

## Inhalt

<b>TLR2-Defizienz (TLR2<sup>-/-</sup>) ist mit differentem Muster im zerebralen Glukose-Metabolismus im kardiopulmonalen Reanimationsmodell der Maus assoziiert</b> R. Bajorat · S. Bergt · J. Kurth · J. Stenzel · G. Nöldge-Schomburg · B. Vollmar · B.J. Krause · T. Schürholz	367
<b>Der Natriumkanal Na<sub>v</sub>1.3 reguliert die Rekrutierung von Neutrophilen in vitro und in ischämisches Herz und Nierengewebe der Maus in vivo</b> N. Bühne · M. Poffers · C. Herzog · F. Güler · A. Thorenz · R. Chen · A. Hage · A. Leffler · F. Echtermeyer	368
<b>Tierexperimentelle Evaluation der elektrischen Impedanztomographie zur Messung der relativen Lungenperfusion</b> T. Bluth · T. Kiss · M. Kircher · A. Braune · R. Huhle · M. Scharffenberg · T. Koch · J. Kotzerke · C. Bozsak · B. Stender · M. Gama de Abreu	370
<b>Einfluss von Propofol auf die Freisetzung humoraler Faktoren nach ischämischer Fern-Präkonditionierung in der Ratte</b> S. Bunte · F. Behmenburg · M. Ströthoff · A. Heinen · M.W. Hollmann · R. Huhn	371
<b>Pharmakokinetik und Pharmakodynamik des kurzwirksamen Benzodiazepins Remimazolam – eine Phase-I-Studie an männlichen Probanden</b> A. Eisenried · H. Ihmsen · M. Lerch · J. Schüttler	372
<b>Sphingosin-1-Phosphat induziert antiinflammatorische Effekte in vitro und in vivo durch potente Hemmung des Enzyms 5-Lipoxygenase</b> J. Fettel · B. Kühn · M. Peters · C. Angioni · G. Geisslinger · K. Zacharowski · P. Meybohm · D. Steinhilber · J. Roos · T.J. Maier	373
<b>Amisulprid zur Therapie von postoperativer Übelkeit und postoperativem Erbrechen nach perioperativer antiemetischer Prophylaxe bei Hochrisikopatienten</b> A. Helf · Y. Jeltting · A.S. Habib · G. Fox · L. Eberhart · P. Diemunsch · J. Motsch · S. Weibel · M. Kredel · P. Kranke	374
<b>MicroRNA-143 und -150 ermöglichen im Vollblut die Detektion einer septischen Immunparalyse</b> S. Hirschberger · P. Möhnle · L.C. Hinske · J. Briegel · S. Weis · M. Bauer · E.J. Giamarellos-Bourboulis · S. Kreth	375
<b>Einfluss von Myeloiden Suppressorzellen auf das kompensatorische antiinflammatorische Response-Syndrom nach kardiochirurgischen Eingriffen</b> M. Hübner · G. Klein · D. Effinger · R. Tomasi · S. Kreth	376
<b>Aktivitätsinduzierte Signaltransduktion in nozizeptiven Neuronen der Ratte</b> J. Isensee · M. VanCann · D. Araldi · D. Bas · J. D. Levine · T. Hucho	377
<b>Immunregulation unter akuter normobarer und hypobarer Hypoxie: Evaluation möglicher prädiktiver Marker der akuten Bergkrankheit</b> T. Kammerer · V. Faihs · M. Hübner · M. Rehm · C. Spengler · S. Kreth · S. Schäfer	378
<b>Aktivierung des Thromboxan A<sub>2</sub>-Rezeptors durch Streptococcus pneumoniae</b> M. Kieffmann · C. Börnchen · A. Schuster · A. Mecklenburg · F. Gniech · S. Hammerschmid · R. Kieffmann	379
<b>Ischämische Präkonditionierung führt zu erhöhter Konzentration extrazellulärer Vesikel mit vermehrter Expression der kardioprotektiven miR-21</b> M. Klaaßen · B. Giebel · C. Ochsenfarth · F. Murke · M. Thielmann · E. Kottenberg · P. Kleinbongard · A. Engler · J. Peters · U.H. Frey	380
<b>Der CHRM3 Polymorphismus rs2165870 ist ein unabhängiger PONV-Prädiktor, aber kombinierte Akupunktur/Dexamethason-Prophylaxe effektiv</b> S. Klenke · G. de Vries · L. Schiefer · N. Seyffert · H. Bachmann · J. Peters · U.H. Frey	381
<b>Die mechanische Beatmungsleistung ist direkt assoziiert mit Letalität bei invasiv beatmeten Patienten ohne Lungenversagen</b> T. Kiss · A. Serpa Neto · R.O. Deliberato · A. E. W. Johnson · P. Pelosi · M. J. Schultz · T. Koch · M. Gama de Abreu	382
<b>Plexin C1 induziert den pro-resolutions Phänotyp von Monozyten/Makrophagen und dient als Survival-Marker</b> A. Körner · A. Bernard · V. Mirakaj	383
<b>Translationale Untersuchung zur Rolle des Macrophage Migration Inhibitory Factors als therapeutische Zielstruktur in der Behandlung des Multiorganversagens nach hämorrhagischem Schock</b> L. Martin · N. Yamada · L. Stiehler · R. Halbgebauer · M. Huber-Lang · E. Zechendorf · S. Krämer · C. Stoppe · J. Bickenbach · C. Thiernemann · G. Marx	384

## Abstracts der 32. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI

23. – 24.02.2018, 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 23. – 24.02.2018 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 2019 der Fresenius-Stiftung und das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung finden Sie auf der Seite 366.



### Ausschreibung des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung

Die 33. Wissenschaftlichen Arbeitstage der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (DGAI) werden vom **15.–16.02.2019** 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.

2019 wird das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung für eine hervorragende Forschungsarbeit mit 15.000 € dotiert. Grundlagenforschung und klinische Forschung sollen gleichermaßen gefördert werden.

**Einsendeschluss:  
04.01.2019**

#### Nähere Informationen:

[www.ukw.de/anaesthesie/veranstaltungen](http://www.ukw.de/anaesthesie/veranstaltungen)

E-Mail: [wat\\_wuerzburg@ukw.de](mailto:wat_wuerzburg@ukw.de)

#### Anschrift:

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

Tel.: 0931 20130015

Fax: 0931 20130019

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

- HMGB-1 induziert den Zellzyklusarrest in renalen Tubulusepithelzellen und reduziert die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung**  
M. Meersch · J. Rossaint · A. Margraf · M. Küllmar · A. Cappenberg · H. Block · A. Zarbock 385
- Defizienz des aktiven Glukosetransportes SGLT-2 vermindert über eine Verringerung der Aktivierbarkeit der Thrombozyten den sekundären Hirnschaden nach Schädelhirntrauma im Mausmodell**  
S. Meyer · C. Götz · A. Sebastiani · T. Hirnet · W. Song · C.C. Förster · H. Koepsell · K. Jurk · S.C. Thal 386
- Mukosal induzierte miRNA-147-Expression mildert die Inflammation im murinen akuten Lungenversagen durch Inhibition von Ticam2**  
V. Neudecker · X. Yuan · K.S. Brodsky · H.K. Eltzschig 389
- Die CX3CR1-Deletion führt im Mausmodell zur Rezeptor-interagierenden Protein-kinasen (RIPK)-abhängigen pulmonalen Hyperinflammation**  
K.C. Ngamsri · J. Gamper-Tsigaras · F.M. Konrad 390
- NaV1.9-abhängige Induktion von Kalziumtransienten und Aktionspotentialen durch oxidierte Phospholipide unter Entzündungsbedingungen in Spinalwurzelganglion-Neuronen der Maus**  
B. Oehler · C. Martin · J. Hugo · M. Mohammadi · N. Roewer · A. Brack · R. Blum · H.L. Rittner 391
- Bestimmte präoperativ bestehende kognitive Leistungseinschränkungen prädisponieren für die Entwicklung eines postoperativen Delirs**  
C. Olotu · A. Scherwarth · J. Wiede · J. Knothe · I.O. Magnusson · D. von Moers · K. Vogt · A. Guitan · A. Assif · K. Min · L. Plümer · R. Kiefmann 392
- Tetrazyklin verbessert den akuten Lungenschaden durch Inhibition des Nlrp3-Inflammasoms im Mausmodell**  
K. Peukert · M. Fox · C. Wilhelm · E. Latz · F. Steinhagen · C. Bode 393
- Eine vaskuläre Transplantatpülung mit Ropivacain reduziert eine akute Abstoßung nach allogener Maus-Lungentransplantation**  
T. Piegeler · T. Maeyashiki · J.H. Jang · Y. Yamada · S.N. Stehr · R. Werdehausen · I. Inci · W. Weder · W. Jungraithmayr 394
- microRNA-122-Expression ist ein valider Biomarker zur Detektion und frühzeitigen Risikostratifizierung in der Sepsis**  
T. Rahmel · S.T. Schäfer · U.H. Frey · M. Adamzik · J. Peters 395
- Propofol ist mit epigenetischen Prozessen im cholinergen System assoziiert, dies könnte die postoperative kognitive Dysfunktion beeinflussen**  
K. Rump · C. Holtkamp · M. Unterberg · Z. Bazzi · M. Adamzik 398
- Antinozizeptive Wirkung von Delphinidin-SBECD bei Entzündungsschmerzen in Ratten**  
R.S. Sauer · B. Oehler · M. Mohammadi · F. Schöppler · S. Shitjakov · P. Güntzel · U. Holzgrabe · J. Broscheit · N. Roewer · A. Brack · H.L. Rittner 399
- Molekularer Phänotyp der Leberdysfunktion unterscheidet bakterielle und fungale Sepsis trotz vergleichbarer Bilirubinwerte**  
B. Schaarschmidt · S. Vlaic · M. Bauer · A.T. Press 400
- Lungenprotektion erfordert niedrigere Tidalvolumina sowie mechanische Beatmungsleistung im Modell der pulmonalen Inflammation an der Ratte**  
M. Scharffenberg · R.S. Santos · L. de A. Maia · C. dos S. Samary · M.M. Morales · T. Koch · P. Pelosi · P.L. Silva · P.R.M. Rocco · M. Gama de Abreu 401
- Exspiratorische Ventilations-Assistenz verbessert die Oxygenierung beim akuten Lungenversagen im Schweinemodell**  
J. Schmidt · C. Wenzel · S. Spassov · S. Wirth · S. Schumann 402
- Einfluss von Adipositas auf Plasma- und Gewebespiegel von Linezolid nach Einmalapplikation – Eine kontrollierte klinische Studie**  
P. Simon · D. Petroff · S. Hochstädt · A. Dietrich · C. Kloft · M. Zeitlinger · F. Kees · S. Stehr · H. Wrigge 403
- Reinigung eines Skorpiontoxins mit Schmerzsignalkaskaden-aktivierender Wirkung**  
M. van Cann · J. Isensee · A. Berkut · A. Kuzmenkov · A. Vassilevski · T. Hucho 404
- Verteilung von regionaler Perfusion und Belüftung nach variabler Beatmung und maximalem Rekrutierungsmanöver am lungengeschädigten Schwein**  
J. Wittenstein · T. Bluth · T. Kiss · A. Braune · L. Vivona · R. Huhle · M. Scharffenberg · J. Kotzerke · T. Koch · M. Gama de Abreu 405
- Phosphodiesterase-4-Inhibition mit Rolipram reduziert die Extracorporeal Life Support (ECLS)-induzierte Gefäßpermeabilität und verbessert die Mikrozirkulation im extrakorporalen Reanimationsmodell der Ratte**  
J. Wollborn · S. Siemering · C. Steiger · H. Bürkle · U. Göbel · M.A. Schick 406

