniveau = $p < 0,05$).

Interessenkonflikte im Sinne einer finanziellen Unterstützung durch die Industrie liegen nicht vor.

Ergebnisse

Die demographischen Daten beider Patientengruppen unterschieden sich nicht. Die GDT-Gruppe zeigte im Vergleich zur K-Gruppe signifikant weniger pulmonale Komplikationen (6 vs. 15 Patienten; $p = 0,047$, Abb. 1). Die Krankenhausverweildauer in der GDT-Gruppe war signifikant kürzer (9 (5-11) vs. 11 (9-12) Tage; $p = 0,005$). Während sich die intraoperativ applizierte Volumenmenge zwischen den beiden Gruppen nicht unterschieden hat (6,0 (4,4-7,8) vs. 5,8 (4,3-7,1) ml/kg/h; $p = 0,52$), erhielten Patienten der GDT-Gruppe signifikant mehr Ephedrin ($n = 25$ (52%) vs. 8 (17%); $p < 0,0001$) und signifikant weniger Noradrenalin (0,018 (0,004-0,03) vs. 0,035 (0,02-0,05) µg/kg/min; $p < 0,0001$).

Abbildung 1



Differenzierung der postoperativen, pulmonalen Komplikationen zwischen der GDT- und der Kontrollgruppe; * $p = 0,047$.

Patienten der GDT-Gruppe zeigten im Vergleich zur K-Gruppe einen signifikant höheren Herz- und Schlagvolumenindex über die gesamte OP-Dauer (drei Zeitabschnitte:

a) vor Hautschnitt, b) während Ein-Lungen-Ventilation und c) am Ende der Operation). Der Herzindex zwischen den beiden Gruppen zu den jeweiligen Zeitpunkten zeigte folgende Werte: a) 2,8 (2,3-3,3) vs. 2,0 (1,6-2,6), b) 2,9 (2,6-3,4) vs. 2,1 (1,7-2,4) und c) 3,0 (2,6-3,6) vs. 2,1 (1,7-2,8) ((L/min)/m² ($p < 0,001$) bzw. für den Schlagvolumenindex: a) 43 (34-50) vs. 35 (28-42), b) 43 (36-50) vs. 34 (26-41) und c) 40 (35-48) vs. 34 (26-40) (ml/m²) ($p < 0,001$).

Interpretation

Eine Doppler-gestützte, zielorientierte Volumentherapie auf der Basis des ERAS-Algorithmus kann die Inzidenz pulmonaler Komplikationen bei Patienten mit Lungenresektionen signifikant senken.

Literatur:

1. LaPar DJ, Bhamidipati CM, Lau CL, et al: The Society of Thoracic Surgeons General Thoracic Surgery Database. Ann Thor Surg 2012; 94:216-221
2. Feldheiser A, Conroy P, Bonomo T, et al: Development and Feasibility Study of an Algorithm for Intraoperative Goal-Directed Haemodynamic Management in Noncardiac Surgery. J Int Med Res 2012;40:1227-124.

Variable versus konventionelle protektive Beatmung bei elektiven, offen abdominalchirurgischen Eingriffen: eine randomisierte kontrollierte Studie

T. Kiss · P. M. Spieth · A. Güldner · T. Bluth · C. Uhlig · A. Braune · R. Huhle · C. Conrad · T. Koch · M. Gama de Abreu

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

Korrespondenz:

thomas.kiss@uniklinikum-dresden.de

Fragestellung

Tierexperimentelle und klinische Studien zeigten, dass eine kontrollierte Beatmung mit variablen Tidalvolumina effektiver die Lunge rekrutiert und die Lungenfunktion verbessert als eine Beatmungsstrategie mit konstanten Tidalvolumina [1]. Weiterhin wurde für die variable Beatmung bei Lungenversagen gezeigt, dass eine Variabilität des Tidalvolumens von circa 30% (Variationskoeffizient) benötigt wird, um eine geschädigte Lunge effektiv zu rekrutieren. In der aktuellen Arbeit untersuchten wir, ob eine intraoperative variable Beatmung (CVV), im Vergleich zu einer nicht variablen Beatmung (CNV), bei Patienten ohne geschädigte Lunge zu einer besseren postoperativen Lungenfunktion führt.

Methodik

Ein Votum der Ethikkommission Dresden lag vor. Die Studie wurde unter clinicaltrials.gov (NCT 01683578) registriert. 50 Patienten, die für eine offene Abdominaloperation mit einer

erwarteten OP-Dauer von mehr als 3 Stunden geplant waren, wurden eingeschlossen. Nach Narkoseeinleitung wurden die Patienten einer von zwei Therapiegruppen (CNV oder CVV) randomisiert zugeordnet. In beiden Gruppen wurde mit einem mittleren Atemzugvolumen von 8 ml/kg (vorhergesagtes Körpergewicht) und einem positiv endexpiratorischen Druck (PEEP) von 5 cmH₂O beatmet. Bei der variablen Beatmung variierten die Atemzüge zufällig (Normalverteilung, Variationskoeffizient 30%). Der primäre Endpunkt war die forcierte Vitalkapazität (FVC) am 1. postoperativen Tag (POT). Sekundäre Endpunkte waren Sauerstoffpartialdruck im kapillären Blut, mittlerer arterieller Druck, Ventilationszentrum (Vz) entlang der ventral-dorsalen Achse (Elektroimpedanztomographie), Anteil nicht belüfteten Lungenvolumens (NALV, Magnetresonanztomographie) sowie pulmonale und extrapulmonale Komplikationen bis zum 5. POT. Die Fallzahlplanung basierte auf einer vorhergehenden Studie [2]. In unserer Studie war die Effektgröße 1,086 (Cohens d, Alpha 0,05, Power 0,95). Ein zweiseitiger Mann-Whitney-U-Test zeigte eine Fallzahl von 25 Patienten pro Gruppe. Die statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test, allgemein lineares Modell und Chi-Quadrat-Test. Das Signifikanzniveau war p<0,05.

Ergebnisse

Demografische Daten waren ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen CNV und CVV hinsichtlich Alter (65,2±9,4 vs. 57,6±12,5 Jahre; Mittelwert, Standardabweichung), Body-Mass-Index (24,3±3,1 vs. 25,3±3,3 kg/m²), Eingriffsdauer (4:09±1:44

vs. 4:13±1:44 Stunden:Minuten) und Patienten mit Epiduralkatheter (64% vs. 72%; Anteil pro Gruppe). In der intraoperativen Periode waren Lungenfunktion und Hämodynamik in beiden Gruppen vergleichbar. Die FVC unterschied sich am 1. POT nicht zwischen den Gruppen (Tab. 1). Oxygenierung, Vz, NALV am 1. POT (2 (1-4)% bzw. 3 (2-5)%; Median (25%-75% Quartil)) und die Inzidenz postoperativer pulmonaler und extrapulmonaler Komplikationen waren vergleichbar zwischen CNV und CVV.

Interpretation

Die variable Beatmung verbesserte weder die intraoperative noch die postoperative Lungenfunktion im Vergleich zur nicht variablen Beatmung. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass periodische Lungenrekrutierung in Kombination mit einem PEEP von 5 cmH₂O bei nicht adipösen Patienten ohne Lungenschädigung, die sich einem offenen abdominalchirurgischen Eingriff unterziehen, keinen Vorteil im Hinblick auf die postoperative Lungenfunktion aufweist.

Literatur

1. Boker A, Haberman, CJ, Girling L, Guzman RP, Louridas G, Tanner JR, et al: Variable Ventilation Improves Perioperative Lung Function in Patients Undergoing Abdominal Aortic Aneurysmectomy. *Anesthesiology* 2004; 100:608-16
2. von Ungern-Sternberg BS, Regli A, Reber A, Schneider MC: Comparison of perioperative spirometric data following spinal or general anaesthesia in normal-weight and overweight gynaecological patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005;49:940-948.

Tabelle 1

Meßwert	Gruppe CNV (25) CVV (25)	Präoperativ (24) (25)	1. POT (23) (24)	3. POT (23) (23)	5. POT (21) (20)	Entlassung (17) (19)	Group	Time
FEV ₁ (%)	CNV CVV	95.6±17.9 93.2±22.7 ^{ns}	58.8±20.5 51.5±21.4	59.7±25.1 59.8±23.4	70.5±21.1 68.5±24.6	86.4±18.9 83±23.3 ^{ns}	p=0,569	p=0,881
FVC (%)	CNV CVV	100.2±16.2 103.3±20.4 ^{ns}	61.9±23.6 61.5±22.1	68.8±27.1 62.4±21.5	81.4±22.7 72.2±22.4	95.9±17.4 87.6±22.8 ^{ns}	p=0,161	p=0,789
PEF (%)	CNV CVV	84.8±21.6 85.8±24.4 ^{ns}	46.3±20.1 41.8±20.6	49.1±23.7 51.5±22.9	61.6±17.9 60.1±20.6	75.9±23 74.2±22.5 ^{ns}	p=0,914	p=0,183
FEV ₁ /FVC (%)	CNV CVV	76.3±12.2 73.5±9.6 ^{ns}	77.2±13.8 68.6±17.9	75.6±11.9 75.7±17.9	75.7±11.5 72.5±11.4	76.5±10.7 71.2±18.5 ^{ns}	p=0,766	p=0,032
SpO ₂ (%)	CNV CVV	97.4±2.2 97.2±2.0 ^{ns}	93.6±4.8 93.7±4.2	93.1±4.3 90.8±5.4	94.6±4.2 90.7±1.6	97.3±2.3 96.4±2.5 ^{ns}	p=0,234	p=0,483
pO ₂ (mmHg)	CNV CVV	78.0±10.5 75.0±11.3 ^{ns}	66.0±10.5 62.3±12.0	63.0±10.5 57.8±9.8	66.8±9.8 65.3±12.0	78.0±11.3 72.8±12.8 ^{ns}	p=0,754	p=0,931

Die Zahlen in Klammern beschreiben die Anzahl der ausgewerteten Patienten. **CVV**: variable; **CNV**: nicht variable Beatmung. Spirometrie Messungen sind als Prozent der Vorhersagewerte angegeben; **SpO₂**: Sauerstoffsättigung; **pO₂**: Sauerstoffpartialdruck; **ns**: nicht signifikant; **POT**: postoperativer Tag; Mittelwerte und Standardabweichung; **Auswertung**: Students-t-Test, allgemein lineares Modell; Signifikanzniveau p<0,05.

Identifizierung und funktionelle Charakterisierung eines GRK2-Promotorpolymorphismus und differentielle Regulation durch Egr-1

S. Klenke¹ · J. Gatzka¹ · N. Danowski² · W. Siffert² · J. Peters¹ · U. H. Frey¹

¹ Klinik für Anästhesiologie & Intensivmedizin,

² Institut für Pharmakogenetik,

Universität Duisburg-Essen und Universitätsklinikum Essen

Korrespondenz: stefanie.klenke@uk-essen.de

Fragestellung

G-Protein-Rezeptorkinasen (GRKs) fungieren als „Ausschalter“ G-Protein-gekoppelter Signaltransduktion, da sie G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) desensibilisieren bzw. herunterregulieren. Die GRK2 ist ein Schlüsselenzym kardialer Signaltransduktion und bei Herzinsuffizienz heraufreguliert, mutmaßlich zum Schutz gegenüber adrenerger Überstimulation [1]. Die transkriptionelle Kontrolle der GRK2-Expression scheint für die Progression kardiovaskulärer Erkrankungen wichtig. Bislang wurden weder funktionelle Promotorpolymorphismen beschrieben noch ist klar, welche Transkriptionsfaktoren die GRK2-Transkription modulieren. Wir prüften die Thesen, dass natürlich vorkommende Varianten in regulatorischen Domänen des humanen GRK2-Gens 1) GRK2-Promotoraktivität und 2) die Bindung von Transkriptionsfaktoren verändern.

Methodik

Sequenzierung und Klonierung des GRK2-Promotors erfolgten nach PCR-Amplifizierung

mittels „Slowdown“ PCR [2]. Zur Messung der Bindung von Transkriptionsfaktoren sowie der Promotoraktivität erfolgten Luciferase- bzw. Electro-phoretic mobility shift Assays (EMSA). Putativ bindende Transkriptionsfaktoren wurden mittels In-silico-Analyse (www.genomatrix.de), die GRK2-mRNA-Expression mittels Real-Time-PCR mit der 2- Δ Ct-Methode sowie β -Actin (housekeeping Gen) analysiert. Für Überexpressionsexperimente wurde der Transkriptionsfaktor Egr-1 in pcDNA 3.1 kloniert und die nukleäre Expression mittels Western Blot verifiziert. Die Versuche wurden in HEK293-Zellen durchgeführt. Statistik: Mittelwerte \pm SD; t-Test für ungepaarte Stichproben (Graph Pad Prism 6, La Jolla, USA).

Ergebnisse

Wir sequenzierten den kompletten GRK2-Promotor und identifizierten einen G>A Polymorphismus an Position -43 (relativ zum Translationsstartpunkt). Nach Klonierung des Promotors (nt -400/+73) konnten wir hohe Promotoraktivität in diesem Bereich nachweisen. Eine In-silico-Analyse zeigte putative Egr-1 Bindungsstellen im essentiellen GRK2-Promotorbereich, insbesondere im Bereich des Polymorphismus (3 putative Egr-1-Bindungsstellen beim G-Allel (Matrix similarity: 0.794, 0.898 und 0.91) und 1 putative Egr-1-Bindungsstelle beim A-Allel (Matrix similarity: 0.889). Egr-1-Überexpression führte nach 24 h zu hoher nukleärer Egr-1-Expression und signifikanten Zunahme der GRK2-mRNA-Expression (Abb. 1A, $p=0,03$). Ob hierbei allelspezifischen Unterschiede vorliegen, untersuchten wir mittels allelspezifischer Promotorkonstrukte und DNA-Sonden: Schon

unter basalen Bedingungen zeigte sich ein Trend zu vermehrter Promotoraktivität beim G-Allel, und Egr-1-Überexpression führte zu einer doppelt so großen Steigerung der Promotoraktivität beim G-Allel (3-fach) im Vergleich zum A-Allel (1,5-fach; Abb. 1B). Diese Ergebnisse wurden im EMSA bestätigt: Egr-1-Überexpression führte zu einer spezifischen Bindung nur an die G-Allel-Sonde, nicht jedoch an die A-Allel-Sonde.

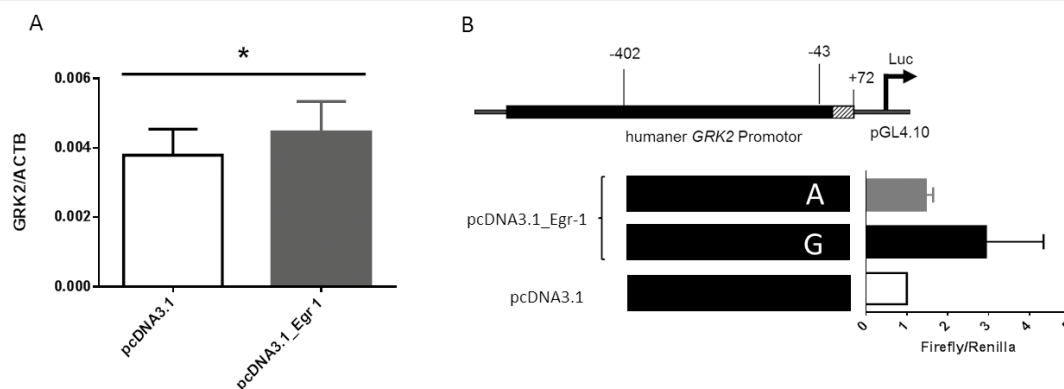
Interpretation

Der von uns entdeckte GRK2-G(-43)A-Polymorphismus verändert die Promotoraktivität und Bindung von Transkriptionsfaktoren und ist somit funktionell relevant. Somit steht der GRK2-Promotor unter transkriptioneller Kontrolle des Transkriptionsfaktors Egr-1, der eine bedeutende Rolle in der kardialen Pathophysiologie spielt [3]. Diese Ergebnisse liefern möglicherweise entscheidende Hinweise auf eine interindividuell unterschiedliche Desensibilisierung von GPCRs sowie Progression kardiovaskulärer Erkrankungen.

Literatur

1. Premont RT, Gainetdinov RR: Physiological roles of G protein-coupled receptor kinases and arrestins. *Annu Rev Physiol* 2007; 69:511-34
2. Frey UH, Bachmann HS, Peters J, Siffert W: PCR-amplification of GC-rich regions: „slowdown PCR“. *Nat Protoc* 2008;3:1312-7
3. Khachigian LM: Early growth response-1 in cardiovascular pathobiology. *Circ Res* 2006;98:186-91.

Abbildung 1



Die Rolle des Plexin-C1-Rezeptors bei polymikrobieller Sepsis

K. König · J. Flock · J. Henes · M. Schlegel · P. Rosenberger

Klinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

Korrespondenz: klemens.koenig@uni-tuebingen.de

Fragestellung

Der neuronale Guidance-Rezeptor-Plexin C1 (PLXNC1) und dessen endogener Ligand Semaphorin 7a (Sema7a) beeinflussen nicht nur die Entwicklung des Nervensystems, sondern auch akute Entzündungsreaktionen. Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zeigen, dass PLXNC1 eine Schlüsselrolle bei der Entstehung der Entzündungsreaktion bei Zymosan-A-induzierter Peritonitis, hepatischer Ischämie-Reperfusion und beatmungsassoziertem Lungenschaden zukommt [1,2,3]. Unklar ist jedoch, ob PLXNC1 einen Einfluss auf eine bakterielle Entzündungsreaktion in vivo hat. Daher untersuchten wir die Bedeutung von PLXNC1 bei einer experimentell induzierten bakteriellen Sepsis.

Methodik

Die Tierversuchsgenehmigung des zuständigen Regierungspräsidiums wurde eingeholt. Es wurden Wildtyp (WT)- und PLXNC1^{-/-}-Mäuse, in einem Sepsismodell der Zökalen Ligation und Punktion (CLP) verwendet sowie Peritonealmakrophagen (Mø) zur Ex-vivo-Kultivierung entnommen und ein Phagozytoseassay durchgeführt. 24 Stunden nach CLP wurde eine Peritoneallavage durchgeführt (5 ml NaCl 0.9%, 4°C) und daraus Zellzahl, Proteingehalt, Myeloperoxidase (MPO)-Aktivität, sowie das murine Interleukin-8-Analogon KC bestimmt und Neutrophilenfärbungen in Gewebeschnitten angefertigt. Des Weiteren wurden Agarplatten mit Peritoneallavage sowie Blut beimpft, 24 h bebrütet und danach die Zahl der koloniebildenden Einheiten (CFU) bestimmt. In einem weiteren Experiment wurde die Überlebensrate der Tiere nach CLP ermittelt. Alle Werte sind als Mittelwert±SEM angegeben, die statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test oder ANOVA mit Adjustierung nach Bonferroni. Zur Auswertung der Kaplan-Meier-Kurven wurde der Mantel-Haenszel-Log-Rank-Test verwendet.

Ergebnisse

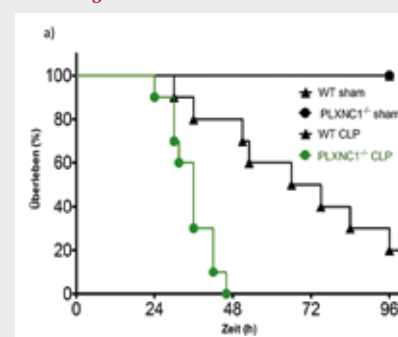
24 Stunden nach CLP zeigten PLXNC1^{-/-}-Mäuse im Vergleich zu WT-Tieren eine signifikant reduzierte Zellzahl, Proteingehalt, MPO-Aktivität sowie KC-Spiegel in der Peritoneallavage (Zellzahl WT 3,44±0,25 vs. PLXNC1^{-/-} 2,57±0,26 (x10⁶/ml), Protein WT 2,03±0,3 vs. PLXNC1^{-/-} 1,3±0,1 (mg/ml), MPO WT 0,66±0,08 vs. PLXNC1^{-/-} 0,42±0,07 (OD 405 nm), KC WT 1093±255 vs. PLXNC1^{-/-} 518±112 (pg/ml), n=6, p<0,05) und eine verminderte leukozytäre Gewebeeinfiltration im Lebergewebe und der Lunge. Die Peritoneallavage und das Blut von PLXNC1^{-/-}-Tieren wies eine erhöhte Anzahl an CFUs im Vergleich zu WT-Tieren auf (CFU Peritoneallavage WT 1,99±0,87 vs. PLXNC1^{-/-} 6,08±2,36 (x10⁶/ml)). Des Weiteren zeigten PLXNC1^{-/-}-Tiere eine geringere Überlebensdauer nach CLP (Abb. 1).

Darüber hinaus wurden peritoneale Makrophagenkulturen von WT- und PLXNC1^{-/-}-Mäusen mit PBS oder rekombinantem Sema7a und fluoreszenzmarkierten Zymosan-A-Partikeln inkubiert. Hierbei zeigte sich, dass Mø von PLXNC1^{-/-}-Mäusen eine geringere Phagozytoseaktivität im Vergleich zu Mø von WT-Tieren aufwiesen (Relative Fluoreszenzintensität (485 nm) WT 1,48±0,05 vs. PLXNC1^{-/-} 1,19±0,07), wenn diese mit rekombinantem Sema7a co-stimuliert wurden.