### TLR2-Defizienz (TLR2<sup>-/-</sup>) ist mit differentem Muster im zerebralen Glukose-Metabolismus im kardiopulmonalen Reanimationsmodell der Maus assoziiert

R. Bajorat<sup>1</sup> · S. Bergt<sup>1</sup> · J. Kurth<sup>2</sup> · J. Stenzel<sup>3</sup> · G. Nöldge-Schomburg<sup>1</sup> · B. Vollmar<sup>4</sup> · B.J. Krause<sup>2</sup> · T. Schürholz<sup>1</sup>

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie,
- 2 Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin,
- 3 Core Facility Multimodale Kleintierbildgebung,
- 4 Institut für Experimentelle Chirurgie, Universitätsmedizin Rostock

#### Korrespondenz:

rika.bajorat@med.uni-rostock.de

#### Fragestellung

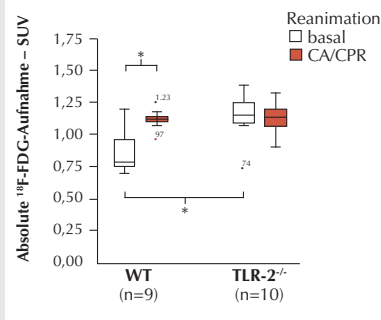
In einer Studie mit dem Reanimationsmodell konnte bereits gezeigt werden, dass sich sowohl Defizienz als auch eine funktionelle Blockade des TLR2 positiv auf das Überleben und die funktionell-neurologische Regeneration von Mäusen nach Herz-Kreislaufstillstand und kardiopulmonaler Reanimation auswirkt [1]. TLR werden neben den Zellen des Immunsystems auch auf den Neuronen des zentralen Nervensystems exprimiert, wo ihnen eine Rolle in der Regulation des Energiestoffwechsels zukommt [2]. Lassen sich mittels <sup>18</sup>F-FDG PET/CT-Messungen Unterschiede im zerebralen Glukosestoffwechsel basal und nach erfolgter Reanimation in WT- und TLR2<sup>-/-</sup>-Mäusen nachweisen?

#### Methodik

Die Untersuchungen wurden nach Genehmigung der lokalen Behörde LALLF (AZ: M-V/TDS/7221.3-1-068/15) an weiblichen WT-(C57BL/6J) und TLR2<sup>-/-</sup>-(B6.129-Tlr2<sup>tm1Klr/J</sup>)-Mäusen durchgeführt. Für die basalen PET-CT-Messungen wurden die Mäuse mit einer i.p.-Injektion narkotisiert, intubiert und während der Bildgebung mit dem Kleintier-PET-CT beatmet. Mit Beginn der i.v. Injektionen von <sup>18</sup>F-FDG (17,05±0,36 MBq) wurden Daten über je 60 min dynamisch akquiriert und

für die vorliegende Auswertung jeweils statische PET-Serien der letzten 15 min rekonstruiert. Nach einer Erholungsphase wurde bei den Mäusen entsprechend dem etablierten Reanimationsmodell ein Herz-Kreislauf-Stillstand (CA) induziert und nach 10 min wurde reanimiert (CPR) [1]. Anschließend (90 min nach CA) wurden auch bei diesen Mäusen im Kleintier-PET/CT das Glucose-Uptake über 60 min gemessen (<sup>18</sup>F-FDG: 16,27±0,43 MBq) und aus diesem Datensatz die letzten 15 min extrahiert. Für die Datenanalyse wurde der in der verwendeten pmod-Software (ver 3.7) implementierte Mirrione-Mouse-Brain-Atlas [3] mit den FDG-Hirn-PET fusioniert und der SUV<sub>mean</sub> definierter Hirnregionen bestimmt. Die Ergebnisse sind als MW±SEM bzw. als Median dargestellt. Unterschiede der Glukoseaufnahme wurden explorativ bewertet und auf Signifikanz (Wilcoxon-Test und Mann-Whitney-U-Test; statistische Signifikanz: P<0,05) mit p-Wert-Adjustierung nach Bonferroni-Holm zur Korrektur multipler Testung untersucht.

Abbildung 1



Glukoseaufnahme im Hirn (gesamt) bei gleicher <sup>18</sup>F-FDG-Menge zwischen basalem PET-CT und dem nach Reanimation. Betrachtet man die unterschiedlichen Reaktionsmuster zwischen den WT- und TLR2-defizienten Mäusen, liegt der Unterschied in einer erhöhten reanimationsbedingten Glukoseaufnahme bei den WT-Mäusen gegenüber einer unveränderten Glukoseaufnahme bei TLR2-defizienten Tieren nach Reanimation.

#### Ergebnisse

Der Glukose-Umsatz des Hirns der WT-Mäuse ist nach Reanimation signifikant höher als bei der basalen Messung (P<0,05; n=9), wohingegen der Glukose-Umsatz des Hirns der TLR2-defizienten Mäuse nach Reanimation keine Unterschiede im Vergleich zur basalen Messung zeigt (P=0,11; n=10; Abb.1). In Betrachtung einzelner Hirnregionen zeigte sich bei den WT-Mäusen ein signifikant erhöhter Glukose-Umsatz nach Reanimation für Cortex, Hippocampus und Hirnstamm. Der Unterschied im Striatum war nicht signifikant. Im Vergleich der WT- und TLR2-defizienten Mäuse bei den basalen PET/CT-Messungen zeigen die TLR2-defizienten Mäuse im Hirn und auch in den einzelnen Regionen eine signifikant höhere Glukose-Aufnahme (P-Werte <0,05).

#### Interpretation

Als Ausdruck einer Reanimations-getriggerten Inflamationsreaktion zeigen WT-Mäuse nach Reanimation einen signifikanten Anstieg der Glukose-Aufnahme im Hirn und auch in einzelnen Hirnregionen. Bei TLR2-defizienten Mäusen wurde eine solche Aktivitätszunahme nicht nachgewiesen. Dies unterstreicht die besondere Rolle des TLR2 in der zentralen Ischämie-Reperfusionreaktion nach einer Reanimation.

#### Literatur

1. Bergt S, Güter A, Grub A, Wagner NM, Betschany C, Langner S, et al: Impact of Toll-Like Receptor 2 deficiency on survival and neurological function after cardiac arrest: a murine model of cardiopulmonary resuscitation. PLOS ONE 2013;8(9):e74944
2. Tang SC, Arumugam TV, Mattson PM: Pivotal role for neuronal Toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits. PNAS 2007;104:13798–13803
3. Mirrione MM, Schiffer WK, Fowler JS, Alexoff DL, Dewey SL, Tsirka SE: A novel approach for imaging brain-behavior relationships in mice reveals unexpected metabolic patterns during seizures in the absence of tissue plasminogen activator. Neuroimage 2007;38(1):34–42.

### Der Natriumkanal Na<sub>v</sub>1.3 reguliert die Rekrutierung von Neutrophilen in vitro und in ischämischen Herz und Nierengewebe der Maus in vivo

N. Bühne<sup>1</sup> · M. Poffers<sup>1</sup> · C. Herzog<sup>1</sup> · F. Güler<sup>2</sup> · A. Thorenz<sup>2</sup> · R. Chen<sup>2</sup> · A. Hage<sup>1</sup> · A. Leffler<sup>1</sup> · F. Echtermeyer<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Klinik für Nieren- und Hochdruckerkrankungen, Medizinische Hochschule Hannover

#### Korrespondenz:

buehne.nathalie@mh-hannover.de

#### Fragestellung

Der spannungsabhängige Natriumkanal Na<sub>v</sub>1.3 ist ein TTX-sensitiver Kanal [1], der hauptsächlich in erregbaren Zellen [2] vorkommt. In den letzten Jahren haben wir erstmalig die Expression von Na<sub>v</sub>1.3 in polymorphkernigen Neutrophilen (PMNs) im ischämischen Mauserz sowie eine Rolle von Na<sub>v</sub>1.3 bei Adhäsion und Transmigration in vitro nachgewiesen. In diesem Projekt untersuchen wir, ob die Daten aus dem Mausprojekt auf den Menschen übertragbar sind und ob die antiinflammatorische Wirkung von Lidocain [3] über Na<sub>v</sub>1.3 übermittelt wird. Dafür wurde ein gewebsspezifischer Knock-out generiert, um im Detail die Folgen des Na<sub>v</sub>1.3-Verlustes bei Herz- und Nierenischämie mit Reperfusion und bei der Rekrutierung von PMNs untersuchen zu können.

#### Methodik

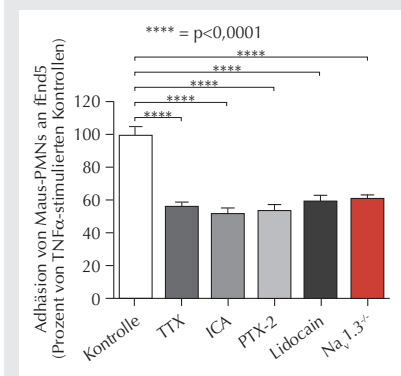
PMNs wurden aus menschlichem Vollblut und aus Knochenmark von Wildtyp- oder gewebsspezifischen Na<sub>v</sub>1.3 Knock-out-Mäusen isoliert, um die Rolle von Na<sub>v</sub>1.3 bei der Adhäsion unter statischen und unter Flussbedingungen an TNF $\alpha$ -stimulierten Endothelzellen (fEnd5 oder HUVEC), bei der Transmigration durch Collagen I und durch TNF $\alpha$ -stimulierte HUVEC sowie bei der Chemotaxis auf einen Gradienten hin zu bestimmen. Die Funktion von Na<sub>v</sub>1.3 wurde dabei mittels Blockade

mit Tetrodotoxin (TTX, 100 nM), ICA121431 (ICA, 1,0  $\mu$ M), Pterinotoxin-2 (PTX-2, 0,5  $\mu$ M), in Kombination mit Lidocain (100  $\mu$ M) und in Na<sub>v</sub>1.3<sup>-/-</sup> PMNs untersucht. Der Anteil Na<sub>v</sub>1.3-exprimierender PMNs in vivo wurde mittels FACS-Analyse aus ischämischem Nierengewebe (45 Minuten Ischämie mit 24 h Reperfusion) ermittelt. Die normalverteilten Daten wurden mit ANOVA und Bonferroni-Korrektur ausgewertet; sie sind als Mittelwert $\pm$ SD angegeben und p<0,05 wurde als Signifikanzniveau gewählt.

#### Ergebnisse

Analog zu ischämischen Mauserzen konnten Na<sub>v</sub>1.3-exprimierende PMNs in ischämischen Nieren nachgewiesen und deren Prozentsatz mittels Durchflusszytometrie bestimmt werden (12,7% der Zellen sind Na<sub>v</sub>1.3 positive Ly6G high PMNs und 19,3% der Zellen Ly6G low PMNs, die Na<sub>v</sub>1.3 exprimieren). In statischen Adhäsionsversuchen konnten wir nachweisen, dass die Adhäsion von PMNs der Maus an TNF $\alpha$ -stimulierte fEnd5 durch pharmakologische Blockade des Na<sub>v</sub>1.3 Kanals mit TTX (56 $\pm$ 9%), ICA (53 $\pm$ 10%), PTX-2 (55 $\pm$ 9%) und Lidocain (60 $\pm$ 9%) gleichermaßen reduziert wird wie bei Verwendung Na<sub>v</sub>1.3 defizienter PMNs (61 $\pm$ 3%) (Abb. 1). TTX vermindert in der Durchflusskammer die Na<sub>v</sub>1.3-abhängige Adhäsion von PMNs unter Scherstress von 25 $\pm$ 4 auf 10 $\pm$ 4 PMNs/Bildausschnitt (n=4, p<0,05). Zugabe pharmakologischer Inhibitoren zu fMLP reduzierte bei Chemotaxis die Euklidische Strecke von 72 $\pm$ 39  $\mu$ m in der Kontrolllösung signifikant (TTX 21 $\pm$ 29  $\mu$ m, ICA 18 $\pm$ 17  $\mu$ m, PTX-2 10 $\pm$ 9  $\mu$ m). Die Kombination von Lidocain mit TTX, ICA oder PTX-2 zeigte weder bei Adhäsion (Lidocain 60 $\pm$ 9%, Lidocain+TTX 58 $\pm$ 8%, +ICA 55 $\pm$ 7%, +PTX-2 59 $\pm$ 7%) noch bei Transmigration (Lidocain 54 $\pm$ 8%, Lidocain+TTX 55 $\pm$ 12%, +ICA 55 $\pm$ 11%, +PTX-2 59 $\pm$ 7%) additive Effekte. Die Übertragbarkeit der Na<sub>v</sub>1.3 Ergebnisse aus der Maus auf die Interaktion zwischen menschlichen PMNs mit aktivierten humanen Endothelzellen (HUVEC) zeigte sich durch signifikant reduzierte Na<sub>v</sub>1.3 abhängige

Abbildung 1



Die Anhaftung von Maus-PMNs an TNF $\alpha$ -aktivierte fEnd5-Zellen ist nach pharmakologischer Blockade von VGSC  $\alpha$ -Untereinheiten mit TTX, ICA121431, PTX-2, Lidocain und in Mäusen mit gewebespezifischem Knock-Out von Na<sub>v</sub>1.3 signifikant reduziert.

Adhäsion (TTX 54 $\pm$ 11%, ICA 50 $\pm$ 16%, PTX-2 50 $\pm$ 14%) und gerichtete Transmigration (TTX 63 $\pm$ 12%, ICA 66 $\pm$ 18%, PTX 65 $\pm$ 18%, Lidocain 54 $\pm$ 8%).

#### Interpretation

Natriumkanäle wie Na<sub>v</sub>1.3 besitzen wichtige Funktionen im Rekrutierungsprozess von PMNs in ischämischen Gewebe und könnten die antiinflammatorische Wirkung von Lidocain vermitteln.

#### Literatur

1. Yu FH, Catterall WA: Overview of the voltage-gated sodium channel family. *Genome Biology* 2003;4 (3):207
2. Lee-Kwon W, Goo JH, Zhang Z, Silldorff EP, Pallone TL: Vasa recta voltage-gated Na<sup>+</sup> channel Na<sub>v</sub>1.3 is regulated by calmodulin. *American journal of physiology. Renal physiology* 2007;292:F404-414
3. MacGregor RR, Thorner RE, Wright DM: Lidocaine inhibits granulocyte adherence and prevents granulocyte delivery to inflammatory sites. *Blood* 1980;56:203-209.





### Tierexperimentelle Evaluation der elektrischen Impedanztomographie zur Messung der relativen Lungenperfusion

T. Bluth<sup>1</sup> · T. Kiss<sup>1</sup> · M. Kircher<sup>2</sup> · A. Braune<sup>1</sup> · R. Huhle<sup>1</sup> · M. Scharffenberg<sup>1</sup> · T. Koch<sup>1</sup> · J. Kotzerke<sup>3</sup> · C. Bozsak<sup>4</sup> · B. Stender<sup>1</sup> · M. Gama de Abreu<sup>1</sup>

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

2 Institut für Biomedizinische Technik, Karlsruher Institut für Technologie – KIT, Karlsruhe

3 Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Universitätsklinikum Dresden

4 Drägerwerk AG & Co KGaA, Lübeck

**Korrespondenz:** thomas.bluth@ukdd.de

#### Fragestellung

Die elektrische Impedanztomographie (EIT) des Thorax kann bettseitig zur Überwachung der Ventilation eingesetzt werden, besitzt aber auch das Potential, die Perfusion darzustellen. Wir untersuchten die Lungenperfusion mittels EIT und Kochsalz-(NaCl)-basierter Indikator-dilutionstechnik sowie Positronen-Emissionstomographie (PET) unter verschiedenen Ventilations-/Perfusionsbedingungen am Schwein. Wir stellten die Hypothese auf, dass beide Methoden die relative regionale Perfusion übereinstimmend darstellen können.

#### Methodik

Nach Genehmigung (DD24-5131/354/64) wurden in dieser explorativen Studie 13 analgosedierte Hausschweine (50-60 kg) mechanisch beatmet und die folgenden Ventilations-/Perfusionszustände generiert: 1) rechtsseitige Ein-Lungen-Ventilation und linksseitiger Kollaps, 2) Zwei-Lungen-Ventilation mit optimiertem positiv end-expiratorischem Druck (PEEP); 3) Zwei-Lungen-Ventilation ohne PEEP nach pulmonaler Lavage mit isotoner NaCl-Lösung; 4) Zwei-Lungen-Ventilation mit maximalem PEEP; 5) Zwei-Lungen-Ventilation unter einseitigem Verschluss der Pulmonalarterie. In jedem Zustand erfolgte die Messung eines Surrogats der relativen Lungenperfusion durch Aufzeichnung der thorakalen Impedanzänderung ( $\Delta z$ ) unter zentralvenöser Injektion von jeweils 10 mL 3%, 5% und 10% NaCl-Lösung. Hierzu wurde die Atmung bei mittlerem Atemwegsdruck angehalten. Zusätzlich wurde die relative Perfusion nach Gabe <sup>68</sup>Gallium-markierter Mikrosphären mittels PET bestimmt. Nach entsprechender

Rekonstruktion wurden die EIT- und PET-Aufnahmen in acht isometrische Lungenregionen (rechts – links; ventral – medioventral – mediodorsal – dorsal) unterteilt und mit Hilfe der Bland-Altman-Analyse hinsichtlich deren Messgenauigkeit verglichen. Von einer Übereinstimmung zwischen den Methoden wurde ausgegangen, wenn 95% der Differenzen der regionalen Perfusion innerhalb von 10% lagen (Limit of Agreement – LoA). Sekundär untersuchten wir die Güte der EIT, die Richtung einer Perfusionsänderung (Zunahme/Abnahme) zwischen ausgewählten Perfusionszuständen im Vergleich zur PET vorherzusagen.

#### Ergebnisse

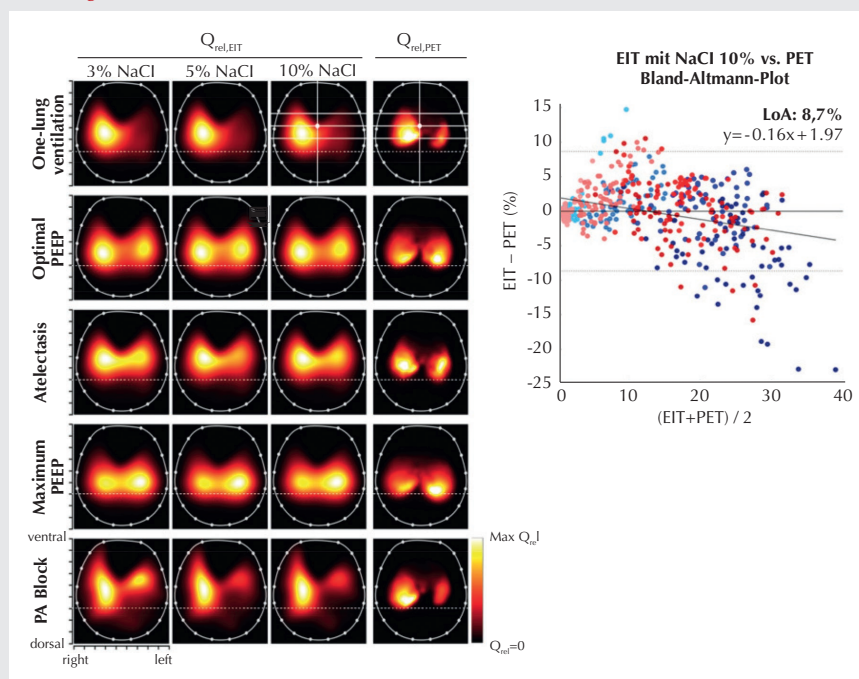
Für jede NaCl-Konzentration wurden 504 Datenpaare aus EIT und PET analysiert. Die Unterschiede zwischen beiden Verfahren waren gering (LoA 8,7%, 8,9% und 9,5%, bzw. root mean squared error 4,4%, 4,5% und 5,7% für 10%, 5% und 3% Kochsalzlösung; Abb. 1). Im Vergleich zu PET wurde die vom EIT gemessene relative Perfusion in ab-

hängigen Lungenregionen unterschätzt und in nicht abhängigen Regionen überschätzt. Wurden die Veränderungen der regionalen Perfusion zwischen zwei Zuständen untersucht, waren EIT mit 10% NaCl und PET in 69–96% (im Mittel 84%) der Fälle in der Lage, die Richtung einer Perfusionsänderung reproduzierbar wiederzugeben. Eine niedrigere NaCl-Konzentration reduzierte diese Reproduzierbarkeit minimal (71–93% bzw. 66–96% für NaCl 5% bzw. 3%).

#### Interpretation

Unter verschiedenen Ventilations-/Perfusionszuständen im Schwein können die indikatorbasierte EIT mit NaCl-Konzentrationen von 3% bis 10% und PET die regionale Perfusion der Lungen innerhalb der a priori definierten Genauigkeit übereinstimmend messen. Dies deutet darauf hin, dass beide Methoden austauschbar eingesetzt werden können. Weitere Studien sind notwendig, um die definitive Rolle der indikatorbasierten EIT zur Messung der pulmonalen Perfusion in der klinischen Praxis zu bestimmen.

Abbildung 1



**Links:** Aufnahmen der Lungenperfusion (Q<sub>rel</sub>) mittels EIT und verschiedener NaCl-Konzentration sowie PET unter verschiedenen Perfusionsbedingungen.

**Rechts:** Bland-Altman-Plot und Regressionsgerade der EIT mit NaCl 10% und PET, alle Regionen und Perfusionszustände (blau/rot = rechte/linke Lunge; helle/dunkle Datenpunkte = ventral/dorsal).