Interpretation

Zusammenfassend zeigen diese Untersuchungen, dass der Knock-out von PLXNC1 einerseits mit einer verminderten Entzündungsreaktion im murinen Sepsismodell einhergeht, andererseits jedoch mit einem verstärkten bakteriellen Wachstum, einer erhöhten Sterb-

Abbildung 1



PLXNC1 verbessert das Überleben bei CLP.

WT und PLXNC1^{-/-} Tiere wurden einer CLP oder sham Operation unterzogen. Die Tiere erhielten eine postoperative Flüssigkeits- und Analgetikatherapie und wurden regelmäßig überwacht. Kaplan-Meier Kurve von PLXNC1^{-/-} und WT-Tieren nach sham oder CLP Operation. n=6 (sham) bzw. n=10 (CLP) Tiere pro Gruppe.

lichkeit im murinen Sepsismodell sowie einer verminderten Phagozytoseaktivität ex vivo assoziiert ist.

Literatur

1. König K, Granja T, Eckle VS, Mirakaj V, Köhler D, Schlegel M, et al: Inhibition of Plexin C1 protects against hepatic ischemia reperfusion injury. Crit Care Med 10/2015 (zur Publikation angenommen)
2. König K, Marth L, Roissant J, Granja T, Jennewein C, Devanathan V, et al: The plexin C1 receptor promotes acute inflammation. Euro J Immunol 2014;00:1-11
3. Granja T, Köhler D, Mirakaj V, Nelson E, König K, Rosenberger P: Crucial role of Plexin C1 for pulmonary inflammation and survival during lung injury. Mucosal Immunol 2014;7:879-891.

ω3-Lipidemulsionen fördern die Entzündungsresolution in einem murinen Peritonitismodell

A. Körner¹ · M. Schlegel¹ · J. Theurer¹ · V. Gudernatsch¹ · M. Giera² · V. Mirakaj¹

¹ Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

² Center for Proteomics and Metabolomics, Leiden University Medical Center, Niederlande

Korrespondenz: andreas.koerner@uni-tuebingen.de

Interessenkonflikt: Die Universitätsklinik für Anästhesie und Intensivmedizin Tübingen hat finanzielle Zuwendungen (Drittmittel) für Forschungsvorhaben durch die Firma B. Braun erhalten.

Fragestellung

Akute Entzündungsreaktionen lassen sich in eine initiale Phase, die vor allem durch eine Invasion von neutrophilen Granulozyten (PMN) in das betroffene Gewebe gekennzeichnet ist, und eine späte Phase, die sogenannte Resolutionsphase, einteilen. Hierbei kommt es zu einer Reduktion der PMN, einer Rekrutierung von Monozyten und deren Differenzierung zu Makrophagen sowie der Efferozytose apoptotischer PMN. Diese Prozesse werden außer von Chemokinen und Zytokinen auch aktiv durch spezialisierte Lipidmediatoren, sogenannte specialized pro-resolving mediators (SPMs), gesteuert [1-3], die sich unter anderem von den ω3-Fettsäuren Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) ableiten. Wir untersuchten deshalb den Einfluss der Lipidemulsion Lipidem[®], die reich an ω3-Fettsäuren ist, auf die Entzündungsresolution im Vergleich zu 0,9%-iger Natriumchloridlösung (NaCl) und Lipofundin[®] MCT, welche keine ω3-Fettsäuren enthalten.

Methodik

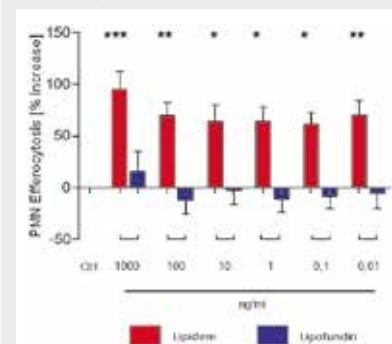
In vitro wurde die Transkription der Resolvin-Rezeptoren ALX, GPR32 und Chem23 nach Stimulation mit Lipidem[®], Lipofundin[®] und TNF-α mittels quantitativer RT-PCR untersucht (n=12). Des Weiteren wurde die Phagozytose apoptotischer PMN durch Makrophagen humaner gesunder Spender nach Stimulation mit Lipidem[®] und Lipofundin[®]

ermittelt (n=11). Die Tierversuchsgenehmigung des zuständigen Regierungspräsidiums lag vor. In vivo wurde in einem durch Zymosan-A (ZyA) induzierten Peritonitismodell bei C57Bl/6-Mäusen der Einfluss der Lipidemulsionen Lipidem[®] und Lipofundin[®] anhand einer Zeitkinetik (4 h, 12 h, 24 h, 48 h) (n=6-10 pro Gruppe und Zeitpunkt) evaluiert. Zu den entsprechenden Zeitpunkten wurden eine Peritoneallavage durchgeführt und die Rekrutierung und Differenzierung der Leukozyten sowie die Phagozytose apoptotischer PMN mittels Durchflusszytometrie (FACS) untersucht. Außerdem wurden die Zytokinkonzentrationen von Interleukin (IL)-10, IL-6, Tumornekrosefaktor-α (TNF-α) und keratinocyte-derived chemokine (KC) mittels ELISA und die SPM mittels HPLC-MS/MS gemessen. Die statistische Auswertung erfolgte mit Student's t-Test oder einfaktorieller ANOVA mit anschließender Korrektur nach Bonferroni.

Ergebnisse

In vitro führte die Stimulation mit Lipidem[®] und TNF-α zu einer signifikant erhöhten Transkription der Resolvin-Rezeptoren ALX, GPR32 sowie Chem23. Die Stimulation der Makrophagen mit Lipidem[®] führte im Gegensatz zu der Stimulation mit Lipofundin[®] zu einer signifikant erhöhten Phagozytose apoptotischer PMN (Abb. 1). In vivo führte die Gabe von Lipidem[®] zu einer signifikant reduzierten Leukozytenzahl im Peritoneum (Zellzahl x 10⁶; ZyA + Vehikel: 4 h 7,95±0,61 (**); 12 h 14,27±1,03 (***); 24 h 12,84±1,13 (**); 48 h 6,97±1,20 (ns); ZyA + Lipidem[®]: 4 h 5,81±0,30; 12 h 10,14±0,83; 24 h 8,89±0,57; 48 h 5,98±0,36; n=6-10; *** p<0,001, ** p<0,01, * p<0,05) und einer signifikanten Reduktion der neutrophilen Granulozyten. Des Weiteren führte die Gabe von Lipidem[®] zu einer signifikanten Reduktion der klassischen inflammatorischen Ly6C^{hi} Monozyten, einem Anstieg der antiinflammatorischen Ly6C^{lo} Monozyten und einer signifikant gesteigerten Phagozytose apoptotischer PMN. Die Konzentrationen von IL-6, TNF-α und KC in der Peritoneallavage waren in der Lipidem[®]-Gruppe signifikant reduziert, die Konzentration des antiinflammatorischen IL-10 dagegen signifikant erhöht. Bei den SPM zeigten sich erhöhte Konzentrationen von

Abbildung 1



Lipidem steigert die Phagozytose apoptotischer PMN in einem In-vitro-Efferozytose-Assay (Daten als Mittelwert ± SEM; n=11 pro Gruppe, * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001).

Resolvin E1 (RvE1) und Maresin 1 (MaR1) in der Peritoneallavage der Lipidem[®]-Gruppe.

Interpretation

Lipidem[®] führt in der initialen Phase zu einer reduzierten Infiltration neutrophiler Granulozyten sowie zu reduzierten Spiegeln der proinflammatorischen Zytokine. In der späten Phase bewirkt die Gabe von Lipidem[®] neben einer erhöhten Anzahl der antiinflammatorischen Monozyten eine gesteigerte Phagozytose apoptotischer PMN. Der Resolutionsindex zeigte eine Verkürzung der Resolutionsphase durch Lipidem[®]. Damit besitzt Lipidem[®] sowohl antiinflammatorische als auch pro-resolutionsfähige Funktionen in diesem Modell der Zymosan A-induzierten Peritonitis.

Literatur

1. Serhan CN: Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* 2014;510(7503):92-101
2. Mirakaj V, Dalli J, Granja T, Rosenberger P, Serhan CN: Vagus nerve controls resolution and pro-resolving mediators of inflammation. *J Exp Med* 2014;211(6):1037-48
3. Schlegel M, Köhler D, Körner A, Granja T, Straub A, Giera M, Mirakaj V: The neuroimmune guidance cue netrin-1 controls resolution programs and promotes liver regeneration. *Hepatology* 2015.

Reaktivität peripherer mononukleärer Blutzellen nach Stimulation mit OKT3 und Zytomegalievirus-Antigen bei Patienten mit Sepsis

N. M. Malewicz¹ · K. Walstein¹ · T. Heine¹ · A. Engler¹ · A. Bick¹ · L. Cox¹ · A. Höcker¹ · A. M. Westendorf² · P. A. Horn³ · M. Lindemann³ · J. Peters¹ · S. Schäfer¹

1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin

2 Institute für Medizinische Mikrobiologie

3 Transfusionsmedizin

Universität Duisburg-Essen und Universitätsklinikum Essen

Korrespondenz: Nathalie.Malewicz@uk-essen.de

Fragestellung

Sepsis ist durch immunstimulatorische wie immunsuppressive Phasen geprägt, die auch parallel verlaufen können [1], jedoch geben nur wenige Variablen Hinweise auf die Immunkompetenz. So dient etwa die monozytäre HLA-DR-Oberflächenexpression als Surrogatvariable einer ungünstigen Prognose [2]. Die Inhibition von Ninjurin 1, einem kürzlich identifizierten Zelladhäsionsmolekül und neuronalen Wachstumsfaktor, ist im Tierexperiment mit niedrigeren IL-10-Serumkonzentrationen assoziiert [3]. Ninjurin 1 könnte daher bei kritisch Kranken eine Rolle spielen. Unklar ist auch, ob funktionelle, aus der Transplantationsmedizin bekannte Immunsystemtests wie ELISpot (Enzyme-Lin-

ked Immuno Spot Assay) Kranke mit/ohne Sepsis diskriminieren können. Wir testeten die Thesen, dass bei Patienten mit Sepsis 1) die Stimulierbarkeit von deren peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) im ELISpot-Test, 2) die IL-10-Serumkonzentration im Zeitverlauf sowie 3) die HLA-DRA- und Ninjurin 1-mRNA-Expression verändert sind.

Methodik

Nach Ethikkommissionsvotum wurde in vitro die Zahl mutmaßlich zytotoxischer, IFN γ -sezernierender Zellen (ELISpot) nach Stimulation mit OKT3, einem monoklonalen Antikörper gegen CD3-Rezeptoren, sowie mit Zytomegalievirus-Antigen (pp65) vor/nach Narkoseeinleitung, bei Hautnaht sowie nach 1, 3, 5 und 7 Tagen bei 10 Patienten mit großer Operation (radikale Prostatektomie, Zystektomie \pm Ileumconduit) sowie 7 Patienten mit Sepsis (innerhalb von 24 h nach Diagnose) bestimmt. Die venöse IL-10-Konzentration (Luminex Zytokin-Assay) wurde im Zeitverlauf gemessen, ferner HLA-DRA- und Ninjurin 1-mRNA-Expression (qPCR) bei 80 septischen, 30 postoperativen sowie 44 gesunden Individuen analysiert.

Statistik: Mittelwerte \pm SD; Student t-Test; Mann-Whitney-U-Test; Wilcoxon-Vorzeichenrangtest, Zwei-Weg-ANOVA für wiederholte Messungen; Spearman-Korrelation; $p < 0,05$.

Ergebnisse

Bei Sepsis war die Anzahl detektierter Spots der IFN γ -Sekretion nach OKT3-Stimulation

gegenüber postoperativen Patienten reduziert ($p < 0,01$; Abb. 1), postoperativ im Vergleich zur Kontrolle vor Narkose jedoch erhöht ($p < 0,05$). Auch die pp65-Stimulation der PBMC von Septikern ging mit erniedrigten IFN γ -Spots einher.

Die HLA-DRA-mRNA-Expression bei Septikern war im Vergleich zu Gesunden um 89%, gegenüber postoperativen Patienten um 58% reduziert (alle $p < 0,0001$), diskriminierte indes nicht ($p = 0,46$) zwischen Überlebenden und Verstorbenen (30 d). Dennoch bestanden inverse Assoziationen der HLA-DRA-mRNA-Expression mit Leukozyten- ($r = 0,35$, $p < 0,01$), C-reaktiver Proteinkonzentration ($r = -0,315$, $p < 0,01$) sowie SAPS II ($r = 0,29$; $p < 0,05$). Die HLA-DRA-mRNA-Expression nahm postoperativ um 50% ab, erholte sich aber bis auf 70% des präoperativen Niveaus. Im Vergleich zeigten Septiker eine Reduktion der HLA-DRA-mRNA-Expression über den gesamten Untersuchungsverlauf ($p < 0,05$). Entgegen tierexperimenteller Daten war die Ninjurin 1-mRNA-Expression bei postoperativen Patienten im Vergleich zu Gesunden um 58% ($p < 0,0001$), bei Sepsis um 47% reduziert ($p < 0,0001$). Septische Patienten wiesen im gesamten Untersuchungsverlauf höhere IL-10-Konzentrationen ($p < 0,001$) auf, mit Maximum am 1. Tag.

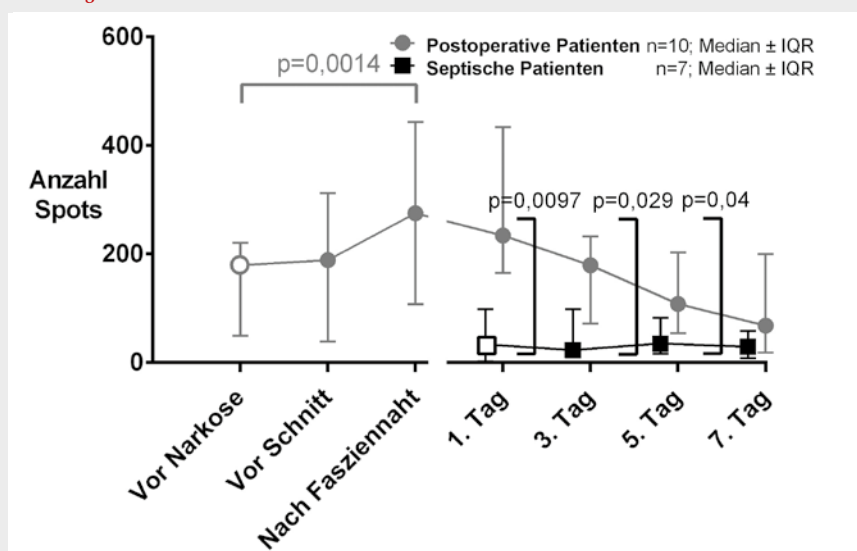
Interpretation

Die IFN γ -Sekretion von PBMCs nach Stimulation mit OKT3 und CMV ist bei Septikern im Vergleich zu postoperativen Patienten ohne Sepsis offenbar ebenso reduziert wie die HLA-DRA-mRNA-Expression, konsistent mit verringerter Immunkompetenz. Ninjurin 1 wird nach Operationstrauma sowie bei Sepsis geringer exprimiert. Inwieweit diesen Markern eine Rolle bei der Einschätzung des Immunstatus septischer Patienten zukommt, bleibt zu untersuchen.

Literatur

1. Schäfer ST, Frede S, Winning S, Bick A, Roshangar P, Fandrey J, et al: Hypoxia-inducible factor and target gene expression are decreased in patients with sepsis: prospective observational clinical and cellular studies. *Anesthesiology* 2013;118:1426-1436
2. Hynninen M, Pettila V, Takkunen O, Orko R, Jansson SE, Kuusela P, et al: Predictive value of monocyte histocompatibility leukocyte antigen-DR expression and plasma interleukin-4 and -10 levels in critically ill patients with sepsis. *Shock* 2003;20:1-4
3. Jennewein C, Sowa R, Faber AC, Dildey M, von Knethen A, Meybohm P, et al: Contribution of Ninjurin1 to Toll-Like Receptor 4 Signaling and Systemic Inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2015;53:656-663.

Abbildung 1



Anzahl detektierter Spots der IFN γ -Sekretion (Mediane; IQR) von PBMCs postoperativer Patienten (Kreise) sowie Patienten mit Sepsis (Vierecke) nach OKT3-Stimulation. Postoperative Patienten zeigten mehr IFN γ -Spots bei Operationsende (nach Fasziennaht vs. im Wachzustand vor Narkoseeinleitung). Die Stimulierbarkeit bei septischen Patienten war im Vergleich zu postoperativen Patienten reduziert.

Das synthetische antimikrobielle Peptid 19-2.5 vermindert die septische Kardiomyopathie in einem murinen Sepsis-Modell

L. Martin¹ · A. Spiecker genannt Doehmann¹ · A. Martincuks² · G. Müller-Newen² · K. Brandenburg³ · G. Marx¹ · T. Schuerholz¹

- 1 Klinik für Operative Intensivmedizin und Intermediate Care, Uniklinik RWTH Aachen
- 2 Institut für Biochemie und Molekularbiologie, Uniklinik RWTH Aachen
- 3 Abteilung Biophysik, Forschungszentrum Borstel

Korrespondenz: lmartin@ukaachen.de

Fragestellung

Die septische Kardiomyopathie ist durch eine dysregulierte Kalziumhomöostase charakterisiert. Diese wird durch endogene Mediatoren induziert, zu denen systemisch

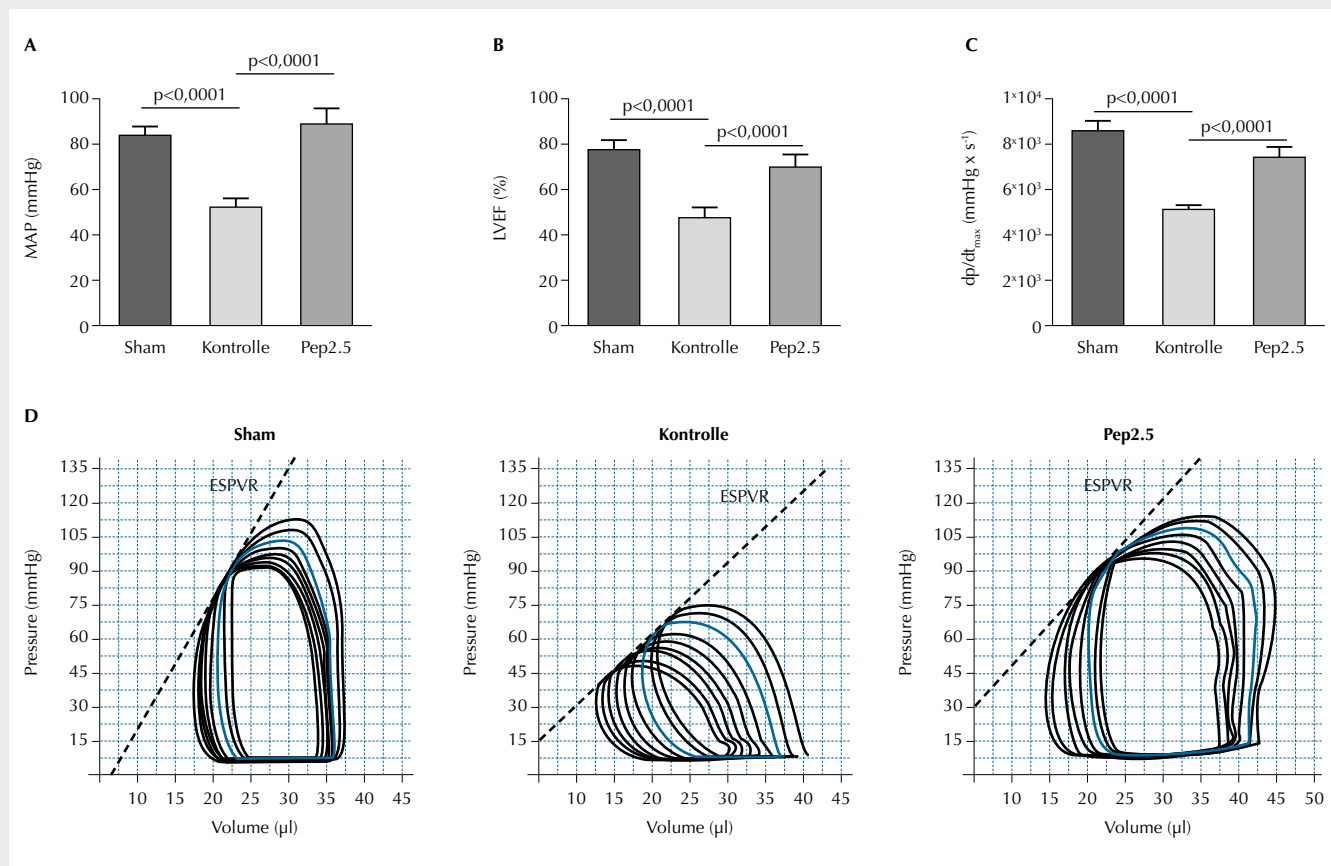
zirkulierende Heparansulfate (HS) zählen [1]. Das synthetische antimikrobielle Peptid 19-2.5 (Pep2.5) hemmt die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und senkt die Spiegel an zirkulierenden HS in der polymikrobiellen Sepsis [2,3]. Wir überprüften die Hypothese, dass Pep2.5 die Expression der sarkoplasmatischen Kalzium-ATPase (SERCA2) in HS-stimulierten Zellen reguliert und die Kardiomyopathie in der polymikrobiellen Sepsis vermindert.