### Einfluss von Propofol auf die Freisetzung humoraler Faktoren nach ischämischer Fern-Präkonditionierung in der Ratte

S. Bunte<sup>1</sup> · F. Behnenburg<sup>1</sup> · M. Ströthoff<sup>1</sup> · A. Heinen<sup>2</sup> · M.W. Hollmann<sup>3</sup> · R. Huhn<sup>1</sup>

1 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

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

3 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Amsterdam, Niederlande

#### Korrespondenz:

Sebastian.Bunte@med.uni-duesseldorf.de

#### Fragestellung

Ischämische Präkonditionierung (IPC) führt zu einer deutlichen Reduktion des Ischämie-/Reperfusionsschadens des Herzens [1]. Die ischämische Fernpräkonditionierung (Remote Ischemic Preconditioning, RIPC) ist im klinischen Umfeld weitaus praktikabler, jedoch konnte in aktuellen klinischen Multicenter-Studien kein Nutzen nachgewiesen werden (z.B. [2]). Eigene experimentelle Daten zeigten eine Blockade der RIPC unter Propofol-anästhesie [3]. In dieser Studie untersuchten wir deshalb zunächst die Hypothese, 1) dass eine Anästhesie mit Propofol und Remifentanyl im Gegensatz zu einer Anästhesie mit Sevofluran und Remifentanyl oder einer tierexperimentell eingesetzten Narkose mit Pentobarbital einen negativen Einfluss auf die Kardioprotektion durch IPC hat. Basierend auf den Ergebnissen dieses ersten Teils und eigenen Vordaten aus [3] untersuchten wir, 2) ob bei RIPC unter Propofolanästhesie die Freisetzung humoraler Faktoren und/oder der protektive Effekt direkt am Herzen blockiert wird.

#### Methodik

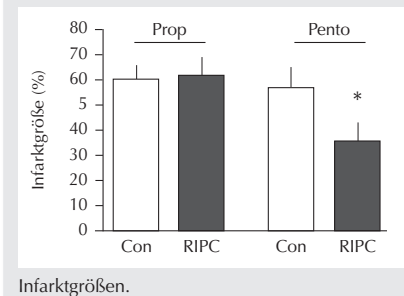
Die Versuche wurden mit Genehmigung der zuständigen Behörde (Aktenzeichen 84-02.04.2013.A279) oder des Tierschutzbeauftragten (O 27/12) an männlichen Wistar-Ratten (2 bis 3 Monate alt) durchgeführt. Für die erste Versuchsserie wurden die Tiere (276±13 g) einmalig intraperitoneal mit Pentobarbital (80 mg/kg) narkotisiert, kontrolliert beatmet und für eine kontinuierliche arterielle Blutdruckmessung und Medikamentengabe instrumentiert. Nach Minithorakotomie wurde

ein Hauptast der linken Koronararterie für 25 min okkludiert und danach das zuvor ischämische Areal für 2 h reperfundiert. Die Tiere wurden in 6 Gruppen (je n=6 pro Gruppe) randomisiert. Die Kontrolltiere (Con) erhielten neben Ischämie und Reperfusion keine weitere Behandlung. Die ischämische Präkonditionierung erfolgte durch 3x5-minütige myokardiale Ischämie mit Reperfusion (IPC). Die Tiere (jeweils Con und IPC) erhielten entweder eine Mononarkose mit Pentobarbital (Pento, 40 mg/kg/h) oder eine balancierte Anästhesie mit Sevofluran (Sevo, 1 MAC) oder Propofol (Prop, 12 mg/kg/h), jeweils kombiniert mit Remifentanyl (0,5 µg/kg/min). In der zweiten Versuchsserie wurde bei den Tieren in vivo (6 Gruppen, je n=6 pro Gruppe) nach einer 4x5 minütigen Hinterlaufischämie (RIPC) und ohne RIPC (Con) Blutplasma gewonnen. Hierbei erhielten die Tiere (291±16 g) entweder eine kontinuierliche Narkose mit Pentobarbital (Pento, 40 mg/kg/h) oder Propofol (Prop, 12 mg/kg/h). Die Untersuchung der kardioprotektiven Potenz des Blutplasmas wurde in vitro (Langendorff-Präparation) an Herzen, perfundiert mit Krebs-Henseleit-Puffer alleine (KHP) oder mit Zusatz von Propofol (10 µM), durchgeführt. Das Blutplasma wurde über zehn Minuten vor der infarktinduzierenden Ischämie appliziert. Die Herzen unterliefen eine 33-minütige Globalischämie, gefolgt von 1 h Reperfusion. Am Versuchsende wurde die Infarktgröße mittels Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung bestimmt (6 Gruppen, je n=6 pro Gruppe). Statistik: Mittelwerte±Standardabweichung, Varianzanalyse und Tukey-post-hoc-Test, p<0,05.

#### Ergebnisse

1. Serie: IPC induzierte eine signifikante Kardioprotektion unter allen drei untersuchten Anästhesieregimes (Pento-IPC: 19±5%, Sevo-IPC: 17±6%, Prop-IPC: 17±8%; jeweils P<0,0001 vs. Pento-Con: 58±7%, Sevo-Con: 62±5%, Prop-Con: 59±8%). 2. Serie: RIPC-Plasma aus Pentobarbital-anästhesierten Ratten (Pento-RIPC) reduzierte die Infarktgröße von 65±5% (Pento-Con) auf 35±5% am Langendorff-Herz unter KHP-Perfusion (P<0,0001). Das Kontrollplasma aus Propofol-anästhesierten Ratten zeigte am Langendorff-Herz eine Infarktgröße von 61±5% (Prop-Con). Die Infarktgröße konnte durch RIPC-Plasma nicht reduziert werden (Prop-RIPC 62±7%;

Abbildung 1



nicht signifikant vs. Prop-Con) (Abb. 1). Dagegen induzierte RIPC-Plasma aus Pentobarbital-anästhesierten Ratten am Propofol-perfundierten Langendorff-Herz eine signifikante Infarktgrößenreduktion (Pento-RIPC: 35±7% vs. Pento-Con: 57±7%; P<0,0001).

#### Interpretation

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass: 1) Kardioprotektion durch IPC im Gegensatz zu RIPC nicht durch eine Anästhesie mit Propofol und Remifentanyl beeinflusst wird, 2) die Abschwächung der Kardioprotektion durch RIPC unter Propofolanästhesie auf eine reduzierte Freisetzung humoraler Faktoren oder eine Blockade auf dem Weg der Vermittlung des protektiven Effekts zurückzuführen ist. Diese Blockade muss an einem Punkt vor der Transduktion der Protektion am Myokard stattfinden, da unsere Ergebnisse zeigen, dass es keinen blockierenden Effekt von Propofol direkt am Herzen zu geben scheint, wenn nachweislich protektive Faktoren vorhanden sind.

#### Literatur

1. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. 1986 Nov;74(5):1124-1136
2. 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):1397-1407
3. Behnenburg F, van Caster P, Bunte S, Brandenburger T, Heinen A, Hollmann MW, et al: Impact of Anesthetic Regimen on Remote Ischemic Preconditioning in the Rat Heart In Vivo. Anesth Analg 2018;126(4):1377-1380.



### Pharmakokinetik und Pharmakodynamik des kurzwirksamen Benzodiazepins Remimazolam – eine Phase-I-Studie an männlichen Probanden

A. Eisenried · H. Ihmsen · M. Lerch · J. Schüttler

Anästhesiologische Klinik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

#### Korrespondenz:

andreas.eisenried@kfa.imed.uni-erlangen.de

#### Fragestellung

Remimazolam (CNS7056) ist ein neues Benzodiazepin mit einer hohen organunabhängigen Metabolisierung durch unspezifische Gewebsesterasen. Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Remimazolam sind bisher nur nach Bolusgabe beschrieben worden [1]. Wir haben die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Remimazolam bei kontinuierlicher intravenöser Infusion untersucht.

#### Methodik

Nach Zustimmung der Ethikkommission, schriftlicher Aufklärung und Einverständniserklärung erhielten 20 männliche Probanden (64–99 kg, 20–38 J.) Remimazolam (PAION AG, Deutschland) als kontinuierliche intravenöse Infusion mit 5 mg/min in den ersten 5 min, 3 mg/min in den folgenden 15 min und 1 mg/min in den anschließenden 15 min. Arterielle Plasmakonzentrationen wurden bis 6 h nach Infusionsende gemessen und daraus mittels Populationsanalyse (NONMEM) ein pharmakokinetisches Modell bestimmt. Die Sedierungstiefe wurde alle 2 min anhand der

Modified Observer's Assessment of Alertness and Sedation Scale (MOAA/S) mit Werten zwischen 0 (keine Reaktion auf schmerzhaften Reiz des M. trapezius) und 5 (prompte Reaktion auf normale Ansprache) erfasst. Ebenso wurde die Zeit von Infusionsende bis Wiedererlangen der Orientierung zu Person, Ort und Zeit bestimmt. Das spontane EEG wurde mittels eines Narcotrend®-Monitors abgeleitet und der EEG-Effekt von Remimazolam anhand des Narcotrend Index (NCT) quantifiziert. Für die pharmakodynamische Modellbildung wurden sigmoide Wahrscheinlichkeits-Funktionen (MOAA/S) sowie sigmoide  $E_{\max}$ -Modelle (NCT) unter Annahme eines Effektkompartiments als Ort der Wirkung verwendet. Blutdruck und Herzfrequenz wurden kontinuierlich überwacht. Alle Daten sind als  $MW \pm SD$  angegeben.

#### Ergebnisse

Während der Infusion wurden Plasmakonzentrationen bis zu 2,4 µg/ml erzielt (Abb. 1A). Die Pharmakokinetik von Remimazolam wurde am besten durch ein Drei-Kompartiment-Modell beschrieben. Remimazolam zeigte eine hohe Clearance ( $69,1 \pm 7,4$  L/h), ein kleines Gesamtverteilungsvolumen ( $34,6 \pm 4,5$  L) sowie eine kurze Eliminationshalbwertszeit ( $61,8 \pm 10,9$  min). Die simulierte Zeit für einen 50%igen Konzentrationsabfall nach 4-stündiger Infusion (kontextsensitive Halbwertszeit) betrug  $6,8 \pm 2,4$  min. Bewusstseinsverlust wurde  $4,6 \pm 1,1$  min nach Infusionsstart beobachtet. Die Probanden waren  $19 \pm 6$  min nach Infusionsende wieder vollständig orientiert. Für einen MOAA/S-Wert=0 ergab die pharmakodynamische Modellbildung eine  $EC_{50}$  von  $1,6 \pm 0,8$  µg/ml (Abb. 1B) und eine Halb-

wertszeit von  $2,7 \pm 0,8$  min für die Äquilibration zwischen zentralem und Effektkompartiment. Der NCT fiel von initial  $95 \pm 5$  zunächst auf  $75 \pm 7$  nach 15 min und erreichte ein Minimum von  $51 \pm 15$  zwei Minuten nach Ende der Infusion. Dieser Verlauf konnte durch ein erweitertes Modell mit zwei sigmoiden Termen (Abb. 1C) und zwei Effekt-Äquilibrations-Halbwertszeiten ( $2,4 \pm 1,8$  bzw.  $36,6 \pm 15,3$  min) beschrieben werden. Der arterielle Mitteldruck fiel während der Infusion um maximal  $24 \pm 6\%$ , die Herzfrequenz stieg um maximal  $28 \pm 15\%$ . Die Spontanatmung blieb während des gesamten Untersuchungszeitraums erhalten.