Methodik

Murine Kardiomyozyten (HL-1-Zellen) wurden für 4 und 24 h mit HS (10 µg/ml) in An- oder Abwesenheit von Pep2.5 (20 µg/ml) stimuliert. Nach Genehmigung (LANUV 84-02.04.2014) wurden Mäuse (NMRI) mit zentralvenösen Kathetern versehen [3]. Es folgte eine Ruhephase (48 h) mit kontinuierlicher Volumensubstitution (NaCl 0,9%, 100 µl/h). Danach wurde in 3 Gruppen aufgeteilt (je

n=8): Induktion einer Sepsis mittels zökalen Ligatur und Punktion (CLP) und Therapie mit Pep2.5 (in NaCl 0,9%; 0,2 µg/h, Gruppe Pep2.5), CLP und NaCl 0,9%-Infusion (Gruppe Kontrolle), Schein-OP ohne Sepsis und NaCl 0,9%-Infusion (Gruppe Sham). Nach 24 h wurden die Herzen und Blut entnommen und die Herzfunktion mit 1.4-F-Konduktanz-Kathetern (SPR-839, Millar Instruments, Houston, TX) quantifiziert. Zur perinterventionellen Kalibrierung der Katheter erfolgte die Messung der parallelen Konduktanz mittels der intravenösen Bolusinjektion von 5 µl NaCl 10%. RNA wurde aus Herzgewebe isoliert und unter Verwendung von mausspezifischen Primern für SERCA2 in der real-time-PCR analysiert und gegen rpS7 normalisiert. SERCA2-Expression wurde aus Zell- und Organproben mit spezifischem Antikörper in Western-Blot (WB) und Immunfluoreszenz (IF) analysiert. Die Auswertung erfolgte mittels 1-way-ANOVA und Tukey's-

Abbildung 1



Effekt von Pep2.5 auf die Hämodynamik in der murinen Sepsis.

A) Mittlerer arterieller Druck (MAP), **B**) linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF), **C**) linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}), **D**) Linksventrikuläre Druck (LVD)-Volumen (LVV)-Kurve nach transienter Okklusion der Vena cava inferior. ESPVR=Endsystolische Druck-Volumen-Beziehung. n=8 pro Gruppe; *** $p < 0,0001$.

Test für multiple Vergleiche. Angegeben sind Mittelwert \pm Standardabweichung. Ein $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

Ergebnisse

HL-1-Zellen, die für 24 h mit HS stimuliert und mit Pep2.5 behandelt wurden, zeigten in der IF eine 1,6-fache und im WB eine 2,4-fache Zunahme der relativen SERCA2-Expression im Vergleich zu HS-stimulierten Zellen ohne Therapie ($p = 0,001$ und $p = 0,003$). In den für 4 h mit HS-stimulierten und mit Pep2.5-behandelten Zellen zeigte sich sowohl in der IF als auch im WB kein signifikanter Unterschied der SERCA2-Expression im Vergleich zu HS-stimulierten Zellen ohne Therapie (beide $p > 0,05$). Im Vergleich zur Kontrollgruppe war die relative mRNA-Expression von SERCA2 im Herz der Pep2.5-Gruppe 1,8-fach hochreguliert ($p = 0,032$). Die Pep2.5-Gruppe zeigte eine 3,4-fache Zunahme der SERCA2-Proteinexpression im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,002$). Die Pep2.5-Gruppe hatte einen signifikant hö-

heren mittleren arteriellen Druck (MAP) als die Kontrollgruppe (88 ± 6 vs. 51 ± 4 mmHg; $p < 0,0001$; Abb. 1A). Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) war in der Pep2.5-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($68,6 \pm 5,7$ vs. $46,8 \pm 4,8\%$; $p < 0,0001$; Abb. 1B). Die Pep2.5-Gruppe zeigte eine signifikant höhere maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) im Vergleich zur Kontrollgruppe (7278 ± 413 vs. 5020 ± 196 mmHg/sec; $p < 0,0001$; Abb. 1C). Nach transientser Okklusion der Vena cava inferior erfolgte die Messung unter kontrollierten Vorlastbedingungen (Abb. 1D). Die vorlastkontrollierte Herzleistung (PRSW) und die endsystolische Elastanz (E_{es}) waren in der Pep2.5-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht (84 ± 4 vs. 48 ± 6 mmHg \times μ l; $p < 0,0001$ und $9,8 \pm 0,5$ vs. $6,3 \pm 0,7$ mmHg \times μ l $^{-1}$; $p < 0,0001$).

Interpretation

Das synthetische antimikrobielle Peptid 19-2.5 hemmt die Suppression von SERCA2 in

HS-stimulierten Kardiomyozyten in vitro und im Herz in der murinen polymikrobiellen Sepsis in vivo. Die Therapie mit Pep2.5 reduziert die kardiale Dysfunktion in der murinen Sepsis. Pep2.5 könnte damit als potenzielles Therapeutikum in der septischen Kardiomyopathie von Bedeutung sein.

Literatur

1. Flierl M, Rittirsch D, Huber-Lang MS, Vidya Sarma J, Ward P: Molecular Events in the Cardiomyopathy of Sepsis. *Mol Med* 2008;14(5-6):1-10
2. Martin L, De Santis R, Koczera P, Simons N, Haase H, Heinbockel L, et al: The Synthetic Antimicrobial Peptide 19-2.5 Interacts with Heparanase and Heparan Sulfate in Murine and Human Sepsis. *PLoS one*. 2015;10(11):e0143583-13
3. Schuerholz T, Doemming S, Hornef M, Martin L, Simon T-P, Heinbockel L, et al: The anti-inflammatory effect of the synthetic antimicrobial peptide 19-2.5 in a murine sepsis model: a prospective randomized study. *Crit Care* 2013;17(1):R3.

Die entfernte ischämische Präkonditionierung verbessert das renale Outcome von Hochrisiko-Patienten nach herzchirurgischen Eingriffen – Follow-up-Studie

M. Meersch¹ · C. Schmidt¹ · H. Van Aken¹ · S. Martens² · P. Rosenberger³ · D. Görlich⁴ · A. Zarbock¹

- 1 Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Münster
- 2 Klinik für Herzchirurgie, Universitätsklinikum Münster
- 3 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen
- 4 Institut für Biometrie und klinische Forschung, Universität Münster

Korrespondenz: meersch@uni-muenster.de

Fragestellung

Die akute Nierenschädigung (AKI) bei herzchirurgischen Patienten ist eine häufige Komplikation und ist assoziiert mit einer erhöhten Mortalität [1]. In den letzten Jahren wurden diverse nephroprotektive Ansätze untersucht, um die AKI zu verhindern oder zu behandeln [2]. In einer erst kürzlich durchgeführten multizentrischen Studie konnte bei Hochrisiko-Patienten gezeigt werden, dass die entfernte ischämische Präkonditionierung (RIPC) das Auftreten einer AKI nach herzchirurgischen Eingriffen signifikant reduzieren kann [3]. In dieser Follow-up-Studie haben wir untersucht, ob RIPC einen Effekt auf den Kombinationsendpunkt MAKE₉₀ bestehend aus Mortalität, Dialysepflichtigkeit und persistierender renaler Dysfunktion (PRD) an Tag 90 hat und ob die beiden Biomarker Tissue

Inhibitor of Metalloproteinases (TIMP-2) und Insulin-like Growth Factor-Binding Protein (IGFBP7) im Urin die Entstehung eines MAKE₉₀ vorhersagen können.

Methodik

Es wurden 240 herzchirurgische Patienten mit hohem Risiko für die Entwicklung einer postoperativen AKI (Cleveland Score ≥ 6) in 4 Zentren in die Primäranalyse eingeschlossen. Ausschlusskriterien waren 1) chronische Niereninsuffizienz mit einer GFR < 30 ml/min, 2) vorhergegangene Nierentransplantation, 3) Schwangerschaft. Die Patienten wurden 1:1 in eine der beiden Gruppen randomisiert. Die Prüfgruppe erhielt nach Narkoseinduktion drei Zyklen einer RIPC mit Hilfe einer Blutdruckmanschette an der oberen Extremität (3 x 5 Min. Manschettendruck auf 50 mmHg oberhalb des systolischen Blutdruckes, gefolgt von jeweils 5 Min. Pause). Die Kontrollgruppe (Sham-RIPC) erhielt eine Pseudoischämie (Manschettendruck auf 20 mmHg). Zu definierten Zeitpunkten (vor und 30 Min nach Intervention, 4 h, 12 h, 24 h nach Abgang von der Herz-Lungen-Maschine (HLM)) wurden die Konzentrationen von TIMP-2*IGFBP7 im Urin (NephroCheck®-Test, Astute), Kreatinin im Blut und das Urinvolumen bestimmt. Primäres Zielkriterium dieser Follow-up-Studie war die Erfassung des Auftretens des kombinierten Zielkriteriums MAKE₉₀. Als sekundäre Zielkriterien wurden die PRD und die Dialysepflichtigkeit innerhalb von 90 Tagen bei Patienten mit AKI analysiert. Zusätzlich untersuchten wir, ob der Verlauf der [TIMP-2]*[IGFBP7]-Konzentrationen im Urin eine Aussage über die Entstehung eines MAKE₉₀ zulässt. Die statistischen Analysen wurden mit Hilfe des t-Tests, des Mann-Whitney-U-Tests

und des χ^2 -Tests durchgeführt. Ein p-Wert $\leq 0,05$ wurde als signifikant angenommen. Um den prädiktiven Wert der Biomarker zu ermitteln, wurden Receiver Operating Characteristic Curves (ROC) berechnet und die Area Under the ROC Curve (AUC) bestimmt. Die Primär- und Sekundäranalyse wurden von den zuständigen Ethikkommissionen genehmigt.

Ergebnisse

Von den insgesamt 240 eingeschlossenen Patienten entwickelten 47 ein MAKE₉₀ (19,6%). Die demographischen Daten zeigten, dass Patienten der MAKE₉₀-Gruppe älter ($p=0,002$) waren. RIPC reduzierte signifikant das Auftreten eines MAKE₉₀ (17/120 (14,2%)) im Vergleich zu Sham-RIPC (30/120 (25,0%); ARR 10,8%; 95%CI: 0,9%-20,8%; $p=0,034$). Unter den Patienten, die postoperativ eine AKI entwickelten, zeigten weniger Patienten in der RIPC-Gruppe (2/37 (5,4%) vs. 13/50 Patienten in Sham-RIPC (26,0%)) eine PRD (ARR: 17,9%; 95%CI: 6,4%-34,8%; $p=0,020$) und Dialysepflichtigkeit (1 Patient in RIPC (2,4%) versus 8 Patienten (15,4%) in Sham-RIPC innerhalb von 90 Tagen nach Randomisierung (ARR: 13,0%; 95%CI: 2,1%-23,8%; $p=0,036$). Die Biomarker-Analysen ergaben signifikant höhere [TIMP-2]*[IGFBP7]-Konzentrationen 4 Stunden nach Abgang von der HLM bei den MAKE₉₀-Patienten (MAKE₉₀:- 0,57 (ng/ml) 2/1000; MAKE₉₀+: 1,01 (ng/ml) 2/1000; $p=0,021$). Die AUC für MAKE₉₀ zeigte die beste Effizienz für [TIMP-2]*[IGFBP7] zum Zeitpunkt 4 h (AUC: 0,64; 95%CI: 0,55-0,74; $p=0,004$) und 12 h (AUC: 0,62; 95%CI: 0,52-0,73; $p=0,011$) nach Abgang von der HLM.

Interpretation

Bei Hochrisiko-Patienten reduzierte RIPC signifikant das Auftreten des kombinierten Zielkriteriums MAKE₉₀ nach herzchirurgischen Eingriffen. Bei Patienten mit postoperativer AKI führte RIPC zu einer verbesserten renalen Erholung. Der prädiktive Wert der Biomarker [TIMP-2]*[IGFBP7], die Entstehung eines MAKE₉₀ vorherzusagen, war gut.

Literatur

1. Lassnigg A, et al: Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. J Am Soc Nephrol 2004;15(6):597-605
2. Onuigbo MA: Renoprotection: A new concept for reengineering nephrology care – an economic impact and patient outcome analysis of two hypothetical patient management paradigms in the CCU. Ren Fail 2013;35(1):23-8
3. Zarbock A, et al: Effect of remote ischemic preconditioning on kidney injury among high-risk patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial. JAMA 2015;313(21):2133-41.

Tabelle 1

Outcome-Parameter.

Alle Patienten					
	Sham-RIPC	RIPC	p-value	ARR (95% CI)	OR (95% CI)
MAKE 90, No. [%]	30 (25.0)	17 (14.2)	0.034	10.8 (0.9-20.8)	0.495 (0.256-0.957)
PRD, No. [%]	20 (19.6)	6 (5.9)	0.003	13.7 (4.8-22.7)	0.256 (0.098-0.668)
Dialysepflichtigkeit, No. [%]	12 (11.5)	4 (3.6)	0.027	7.9 (0.9-15.0)	0.287 (0.089-0.919)
Mortalität, No. [%],	10 (8.5)	11 (9.2)	0.835	-0.8 (-8.0-6.3)	
Patienten mit AKI					
	Sham-RIPC	RIPC	p-value	ARR (95% CI)	OR (95% CI)
MAKE 90, No. [%]	20 (31.7)	9 (20.0)	0.174	11.8 (-4.7-28.1)	0.538 (0.218-1.326)
PRD, No. [%]	13 (23.2)	2 (5.3)	0.020	17.9 (6.4-34.8)	0.163 (0.034-0.773)
Dialysepflichtigkeit, No. [%]	8 (15.4)	1 (2.4)	0.036	13.0 (2.1-23.8)	0.138 (0.016-1.148)
Mortalität, No. [%],	7 (11.5)	7 (15.6)	0.540	-4.4 (-17.6-8.7)	

MicroRNA-223-Shuttling schützt im murinen akuten Lungenversagen

V. Neudecker¹ · K. Brodsky² · E. Clambey² · E. Schmid² · T. Packard² · B. Davenport² · C. Evans² · E.L. Burnham³ · M. Moss³ · K. Zacharowski⁴ · P. Henson² · H.K. Eltzschig²

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München
- 2 Department of Anesthesiology, Organ Protection Program, University of Colorado, Anschutz Medical Campus, Aurora, USA
- 3 Division of Pulmonary Sciences and Critical Care Medicine, Department of Medicine, University of Colorado, Denver, USA
- 4 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Frankfurt am Main

Korrespondenz:

viola.neudecker@med.uni-muenchen.de

Fragestellung

Akutes Lungenversagen (acute respiratory distress syndrome, ARDS) ist durch eine hohe Letalität gekennzeichnet, und spezifische Behandlungsverfahren sind weitestgehend unbekannt [1]. Hier untersuchten wir die funktionelle Rolle von microRNAs (miRNAs) [2,3] bei ARDS, um neue therapeutische Zielgrößen zu identifizieren. MiRNAs sind kurze, nichtprotein kodierende RNA-Moleküle, die die Genexpression posttranskriptionell regulieren. Bei ARDS kommen neutrophile Granulozyten (PMNs) in engen räumlichen Kontakt mit alveolären Epithelzellen Typ II (AE). Wir stellten die Hypothese auf, dass ein Transfer genetischer Information via „shuttling“ neutrophil-spezifischer miRNAs von aktivierten PMNs in AE stattfinden könnte.

Methodik

Initial führten wir In-vitro-Co-Kultur-Experimente mit humanen oder murinen Zellen durch (Abb. 1A). Hierbei waren PMNs durch eine Membran mit einer Porengröße von 0,4 µm von AE getrennt. Nach Co-Kultur wurde ein miRNA-Screening bekannter PMN-abhängiger miRNAs in den AE durchgeführt, um transportierte neutrophil-spezifische miRNAs zu identifizieren. Alle Tierversuche waren offiziell genehmigt und im Einklang mit den behördlichen Richtlinien. Als inflammatorische Modelle in vivo dienten zwei murine ARDS-Modelle (Ventilator-induziert, VILI, 3 h Ventilation mit 45 mbar inspiratorischem Druck bei 2-5 mbar PEEP; pulmonale Infektion mit *Staphylococcus aureus*). Die Versuchs- und Kontrollgruppen waren hinsichtlich Alter, Geschlecht und Gewicht angeglichen. Es wurden Wildtyp- und miR-223^{-/-} (miR-223-defiziente)-Mäuse verwendet. In verschiedenen Versuchsreihen wurden murine PMNs mittels Antikörper depletiert und Knochenmark-chimäre Mäuse generiert. Zur pulmonalen Überexpression von miR-223 wurden Mäuse intratracheal mit Nanopartikeln behandelt, die miR-223 enthielten. Änderungen auf transkriptioneller Ebene wurden mittels Microarray oder RT-PCR, auf Proteinebene mittels Western Blot bzw. ELISA bestimmt. Mittels t-Test oder ANOVA ermittelte Unterschiede galten mit einem p-Wert ≤ 0,05 als statistisch signifikant.

Ergebnisse

Zunächst wurde die Hypothese mittels In-vitro-Messungen der miRNA-Expression in humanen AE nach 6 h Co-Kultur mit akti-

vierten humanen PMNs geprüft. Hier zeigte sich ein isolierter und sehr starker Anstieg (>100-fach) von miR-223 in AE. Weitere Untersuchungen ergaben, dass PMNs nach Aktivierung miR-223 in Form von Mikrovessikeln in den Zellüberstand sezernierten. Dieser Transfer der von den PMNs stammenden miR-223 in AE konnte auch in murinen Co-Kulturen von PMNs aus Wildtyp- oder miR-223^{-/-}-Mäusen bestätigt werden (Abb. 1B). Ebenso fanden wir in vivo eine erhöhte miR-223-Expression in murinen isolierten AE nach ARDS-Induktion. Mittels Experimenten mit PMN-depletierten Mäusen oder Knochenmark-chimären Mäusen konnte der miR-223-Transfer von PMNs in AE während murinen ARDS nachgewiesen werden (Abb. 1C). Die Deletion von miR-223 führte bei VILI zu schwererem Lungenschaden mit ausgeprägter Inflammation oder einem Überlebensnachteil bei durch intratracheal applizierte Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* induzierter Pneumonie. Hingegen war die pulmonale Überexpression von miR-223 mittels intratrachealer Behandlung mit miR-223-enthaltenden Nanopartikeln in mechanischen oder bakteriellen ARDS-Modellen protektiv.

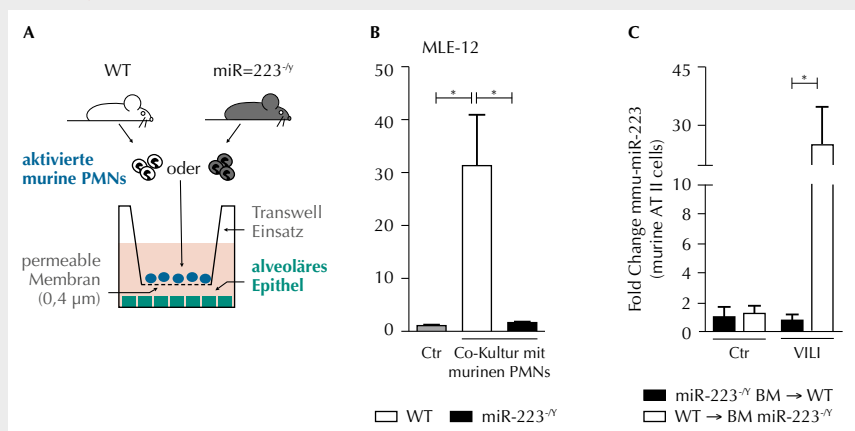
Interpretation

Erstmals konnte in murinem ARDS ein funktioneller interzellulärer Transfer einer miRNA von PMNs in AE gezeigt werden. Dieser Shuttle von miR-223 in AE führt zu einer Verminderung von unkontrollierter Lungeninflammation und kann therapeutisch durch miR-223-Überexpression genutzt werden.

Literatur

1. Hoegl S, Zwissler B, Eltzschig HK, Vohwinkel C: ARDS following cardiovascular surgery: current concepts and novel therapeutic approaches. *Curr Opin Anaesthesiol* 2016;29(1):94-100
2. Pulikkan JA*, Dengler V*, Peramangalam PS, Peer Zada AA, Muller-Tidow C, Bohlander SK, Tenen DG, Behre G: Cell-cycle regulator E2F1 and microRNA-223 comprise an autoregulatory negative feedback loop in acute myeloid leukemia. *Blood* 2010;115(9):1768-78 (*gleichberechtigte Erstautoren)
3. Neudecker V, Brodsky KS, Kretz S, Ginde AA, Eltzschig HK: Emerging Roles for MicroRNAs in Perioperative Medicine. *Anesthesiology* 2016;124(2):489-506.

Abbildung 1



- A** Murine Co-Kultur (murine PMNs, murine AE, MLE-12) in vitro.
B Expressionslevel der murinen miR-223 in MLE-12 nach Co-Kultur mit aktivierten PMNs von Wildtyp (WT)- oder von miR-223^{-/-}-Mäusen.
C Expressionslevel der murinen miR-223 in vivo bei isolierten murinen AE von Knochenmark-chimären Mäusen nach VILI. * p<0,05.

Der Glycine-Transporter-1-Inhibitor Bitopertin wirkt antinozizeptiv bei tierexperimentell induzierten neuropathischen Schmerzen

E. Neumann¹ · V. Kötter¹ · I. Bauer¹ ·
T. Brandenburger¹ · H. Hermanns² ·
A. Armbruster³ · V. Eulenborg³ ·
R. Werdehausen¹

¹ Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

² Klinik für Anästhesiologie, AMC Amsterdam, Niederlande

³ Institut für Biochemie, Universität Erlangen-Nürnberg

Korrespondenz:

elena.neumann@med.uni-duesseldorf.de

Fragestellung

Die Dysfunktion der inhibitorischen glycinergen Neurotransmission im Rückenmark trägt wesentlich zur Entstehung und Aufrechterhaltung neuropathischer Schmerzen bei [1]. Eine pharmakologische Verstärkung der glycinergen Inhibition stellt demnach einen vielversprechenden therapeutischen Ansatz dar [2]. Die Glycinkonzentration im synaptischen Spalt wird durch die Glycine-Transporter GlyT1 und GlyT2 reguliert. Bisher untersuchte Inhibitoren von GlyT können nozizeptives Verhalten reduzieren, weisen aber auch erhebliche unerwünschte Wirkungen auf und wirken irreversibel. Der reversible, spezifische und oral applizierbare GlyT1-Inhibitor Bitopertin ist in Phase-III-Studien zur Therapie von Schizophrenie mit guter Verträglichkeit untersucht worden [3]. Im Kontext neuropathischer Schmerzen liegen bisher keine Da-

ten zu Bitopertin vor. Wir überprüften daher die Hypothese, dass Bitopertin nozizeptives Verhalten im Tiermodell für neuropathischen Schmerz beeinflusst, ohne zu unerwünschten Wirkungen zu führen.

Methodik

Die Untersuchungen erfolgten mit Zustimmung der zuständigen Tierschutzbehörde. Neuropathische Schmerzen wurden mittels operativer Ligatur des linken N. ischiadicus (Chronic Constriction Injury; CCI) der Wistar-Ratte sowie C57BL/6-Maus induziert. Am Tag 10-12 nach CCI erhielten 2 Gruppen der Ratten randomisiert und verblindet einmalige orale Dosierungen von Bitopertin (0,3; 1 mg/kg), während die Kontrollgruppen Vehikel erhielten. Mechanische Allodynie wurde mittels von Frey Filamenten vor und 10-12 Tage nach CCI sowie 1, 2, 4, 8 und 24 h nach Applikation von Bitopertin bzw. Vehikel überprüft. Zusätzlich wurde die Wirkung von Bitopertin 10 Tage nach CCI bei Mäusen bei kontinuierlicher Langzeitapplikation mittels subkutan implantierter, osmotischer Mini-Infusionspumpen (2 mg/kg/Tag) über 27 Tage untersucht. Neuromotorische Wirkungen von Bitopertin bei Mäusen wurden im Open-Field-Test 1 h nach Injektion bzw. bei kontinuierlicher Applikation nach 12 Tagen analysiert.

Statistik: Alle Daten sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardfehler; ANOVA und Bonferroni-Post-hoc-Test; Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Ergebnisse

Bei Ratten führte Bitopertin (0,3 mg/kg) 2 und 4 h nach oraler Applikation zu einer Reduk-

tion der durch CCI induzierten mechanischen Allodynie (Abb. 1A). Eine höhere Dosis von 1 mg/kg Bitopertin führte zu vergleichbar ausgeprägten Effekten (Abb. 1B). Die kontinuierliche subkutane Applikation von Bitopertin bei Mäusen (2 mg/kg/Tag) nach CCI führte 7 Tage nach Beginn bis zur Beendigung der Therapie zu einer verminderten Schmerzempfindlichkeit der neuropathischen Extremität der Mäuse (Abb. 1C). Es wurden keine Unterschiede in Wegstrecken und Aufenthaltsdauern nach einmaliger Gabe von Bitopertin (2 mg/kg s.c.) und kontinuierlicher Applikation (2 mg/kg/Tag s.c.) bei naiven Mäusen und nach CCI im Vergleich zu Kontrolltieren nach Erhalt von NaCl 0,9% beobachtet (je $n=8$).

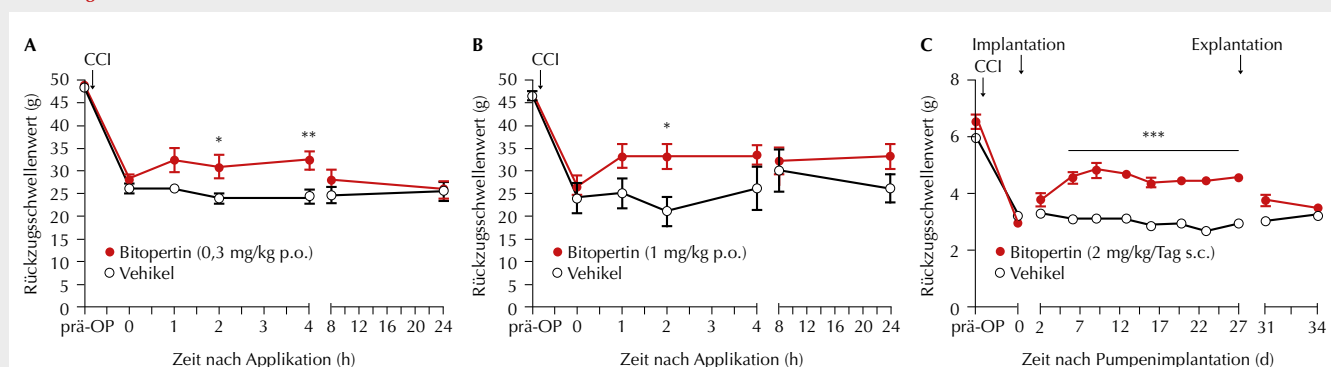
Interpretation

Die Applikation des GlyT1-Inhibitors Bitopertin führt nach einmaliger sowie kontinuierlicher Gabe im Tiermodell für neuropathischen Schmerz zu einer signifikanten Verminderung von mechanischer Allodynie. Es kommt dabei nicht zu unerwünschten neuromotorischen Wirkungen. Weitere Untersuchungen werden notwendig sein, um die klinische Anwendbarkeit bei chronischen Schmerzpatienten zu prüfen.

Literatur

1. Zeilhofer HU, et al: Annu Rev Pharmacol Toxicol 2012;52:111-33
2. Werdehausen R, et al: Pain 2015;156:1647-59
3. Martin-Facklam M, et al: Neuropsychopharmacology 2013;38:504-12.

Abbildung 1



Effekt des GlyT1-Inhibitors Bitopertin auf die mechanische Allodynie bei Nagern mit Neuropathie nach CCI. (A) Einmalige orale Applikation bei Ratten 0,3 mg/kg; $n=9-11$; (B) 1 mg/kg; $n=6-13$; Vehikel: 0,3% Polysorbat 80 und 0,02 bzw. 0,06 % DMSO (C) kontinuierliche subkutane Applikation bei Mäusen; $n=8$; Vehikel: NaCl 0,9%; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Reaktive Sauerstoffspezies und deren Metabolit als Targets für neue analgetische Substanzen (D-4F Peptid- und E06 mAb) im Entzündungsschmerz bei Ratten

B. Oehler^{1,2} · J. Kloka^{1,2} · M. Mohammadi¹ · C. Maritn² · N. Roewer¹ · R. Blum² · A. Brack¹ · H. Rittner¹

1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie

2 Institut für Neurobiologie

Universitätsklinikum Würzburg

Korrespondenz: Oehler_B@ukw.de

Fragestellung

D-4F, ein ApoA-I mimetisches Peptid, sowie E06 mAb, ein monoklonaler Antikörper aus ApoE-defizienten Mäusen, wirken bei Ratten mit Entzündungsschmerzen nach lokaler Injektion von komplettem Freund'schen Adjuvans (CFA) sowie bei Kollagen-induzierter Arthritis (CIA) über eine Verminderung von oxidierten Phospholipiden antinozizeptiv. Oxidierte Phospholipide werden durch Reaktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) wie Wasserstoffperoxid (H_2O_2) aus Lipidmembranen freigesetzt und führen zur Bildung von 4-Hydroxynonenal (4-HNE), einem Endprodukt der Lipidperoxidation [1,2]. OxPAPC-induzierte Hyperalgesie erfolgt durch Aktivierung des „Transient Receptor Potential“-Kanals vom Ankyrin-Typ (TRPA1) über Oxidierung von Cysteinresten [3]. In dieser Studie wird die Wirkung von D-4F-Peptid und E06 mAb auf endogene ROS-Metabolite wie 4-HNE oder H_2O_2 an TRPA1- und TRPV (vanilloid)1-Kanälen im Vergleich zu den jeweiligen prototypischen exogenen Agonisten Senföl bzw. Capsaicin analysiert.

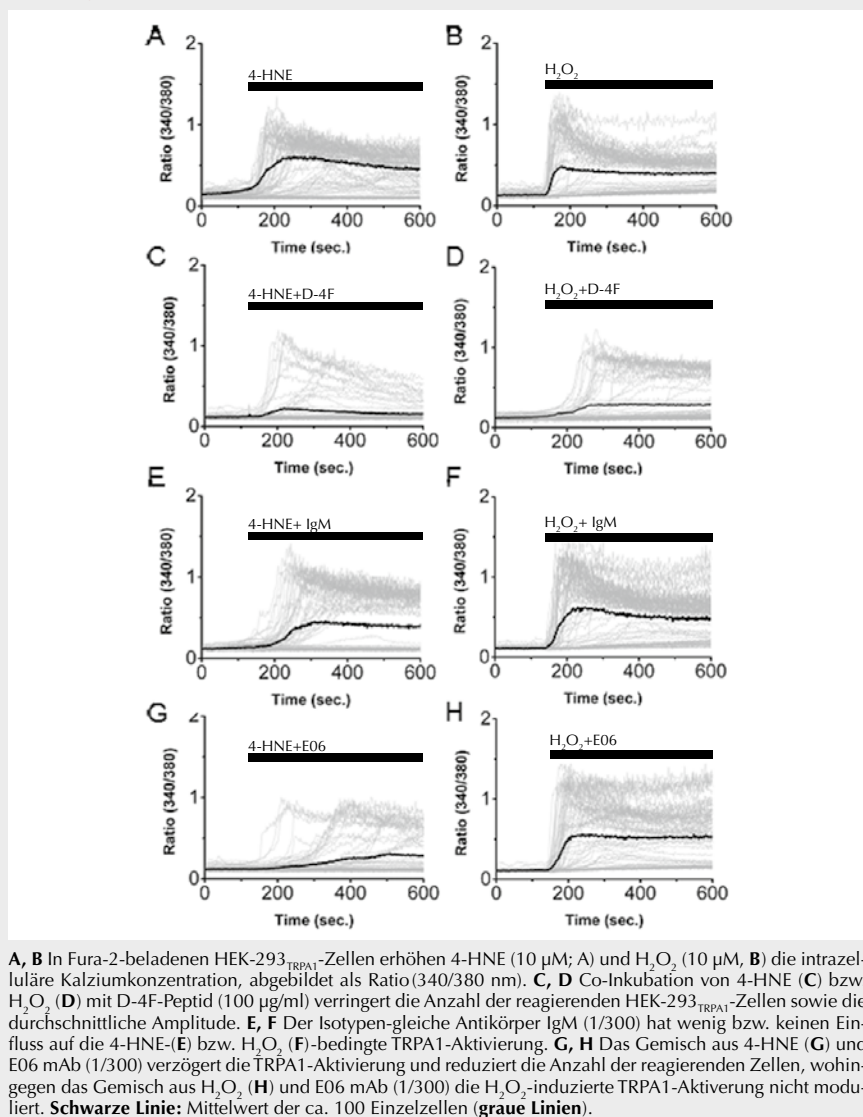
Methodik

Einzelzellkalziummessungen an mit hTRPA1- oder rTRPV1-transfizierten HEK-293-Zellen wurden in Fura-2-basierten Assays durchgeführt. Mechanische Schmerzschwellen wurden nach lokaler Injektion der Substanzen in Hinterpfoten männlicher Wistar-Ratten mittels Randall-Selitto-Test gemessen (Tierversuchsvorhaben REG 61/11). Als statistischer Test wurde eine One- oder Two-Way-ANOVA, post hoc Holm-Šidák mit OriginPro durchgeführt.

Ergebnisse

D-4F-Peptid und E06 mAb reduzieren die Fläche unter der Kurve in mit 4-HNE-stimulierten HEK-293TRPA1-Zellen um knapp 60%. (Abb. 1). Ebenso wird eine durch intraplantare Gabe von 4-HNE ausgelöste mechanische Hyperalgesie signifikant durch D-4F-Peptid und E06 mAb blockiert. Die TRPA1-Aktivie-

Abbildung 1



runge durch H_2O_2 wird durch E06 mAb nicht signifikant inhibiert. D-4F-Peptid hingegen verhindert die H_2O_2 -bedingte Aktivierung von TRPA1 signifikant (50%-ige Reduktion der Fläche unter der Kurve) und hebt die H_2O_2 -induzierte mechanische Hyperalgesie auf. Calcium-Influx, hervorgerufen durch den exogenen TRPA1-Agonist Senföl sowie den exogenen TRPV1-Agonist Capsaicin, werden durch D-4F Peptid und E06 mAb in vitro nicht blockiert. Auch die durch Senföl ausgelöste mechanische Hyperalgesie wird durch den E06 mAb nicht-signifikant reduziert (in vitro: $n \geq 4$ mit jeweils 50-100 Zellen, One-Way-ANOVA; in vivo: $n=5$ pro Gruppe, Two-Way-ANOVA repeated measurements, post hoc Holm-Šidák, $p < 0,05$).

Interpretation

D-4F-Peptid und E06 mAb blockieren nur endogene ROS-abhängige TRPA1-Aktivatoren des Entzündungsschmerzes und nicht exogenes Senföl oder Capsaicin. D-4F-Peptid und E06 mAb sind zwei vielversprechende, neue Therapeutika in der Behandlung von Entzündungsschmerzen, wobei E06 selektiver für ROS-Metabolite wie OxPAPC und HNE wirksam ist.

Gefördert durch das IZKF Würzburg (N-261).

Literatur

1. Trevisan G, et al: Arthritis Rheum 2013; 65:2984-2995
2. Keeble JE, et al: Pain 2009;141:135-142
3. Hinman A, et al: Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:19564-19568.

Hochregulation des Natriumkanals $\text{Na}_v1.3$ nach Myokardischämie bei der Maus in polymorphkernigen Neutrophilen

M. Poffers · C. Herzog · A. Leffler · F. Echtermeyer

Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

Korrespondenz: poffers.marit@mh-hannover.de

Fragestellung

Die Familie der spannungsabhängigen Natriumkanäle (Na_v) beinhaltet 9 Mitglieder, die in Tetrodotoxin (TTX)-resistente ($\text{Na}_v1.5$, 1.8, 1.9) und TTX-sensitive Kanäle ($\text{Na}_v1.1$ -1.4, 1.6) unterteilt werden. Die klassische Rolle von Na_v -Kanälen ist die Erzeugung von Natrium-Einwärtsströmen, die den Aufstrich des Aktionspotentials in erregbaren Zellen generieren. Na_v -Kanäle werden auch in nicht erregbaren Zellen wie Endothelzellen, Perizyten [1] und Makrophagen [2] exprimiert, wobei ihre Funktion dort weitgehend unbekannt ist. Die Untereinheit $\text{Na}_v1.3$ wird hauptsächlich in embryonalen Stadien im ZNS exprimiert, jedoch auch in adulten sensorischen Neuronen nach Nervenverletzung und im adulten Herzen, wo sie für die Reizleitung und Pumpfunktion eine wichtige Rolle spielt [3]. In diesem Projekt haben wir untersucht, ob und in welchen Zelltypen Na_v -Kanäle durch eine Myokardischämie reguliert werden.

Methodik

Mit Genehmigung der Tierschutzkommission wurden C57BL/6-Mäuse durch Ligatur der linken Koronararterie einer permanenten Myokardischämie unterzogen. 24 h und 3

Tage nach Myokardischämie wurde die Expression der Na_v -Kanäle im Infarktgebiet mittels Real-Time-PCR und Immunhistochemie (Anti- $\text{Na}_v1.1$, 1.2, 1.3, 1.5, Alomone Labs) untersucht. Die Lokalisation von $\text{Na}_v1.3$ in polymorphkernigen Neutrophilen (PMNs) wurde mit zelltypspezifischen Antikörpern (Ly6, Serotec) für PMNs sowie (MAC-2, Biozol und MAC-3, BD Pharmingen) für Makrophagen in Doppelfärbungen bestimmt. Der Einfluss von $\text{Na}_v1.3$ auf die Adhäsion von frisch isolierten Knochenmark-PMNs der Maus an Matrixkomponenten (Kollagen I, Fibronectin, Roche) und $\text{TNF}\alpha$ -aktivierten (10 ng/ μl , R&D) Maus-Endothelzellen (f.End5) wurde mit und ohne Zugabe von 100 nM TTX (Biotrend) analysiert. Die Transmigration von Knochenmark-PMNs durch Kollagen I und $\text{TNF}\alpha$ -aktivierte f.End5 wurde mit und ohne TTX in Transwell-Assays untersucht. Die Auswertung erfolgte mittels unabhängigen zweiseitigen t-Tests. Die Daten sind als Mittelwert \pm SEM angegeben, und eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als Signifikanzniveau gewählt.

Ergebnisse

In der Real-Time-PCR-Analyse zeigte sich eine deutliche Hochregulation der Na_v -Kanäle 1.1, 1.2, 1.3 und 1.6 im Myokardgewebe 24 h und 72 h nach Ischämie. Mittels Immunhistochemie konnte eine schwache Expression von $\text{Na}_v1.1$, 1.2 und 1.5 in Kardiomyozyten beobachtet werden. Im Gegensatz dazu wies $\text{Na}_v1.3$ im Infarktgebiet eine deutliche Kolo-kalisation mit Ly6G-positiven Zellen (PMNs) auf (Abb. 1), während Doppelfärbungen mit den Makrophagenmarkern MAC-2 bzw. MAC-3 und $\text{Na}_v1.3$ negativ ausfielen. Zur Aufklärung der funktionellen

Rolle von $\text{Na}_v1.3$ in PMNs untersuchten wir die Adhäsion von $\text{TNF}\alpha/\text{IL1}\beta$ -, PMA- oder fMLP-stimulierten PMNs an den Matrixkomponenten Kollagen I und Fibronectin sowie an $\text{TNF}\alpha$ -stimulierten f.End5-Zellen. Während auf der Matrix keine Unterschiede durch Zugabe von TTX auftraten, wurde eine signifikante Reduktion der Adhäsion stimulierter PMNs auf f.End5-Zellen nach Natriumkanalblockade durch TTX ($99 \pm 7\%$ vs. $62 \pm 6\%$; $n=8$; $p < 0,01$) nachgewiesen. Auch die gerichtete Transmigration von PMNs durch $\text{TNF}\alpha$ -stimulierte f.End5-Zellen war nach Behandlung mit TTX signifikant reduziert (Abb. 2, $100 \pm 9\%$, $n=13$ vs. $53 \pm 7\%$, $n=14$; $p < 0,01$).

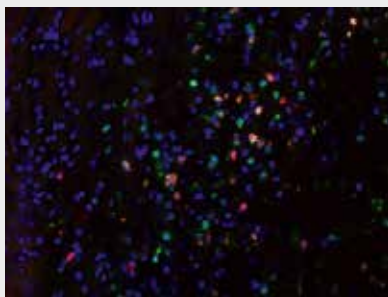
Interpretation

Die reduzierte Adhäsion und Transmigration der PMNs auf Endothelzellen in vitro nach Blockade der Natriumkanäle mit TTX lässt vermuten, dass Natriumkanäle wie $\text{Na}_v1.3$ wichtige Funktionen im Rekrutierungsprozess der PMNs in inflammatorisches Gewebe haben. Im ischämischen Myokard konnte nur $\text{Na}_v1.3$ auf PMNs detektiert werden, was auf eine spezialisierte Funktion dieser Untereinheit hindeutet. Wir vermuten eine Funktion von $\text{Na}_v1.3$ bei der Regulation der Affinität von Integrinen oder bei der Organisation des Aktinzytoskeletts durch Veränderung der intrazellulären Kalziumkonzentration.

Literatur

1. Lee-Kwon W, Goo JH, Zhang Z, Silldorff EP, Pallone TL: Vasa recta voltage-gated Na^+ channel $\text{Na}_v1.3$ is regulated by calmodulin. *Am J. Physiol-Renal* 2007;292:F404-414
2. Zhou X, Luo Y C, Ji W J, Zhang L, Dong Y, Ge L, Lu R Y, Sun H Y, Guo Z Z, Yang G H, Jiang T M, Li Y M: Modulation of mononuclear phagocyte inflammatory response by liposome-encapsulated voltage gated sodium channel inhibitor ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *PLoS one* 2013;8:e74390
3. Maier SK, Westenbroek RE, Schenkman KA, Feigl EO, Scheuer T, Catterall WA: An unexpected role for brain-type sodium channels in coupling of cell surface depolarization to contraction in the heart. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002;99:4073-4078.