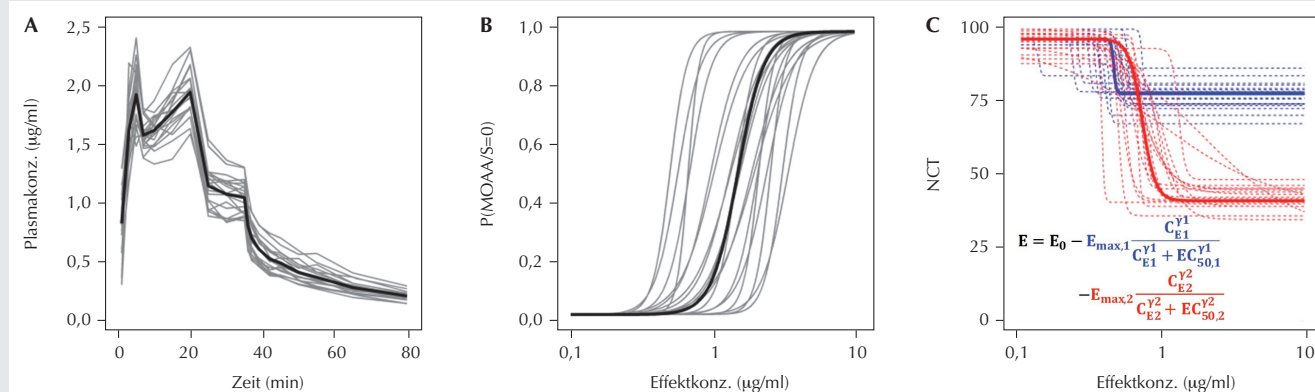
#### Interpretation

Remimazolam zeigte ein vorteilhaftes pharmakokinetisch-dynamisches Profil mit einer guten Steuerbarkeit, vor allem im Vergleich zu Midazolam [2], und entsprechend raschem Wirkungseintritt und schneller Erholung. Die hämodynamischen Nebenwirkungen waren moderat. Die EEG-Befunde sollten in weiteren Studien untersucht und charakterisiert werden.

#### Literatur

1. Wiltshire HR, et al: A placebo- and midazolam-controlled phase I single ascending-dose study evaluating the safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of remimazolam (CNS 7056): Part II. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling and simulation. *Anesth Analg* 2012;115:284–296
2. Albrecht S, et al: The effect of age on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of midazolam. *Clin Pharmacol Ther* 1999;65:630–639.

Abbildung 1



Plasmakonzentrationen von Remimazolam (A), Wahrscheinlichkeit für einen Sedierungsgrad mit MOAA/S=0 (B) und Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen für den NCT (C). Die individuellen Daten sind als dünne Linien, die gemittelten als dicke Linien dargestellt.

### Sphingosin-1-Phosphat induziert antiinflammatorische Effekte in vitro und in vivo durch potente Hemmung des Enzyms 5-Lipoxygenase

J. Fettel<sup>1</sup> · B. Kühn<sup>1</sup> · M. Peters<sup>2</sup> · C. Angioni<sup>3</sup> · G. Geisslinger<sup>3</sup> · K. Zacharowski<sup>4</sup> · P. Meybohm<sup>4</sup> · D. Steinhilber<sup>1</sup> · J. Roos<sup>4</sup> · T.J. Maier<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institut für Pharmazeutische Chemie,

Goethe-Universität Frankfurt/Main

<sup>2</sup> Institut für Experimentelle Pneumologie, Ruhr Universität Bochum

<sup>3</sup> Pharmazentrum Frankfurt/ZAFES, Institut für Klinische Pharmakologie, Goethe-Universität Frankfurt/Main

<sup>4</sup> Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Frankfurt

**Korrespondenz:** ThorstenJuergen.Maier@kgu.de

#### Fragestellung

Sphingosin-1-Phosphat (S1P) ist ein bedeutender Lipid-Mediator zahlreicher pathophysiologischer Prozesse. Hierzu zählen die Zirkulation und Migration von Immunzellen und die Immunzell-Proliferation. Veränderungen des S1P-Signalings werden mit entzündlichen Erkrankungen, der Tumorentstehung und arteriosklerotischen Prozessen in Verbindung gebracht [1]. Für S1P wurden jüngst auch antiinflammatorische Effekte mit Hemmung der Migration von neutrophilen Granulozyten in entzündetes Gewebe beschrieben [2], die jedoch mechanistisch unklar sind. Da Leukotriene die am stärksten wirksamen chemotaktischen Mediatoren der Immunzell-Migration darstellen, wurde der Effekt von S1P auf die Aktivität des Schlüsselenzyms der Leukotrien-Biosynthese, der 5-Lipoxygenase (5-LO), untersucht.

#### Methodik

Der Effekt von S1P auf die Aktivität der 5-LO wurde 1) unter Verwendung von aus humanem Vollblut gesunder Spender isolierten neutrophilen Granulozyten und 2) im etablierten Maus-Modell (Abb. 1A) der Lipopolysaccharid (LPS)-induzierten Lungen-Inflammation untersucht [3]. Die 5-LO-Produktbildung in Granulozyten wurde durch Behandlung mit einem Calcium-Ionophor unter Zusatz von Substrat und in Mäusen durch intranasale Gabe von LPS stimuliert. Die Analytik der 5-LO-Produkte erfolgte in zellulären Assays mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), in Plasma und bronchio-alveolärer Lavage (BAL) von Mäusen mittels Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC/MS-MS). Statistik: Mittelwert und 95%-Konfidenzintervall (KI); One-way-ANOVA mit Bonferroni-post-hoc-Test.

#### Ergebnisse

Wir konnten erstmals zeigen, dass die 5-LO-Produktbildung in humanen neutrophilen Granulozyten durch S1P mit einem physiologisch relevanten IC<sub>50</sub>-Wert von 1,5 µM (95%-KI: 0,8-2,9 µM, p<0,001; n=4) potent und irreversibel gehemmt wird. In neutrophilen Granulozyten führte die Behandlung mit S1P zu einer Erhöhung des intrazellulären Calciumspiegels, einer perinuklearen Translokation und schlussendlich einer irreversiblen oxidativen Suizidaktivierung der 5-LO. In Mäusen führte die intranasale Administration von LPS zu einer Leukotrien-abhängigen pulmonalen Inflammation mit Bildung von

Exsudaten und Infiltration von Makrophagen in das Lungengewebe sowie einer erhöhten, 5-LO-abhängigen Bildung von Leukotrienen. Die intraperitoneale Gabe von 2 mg/kg S1P führte sowohl zu einer Verringerung der Makrophagen-Infiltration in das Lungengewebe (Abb. 1B) als auch zu einer signifikanten Hemmung der LPS-induzierten Bildung des Hauptprodukts der 5-LO (5-HETE) im Serum um 65% und annähernd vollständigen Hemmung der Induktion von 5-HETE in der BAL (Abb. 1C und D).

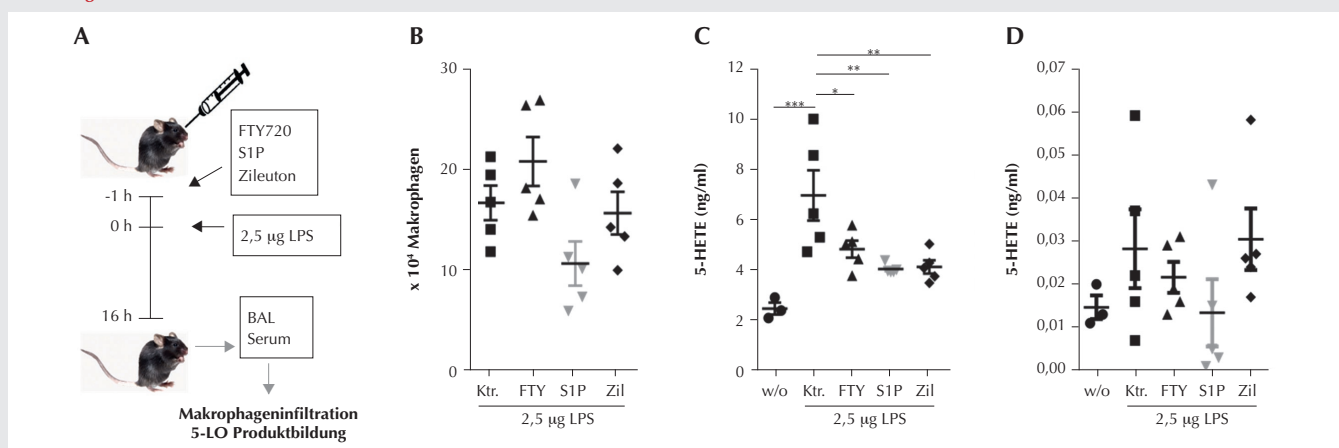
#### Interpretation

Die Studie liefert einen bedeutenden Ansatz zur Erklärung zahlreicher (patho)physiologischer Effekte von S1P in vitro und in vivo. S1P induziert einen Mechanismus, der zu einer effizienten Hemmung der zellulären 5-LO-Aktivität in Immunzellen führt. Aus der Studie könnten sich somit auch neuartige pharmakologische Strategien zur Hemmung der Leukotrien-Biosynthese über S1P-Mimetika ergeben.

#### Literatur

1. Kunkel GT, et al: Targeting the sphingosine-1-phosphate axis in cancer, inflammation and beyond. *Nat Rev Drug Discov* 2013;12:688–702
2. Allende ML, et al: Sphingosine-1-phosphate Lyase Deficiency Produces a Pro-inflammatory Response While Impairing Neutrophil Trafficking. *J Biol Chem* 2011;286:7348–7358
3. Roos J, et al: Drug-Mediated Intracellular Donation of Nitric Oxide Potently Inhibits 5-Lipoxygenase: A Possible Key to Future Antileukotriene Therapy. *Antioxid Redox Signal* 2018;28(4):1265-1285 DOI: 1089/ars.2017.7155.

Abbildung 1



**Effekt von S1P auf die LPS-induzierte pulmonale Inflammation in Mäusen.** A: Schema des Mausmodells der akuten Lungen-Inflammation. Eine Stunde vor intranasaler Gabe von LPS (2,5 µg) wurden die Mäuse intraperitoneal mit FTY720 (10 mg/kg), S1P (2 mg/kg), Zileuton (Zil; 50 mg/kg) oder Vehikel (Ktr.) behandelt. Nach 16 Stunden wurde die BAL sowie das Serum der Mäuse auf 5-HETE Bildung hin analysiert und die Makrophageninfiltration untersucht. B: Infiltrierten Makrophagen in der BAL. C/D: 5-HETE Bildung im (C) Serum und (D) der BAL. Statistik: Mittelwert±SEM (Standardfehler), unbehandelte Gruppe (w/o), n=3; behandelte Gruppen (LPS, LPS + FTY, LPS + S1P, LPS + Zil), n=5. One-way-ANOVA mit Bonferroni-post-hoc-Test versus LPS (Ktr.) (\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001).

### Amisulprid zur Therapie von postoperativer Übelkeit und postoperativem Erbrechen nach perioperativer antiemetischer Prophylaxe bei Hochrisikopatienten

A. Helf<sup>1</sup> · Y. Jelling<sup>1</sup> · A.S. Habib<sup>6</sup> · G. Fox<sup>2</sup> · L. Eberhart<sup>3</sup> · P. Diemunsch<sup>4</sup> · J. Motsch<sup>5</sup> · S. Weibel<sup>1</sup> · M. Kredel<sup>1</sup> · P. Kranke<sup>1</sup>  
für die DP10019 Studiengruppe

- 1 Universitätsklinikum Würzburg
- 2 Acacia Pharma Ltd. Cambridge, UK (Sponsor)
- 3 Universitätsklinikum Marburg
- 4 Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Frankreich
- 5 Universitätsklinikum Heidelberg
- 6 Duke University Medical Center Durham, USA

**Korrespondenz:** helf\_a@ukw.de

#### Fragestellung

Die Therapiemöglichkeiten beim Auftreten von PONV sind limitiert, wenn die etablierten und zugelassenen Substanzen bereits zur Prophylaxe von PONV appliziert wurden. In diesem Fall sollten sie bei Auftreten von PONV im Aufwachraum nicht neuerlich zur Therapie eingesetzt werden. Für Amisulprid, einem Dopaminantagonisten mit gutem Verträglichkeitsprofil, konnte die Wirksamkeit als Mono- und Kombinationsprophylaxe sowie im Rahmen der Therapie ohne stattgehabte Prophylaxe bereits gezeigt werden [1–3]. Das Ziel dieser Studie bestand darin, die Wirksamkeit und das Nebenwirkungsprofil von Amisulprid zur Therapie von PONV nach bereits erfolgter (unwirksamer) Prophylaxe bei Hochrisikopatienten im Rahmen einer Phase III-Studie zu evaluieren.

#### Methodik

Nach Erhalt eines positiven Ethikvotums wurden Patienten, die sich einem chirurgischen Eingriff (Anästhesiedauer  $\geq 1$  Stunde) in Allge-

meinanästhesie mit volatilem Anästhetikum unterzogen und ein moderates bis hohes Risiko für PONV (weibliches Geschlecht, Nichtraucher-Status, PONV nach früheren Narkosen/Reisekrankheit, erwartete postoperative Opioid-Gabe) aufwiesen, nach Aufklärung über die Studie und bei Vorliegen des schriftlich dokumentierten Einverständnisses in die Studie eingeschlossen. Die Randomisierung wurde mit verborgener Zuordnung durchgeführt. Intraoperativ wurde eine standardisierte PONV-Prophylaxe risikobasiert durchgeführt (Serotoninantagonist bzw. Dexamethason). Nach dem Auftreten einer PONV-Episode (Erbrechen und/oder Patientenwunsch bei Übelkeit) nach der Narkose erhielten die Studienteilnehmer entweder 5 mg oder 10 mg Amisulprid in jeweils 4 ml Lösung oder das gleiche Volumen eines Placebos über 2 Minuten intravenös verabreicht, wobei die Anwendung des Prüfmedikamentes doppelverblindet erfolgte. Der primäre Endpunkt war erreicht, wenn innerhalb von 30 Minuten bis 24 Stunden nach Verabreichung der Studienmedikation kein Erbrechen oder Würgen aufgetreten ist und keine Gabe einer weiteren antiemetisch wirkenden Medikation (Rescue-Medikation) erforderlich war. Als sekundäre Endpunkte waren unter anderem die Verwendung von Rescue-Medikation sowie das Auftreten von Übelkeit definiert. Eine Studienregistrierung erfolgte unter ClinicalTrials.gov (NCT02646566).

#### Ergebnisse

Von März 2016 bis Januar 2017 wurden an 23 Zentren in Deutschland, Frankreich, den USA und Kanada 2.285 Patienten eingeschlossen, von denen 705 randomisiert und 702 (mITT = modified intention-to-treat) für den primären Endpunkt analysiert werden konnten. Diesen erreichten 41,7% der Patienten (95%-Konfidenzintervall [KI] 35,4–48,1%,  $p=0,003$ ) in der 10 mg Amisulpridgruppe gegenüber 28,5% der Patienten in der Place-

bogruppe (95% KI 22,7–34,3%) und 33,8% der Patienten in der 5 mg Amisulpridgruppe (95% KI 27,7–39,8%,  $p=0,109$ ). Die Zeitspanne bis zum Therapieversagen war in der Amisulpridgruppe 10 mg signifikant länger als in der Placebogruppe (Hazard ratio 0,63 (95% KI 0,5–0,8;  $p\leq 0,001$ )). Eine Rescue-Medikation innerhalb von 24 h wurde bei 155 Patienten in der Amisulprid 5 mg Gruppe (65,4%; 95% KI 59,3–71,5,  $p=0,179$ ), 127 Patienten in der Amisulprid 10 mg Gruppe (55,2%; 95% KI 48,8–61,6,  $p=0,001$ ) und 163 Patienten in der Placebogruppe (69,4%; 95% KI 63,5–75,3) gegeben. In beiden Dosierungen wurden weniger Nebenwirkungen von Amisulprid beobachtet als in der Placebogruppe.

#### Interpretation

Aufgrund der vorliegenden Daten erscheint Amisulprid als wirksame neue antiemetische Substanz zur Therapie von PONV-Episoden bei Hochrisikopatienten nach bereits stattgehabter, aber nicht hinreichend wirksamer antiemetischer Prophylaxe.

#### Literatur

1. Gan T, Kranke P, Minkowitz H, Bergese S, Motsch J, Eberhart L, et al: Intravenous Amisulpride for the Prevention of Postoperative Nausea and Vomiting: Two Concurrent, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trials. *Anesthesiology* 2017;126(2):268–275
2. 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):938–945
3. Candiotti KA, Kranke P, Bergese S, Melson TI, Motsch J, Siddiqui N, et al: Randomized, double-blind, placebo-controlled study of IV amisulpride as treatment of established post-operative nausea and vomiting (PONV), in patients who have had no prior prophylaxis, Anesth Analg (zur Publikation eingereicht).

### MicroRNA-143 und -150 ermöglichen im Vollblut die Detektion einer septischen Immunparalyse

S. Hirschberger<sup>1,2</sup> · P. Möhnle<sup>1</sup> · L.C. Hinske<sup>1</sup> · J. Briegel<sup>1</sup> · S. Weis<sup>3</sup> · M. Bauer<sup>3</sup> · E.J. Giamarellos-Bourboulis<sup>4</sup> · S. Kretz<sup>1,2</sup>

1 Klinik für Anaesthesiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München

2 Walter-Brendel-Zentrum für Experimentelle Medizin, Ludwig-Maximilians-Universität München

3 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Klinikum der Universität Jena

4 IV. Medizinische Klinik, ATTIKON Universitätsklinik, Athen, Griechenland

#### Korrespondenz:

simon.hirschberger@med.uni-muenchen.de

#### Fragestellung

Das sequentielle Modell des Ablaufs immunologischer Prozesse im Krankheitsverlauf einer Sepsis – bestehend aus früher Hyperinflammation und konsekutiver Immunsuppression – ist dem Bild einer komplexen Immundysfunktion gewichen: Durch Zellen der angeborenen Immunität verursachte hyperinflammatorische Phasen und durch das adaptive Immunsystem bedingte immunparalytische Episoden können jederzeit abwechseln oder auch simultan auftreten [1,2]. Die Immunsuppression wird derzeit als führender Mortalitätsfaktor der Sepsis angesehen [3]. Bislang existieren keine klinisch einsetzbaren Biomarker zur Diagnose dieser primär T-Zell-vermittelten Immunparalyse, was gezielte therapeutische Interventionen erschwert. Wir untersuchten erstmals die Eignung von microRNAs (miRNAs) zur Detektion der Immunsuppression in der Sepsis.

#### Methodik

Aus T-Zellen septischer Patienten (n=31) und gesunder Probanden wurde RNA extrahiert. In einem zweiten Patienten-/Kontrollkollektiv wurde RNA aus Vollblut mittels PAXgene (Qiagen) gewonnen (n=20). Alle Patienten erfüllten die Sepsis-3-Kriterien. Die miRNA-Expression wurde durch Microarray-Technik untersucht (n=7) und für stark differenziell exprimierte miRNAs zusätzlich mittels spezifischer TaqMan Assays validiert. Durch qPCR wurde die Expression von klassischen T-Zell-Zytokinen und Immunrezeptoren ermittelt. Die statistischen Analysen (Kolmogorov-Smirnov-/Student's-t-/Mann-Whitney-U-Test) erfolgten mittels GraphPad Prism 5.01, die bioinformatische Auswertung (ROC-/ AUC-Analysen) mittels R 3.2.4.

#### Ergebnisse

Die miRNA- und Zytokinexpressionsmuster von T-Zellen septischer Patienten zeigten Merkmale der schweren Immunparalyse: Die pro-

inflammatorischen miR-150 und -342 waren supprimiert, wohingegen die antiinflammatorischen miR-15a, -16, -93, -143, -155, -223 und -451a verstärkt exprimiert wurden ( $p < 0,05$ ). Zudem konnte eine Repression von IL2, IL7R und „inducible T-cell costimulator“ (ICOS) bei gleichzeitiger Induktion von IL4, IL10 und TGF- $\beta$  gefunden werden ( $p < 0,05$ ). Das Ausmaß der Immunparalyse war individuell unterschiedlich. ROC-Analysen zeigten für miR-143, -150 und -223 AUC-Werte zwischen 0.8 und 1.0; die Expression dieser drei miRNAs korrelierte signifikant mit den Markern der T-Zell-Immunsuppression IL7R und ICOS ( $p < 0,05$ ) sowie dem SOFA-Score ( $p < 0,01$ ). Für eine mögliche klinische Anwendung, die ohne aufwändige Separation von T-Zellen auskommen sollte, untersuchten wir die Eignung von Vollblutproben zur Detektion der gefundenen Marker. Da Vollblut eine Mischpopulation von Zellen der innaten und adaptiven Immunität enthält, fokussierten wir uns hier auf diejenigen der in T-Zellen identifizierten miRNAs, die vorrangig lymphozytär exprimiert werden und deren Vorkommen im Vollblut somit nur wenig durch Zellen der angeborenen Immunität beeinflusst ist. Die

beiden diese Bedingung erfüllenden miRNAs (miR-143/-150) zeigten auch im Vollblut septischer Patienten eine signifikant differenzielle Expression im Vergleich zu Gesunden (Abb. 1A) mit AUC-Werten von 0.88 und 0.95 (miR-143/ miR-150; Abb.1B).