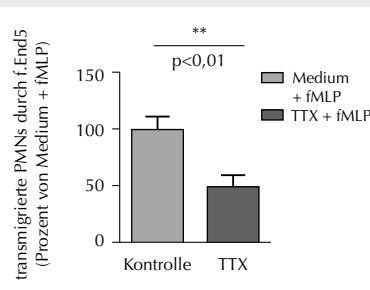
Abbildung 1



Immunfluoreszenz $\text{Na}_v1.3$ auf PMNs nach Myokardischämie.

72 h nach Myokardinfarkt zeigen sich im Gewebe Ly6G-positive Zellen (PMNs, grün), auf einem Subset dieser PMNs ist $\text{Na}_v1.3$ (rot) exprimiert. Zur Übersicht sind die Zellkerne DAPI-gefärbt (blau).

Abbildung 2



Transmigration von PMNs durch Endothelzellen.

Die gerichtete Transmigration fMLP-stimulierter Knochenmark-PMNs durch $\text{TNF}\alpha$ -aktivierte f.End5 wurde mit und ohne Zugabe von 100 nM TTX untersucht. Zellen wurden nach 2 h Transmigrationsdauer ausgezählt.

Die reduzierte Arrhythmieulnerabilität von Toll-like-Rezeptor 2 defizienten Mäusen ist mit einer Reduktion der reversiblen Oxidationen des myokardialen Proteoms assoziiert

F. Raimann¹ · S. Dröse¹ · I. Wittig² · H. Heide² · K. Zacharowski¹ · J. Mersmann¹

1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie

2 Fachbereich Medizin, Funktionelle Proteomics Universitätsklinikum Frankfurt

Korrespondenz: Florian.Raimann@kgu.de

Fragestellung

Der Myokardinfarkt ist eine der Haupttodesursachen in den westlichen Industrienationen. Arrhythmien sind eine häufige Komplikation im Rahmen myokardialer Ischämie und Reperfusion. Wir konnten bereits zeigen, dass TLR2-Defizienz (TLR2^{-/-}) vor letalen Arrhythmien schützt [1]. Ziel dieser Studie ist die elektrophysiologische Charakterisierung der Konduktionsstörungen im (post-)ischämischen Myokard der Maus. Die Sauerstoffradikalproduktion (ROS) der Atmungskettenkomplexe wird als möglicher Effektor des elektrischen Synzytiums des Myokards untersucht. Es wird ein redox-proteomischer Ansatz gewählt, um reversible Proteinmodifikationen in unserem Modell zu untersuchen.

Methodik

Alle Versuche dieser Studie wurden mit Genehmigung der zuständigen Landesbehörde (Regierungspräsidium Darmstadt) an 10-14 Wochen alten männlichen C57/Bl6J-Wildtyp (WT)- oder TLR2^{-/-}-Mäusen durchgeführt. Nach Induktion einer Narkose mittels Pentobarbital (80 mg/kg, i.p.) und Buprenorphin (0,1 mg/kg, s.c.) erfolgte die Tracheotomie und kontrollierte Beatmung (MiniVent, Hugo Sachs Elektronik, March, Deutschland). Es folgten die Präparation der Vena jugularis interna, Sternotomie und das Vorlegen einer Ligatur um den Ramus Interventricularis Anterior (RIVA) für die Induktion einer Myokardischämie (30 min) und Reperfusion. Ein octopolarer Elektrophysiologiekatheter (1.1 F, Transonic, Ithaca, USA) wurde über die rechte Jugularvene in den rechten Vorhof und die rechte Kammer vorgeschoben. Messungen wurden als Baseline vor Myokardischämie, nach 15 Minuten Ischämie sowie jeweils 10 und 30 Minuten nach Reperfusion vorgenommen. Die Isolierung myokardialer Mitochondrien erfolgte nach 2 Minuten Reperfusion. Deren H₂O₂-Produktion wurde in Gegenwart verschiedener Substrate und Inhibitoren der Atmungskettenkomplexe fluorimetrisch mittels des Amplex Red®/HRP (horseradish peroxidase)-Tests bestimmt. Ebenso wurde (post-)ischämisches Myokard zur Bestimmung der reversiblen oxidativen Proteinmodifikationen (oxidation state isotope-coded affinity tag, OxICAT) eingesetzt [2]. Ergebnisse werden als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt.

Ergebnisse

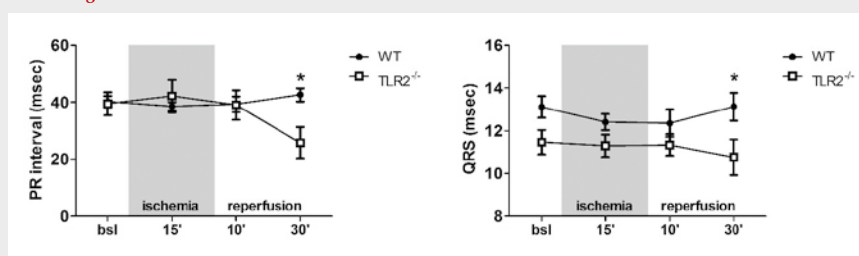
Die elektrophysiologischen Untersuchungen zeigten eine signifikante Verzögerung der (atrio-)ventrikulären Konduktion im WT gegenüber TLR2^{-/-} während der Reperfusion (PR 43±2 vs. 26±5 ms, QRS 13±1 vs. 11±1 ms, je p<0,05, n=5-6, Two-way-ANOVA/Bonferroni, Abb.1). Isolierte postischämische TLR2^{-/-}-Mitochondrien zeigten in Gegenwart eines Complex-III-Inhibitors eine reduzierte ROS-Produktion (433±109 vs 162±93 pmol H₂O₂/min/mg Protein, WT vs TLR2^{-/-}, p<0,05, n=4, t-Test), während sich die ROS-Produktion der nativen Mitochondrien nicht unterschied. Die Analyse des myokardialen Proteoms ergab eine signifikant stärkere reversible Oxidation von 45 myokardialen Proteinen (WT vs. TLR2^{-/-}, n=3, t-Test).

Interpretation

Die elektrophysiologischen Untersuchungen belegen eine Verlangsamung der elektrischen Konduktion im WT gegenüber TLR2^{-/-} während der Reperfusion. Die hieraus möglicherweise resultierende erhöhte Arrhythmieulnerabilität der WT-Tiere ist mit einer veränderten mitochondrialen ROS-Produktion assoziiert. Diese führt konsekutiv zu einer vermehrten Oxidation myokardialer, vorwiegend mitochondrialer Proteine während I/R. Die nachgewiesene Oxidation von Cys₂₆₀ am Gap-junction-Protein-Connexin-43, in unmittelbarer Nachbarschaft zu drei für die Funktion des Kanals relevanten Phosphorylierungsstellen, könnte dabei wesentlich für die beobachteten funktionellen Effekte sein.

(Projektförderung: DFG SFB 815; TP A17)

Abbildung 1



PR und QRS Intervall während MI/R (n=5-6, * p<0,05, ANOVA/Bonferroni).

Literatur

1. Mersmann J, Koch A, Tran N, et al: Toll-like receptor 2 signaling triggers fatal arrhythmias upon myocardial ischemia-reperfusion. Crit Care Med 2010;38:1927-1932
2. Leichter LI, Gehrke F, Gudiseva HV, Blackwell T, Ilbert M, Walker AK, Strahler JR, Andrews PC, Jakob U: Quantifying changes in the thiol redox proteome upon oxidative stress in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 2008; Jun 17; 105(24):8197-202.

Der transzelluläre Substrattransport durch Exosomen ist notwendig für die Immunantwort bei der murinen bakteriellen Pneumonie

J. Rossaint* · A. Stadtmann · H. Van Aken · A. Zarbock

Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie
Universitätsklinikum Münster

Korrespondenz: rossaint@uni-muenster.de

* Preisträger des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung 2016

Fragestellung

Im Rahmen der Pneumonie kommt es zur Aktivierung des Immunsystems und nachfolgend zu einer Interaktion zwischen polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMNs) und Thrombozyten [1]. Diese Interaktion ist notwendig für die vollständige Aktivierung von PMNs und die effektive Bekämpfung von Bakterien. Im Rahmen der Interaktion von Thrombozyten mit Leukozyten kommt es, zu einem transzellulären Substrattransport zwischen den Zellen, der für die effektive Prostaglandin-Synthese, wie z.B. Thromboxan A_2 (TxA_2), notwendig ist [2]. Diese Mediatoren sind an der PMN-Rekrutierung in inflammatorisches Gewebe beteiligt. Exosomen sind exkretorische Zellvesikel, welche Moleküle und Substrate zwischen verschiedenen Zellen transportieren können. Die Rolle des exosomalen Transports zwischen PMNs und Thrombozyten und die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen sind jedoch bis jetzt unbekannt. Ziel dieser Studie war es, die Bedeutung und den molekularen Mechanismus des exosomalen Transports im Rahmen der Thrombozyten-PMN-Interaktion sowie die funktionale Bedeutung für die Immunfunktion zur Bekämpfung der bakteriellen Pneumonie zu untersuchen.

Methodik

Eine Pneumonie wurde bei Mäusen durch Instillation von *E. coli* induziert [3]. Nach 24 Stunden wurde die Anzahl der PMNs in der bronchoalveolären Lavage (BAL) sowie die Anzahl der Bakterien in der BAL, Lunge und Milz quantifiziert ($n=4$). Des Weiteren wurde

die Anzahl zirkulierender Thrombozyten-PMN-Aggregate analysiert. Exosomen wurden mit Hilfe kommerzieller Kits (SystemBio) isoliert und quantifiziert. Zur Darstellung der Exosomenaufnahme in Thrombozyten wurde eine Immunfluoreszenzfärbung benutzt. Um den transzellulären Metabolismus in vitro zu untersuchen, wurden PMNs mit C^{14} -markierter Arachidonsäure beladen und mit Thrombozyten inkubiert. Nach Stimulation mit ADP und fMLP wurde C^{14} - TxB_2 (stabiler Metabolit von C^{14} - TxA_2) detektiert. Caveolin-1, Clathrin und Mac-1 in isolierten Exosomen wurden mit Hilfe des Western-Blots nachgewiesen. Die statistische Signifikanz-Bestimmung erfolgte mittels One-way-ANOVA und anschließenden Student-Newman-Keuls-Tests oder t-Test. Das Signifikanz-Niveau wurde bei $p<0,05$ festgesetzt. Alle Tierversuche wurden von der Tierschutzkommission genehmigt.

Ergebnisse

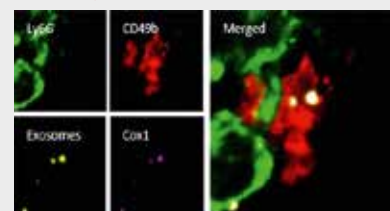
Zunächst zeigten wir, dass die Inkubation von Thrombozyten mit PMNs die Exosomenfreisetzung aus PMNs signifikant steigert und dass dieser Prozess vom thrombozytären Adhäsionsmolekül GPIIb/IIIa vermittelt wird. In den aus PMNs freigesetzten Exosomen war die Konzentration von Arachidonsäure stark erhöht. Biochemisch konnten wir zeigen, dass PMN-Exosomen den endosomalen Marker Caveolin-1 exprimieren, was auf eine gerichtete Freisetzung aus PMNs per Exozytose hinweist. Die Inhibition der Exozytose aus PMNs durch BAPTA-AM (10 μ g/ml) verminderte die Exosomen-Freisetzung signifikant. Mittels Immunofluoreszenzfärbung konnten wir zeigen, dass Exosomen in Thrombozyten aufgenommen werden und dort mit thrombozytären Cox1 kolokalisieren (Abb.1). Wir konnten weiterhin zeigen, dass Exosomen Clathrin und Mac-1 exprimieren und dass sowohl die Inhibition von Clathrin mittels Chlorpromazin (5 μ g/ml) als auch die Blockade von Mac-1 mit einem Antikörper die TxA_2 -Produktion durch Thrombozyten stark vermindern. Funktionell verminderte die Blockade des Adhäsionsmoleküls GPIIb/IIIa die PMN-Thrombozyten Interaktion, die PMN-Rekrutierung in die Lunge und erhöhte die Bakterienanzahl in der BAL, Lunge und Milz 24 h nach *E. coli* Instillation. Des Weiteren konnte eine Re-

konstitution von GPIIb/IIIa-behandelten Mäusen mit isolierten Exosomen die Mortalität nach Pneumonie-Induktion verringern (83,4% vs. 28,6%), während die gleichzeitige Mac-1-Blockade auf isolierten Exosomen vor Rekonstitution die Mortalität wieder verschlechterte (28,6% vs. 85,7%).

Interpretation

Die Ergebnisse zeigen, dass Arachidonsäurehaltige Exosomen aus PMNs nach PMN-Thrombozyten-Interaktion GPIIb/IIIa-abhängig exozytiert und Mac-1- und Clathrin-abhängig in Thrombozyten internalisiert werden. Die TxA_2 -Synthese aus PMN-ständiger Arachidonsäure nach exosomalem, transzellulären Transport aus PMNs in Thrombozyten ist für eine effektive Bakterienbekämpfung im Rahmen bakterieller Pneumonien notwendig.

Abbildung 1



Exosomen kolokalisieren nach Aufnahme in Thrombozyten mit Cox1. PMNs grün, Thrombozyten rot, Exosomen gelb, Cox1 lila.

Literatur

1. Rossaint J, Zarbock A: Platelets in leucocyte recruitment and function. *Cardiovasc Res* 2015;107:386-95
2. Maugeri N, Evangelista V, Piccardoni P, Dell'Elba G, Celardo A, de Gaetano G, et al: Transcellular metabolism of arachidonic acid: increased platelet thromboxane generation in the presence of activated polymorphonuclear leukocytes. *Blood* 1992;80:447-51
3. Ittner A, Block H, Reichel CA, Varjosalo M, Gehart H, Sumara G, et al: Regulation of PTEN activity by p38delta-PKD1 signaling in neutrophils confers inflammatory responses in the lung. *J Exp Med* 2012;209:2229-46.

Die AQP5-Expression beeinflusst die Migration von neutrophilen Granulozyten im Mausmodell

K. Rump¹ · M. Unterberg¹ · M. Kreuzer¹ · L. Bergmann¹ · Z. Bazzi¹ · A. Menon² · M. Adamzik¹

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Knappschafts Krankenhaus Bochum-Langendreer, Ruhr-Universität Bochum
- 2 Department of Molecular Genetics, Biochemistry, and Microbiology, University of Cincinnati, Cincinnati, USA

Korrespondenz: Katharina.k.rump@rub.de

Fragestellung

AQP5-defiziente Mäuse (Aqp5-KO) zeigen ein häufigeres Überleben nach einer Lipopolysaccharid (LPS) induzierten Inflamationsreaktion im Vergleich zu Wild-Typ (WT)-Mäusen [1]. Außerdem ist das C-Allel des funktionell wirksamen Aquaporin5-(AQP5)-A(-1364)C-Promotorpolymorphismus nicht nur mit einer geringeren AQP5-Expression [2] assoziiert, sondern auch mit einer verringerten Migration neutrophiler Granulozyten [1] und einer verringerten 30-Tage-Letalität bei einer schweren Sepsis [3]. Demnach scheint die AQP5-Expression das Überleben bei einer Sepsis zu beeinflussen. Unbekannt ist allerdings, welcher Pathomechanismus

die AQP5-Expression beeinflusst und ob die AQP5-Expression durch Furosemid, einem Sulfonamid, beeinflusst werden kann. Deshalb wurden folgende Hypothesen getestet: 1) die Infiltration von neutrophilen Granulozyten in die Lunge und in das Peritoneum ist bei WT-Mäusen nach Lipopolysaccharid-induzierter-Inflammation stärker ausgeprägt als bei AQP5-Knockout (KO)-Mäusen; 2) Furosemid reduziert die AQP5-Expression in Immunzellen.

Methodik

1) Nach Genehmigung durch die Tierschutzkommission wurde bei jeweils 8 WT-(C57/BL6)-Mäusen und 8 AQP5-KO-Mäusen (C57/BL6-AQP5-KO, zur Verfügung gestellt von A.G. Menon, Cincinnati, USA) Lipopolysaccharid (LPS, 20 mg/kg i.p. E. coli 0111:B4, Sigma) injiziert und eine Inflammation ausgelöst. Nach dreistündiger Inkubation wurden nach zervikaler Dislokation eine Peritoneallavage sowie eine Explantation der Organe durchgeführt. Die Analyse der im Peritoneum befindlichen Zellen erfolgte mittels FACS-Analyse. Außerdem wurde die Migration neutrophiler Granulozyten in unterschiedlichen Organen mittels Myeloperoxidase-Assay (MPO-Assay) untersucht.

2) Zellen der B-Lymphozytenzelllinie REH wurden mit Furosemid (10^{-5} - 10^{-8} M, Sigma) für 24 Stunden inkubiert und die AQP5-Expression mittels RT-PCR bestimmt.

Statistik: Mittelwerte \pm Standardabweichung, ungepaarter t-Test, $p < 0,05$. Ergebnisse: 1) Drei Stunden nach der LPS-Injektion zeigten WT-Mäuse im Vergleich zu AQP5-KO-Mäusen einen signifikant erhöhten prozentualen Anteil an Ly6G/CD11c-positiven Zellen im Peritoneum ($p = 0,04$; Abb. 1 a; $n = 8$). Zudem war die MPO-Aktivität in der Lunge bei WT-Mäusen im Vergleich zu KO-Mäusen nach drei Stunden signifikant erhöht ($p = 0,004$; Abb. 1 b; $n = 8$). 2) Die Inkubation mit Furosemid (10^{-5} und 10^{-6} M) führte zu einer signifikanten Reduktion der AQP5-Expression um bis zu 30 Prozent B-Lymphozyten ($p = 0,04$ bei 10^{-5} M und $p = 0,006$ bei 10^{-6} M; $n = 3$).

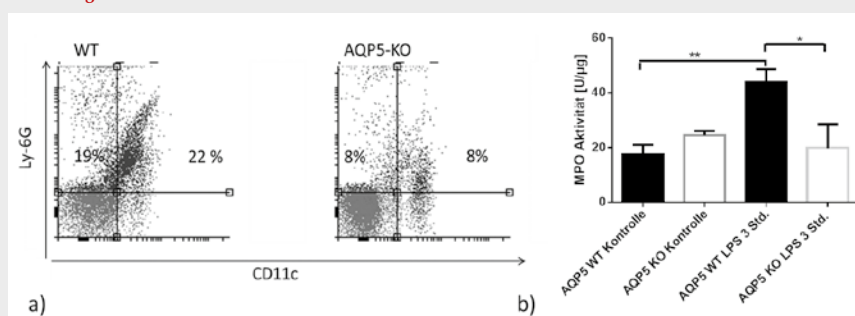
Interpretation

Die AQP5-Expression ist mit der Migration von neutrophilen Granulozyten in Peritoneum und Lunge nach einer LPS-induzierten Inflammation assoziiert. Deshalb könnte die verringerte Letalität bei AQP5-KO-Mäusen unter anderem durch eine geringere Infiltration von neutrophilen Granulozyten in Lunge und Peritoneum bedingt sein. Des Weiteren scheint Furosemid die Expression von AQP5 zu reduzieren und könnte somit die AQP5-Expression während einer Sepsis verringern. Dies soll nun in weiteren Untersuchungen überprüft werden.

Literatur

1. Rump K, von Busch A, Bergmann L, et al: Der AQP5 A(-1364)C Promotorpolymorphismus und die AQP5-Expression beeinflussen die Letalität bei LPS-induzierter Inflammation und die Migration von Immunzellen. Anästh Intensivmed 2014; 55:22-22
2. Adamzik M, Frey UH, Bitzer K, et al: A novel-1364A/C aquaporin 5 gene promoter polymorphism influences the responses to salt loading of the renin-angiotensin-aldosterone system and of blood pressure in young healthy men. Basic Res Cardiol 2008;11;103:598-610
3. Adamzik M, Frey UH, Mohlenkamp S, et al: Aquaporin 5 gene promoter - 1364A/C polymorphism associated with 30-day survival in severe sepsis. Anesthesiology 2011; 04:912-919.

Abbildung 1



a) Prozentualer Anteil CD11c/Ly6G-positiver Zellen im Peritoneum von WT- und AQP5-KO-Mäusen 3 Stunden nach i.p. LPS-Injektion. Der prozentuale Anteil doppelt positiver Zellen war im Peritoneum von WT-Mäusen signifikant erhöht. b) MPO-Aktivität in der Lunge von AQP5-WT-Mäusen und AQP5-KO-Mäusen unter Kontrollbedingungen und 3 Stunden nach i.p. LPS (20 mg/kg KGW)-Injektion ($n = 3$).