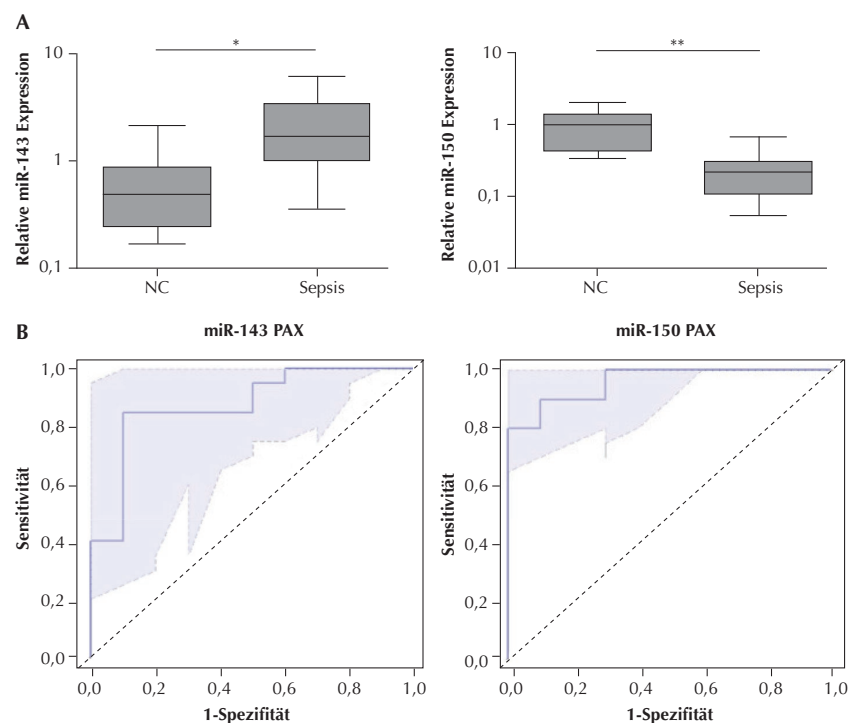
#### Schlussfolgerung

MiR-143 und -150 sind potentielle Biomarker zur Detektion einer Immunparalyse in der Sepsis. Sie lassen sich in klinisch leicht einsetzbaren Vollblut-Filterssystemen detektieren.

#### Literatur

- Boomer JS, Green JM, Hotchkiss RS: The changing immune system in sepsis: is individualized immuno-modulatory therapy the answer? *Virulence* 2014;5(1):45–56
- Xiao W, Mindrinos MN, Seok J, Cuschieri J, Cuenca AG, Gao H, Hayden DL, Hennessy L, Moore EE, Minei JP, et al: A genomic storm in critically injured humans. *J Exp Med* 2011;208(13):2581–2590
- Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, et al: Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA* 2011;306(23):2594–2605.

Abbildung 1



A) Signifikant verstärkte (miR-143) bzw. verminderte (miR-150) Expression T-Zell-spezifischer miRNAs in Vollblut septischer Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden (n=20, \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,001$ ). B) ROC-Analyse: miR-143 AUC 0,88; 95% CI: 0,74–1,0 / miR-150 AUC 0,95; 95% CI: 0,9–1,0.



## Einfluss von Myeloiden Suppressorzellen auf das kompensatorische anti-inflammatorische Response-Syndrom nach kardiochirurgischen Eingriffen

M. Hübner<sup>1,2</sup> · G. Klein<sup>2</sup> · D. Effinger<sup>1,2</sup> · R. Tomasi<sup>1</sup> · S. Kreth<sup>1,2</sup>

- 1 Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München, LMU München
- 2 Walter-Brendel-Zentrum für experimentelle Medizin, Medizinische Fakultät, LMU München

### Korrespondenz:

Max.huebner@med.uni-muenchen.de

### Fragestellung

Nach kardiochirurgischen Eingriffen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine (HLM) kommt es zu einem systemischen inflammatorischen Response-Syndrom (SIRS), das durch eine initial starke, unspezifische Aktivierung des Immunsystems gekennzeichnet ist. Gleichzeitig tritt in unterschiedlichem Ausmaß ein kompensatorisches antiinflammatorisches Response-Syndrom (CARS) auf, das einen wichtigen Risikofaktor für postoperative Komplikationen, wie zum Beispiel Infektionen, darstellt [1]. Die Pathophysiologie eines CARS ist bislang nur unzureichend verstanden und es existieren derzeit weder verlässliche Prädiktionsmarker noch effiziente Therapiestrategien. Bisherige Forschungsprojekte fokussierten vorwiegend auf die Charakterisierung des innate Immunsystems im Verlauf eines CARS. Wir sind daher der Frage nachgegangen, ob das adaptive Immunsystem nach HLM immunsuppressive Charakteristika zeigt und welche Pathomechanismen dafür verantwortlich sein könnten.

### Methodik

Blut kardiochirurgischer Patienten mit geplantem Einsatz der HLM wurde vor OP-Beginn (T1), bei Eintreffen auf der Intensivstation (T2), 1 Tag postoperativ (T3) und bei Entlassung (T4) entnommen (n=49). Nach PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cell)-Isolation wurden Phänotypisierungs- sowie Aktivierungsmarker (CD3 $\zeta$ , CD11b, CD14, CD15, CD16, HLA-DR) durchflusszytometrisch untersucht. RNA wurde extrahiert, in cDNA umgeschrieben und Marker der Immunsuppression (PD1, ICOS, IL7R, ARG-1) mittels qRT-PCR bestimmt. PBMCs wurden mittels May-Grünwald-Giemsa gefärbt. Die Immunzellfunktion wurde mittels CFSE Proliferationsassay in vitro nach 3 und 5 Tagen Stimulation durchflusszytometrisch analysiert. Die Arginaseaktivität im Serum sowie in Zelllysat wurde colorimetrisch bestimmt. MDSCs wurden durch CD15-Microbead-Separation von PBMCs separiert. Sämtliche Ethikvoten und Einverständniserklärungen lagen vor. Die statistische Auswertung erfolgte mittels t- bzw. Mann-Whitney-U-Test; angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SEM.

### Ergebnisse

Zum Zeitpunkt T3 wiesen PBMCs ein immunsuppressives Expressionsprofil auf (ICOS:  $-73 \pm 8,3\%$ ; PD1: Induktion 2-fach  $\pm 0,48$ ; IL7R:  $-41 \pm 11,8\%$ ; CD3 $\zeta$ :  $-65 \pm 6\%$ , n=10, p<0,05). Mittels Durchflusszytometrie konnten wir zum Zeitpunkt T2 und T3 bei allen Patienten eine vorübergehend auftretende, bis dato in diesem Zusammenhang nicht beobachtete Leukozytenpopulation nachweisen (Abb. 1A). Färbung und Immunphänotypisierung dieser Zellen zeigte eine myeloide Morphologie sowie ein für Myeloid-Derived Suppressor Cells (MDSCs) charakteristisches Expressionsprofil (CD15+, CD11b+, CD14-, HLA-DR-,

Arginase+) [2]. MDSCs besitzen T-Zell-suppressive Eigenschaften, die unter anderem durch Degradation von für T-Zellen essentiell Arginin vermittelt werden [3]. Zum Zeitpunkt T2 trat im Serum, Zelllysat und auf mRNA-Ebene eine deutliche Induktion der MDSC-spezifischen Arginaseaktivität (Abb. 1C, 1D; Serum: 1,98-fach  $\pm 0,38$ , Zellen: 7,76-fach  $\pm 1,98$ , qRT-PCR: 13,7-fach  $\pm 3,22$  n=9, p<0,05) sowie eine reduzierte Proliferationskapazität nach in-vitro-Stimulation über 3 bzw. 5 Tage auf. ( $-23 \pm 4,5\%$ , n=10, p=0,004). Eine Depletion der MDSC-Population führte zu einer deutlichen Verbesserung der Proliferationskapazität (Abb. 1B;  $+30 \pm 9,4\%$ , n=10, p=0,025).

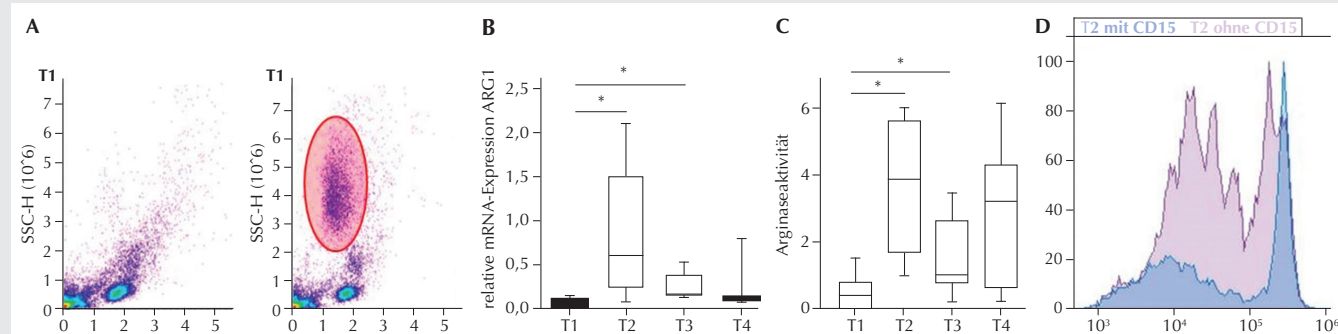
### Interpretation

Das bis dato nicht bekannte Auftreten von MDSCs nach HLM führt zu einer stark verminderten Proliferationskapazität von Lymphozyten. Dieser Effekt wird – zumindest zu einem großen Anteil – durch eine MDSC-spezifische Degradation von Arginin erzeugt und trägt zur Repression der T-Zell-vermittelten Immunkompetenz im Rahmen des postoperativen CARS bei. Kenntnis dieser Zusammenhänge könnte zukünftig diagnostisch sowie therapeutisch nutzbar sein.

### Literatur

1. Adib-Conquy M, Cavaillon JM: Compensatory anti-inflammatory response syndrome. *Thromb. Haemost* 2009;101:36–47
2. Bronte V, Brandau S, et al: Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. *Nat Commun* 2016;7:12150
3. Geiger R, Rieckmann JC, et al: L-Arginine Modulates T Cell Metabolism and Enhances Survival and Anti-tumor Activity. *Cell* 2016;167:829–842.

Abbildung 1



A) FACS-Analyse der PBMCs. Neu aufgetretene Population bei T2 (rot markiert). B) Arginase1-Expression (qRT-PCR) T1-T4. Arginaseaktivität im Serum T1-T4. D) Proliferation der PBMCs nach 5 Tagen Stimulation in vitro, gemessen mittels CFSE-Dilution. Blau: T2 mit CD15-positiven Zellen; lila: T2 nach Depletion CD15-positiver Zellen.



### Aktivitätsinduzierte Signaltransduktion in nozizeptiven Neuronen der Ratte

J. Isensee<sup>1</sup> · M. VanCann<sup>1</sup> · D. Araldi<sup>2</sup> · D. Bas<sup>1</sup> · J. D. Levine<sup>2</sup> · T. Hucho<sup>1</sup>

1 Experimentelle Anästhesiologie und Schmerzforschung, Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Uniklinik Köln

2 Division of Neuroscience, Departments of Medicine and Oral & Maxillofacial Surgery, University of California, San Francisco, CA, USA

**Korrespondenz:** joerg.isensee@uk-koeln.de

#### Fragestellung

Eine treibende Kraft der Chronifizierung von Schmerzen ist die anhaltend erhöhte Erregung peripherer nozizeptiver Neurone. Im zentralen Nervensystem aktiviert neuronale Erregung insbesondere die Proteinkinase A (PKA), die postsynaptisch zu langanhaltenden funktionellen Veränderungen wie der Langzeit-Potenzierung und der Exzitations-Transkriptions-Kopplung beiträgt. Ob ähnliche aktivitätsinduzierte Signalvorgänge auch im peripheren Nervensystem vorhanden sind, ist jedoch weitgehend unbekannt. Daher haben wir untersucht, ob elektrische Aktivität auch direkt in nozizeptiven Neuronen intrazelluläre Signaltransduktion reguliert.