Induktion der Autophagie hebt den HES-induzierten Schaden in humanen proximalen Tubuluszellen der Niere (HK-2) in vitro auf

M.A. Schick · W. Neuhaus · F. Stein · N. Roewer · C. Wunder

Klinik- und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Würzburg

Korrespondenz: martin.schick@uniklinik-freiburg.de

Fragestellung

In Vorarbeiten konnte gezeigt werden, dass Hydroxyethylstärke (HES) in den renalen proximalen Tubuluszellen (PT) der septischen Ratte sowohl morphologische als auch funktionelle Schäden induzierte [1]. Durch HES hervorgerufene Funktionseinschränkungen oder Schäden der Niere, sowohl in vitro als auch in vivo, waren auch ohne Inflammation nachweisbar [2,3]. Die HES-induzierte Viabilitätsreduktion der HK-2-Zellen war weder von der Trägerlösung, dem Ausgangsmaterial für die Herstellung des Stärkederivates, noch von der Molekülgröße der Hydroxyethylstärke abhängig [2]. Die alleinige applizierte Gesamtmenge des HES war für die Schädigung in den HK-2 in vitro verantwortlich [2]. Autophagie stellt einen essentiellen Degradationsprozess im Rahmen der Zellhomöostase dar. Eine Beeinträchtigung der Autophagie in Phasen des Zellstress (z.B. Mangelversorgung) kann zum Zelltod führen. Hypoxie oder Energiedepletion können direkt oder

indirekt via reaktive Sauerstoffspezies (ROS) die Autophagie induzieren. Wir stellten die Hypothese auf, dass die HES-induzierte Zellschädigung durch eine Beeinträchtigung des Autophagie-Kreislaufes in den PT hervorgerufen werden könnte.

Methodik

Für die Untersuchungen verwendeten wir ein etabliertes Zellkulturmodell mit humanen proximalen Tubuluszellen (HK-2) [2]. Die Zellviabilität wurde mit EZ4U- und Presto-Blue-Tests analysiert [2]. HK-2-Zellen wurden mit HES 130/0,4 (Endkonzentration 0,1-4%) behandelt. Des Weiteren wurden ROS-Analytik mit H_2DCFDA und Western-Blots von LC3, LAMP2, SQSMT1, Beclin1, ppERK/pERK und pAkt/Akt123 durchgeführt. Zur Beschreibung der HES-Aufnahme durch LC3B-positive, autophagosomale Vesikeln wurden HK-2-Zellen mit LC3B-tagRFP kodierenden Plasmiden transfiziert, mit APTS-markiertem HES inkubiert und nach Fixierung mittels Fluoreszenzmikroskopie analysiert. Um Autophagie zu induzieren, wurden die HK-2-Zellen mit 30 μM Everolimus (EVO) behandelt. Als Kontrollsubstanzen für den Prozess wurden UO126, Chloroquine, Perfosine und 3-MA in unterschiedlichsten Kombinationen und Konzentrationen appliziert. Die Statistik erfolgte mit der Varianzanalyse Post-hoc-Dunnnett-Test ($n=6-96$; $p \leq 0,05$; $MW \pm SD$).

Ergebnisse

HES reduzierte signifikant in den HK-2-Zellen ROS konzentrationsabhängig (4% HES:

$60,8 \pm 4,6\%$). Weiterhin senkte HES 130/0,4 konzentrationsabhängig die Viabilität der HK-2-Zellen sowohl im mitochondrialen (EZ4U) als auch im zytosolischen (Presto-Blue) Test nach 8 h Behandlung signifikant (4% HES: $9,7 \pm 4,0\%$ (EZ4U), $38,6 \pm 4,6\%$ (PrestoBlue)). Werden HK-2-Zellen mit dem Autophagieinduktor EVO und 0,75% HES koinkubiert, so erreichen die ROS-Werte Kontrollniveau. Zudem wurde die mitochondriale Viabilitätsreduktion durch EVO aufgehoben (Abb. 1A). HES hatte keinen Einfluss auf das LC3-II/I-Verhältnis als Maß für die Induktion der Autophagie, welches durch EVO-Behandlung nach 8 h signifikant angestiegen war (Abb. 1B). Erst durch die Stimulation mit EVO zeigte sich eine Kolokalisation des Autophagosomenproteins LC3B mit APTS-HES in den HK-2-Zellen (Abb. 1C-1E). Wird zusätzlich zu HES und EVO der pERK-Phosphorylierungsinhibitor UO126 appliziert, ist die protektive Wirkung der EVO-Autophagieinduktion blockiert. Die Viabilität sinkt wieder signifikant auf $71,4 \pm 4,4\%$ ab, ebenfalls werden die LC3-II/LC3-I-Expression und die ROS-Werte reduziert.

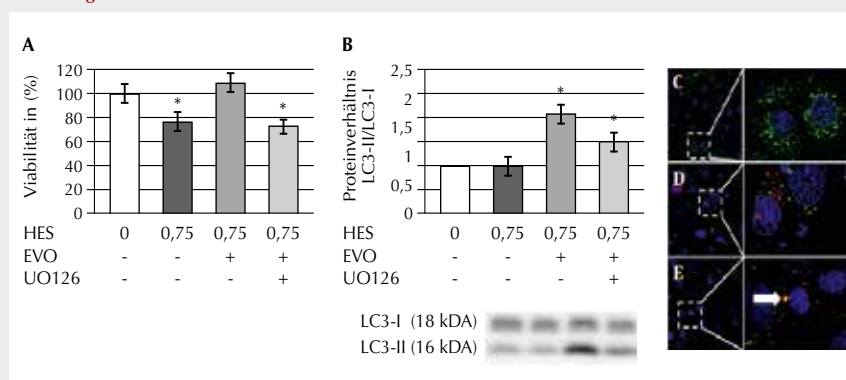
Interpretation

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass durch die HES induzierte ROS-Reduzierung eine Inhibierung der Autophagie in den proximalen Tubuluszellen stattfinden könnte. Des Weiteren scheint der Abbau von HES über den Autophagiekreislauf vollzogen zu werden. Eine Induktion der Autophagie durch Everolimus kann die HES 130/0,4 induzierte mitochondriale Viabilitätsreduktion der proximalen Tubuluszellen komplett aufheben. Die Beeinträchtigung der Autophagie könnte den Pathomechanismus der HES-induzierten renalen Schädigung darstellen.

Literatur

- Schick MA, Isbary TJ, Schlegel N, Brugger J, Waschke J, Muellenbach R, Roewer N, Wunder C: The impact of crystalloid and colloid infusion on the kidney in rodent sepsis. *Intensive Care Med* 2010;36:541-8
- Bruno RR, Neuhaus W, Roewer N, Wunder C, Schick MA: Molecular size and origin do not influence the harmful side effects of hydroxyethyl starch on human proximal tubule cells (HK-2) in vitro. *Anesth Analg* 2014;119:570-7
- Schick MA, Baar W, Bruno RR, Wollborn J, Held C, Schneider R, Flemming S, Schlegel N, Roewer N, Neuhaus W, Wunder C: Balanced Hydroxyethylstarch (HES 130/0.4) Impairs Kidney Function In-Vivo without Inflammation. *PLoS One* 2015;10(9).

Abbildung 1



A) Viabilitätsreduktion durch 0,75% HES kann durch Everolimus (EVO, 30 μM) komplett aufgehoben werden. UO126 (30 μM) inhibiert diesen Effekt; B) LC3-II/LC3-I Proteinexpression wird durch HES nicht beeinflusst, EVO steigert diese und UO126 reduziert diesen Effekt (* $p < 0,05$ vs. 0%, $n=6-12$). C-E Aufnahme von APTS-HES (grün) in humane proximale Tubuluszellen nach 8 h Inkubation, D mit LC3B-tagRFP (rot), E mit LC3B-tagRFP (rot) und Autophagiestimulation durch 30 μM EVO, das zur mit dem weißen Pfeil angezeigten Kolokalisation von APTS-HES und LC3B-tagRFP (gelb) führt.

Neogenin vermindert die Entzündungsresolution in der murinen Peritonitis

M. Schlegel¹ · C. Gerber¹ · A. Körner¹ · M. Giera² · V. Mirakaj¹

1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Eberhard Karls Universität Tübingen

2 Center for Proteomics and Metabolomics, Leiden University Medical Center, Niederlande

Korrespondenz: martin.schlegel@uni-tuebingen.de

Fragestellung

Die akute Entzündungsreaktion wird in eine Früh- und eine Spätphase unterteilt [1]. Die frühe Phase ist gekennzeichnet durch ein Einwandern von Leukozyten, insbesondere von neutrophilen Granulozyten (PMN), in das geschädigte Gewebe sowie eine Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren. Die Spätphase, die Resolutionsphase, ist ein aktiver Prozess, bei dem spezialisierte Lipidmediatoren (SPM) die Einwanderung von PMN und die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine vermindern und die Differenzierung der eingewanderten Monozyten zu antiinflammatorischen Makrophagen fördern. Diese Makrophagen phagozytieren apoptotische PMN und inflammatorisches Material und fördern somit die Rückkehr zur Homöostase [1,2]. Neuere Arbeiten konnten zeigen, dass die Resolutionsphase durch neuronale Guidance Proteine (NGP) beeinflusst wird [2]. In Vorarbeiten konnten wir zeigen, dass das neuronale Guidance Protein Neogenin (Neo1) die akute Entzündungsreak-

tion in der Frühphase verstärkt [3]. Die Rolle von Neo1 auf die Entzündungsresolution ist bisher unbekannt.

Methodik

In vitro wurde die Expression von Neo1 nach Stimulation mit Interleukin (IL)-1 β auf humanen Makrophagen mittels Immunfluoreszenzmikroskopie untersucht (n=4). Die Phagozytose apoptotischer PMN und E. coli durch humane Makrophagen wurde nach Neo1-Blockade durch einen Neo1-Antikörper evaluiert (n=4-6). In vivo wurden WT (C57/Bl6)- und Neo1^{-/-}-Mäuse 4 h, 12 h, 24 h, 48 h nach Peritonitisinduktion (1 mg Zymosan i.p.) untersucht (n=10-12 pro Gruppe und Zeitpunkt). In weiteren Gruppen wurden WT-Mäuse nach i.v. Gabe eines Neo1-Antikörpers zu Beginn der Inflammation sowie zum Höhepunkt der Inflammation (nach 4 h) (n=6-8 pro Gruppe und Zeitpunkt) untersucht. In der Peritoneallavage wurde mittels FACS die Rekrutierung und Differenzierung der Leukozyten sowie die Phagozytose apoptotischer PMN, mittels ELISA die Zytokinkonzentration von IL-1 β , IL-10 und Tumornekrosefaktor (TNF)- α und mittels HPLC-MS/MS die SPM bestimmt. Die Tierversuchsgenehmigung des Regierungspräsidiums Tübingen lag vor. Die Versuche wurden mittels Student's-t-test oder einfaktorieller ANOVA und anschließender Bonferroni-Korrektur evaluiert.

Ergebnisse

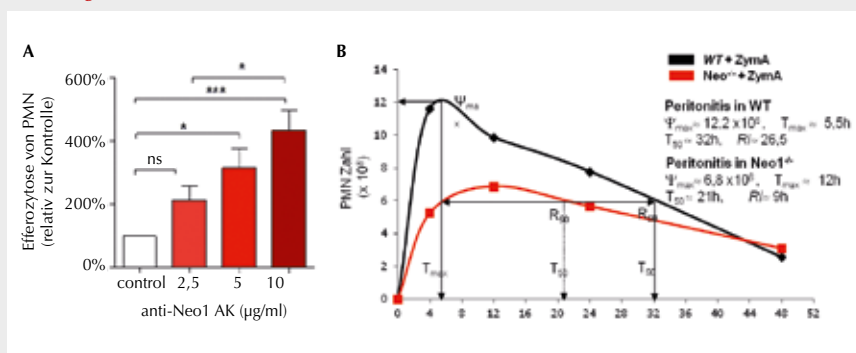
Die In-vitro-Stimulation humaner Makrophagen mit IL-1 β führte zu einer vermehrten Expression von Neo1. Die Gabe eines Neo1-blockierenden Antikörpers führte zu einer signifikanten Steigerung der Efferozytose

apoptotischer PMN (Abb. 1A) und E. coli-Bakterien (Kontrolle 100% vs. 10 μ g/ml anti-Neo1-AK 138% (***) ; *** p<0,005) durch humane Makrophagen. In vivo zeigten Neo1^{-/-}-Mäuse in der Peritonitis – verglichen mit WT-Mäusen – eine signifikant verminderte Anzahl PMN und eine signifikant reduzierte Gesamtzellzahl nach 4 h, 12 h und 24 h in der Peritoneallavage. Auch die Anzahl proinflammatorischer klassischer Ly6C^{hi}-Monozyten bei Neo^{-/-}-Mäusen war ebenso signifikant vermindert wie die Konzentration der inflammatorischen Zytokine IL-1 β und TNF- α . Der Anteil antiinflammatorischer Ly6C^{lo}-Monozyten, differenzierter F4/80⁺-Makrophagen, phagozytierter PMN, die Konzentration des antiinflammatorischen IL-10 war bei Neo^{-/-}-Mäusen signifikant erhöht. Die gesteigerte Resolution bei den Neo^{-/-}-Tieren ließ sich durch das Resolutionsintervall quantifizieren (Abb. 1B). Diese antiinflammatorischen und proresolutionären Effekte konnten durch Gabe eines Neo1-Antikörpers zu Beginn der Inflammation und auch zum Höhepunkt der Inflammation (nach 4 h) beobachtet werden.

Interpretation

Diese Arbeit zeigt eine zentrale Rolle von Neogenin in der Früh- und in der Spätphase der akuten Peritonitis. Dabei führt die endogene Repression von Neogenin zu einer verminderten inflammatorischen Antwort und einer gesteigerten Entzündungsresolution. Dass sich dies eventuell therapeutisch nutzen lässt, zeigte die exogene Neogeninblockade, welche durch Gabe eines Neo1-Antikörpers sowohl zu Beginn der Inflammation als auch zum Höhepunkt der Inflammation zu einer deutlichen Steigerung der Entzündungsresolution führte. In vitro führte die Neogeninblockade in humanen Makrophagen zu einer gesteigerten Phagozytose von apoptotischen PMN und E. coli-Bakterien.

Abbildung 1



A: Die Neogeninblockade erhöht die Efferozytose apoptotischer PMN durch humane Makrophagen in vitro (Daten als Mittelwert \pm SEM; n= 6, * p<0,05; *** p<0,005);

B: Die endogene Neogeninrepression verkürzt die Entzündungsresolution.

Literatur

1. Serhan CN: Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. Nature 2014;510(7503):92-101
2. Schlegel M, Kohler D, Körner A, Granja T, Straub A, Giera M, Mirakaj V: The neuroimmune guidance cue netrin-1 controls resolution programs and promotes liver regeneration. Hepatology 2015
3. Schlegel M, Granja T, Kaiser S, Körner A, Henes J, König K, Straub A, Rosenberger P, Mirakaj V: Inhibition of neogenin dampens hepatic ischemia-reperfusion injury. Crit Care Med 2014;42(9):e610-9.

Optimierung der intraoperativen maschinellen Beatmung bei morbid adipösen Patienten durch PEEP-Titration anhand der Elektrischen Impedanz-Tomographie: Eine randomisierte, kontrollierte klinische Studie

P. Simon · C. Nestler · D. Petroff · S. Hammermüller · D. Kamrath · A. Dietrich · LM. Camilo · A. Bada · A. Carvalho · A. Giannella-Neto · AW. Reske · H. Wrigge

Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Leipzig

Korrespondenz:

Philipp.Simon@medizin.uni-leipzig.de

Fragestellung

Adipöse Patienten entwickeln nach Einleitung einer Allgemeinanästhesie häufig Atelektasen und damit verbunden eine Verringerung des endexpiratorischen Lungenvolumens (EELV) sowie eine Verschlechterung der Oxygenierung [1]. Atelektasen können durch ein Rekrutierungsmanöver (RM) wieder eröffnet werden [2]. Nachfolgend sollte mit einem ausreichend hohen positiven endexpiratorischen Druck (PEEP) beatmet werden, um das expiratorische Wiederverschließen von Lungenarealen zu vermeiden [1]. Zyklisches Öffnen und Schließen von Lungenarealen (tidale Rekrutierung und Derekrutierung) gelten als Hauptrisikofaktoren für beatmungsinduzierte Lungenschäden. Mit der Elektroimpedanztomographie (EIT) kann die regionale Ventilation visualisiert werden. Eine zeitliche verzögerte regionale Ventilation kann als „Regional Ventilation Delay Index“ (RVDI) quantifiziert werden, der ein Maß der Lungeninhomogenität unter der aktuellen Beatmung ist und mit tidaler Rekrutierung korreliert [3]. Durch

die Minimierung von RVDI ist eine individualisierte Einstellung des optimalen PEEP zur Stabilisierung der Lungenareale und Maximierung der Belüftungshomogenität möglich. In dieser Studie untersuchten wir die Hypothese, dass bei morbid adipösen Patienten die kontrollierte Beatmung während der Anästhesie mit einem EIT-basierten, individualisierten PEEP im Gegensatz zu einer kontrollierten Beatmung mit einem Standard-PEEP das EELV und die Oxygenierung verbessert.

Methodik

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Leipzig genehmigt, und jeder Patient gab vor Einschluss schriftlich seine Zustimmung. Fünfzig Patienten mit einem Body-Mass-Index (BMI) ≥ 35 kg/m² und einem ARISCAT-Score ≥ 26 wurden im Rahmen einer Allgemeinanästhesie für einen laparoskopisch abdominalchirurgischen Eingriff mit einem Tidalvolumen von 8 ml/kg predicted body weight kontrolliert beatmet. Zudem wurden die Patienten randomisiert und entweder mit einem PEEP von 5 cmH₂O (PEEP₅) oder mit dem individuell ermittelten PEEP_{EIT} beatmet, der nach einem RM und PEEP-Titration als PEEP mit dem niedrigsten RVDI ermittelt wurde. Zu definierten Zeitpunkten (vor und nach Intubation, intraoperativ (in Antitrendelenburglagerung) sowie vor und nach Extubation) wurden arterielle Blutgasanalysen, Messungen der Atemmechanik und des EELV (Stickstoffauswaschmethode) durchgeführt. Die statistische Analyse erfolgt mittels ANCOVA mit den Messwerten nach Intubation als Kovariate und der zugeordneten Gruppe als Faktor.

Ergebnisse

Nach Intubation änderte sich der Gasaustausch signifikant, und es reduzierten sich

PaO₂/F_iO₂ um 116 mmHg (95% CI 80 bis 152 mmHg; p<0,001) und das EELV um 1,23 l (95% CI 0,87 bis 1,58 l; p<0,001) (Abb. 1). Der mittlere PEEP_{EIT} betrug 18,5±5,6 cmH₂O. Vor Extubation waren in dem PEEP_{EIT}-Arm der PaO₂/F_iO₂ um 171 mmHg höher (95% CI 123 bis 218 mmHg; p<0,001) und das EELV um 1,8l größer (95% CI 1,5 bis 2,2 l; p<0,001) als im PEEP₅-Arm. Die Unterschiede waren nach der Extubation jedoch nicht mehr nachweisbar.

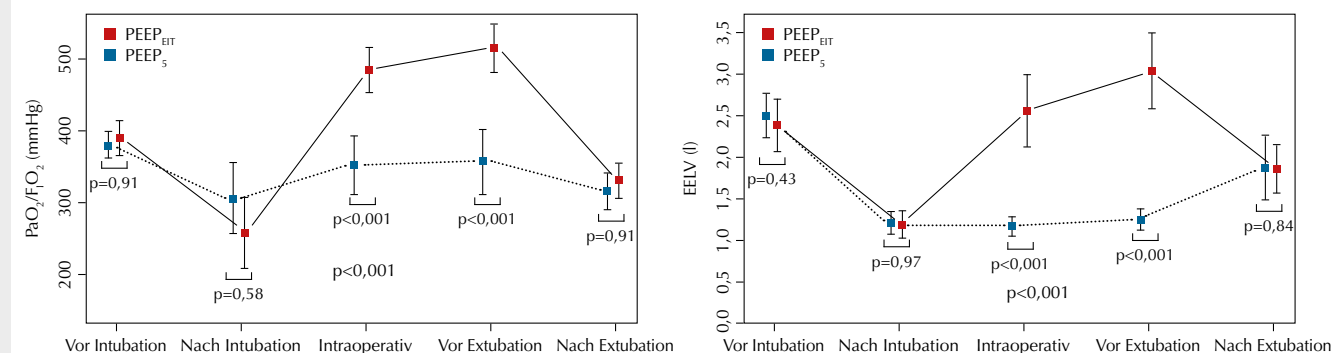
Interpretation

Zur Vermeidung von Atelektasen und tidaler Rekrutierung waren intraoperativ deutlich höhere PEEP_{EIT}-Einstellungen erforderlich, als es aktuell bei morbid adipösen Patienten üblich ist. Das führte zu einer Verbesserung des EELV und der Oxygenierung während der Anästhesie. Zukünftige Untersuchungen sollten zudem den Zeitraum nach Extubation mit einschließen.

Literatur

1. Reinius H, Jonsson L, Gustafsson S, Sundbom M, Duvernoy O, Pelosi P, et al: Prevention of atelectasis in morbidly obese patients during general anesthesia and paralysis: a computerized tomography study. *Anesthesiology* 2009; 111:979-987
2. Futier E, Constantin J-M, Pelosi P, Chanques G, Kwiatkowski F, Jaber S, et al: Intraoperative recruitment maneuver reverses detrimental pneumoperitoneum-induced respiratory effects in healthy weight and obese patients undergoing laparoscopy. *Anesthesiology* 2010; 113:1310-1319
3. Muders T, Luepschen H, Zinserling J, Greschus S, Fimmers R, Guenther U, et al: Tidal recruitment assessed by electrical impedance tomography and computed tomography in a porcine model of lung injury. *Crit Care Med* 2012;40:903-911.

Abbildung 1



Verlauf von PaO₂/F_iO₂ und EELV der beiden Studienarme.

Risikomodelle zur Prädiktion der Mortalität bei Sepsis in Abrechnungsdaten

D.O. Thomas-Rüddel^{1,2} · D. Schwarzkopf² · C. Fleischmann^{1,2} · U. Dennler³ · K. Reinhart^{1,2}

- 1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin
 - 2 Integriertes Forschungs- und Behandlungszentrum Sepsis und Sepsisfolgen (CSCC)
 - 3 Geschäftsbereich Medizincontrolling
- Universitätsklinikum Jena

Korrespondenz:

Daniel.Thomas@med.uni-jena.de

Fragestellung

Epidemiologische Untersuchungen zur Sepsis an Abrechnungsdaten inkl. Modellen zur Risikoprädiktion sind in den USA verbreitet [1]. Für Deutschland fehlten hierzu bisher systematische Untersuchungen. Wir wollten daher umfassende Modelle zur Risikoprädiktion der Krankenhaus(KH)-Mortalität für verschiedene Schweregrade der Sepsis auf Basis der DRG-Statistik entwickeln.

Methodik

Die Krankenhausstatistik 2010-2013 beim Statistischen Bundesamt wurde mittels Datenfernverarbeitung ausgewertet (SPSS®, IBM). Krankenhausfälle erwachsener Patienten mit Sepsis wurden anhand der ICD-10-kodierten Haupt- und Nebendiagnosen identifiziert und in exklusive Schweregrade eingeteilt (Sepsis: A40.x, A41.x, R65.0; schwere Sepsis: R65.1;

septischer Schock R57.2). Als mögliche Risikoprädiktoren wurden Geschlecht, Alter, Aufnahmeanlass, die kodierten Infektionsfoci und Komorbiditäten, die Kodierung einer Sepsis als Hauptdiagnose, das OPS-kodierte Vorliegen einer palliativmedizinischen Behandlung, Chemotherapie oder Schlaganfallbehandlung sowie das Behandlungsjahr festgelegt. Die Komorbiditäten wurden nach Charlson und Elixhauser klassifiziert [2]. Die Fälle der drei Schweregrade wurden jeweils hälftig auf eine Derivations- und Validationsstichprobe aufgeteilt. In den Derivationsstichproben wurde mittels binär logistischer Regression mit Rückwärtsselektion ein Risikomodell für die KH-Mortalität berechnet. Das Ausschlusskriterium (Sepsis: $p=0,0005$; schwere Sepsis: $p=0,00008$; septischer Schock: $p=0,035$) wurde anhand einer Poweranalyse festgelegt, sodass ein Prädiktor mit einer OR=1,1 und einer Häufigkeit von 10% mit einer Wahrscheinlichkeit von $1-\beta=0,8$ im Modell verblieb. Die Modelle wurden dann auch auf die Validationsstichproben angewendet. Im Anschluss wurde die Prädiktionsgüte mittels „Area under the curve“ (AUC) sowie Vergleich von vorhergesagter und beobachteter Mortalität über alle Risikodezilen für jeweils beide Stichproben dargestellt und verglichen.

Ergebnisse

Es wurden 441.207 Krankenhausfälle mit einfacher Sepsis (KH-Mortalität 13,5%), 284.883 mit schwerer Sepsis (KH-Mortalität 40,3%) und 112.609 mit septischem Schock

(KH-Mortalität 59,6%) identifiziert. Ein Großteil der verwendeten 53 Prädiktoren verblieb jeweils im Modell (Tab. 1). Die Prädiktionsgüte war für alle Schweregrade zufriedenstellend und unterschied sich jeweils nicht zwischen Derivations- und Validierungsstichprobe (Tab. 1). Vorhergesagte und beobachtete Mortalität stimmten über alle Risikodezilen gut überein. Stärkster Risikofaktor war immer das Patientenalter. Weitere starke Risikofaktoren waren fortgeschrittene Lebererkrankungen sowie onkologische Nebenerkrankungen. Ein urogenitaler Fokus sowie Sepsis als Hauptdiagnose waren mit einer geringeren Mortalität assoziiert. Ein späteres Behandlungsjahr war für Sepsis und schwere Sepsis protektiv, für den septischen Schock jedoch nicht mehr im finalen Modell ausgewählt.

Interpretation

Auch mit den Daten der DRG-Statistik ist eine Risikoprädiktion und Risikoadjustierung für Krankenhausfälle mit Sepsis möglich. Die Prädiktionsgüte ist mit US-Daten (AUC 0,715) vergleichbar [1]. Somit sind vergleichende Aussagen über die risikoadjustierte Mortalität bei Sepsis zwischen verschiedenen Regionen, Versorgern oder über die Zeit auf Basis von Routinedaten in Deutschland möglich. Faktoren des Behandlungsverlaufes wie Nierenersatzverfahren und intensivmedizinische Behandlung wurden in diesem ersten, am a priori bestehenden Risiko orientierten Analyseschritt bewusst nicht berücksichtigt. Ihre Einbeziehung sowie die Berücksichtigung von Faktoren auf Krankenhausebene werden die Prädiktionsgüte vermutlich weiter verbessern.

Tabelle 1

Anzahl der im Regressionsmodell verbliebenen Prädiktoren (von 53 getesteten) sowie die AUCs als Maß der Prädiktionsgüte für die Krankenhaus-Mortalität.

	Anzahl Prädiktoren	AUC (95%-CI) Derivationsstichprobe	AUC (95%-CI) Validierungsstichprobe
Sepsis	42	0,759 (0,756-0,762)	0,758 (0,756-0,761)
Schwere Sepsis	43	0,716 (0,713-0,718)	0,717 (0,714-0,719)
Septischer Schock	42	0,715 (0,711-0,719)	0,713 (0,709-0,717)

Literatur

1. Lagu T, et al: Incorporating initial treatments improves performance of a mortality prediction model for patients with sepsis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2012;21:p.44-52
2. Quan H, et al: Coding algorithms for defining comorbidities in ICD-9-CM and ICD-10 administrative data. *Med Care* 2005;43(11):p.1130-9.

Die Extravasation von Immunglobulin G führt über eine Aktivierung von Immunglobulin-G-Rezeptoren zu einer Vergrößerung des sekundären Hirnschadens nach Schädel-Hirn-Trauma der Maus

R. Timaru-Kast¹ · C. Luh^{1,2} · S.P. Coronel-Castello^{1,2} · C. Götz¹ · M.K.E. Schäfer^{1,2} · K. Engelhard^{1,2} · S. C. Thal^{1,2}

¹ Klinik für Anästhesiologie

² Focus Program Translational Neuroscience (FTN)

Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Korrespondenz: timaruka@uni-mainz.de

Fragestellung

Zu den pathophysiologischen Prozessen nach Schädel-Hirn-Trauma (SHT) gehört die Aktivierung der zellulären und humoralen Immunantwort, die unmittelbar nach mechanischem Primärschaden beginnt und durch Aktivierung residenter und immigrierender inflammatorischer Zellen die Entwicklung des sekundären Hirnschadens maßgeblich beeinflusst [1,2]. Als Folge einer Störung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) kommt es zu einem Übertritt von Immunglobulin G (IgG) in das Hirnparenchym. IgG-Rezeptoren, sogenannte Fcγ-Rezeptoren (FcγR), spielen eine zentrale Rolle in der Vermittlung der Immunantwort [3]. Ziel der aktuellen Arbeit ist die Dynamik des Übertritts von IgG in das Hirnparenchym, das Expressionsmuster der FcγR-Subtypen sowie den Einfluss der Aktivierung der FcγR auf den sekundären Hirnschaden nach SHT zu untersuchen. Hierfür wurden Wildtyp-(WT) und transgene FcγR-defiziente sowie RAG1-defiziente Tiere ohne mature Lymphozyten untersucht.

Methodik

Nach Zustimmung der Tierschutzkommission wurden männliche C57BL/6-Mäuse unter Anästhesie einer kontrollierten kortikalen Kontusion unterzogen (CCI). Im ersten Studienabschnitt (A) wurden Tiere randomisiert in verschiedene Überlebenszeitpunkte nach SHT eingeteilt (6, 12, 24 Stunden, 3, 5, 7 Tage nach CCI; Nativtiere; n=10/Gruppe). Histologisch wurden Hirnschaden, IgG-Extravasation sowie T- und B-Zellen im Hirngewebe quantifiziert. Mit quantitativer PCR wurde die Expression der FcγR-Subtypen I, IIb und III untersucht. Im zweiten Studienabschnitt

(B) wurden konstitutive Knockout-Mäuse (γ^c , FcγR1-Model583; KO) mit Defizienz der Bindung am FcγR im Vergleich zu WT 24 Stunden nach CCI untersucht. Im dritten Abschnitt (C) wurden RAG1-defiziente Mäuse (RAG1^{-/-}) 24 Stunden und 5 Tage nach CCI mit WT verglichen. Endpunkte in diesen Studienabschnitten waren zerebrales Läsionsvolumen (Nissl-Färbung), Aktivierung der Mikroglia (Iba-1-Färbung), Hirnwassergehalt, CRP-Konzentration und die Genexpression von TNF- α . Bei RAG1^{-/-}-Mäusen wurden mittels Dot-Blots die IgG-Konzentration und mittels FACS-Analysen Mikroglia, Makrophagen, neutrophile Granulozyten sowie mikrogliale FcγR im Hirngewebe bestimmt.

Statistik: Mann-Whitney-Rangsummentest für paarweise Vergleiche und Korrektur nach Bonferroni-Holm bei Mehrfachtestung, $p < 0,05$.

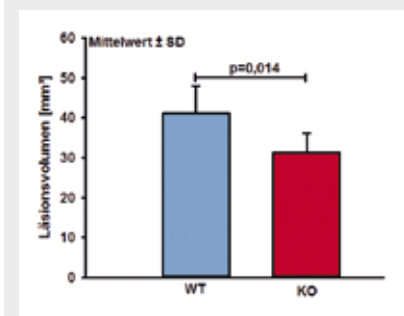
Ergebnisse

A: Bereits 6 Stunden nach SHT steigt die IgG-Konzentration im Parenchym an. Im Vergleich zum Kontusionsvolumen wächst die IgG-positive Fläche über die Zeit weit über die Läsion hinaus (6 h: $37,9 \pm 5,2\%$; 12 h: $40,3 \pm 6,9\%$; 24 h: $42,0 \pm 5,1\%$; 3 Tage: $50,1 \pm 9,8\%$; 5 Tage: $51,6 \pm 9,1\%$ der Hemisphäre). Im Gegensatz zur T-Zellzahl, die innerhalb 24 Stunden deutlich ansteigt, kommt es in den ersten 5 Tagen zu keinem anhaltenden Übertritt von B-Zellen in das Hirngewebe. Innerhalb der ersten 24 Stunden steigt die Expression der IgG-Rezeptor-Subtypen FcγRI ($1050 \pm 200\%$), FcγRIIb ($2200 \pm 800\%$) und FcγRIII ($600 \pm 85\%$) an, erreicht am 3. Tag das Maximum und verbleibt über sieben Tage auf hohem Niveau.

B: Transgene Knockout-Tiere mit einer Defizienz der Bindung am FcγR (KO) weisen einen reduzierten Hirnschaden (Abb. 1), reduzierte Mikrogliaaktivierung, niedrigere zerebrale TNF- α -Expression sowie geringere systemische CRP-Konzentration (WT: $12,0 \pm 3,1 \mu\text{g/ml}$; KO: $7,3 \pm 1,4 \mu\text{g/ml}$) nach 24 Stunden auf. Auf den Hirnwassergehalt hat die Defizienz der FcγR keinen Einfluss.

C: RAG1^{-/-}-Tiere zeigen eine reduzierte zerebrale IgG-Extravasation sowie eine Reduktion des Hirnschadens gegenüber WT 24 Stunden und 5 Tage nach SHT ($27,1 \pm 4,1$ vs. $32,4 \pm 5,6$ sowie $11,8 \pm 1,1$ vs. $13,9 \pm 0,9 \text{ mm}^3$; $p < 0,05$). 24 Stunden nach SHT weisen RAG1^{-/-}-Tiere eine geringere Immigration von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten auf, bei unveränderter Expression von FcγR I, IIb und III auf Mikroglia.

Abbildung 1



Im Vergleich zum Wildtyp (WT, blau) kommt es bei konstitutiven Knockout-Tieren mit einer Defizienz der Bindung am FcγR (KO, rot) zu einem reduzierten Läsionsvolumen 24 Stunden nach SHT ($p < 0,05$).

Interpretation

Die aktuelle Studie zeigt, dass es nach SHT zu einer deutlichen und anhaltenden IgG-Extravasation kommt. Das im Hirnparenchym erhöhte IgG ist nicht durch eine vermehrte Einwanderung von B-Lymphozyten zu erklären, sondern ist vielmehr Ausdruck einer über Tage anhaltenden BHS-Störung, die weit über das Schadensareal hinaus in der Hemisphäre nachweisbar ist. Gleichzeitig kommt es zu einer deutlich erhöhten und anhaltenden Expression der zerebralen FcγR I, IIb und III, die unabhängig ist von der IgG-Extravasation. Die Untersuchung an FcγR-defizienten Mäusen zeigt, dass die Aktivierung von FcγR zu verstärkter Neuroinflammation und vergrößertem Hirnschaden führt. Die Defizienz maturer Lymphozyten führt zu geringerer IgG-Extravasation, geringerer Immigration von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten und einem geringeren Hirnschaden nach SHT. Die Ergebnisse zeigen, dass die durch eine traumatische BHS-Störung bedingte Extravasation von IgG durch eine Antikörper-vermittelte immunmodulatorische Wirkung über IgG-Rezeptoren maßgeblich an der Entstehung des sekundären Hirnschadens beteiligt ist.

Literatur

1. Kunz, et al: Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2010
2. Morganti-Kossmann, et al: Injury 2007
3. Ankeny, et al: Trends Immunol 2010.

Effekte von Allgemeinanästhesie mit volatilen Anästhetika auf Letalität sowie postoperative Komplikationen nach chirurgischen Eingriffen: ein systematischer Review und Metaanalyse

C. Uhlig¹ · T. Bluth¹ · K. Schwarz² · S. Deckert² · L. Heinrich² · J. Schmitt² · T. Koch¹ · M. Gama de Abreu¹

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

² Zentrum für Evidenzbasierte Gesundheitsversorgung, Universitätsklinikum Dresden, TU Dresden

Korrespondenz:
christopher.uhlig@uniklinikum-dresden.de

Fragestellung

Volatile Anästhetika können zur Organprotektion im Rahmen chirurgischer Eingriffe beitragen und somit das Outcome beeinflussen [1]. Ziel der vorliegenden systematischen Übersichtsarbeit und Metaanalyse war es, die Effekte der volatilen Anästhetika Sevofluran, Desfluran und Isofluran auf postoperative Letalität, pulmonale (PPK) und extrapulmonale postoperative Komplikationen (EPPK) bei Patienten, welche sich einem chirurgischen Eingriff in Allgemeinanästhesie unterziehen, zu untersuchen.

Methodik

Eine systematische Literatursuche in drei Datenbanken (MEDLINE, EMBASE, CENTRAL) ohne Sprach- und Zeitlimitierung sowie eine Handsuche nach den folgenden PICOS-Kriterien wurde durchgeführt: I) Population: erwachsene Patienten, welche sich einem chirurgischen Eingriff unterziehen; II) Intervention: Allgemeinanästhesie mit Sevofluran, Desfluran, Isofluran; III) Vergleich: volatile Anästhetika vs. total intravenöse Anästhesie (TIVA) oder der verschiedenen volatilen Anästhetika untereinander; IV) primärer Endpunkt: Letalität (im Krankenhaus, nach 30 Tagen, am längsten berichtete Letalität); sekundäre Endpunkte: PPK und EPPK; V) Studiendesign: randomisiert kontrollierte Studien. Die Auswertung erfolgte für binäre Outcomes mittels gepoolten Peto Odds Ratio sowie einer multivariaten Netzwerk-Metaanalyse. Die genannten Analysen wurden für kardiochirurgische und nicht-kardiochirurgische Eingriffe separat durchgeführt. Statistische Signifikanz wurde bei $p < 0,05$ akzeptiert.

Ergebnisse

Es wurden 68 Studien mit Daten von 7.104 Patienten in die Analyse eingeschlossen. Im Vergleich zur TIVA reduzierten volatile Anästhetika in einer kardiochirurgischen Population die Letalität (OR=0,55; 95% CI 0,35-0,85; $p=0,007$; Abb. 1), PPK (OR=0,71; 95% CI 0,52-0,98; $p=0,038$) und EPPK (OR=0,74; 95% CI 0,58-0,95; $p=0,020$). Bei nicht-kar-

diochirurgischen Eingriffen waren volatile Anästhetika nicht mit einer Verringerung der Letalität (OR=1,31; 95%-CI 0,83-2,05; $p=0,242$; Abb. 1), PPK (OR=0,67; 95% CI 0,42-1,05; $p=0,081$) und EPPK (OR=0,70; 95% CI 0,46-1,06; $p=0,092$) assoziiert. Wesentliche Unterschiede zwischen den einzelnen volatilen Anästhetika im Hinblick auf Letalität und PPK und EPPK ergaben sich nicht.

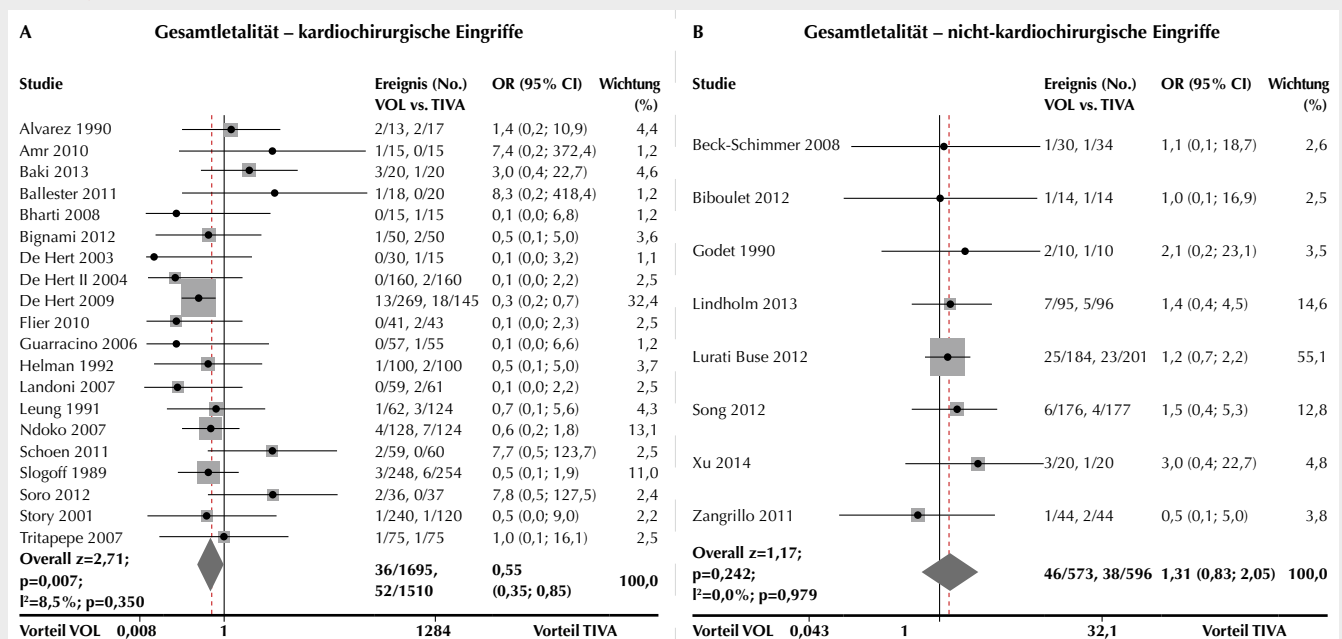
Interpretation

Die Ergebnisse der vorliegenden systematischen Übersichtsarbeit und Metaanalyse zeigen einen deutlichen Vorteil für volatile Anästhetika im Vergleich zur TIVA bei kardiochirurgischen Eingriffen. Bei nicht-kardiochirurgischen Operationen waren die untersuchten volatilen Anästhetika nicht mit einer Reduktion der Letalität oder der postoperativen Komplikationen assoziiert. Es werden weitere klinische Studien zu den protektiven Effekten von volatilen Anästhetika und der damit verbundenen möglichen Prävention von postoperativen Komplikationen und Todesfällen benötigt.

Literatur

1. Landoni G, Greco T, Biondi-Zoccai G, Nigro Neto C, Febres D, Pintadi M, Pasin L, Cabrini L, Finco G, Zangrillo A: Anaesthetic drugs and survival: a Bayesian network meta-analysis of randomized trials in cardiac surgery. Br J Anaesth 2013;111:886-96.

Abbildung 1



Die Postkonditionierung mit dem Kohlenmonoxid-freisetzenden Molekül (CORM) ALF-186 reduziert den Ischämie-Reperfusionsschaden in der Netzhaut der Ratte über die Phosphorylierung der p38-MAP-Kinase und der löslichen Guanylatzyklase

F. Ulbrich · A. Meske · C. Hagmann · H. Buerkle · T. Loop · U. Goebel

Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Freiburg

Korrespondenz: felix.ulbrich@uniklinik-freiburg.de

Fragestellung

Zerebrale Ischämie- und Reperfusionsschäden (I/R) wie zerebrovaskuläre Insulte führen durch neuronale Inflammation und Apoptose zu einer irreversiblen Schädigung [1]. Eigene Untersuchungen konnten zeigen, dass eine Präkonditionierung mit CORMs den neuronalen I/R-Schaden reduziert [2]. Ob die Applikation von CORMs in der Reperfusion („Postkonditionierung“) ebenfalls einen protektiven Effekt besitzt und welchen molekularen Mechanismus dieser Wirkung zugrunde liegen

könnte, ist bislang ungeklärt. Wir haben die Hypothese aufgestellt, dass eine Postkonditionierung mit dem CORM ALF-186 sowohl Apoptose als auch Inflammation in einem I/R-Modell der Netzhaut der Ratte reduziert.

Methodik

Nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium wurden Sprague-Dawley-Ratten (n=8; 280-320 g) mit Ketamin und Xylazin anästhesiert. Die Induktion eines (I/R)-Schadens erfolgte durch Punktion der Augenvorderkammer und Erhöhung des intraokularen Drucks auf 120 mmHg für 1 h. Unmittelbar nach Beendigung der Ischämie wurde das in PBS gelöste CORM ALF-186 (10 mg/kg KG) intravenös appliziert. Nach 24 Stunden erfolgte die Enukleation der Augen und die Aufarbeitung der Netzhäute zur jeweiligen Analyse der mRNA (Bax, TNF- α und Interleukin-6) und der Protein-Expression des Caspase-3-Spaltprodukts, der mitogen-aktivierten Proteinkinase p38 und der löslichen Guanylatzyklase (sGC)-1 β . Die Dichte der Ganglienzellen (RGC) wurde nach vorheriger retrograder In-vivo-Fluorogold-Färbung 7 Tage nach dem I/R-Schaden mittels Fluoreszenz-Mikroskopie quantifiziert. Eine Inhibition von

p38 und sGC in vivo erfolgte mit den spezifischen Inhibitoren SB203580 (SB) und ODQ. Alle Messwerte wurden statistisch durch eine Varianzanalyse (ANOVA mit Post-hoc-SNK-Test; Signifikanzniveau $p < 0,05$; Mittelwerte \pm Standardabweichung) verglichen.

Ergebnisse

Die Applikation von ALF-186 hemmte die I/R-induzierte mRNA-Expression von Bax (I/R 1.5 ± 0.2 vs. I/R+ALF-186 1.1 ± 0.2 ; $p < 0,05$) und die Expression des Caspase-3-Spaltprodukts (I/R 1.4 ± 0.1 vs. I/R+ALF-186 1.0 ± 0.2 ; $p < 0,05$). Darüber hinaus reduzierte ALF-186 die mRNA-Expression von TNF- α (I/R 3.7 ± 0.3 vs. I/R+ALF-186 2.4 ± 0.4 , $p < 0,001$) und IL-6 (I/R 3.1 ± 0.3 vs. I/R+ALF-186 1.5 ± 0.3 , $p < 0,001$). Die Applikation von ALF-186 induzierte sowohl die Phosphorylierung von p38 (I/R 1.0 ± 0.1 vs. I/R+ALF-186 1.4 ± 0.2 , $p < 0,001$) als auch die sGC-1 β (I/R 1.0 ± 0.1 vs. I/R+ALF-186 1.3 ± 0.1 , $p < 0,001$). Die Inhibition von p38 hob den anti-apoptotischen Effekt von ALF-186 auf und induzierte Bax und die Expression des Caspase-3-Spaltprodukts (Bax: I/R+ALF-186 0.9 ± 0.1 vs. SB+I/R+ALF-186 1.4 ± 0.2 , $p < 0,05$; Caspase-3: I/R+ALF-186 1.0 ± 0.2 vs. I/R+SB+ALF-186 1.4 ± 0.1 , $p < 0,05$). Die Inhibition von sGC-1 β induzierte TNF- α und IL-6 (TNF- α : I/R+ALF-186 2.4 ± 0.4 vs. ODQ+I/R+ALF-186 3.2 ± 0.4 , $p < 0,05$; IL-6: I/R+ALF-186 1.0 ± 0.2 vs. ODQ+I/R+ALF-186 2.4 ± 0.4 , $p < 0,01$). ALF-186 konnte die I/R-bedingte Apoptose von Ganglienzellen in der Netzhaut der Ratte nahezu vollständig aufheben (Abb. 1; I/R 1808 ± 262 vs. I/R+ALF-186 2499 ± 377 ; $p < 0,001$). Sowohl die Inhibition von p38 als auch von sGC-1 β hoben diesen protektiven Effekt auf (Abb. 1; I/R+ALF-186 2499 ± 377 vs. SB+I/R+ALF-186 2343 ± 314 ; $p < 0,05$ I/R+ALF-186 2499 ± 377 vs. ODQ+I/R+ALF-186 2126 ± 1680 , $p < 0,05$).

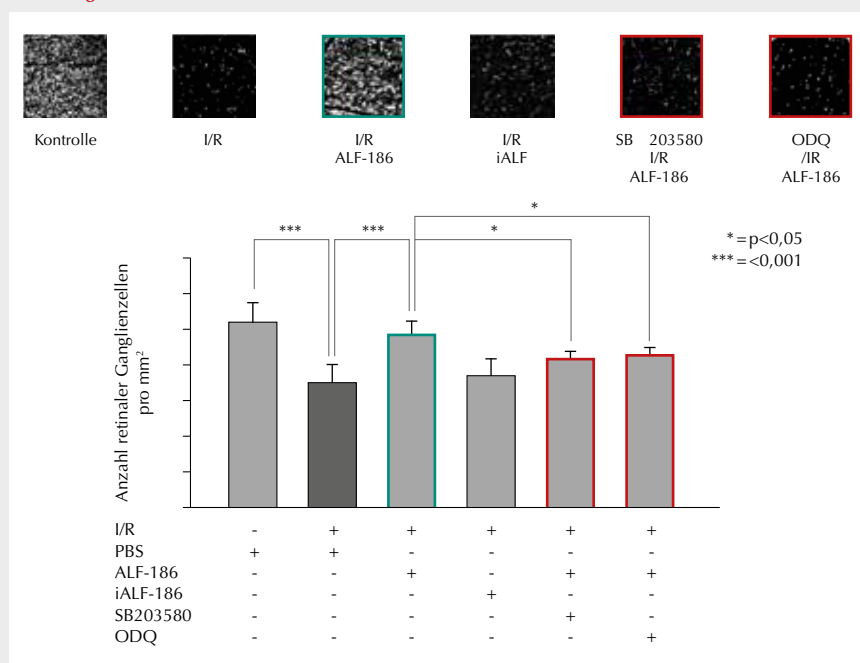
Interpretation

CORM ALF-186 wirkt postkonditionell nach einem retinalen I/R-Schaden sowohl anti-apoptotisch als auch anti-inflammatorisch und reduziert den neuronalen Gewebeschaden über den p38/sGC-1 β -Signaltransduktionsweg.

Literatur

1. Mashour G, Shanks A, Kheterpal S: Perioperative stroke and associated mortality after noncardiac, nonneurologic surgery. Anesthesiology 2011;114:1289-96
2. Schallner N, et al: Carbon monoxide abrogates ischemic insult to neuronal cells via the soluble guanylate cyclase-cGMP pathway. PLoS One 2013;8:e60672.

Abbildung 1



Repräsentative Flachpräparate der Netzhaut mit Fluorogold markierten retinalen Ganglienzellen und Quantifizierung der Zelldichte.

Kein Einfluss von Tranexamsäure auf die Kardioprotektion durch ischämische Präkonditionierung und ischämische Fernpräkonditionierung bei der Ratte

P. van Caster¹ · S. Eiling¹ · F. Behmenburg¹ · M. Dorsch¹ · A. Heinen² · M.W. Hollmann³ · R. Huhn¹

1 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

2 Institut für Herz- und Kreislaufphysiologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

3 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Amsterdam, Niederlande

Korrespondenz:

Patrick.vanCaster@med.uni-duesseldorf.de

Fragestellung

Ischämische Präkonditionierung (IPC) und ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC) reduzieren unter tierexperimentellen Bedingungen in erheblichem Umfang den Ischämie/Reperfusionsschaden. Demgegenüber konnte in einigen klinischen Studien bei herzchirurgischen Patienten kein klinisch relevanter kardioprotektiver Effekt durch IPC und RIPC nachgewiesen werden [1,2]. Diese Diskrepanz erklärt sich möglicherweise durch Interaktionen mit den bei diesem Patientenkollektiv unter anderem regelhaft verabreichten Antifibrinolytika. Das historisch eingesetzte Aprotinin blockiert die Sevofluran-induzierte Präkonditionierung [3] und wurde wegen des Verdachtes auf Erhöhung der Letalität vom Markt genommen. Falls die anstelle des Aprotinins verwendete Tranexamsäure gleichermaßen Fibrinolyse und Kardioprotektion hemmt, wäre ein einfach beeinflussbarer Mechanismus für die häufig ausbleibende Kardioprotektion durch Präkonditionierung bei herzchirurgischen Patienten identifiziert. In dieser Studie testeten wir deshalb die Hypothese, dass Tranexamsäure 1) einen Einfluss auf die Infarktgröße nach myokardialer Ischämie/Reperfusion hat und 2) die Kardioprotektion durch IPC und/oder RIPC hemmt.

Methodik

Mit Genehmigung der zuständigen Behörde (Aktenzeichen 84-02.04.2014.A088) wurde bei 51 Pentobarbital-anästhesierten, kontrolliert beatmeten männlichen Wistar-Ratten (293±22 g) nach Minithorakotomie ein Hauptast der linken Koronararterie für 25 min okkludiert und danach das zuvor ischämische Areal für 2 h reperfundiert. Die Tiere wurden für eine kontinuierliche arterielle Blutdruckmessung (A. carotis com.) und Medikamentengabe (V. jugularis int.) instrumentiert. Am Versuchsende wurden die Herzen entnommen und die Infarktgröße mittels Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung bestimmt. Die Tiere wurden in 6 Gruppen randomisiert. Die Kontrolltiere (CON, n=10) erhielten neben Ischämie und Reperfusion keine weitere Behandlung. Ischämische Präkonditionierung wurde durch 3 Zyklen 5-minütiger myokardialer Ischämie mit Reperfusion (IPC, n=8) induziert, ischämische Fernpräkonditionierung durch 4 Zyklen 5-minütiger beidseitiger Hinterlaufischämie mit Reperfusion (RIPC, n=9). Tranexamsäure (1% in 0,9% NaCl, Bolus 10 mg/kg KG, kontinuierlich 2 mg/kg/h KG i.v.) wurde alleine (TXA+CON, n=8) und in Kombination mit IPC (TXA+IPC, n=8) sowie RIPC (TXA+RIPC, n=8) mit Versuchsbeginn appliziert.

Statistik: Mittelwerte±Standardabweichung, Varianzanalyse und Tukey Post-hoc-Test, p<0,05. Die notwendige Fallzahl wurde so berechnet, dass eine Effektgröße von 20% mit einem α -Fehler von 0,05 nachgewiesen werden könnte.

Ergebnisse

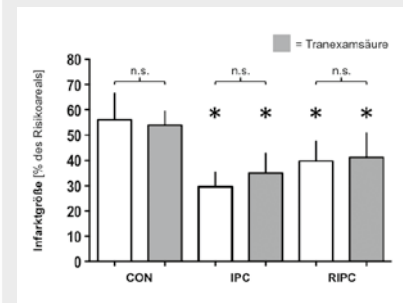
Herzfrequenz und mittlerer arterieller Druck unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen. In der Kontrollgruppe betrug die Infarktgröße 56±11% des Risikogebietes. Sowohl IPC als auch RIPC reduzierten signifikant die Infarktgröße auf 30±6% bzw. 40±8% im Vergleich zu CON. Tranexamsäure selbst hatte keinen Einfluss auf die Infarktgröße (TXA+CON: 54±15%; n.s. vs. CON). Die Gabe von Tranexamsäure in Kombination mit IPC oder RIPC hatte keinen Einfluss auf

die Kardioprotektion (TXA+IPC: 35±8%; n.s. vs. IPC, TXA+RIPC: 41±10%, n.s. vs. RIPC).

Interpretation

Diese Ergebnisse zeigen, dass Tranexamsäure 1) keinen Einfluss auf die Infarktgröße nach Ischämie/Reperfusion hat und 2) eine Kardioprotektion durch IPC und RIPC nicht gehemmt wird. Aus unseren Daten ergibt sich somit kein Anhaltspunkt dafür, dass Tranexamsäure beim herzchirurgischen Patienten für die fehlende Wirksamkeit von IC und RIPC verantwortlich sein könnte.

Abbildung 1



Infarktgrößen. CON=Kontrolle, IPC=Ischämische Präkonditionierung, RIPC=Ischämische Fernpräkonditionierung. Mittelwert±Standardabweichung; * p<0,05 vs. CON.

Literatur

- Williams TM, Waksman R, De Silva K, Jacques A, Mahmoudi M: Ischemic preconditioning – an unfulfilled promise. Cardiovasc Revasc Med 2015 Mar;16(2):101-8
- Meybohm P, Bein B, Brosteanu O, Cremer J, Gruenewald M, Stoppe C, et al: A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. N Engl J Med 2015 Oct 8;373(15):1397-407
- Fräsdorf J, Huhn R, Weber NC, Ebel D, Wingert N, Preckel B, et al: Sevoflurane-induced preconditioning: impact of protocol and aprotinin administration on infarct size and endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation in the rat heart in vivo. Anesthesiology 2010 Dec;113(6):1289-98.

Eine „Feedback-Schleife“ durch Makrophagen schützt das Gewebe in einem murinen Modell der bakteriellen Harnwegsinfektion vor ungezielter Zerstörung durch neutrophile Granulozyten

C. Weisheit¹* · M. Schiwon² · A. Dixit² · A. Hoeft¹ · G. Baumgarten¹ · C. Kurts² · D. Engel²

¹ Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin

² Institut für Experimentelle Immunologie Universitätsklinikum Bonn

Korrespondenz:

christina.weisheit@ukb.uni-bonn.de

* Preisträger des DGAI-Forschungstipendiums der Fresenius-Stiftung 2016

Fragestellung

In der Bekämpfung bakterieller Infektionen spielen Makrophagen und Neutrophile eine Schlüsselrolle [1]. Makrophagen sind dabei wichtige Phagozyten und stellen eine Quelle für die Freisetzung der chemotaktischen Neutrophilenlockstoffe dar. Neutrophile wiederum können die Bakterien sowohl phagozytieren als auch durch die Freisetzung toxischer Substanzen töten [2]. Ein Nebeneffekt dieser Degranulationsprozesse ist die massive Zerstörung des umgebenden Gewebes [3]. Unsere Ausgangshypothese war, dass Makrophagen und Neutrophile in der Infektion kooperieren und kommunizieren, und führte zu der Frage: Wie werden die Gewebemigration und die Effektorfunktion der Neutrophilen in der bakteriellen Infektion reguliert?

Methoden

Es wurde ein murines Harnwegsinfektionsmodell mit uropathogenen *E. coli*-Bakterien (Stamm 536) angewendet. Zur Zellanalyse erfolgten durchflusszytometrische und histologische Untersuchungen von Harnblasengewebe aus weiblichen C57Bl/6 (WT^{-/-}), *Tnf*^{-/-}, *Tnfr*^{-/-} und *Cxcr2*^{-/-}-Mäusen. Außerdem wurde die Funktion verschiedener Zytokine durch die lokale Gabe von TNF und CXCL2 sowie die Generierung knochenmarkschimärer Mäuse charakterisiert und eine Analyse der Zellproliferation mittels BrdU-Assay durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Mann-Whitney- oder Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's-post-hoc-Testung; die Ergebnisse wurden als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt. $P < 0,05$ galt als statistisch signifikanter Unterschied (Software: Graphpad Prism). Die Tierversuche waren durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen genehmigt.

Ergebnisse

Im Blasengewebe gesunder Mäuse fanden sich hauptsächlich residente Ly6C⁺-Makrophagen. Bereits zwei Stunden nach bakterieller Infektion stieg die Anzahl an Neutrophilen und Ly6C⁺-Makrophagen signifikant an und erreichte 24 h nach Infektion ihr Maximum. Die massive Zunahme dieser Phagozyten war nicht durch lokale Proliferation im Gewebe erklärbar, da mittels BrdU-Assay nur sehr vereinzelt proliferierende Leukozyten nachweisbar waren. Beide Zellgruppen wurden somit aus der Zirkulation rekrutiert. Die Untersuchung des Chemokinprofils zeigte

einen signifikanten Anstieg in der Gewebekonzentration von CXCL1 und MIF als neutrophilenspezifische chemotaktische Lockstoffe und einen für die Rekrutierung der Makrophagen verantwortlichen Anstieg der CCL2-Konzentration. Die chemotaktisch rekrutierten Phagozyten verteilten sich nach der Extravasation in der Lamina propria und dem Epithel. Die Neutrophilen waren in Gruppen im Uroepithel zu finden. Dort phagozytierten sie einen großen Teil der Bakterien. Eine fehlende Infiltration der Neutrophilen führte zu einer signifikant erhöhten Bakterienkonzentration in der Harnblase 24 h nach Infektion (Wt: $1,1 \times 10^7 \pm 0,3 \times 10^7$ vs. *Cxcr2*^{-/-}: $2,2 \times 10^7 \pm 0,6 \times 10^7$ UPEC/Blase). Eine zellspezifische Untersuchung der Chemokin- und Zytokin-Expression mittels FACS-Analyse ließ eine hohe TNF-Produktion in Ly6C⁺-Makrophagen nach Infektion erkennen. Ein Fehlen des TNF-Signalwegs führte ebenfalls zu einer signifikanten Zunahme der Bakterienkonzentration (*Tnfr*^{-/-}: $2,7 \times 10^7 \pm 0,6 \times 10^7$ UPEC/Blase). Histologische Untersuchungen zeigten, dass 24 h nach Infektion die Neutrophilen bei *Tnfr*^{-/-}-Mäusen nicht in das Uroepithel einwanderten, sondern vor der Basallamina verblieben. Ein direkter Effekt von TNF auf die Funktion und Migration der Neutrophilen konnte nicht nachgewiesen werden. Allerdings führte ein Fehlen des TNF-Signalwegs zu einer signifikant reduzierten CXCL2-Ausschüttung durch Ly6C⁺-Helfermakrophagen. Ohne CXCL2 konnten die Neutrophilen ebenfalls nicht in das Uroepithel einwandern. Durch die lokale Gabe von CXCL2 wurde die epitheliale Migration jedoch wiederhergestellt (Abb. 1). Es zeigte sich, dass Neutrophile ohne CXCL2 nicht in der Lage waren, ausreichend aktiviertes MMP9 zur Denaturierung der Basalmembran freizusetzen, um in das Uroepithel einzuwandern.

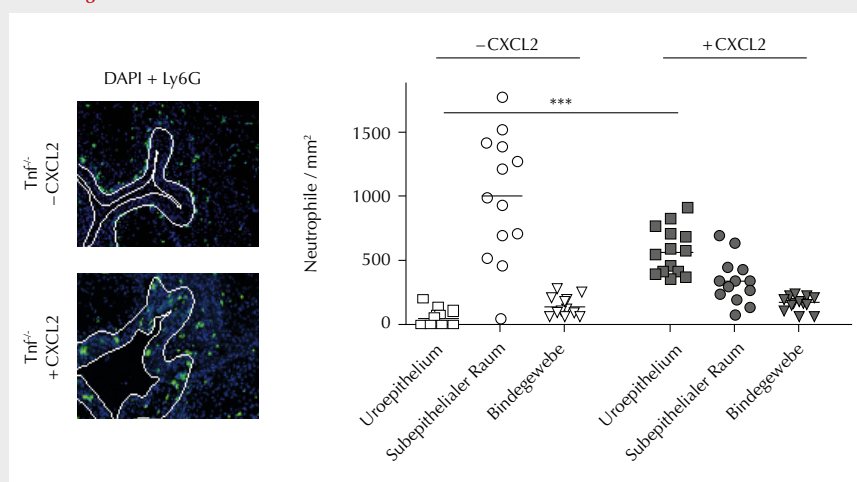
Interpretation

Die Migration und Effektorfunktion von Neutrophilen in der akuten bakteriellen Infektion wird durch die Kommunikation und Kooperation zwischen Wächter- und Helfermakrophagen kontrolliert und reguliert.

Literatur

1. Soehnlein O und Lindbom L: Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation. *Nat. Rev. Immunol* 2010;10:427-439
2. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD, Zychlinsky A: Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu. Rev. Immunol* 2012;30:459-489
3. Segel GB, Halterman MW, Lichtman MA: The paradox of the neutrophil's role in tissue injury. *J of Leukocyte Biol* 2011;89no.3:359-372.

Abbildung 1



Durch die Gabe von CXCL2 wird die epitheliale Migration von Neutrophilen in TNF-defizienten Mäusen wiederhergestellt; Diagramm. $n=3$ *Tnf*^{-/-}-CXCL2, $n=5$ *Tnf*^{-/-}+CXCL2; bei drei unabhängigen Versuchswiederholungen; *** $p < 0,001$.