#### Methodik

Sensorische Neurone wurden ex vivo mit Kaliumchlorid (KCl) depolarisiert. Die depolarisationsabhängige Signaltransduktion wurde mittels „High Content Screening“-Mikroskopie vermessen, was die Analyse hun-

dertausender Neurone auf Einzelzellniveau ermöglichte [1,2]. Im Fokus standen die Aktivität der Typ-II PKA, welche immunzytochemisch mit phospho-RII Antikörpern dargestellt werden kann [3], sowie durch PKA-II regulierte Effektoren (Mittelwerte  $\pm$  SEM;  $n=3-4$ ;  $>2000$  Neuronen/Kondition, zweifaktorielle ANOVA mit Bonferroni-Test). Zudem wurde mit Genehmigung der Tierschutzbehörde der Einfluss von KCl auf den mechanischen Schmerzschwellenwert (Randall-Selitto) in der Ratte untersucht (Mittelwerte  $\pm$  SEM,  $n=6$  Ratten pro Gruppe, Injektion von 5  $\mu$ l 80 mM KCl).

#### Ergebnisse

Die Depolarisation sensorischer Neurone durch KCl führte zu einer transienten Aktivierung von PKA-II mit einem  $EC_{50}$  von 15 mM (Abb. 1A-C). Eine vergleichbare Antwort wurde auch nach direkter Öffnung von spannungsgesteuerten Natriumkanälen durch Veratridin (100  $\mu$ M) beobachtet. Die Aktivierung von PKA-II war abhängig von extrazellulärem Calcium und konnte durch Antagonisten von L-Typ Calciumkanälen wie Verapamil ( $IC_{50} = 16 \mu$ M) inhibiert (Abb. 1D) bzw. durch Agonisten wie BayK8644 (2  $\mu$ M) verstärkt werden (Abb. 1E). Antagonisten von P/Q-, N-, oder T-Typ Calciumkanälen waren unwirksam. Im Gegensatz zur Aktivierung von PKA-II durch G-Protein-gekoppelte Rezeptoren war die PKA-II Aktivierung nach Depolarisation unabhängig von cAMP. Opiode (10  $\mu$ M, Abb. 1F) sowie Inhibitoren von Adenylcyclasen (NB001, SQ22536, NKY80, 100  $\mu$ M) und

Phosphodiesterasen (IBMX, 100  $\mu$ M) hatten keinen Effekt. In vivo bewirkte die intradermale Injektion von KCl in die Rattenpfote eine biphasische Hyperalgesie (Abb. 1G), die durch Kombination von Calciumkanal-, PKA- und ERK1/2-Inhibitoren (Verapamil/H89/U0126, 10/1/1  $\mu$ g) verhindert werden konnte.

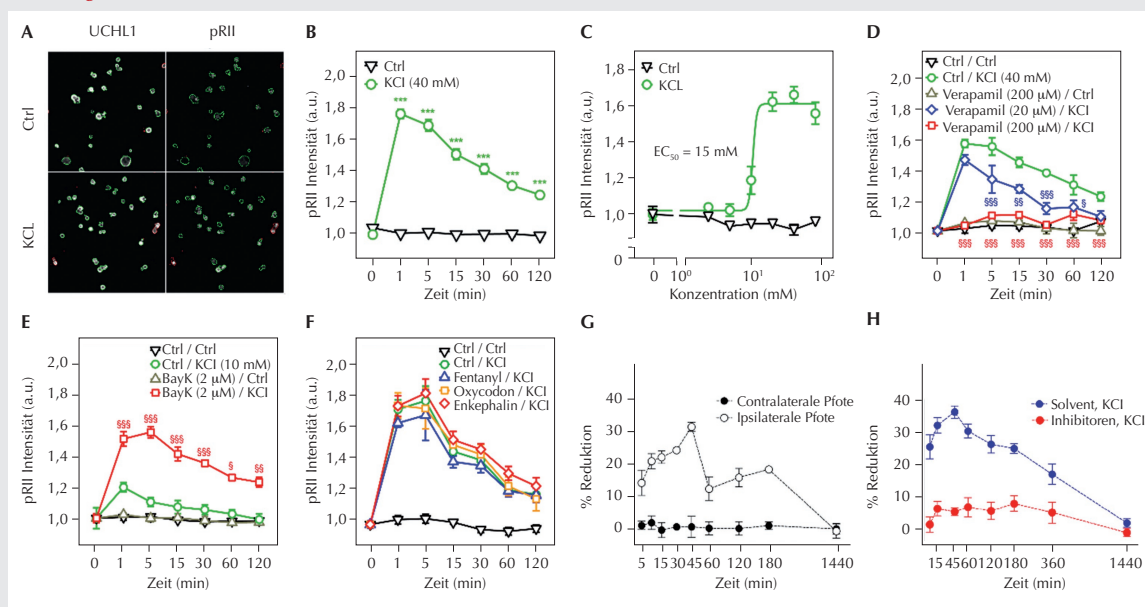
#### Interpretation

Unsere zellulären Experimente belegen, dass extrazelluläres Calcium nach Depolarisation durch L-Typ Calciumkanäle in Nozizeptoren einströmt und dort cAMP-unabhängig PKA-II aktiviert. PKA-II reguliert dann sowohl den Calciumkanal selbst als auch die Genexpression. Ein besseres Verständnis dieser Mechanismen könnte therapeutische Interventionen ermöglichen, welche die Chronifizierung im frühen Stadium verhindern.

#### Literatur

- Isensee J, Krahe L, Moeller K, Pereira V, Sexton JE, Sun X, et al: Synergistic regulation of serotonin and opioid signaling contributes to pain insensitivity in Nav1.7 knockout mice. *Sci Signal* 2017;10(461), DOI: 10.1126/scisignal.aah4874
- Isensee J, Schild C, Schwede F, Hucho T: Crosstalk from cAMP to ERK1/2 emerges during postnatal maturation of nociceptive neurons and is maintained during aging. *J Cell Sci* 2017;130(13):2134–2146
- Isensee J, Diskar M, Waldherr S, Buschow R, Hasenauer J, Prinz A, et al: Pain modulators regulate the dynamics of PKA-RII phosphorylation in subgroups of sensory neurons. *J Cell Sci* 2014;127(Pt 1):216–229.

Abbildung 1



### Immunregulation unter akuter normobarer und hypobarer Hypoxie: Evaluation möglicher prädiktiver Marker der akuten Bergkrankheit

T. Kammerer<sup>1,2</sup> · V. Faihs<sup>1,2</sup> · M. Hübner<sup>1,2</sup> · M. Rehm<sup>1</sup> · C. Spengler<sup>3</sup> · S. Kreth<sup>1,2</sup> · S. Schäfer<sup>1,2</sup>

- 1 Klinik für Anaesthesiologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- 2 Walter Brendel Zentrum für Experimentelle Medizin, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- 3 Labor für Human- und Sportphysiologie, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Schweiz

#### Korrespondenz:

tobias.kammerer@med.uni-muenchen.de

#### Fragestellung

Akklimateisierte Personen können auch arterielle Sauerstoffpartialdrücke unter 25 mmHg tolerieren [1], wohingegen die Hypoxietoleranz bei nicht-akklimateisierten Personen schlecht prognostiziert werden kann. Anpassungsmechanismen an Hypoxie und inflammatorische Stimuli werden maßgeblich durch die hypoxisch-inflammatorische Genregulation gesteuert [2,3]. Es ist bislang nicht geklärt, ob Expressionsänderungen hierdurch regulierter Gene mit Krankheitssymptomen und Änderungen der kognitiven Funktion assoziiert sind und ob sich diese als molekulare Prädiktoren einer akuten Bergkrankheit („acute mountain sickness“, AMS) eignen könnten.

Um diese Frage zu untersuchen, führten wir in vitro Experimente an primären Leukozyten nicht-akklimateisierter Probanden durch und erhoben Daten in vivo im Rahmen einer Expeditionsstudie. Wir testeten am Beispiel der hypoxisch-inflammatorisch regulierten Gene CXCR4, IL-1 $\beta$  und CCR2, ob 1) in vitro Hypoxie und inflammatorische Stimuli deren leukozytäre mRNA-Expression induzieren, ob 2) in vivo Hypoxie bei gesunden Probanden ebenfalls zu einer Induktion dieser Gene führt und inwiefern 3) dies mit AMS und kognitiver Funktionseinschränkung assoziiert ist.

#### Methodik

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission wurden PBMCs von 11 gesunden Probanden isoliert und in vitro hypoxisch (10%+5% O<sub>2</sub>) sowie inflammatorisch (CD3/CD28) für 24 Stunden stimuliert. Die CXCR4-, IL-1 $\beta$ - und CCR2-mRNA-Expression wurde mittels quantitativer PCR (qPCR) analysiert. Zusätzlich wurden die gleichen Probanden unter hypobarer (HH: kleines Matterhorn, 3883 m ü. NN) und normobarer Hypoxie (NH: Hypoxiekammer, 13,1% O<sub>2</sub>, simuliert 3883 m ü. NN) vor und nach submaximaler körperlicher Belastung untersucht und die folgenden Variablen analysiert: mRNA-Expression von CXCR4, IL-1 $\beta$  und CCR2 (PAX Gene); pulsoxymetrische (SpO<sub>2</sub>) und zerebrale (rScO<sub>2</sub>) Sauerstoffsättigung, nicht-invasive hämodynamische Variablen (mittels elektrischer Kardiometrie), Symptome einer AMS (Lake-Louise-Score (LLS)) und kognitive

Funktion („Trail Making Test“, Koordinations- und Reaktionstests). Statistik: Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung; Spearmankorrelation; Ein-Wege-ANOVA und Alpha Adjustierung auf multiples Testen mit Post-hoc-T-test ( $p=0.05/n$ ).

#### Ergebnisse

In vitro war die IL-1 $\beta$ -mRNA-Expression sowohl nach Inkubation mit CD3/CD28 ( $p=0.006$ ) als auch bei 5% O<sub>2</sub> ( $p=0.004$ ) induziert, die CCR2-mRNA-Expression nur unter hypoxischer ( $p=0.005$ ), nicht jedoch inflammatorischer Stimulation. Die CXCR4-mRNA-Expression blieb unverändert. In vivo kam es zu einem signifikanten Anstieg der CXCR4- ( $p=0.01$ ) und einem grenzwertig signifikanten Anstieg der IL-1 $\beta$ -mRNA-Expression ( $p=0.05$ ) unter HH nach 24 h. Die CCR2-Expression war unter NH und HH induziert ( $p<0.05$ ). Die kognitiven Funktionstests waren zu allen Zeitpunkten unverändert (alle  $p=n.s.$ ). Erwartungsgemäß kam es unter NH und HH zu einem Abfall von SpO<sub>2</sub> und rScO<sub>2</sub> (alle  $p<0.05$ ) und die Probanden entwickelten ein AMS (LLS  $\geq 3$  Punkte mit Kopfschmerzsymptomatik). Zudem korrelierte der LLS nach 24 h invers mit initialer rScO<sub>2</sub> unter NH und HH (alle  $p<0.01$ ). Die hämodynamischen Veränderungen (HZV-Anstieg, SV-Abnahme) zeigten keinen Zusammenhang zu kognitiven Funktionstests oder LLS. IL-1 $\beta$ - ( $p=0.03$ ;  $r=0.734$ ) sowie CXCR4- ( $p=0.01$ ;  $r=0.796$ ) mRNA-Expression korrelierten mit erhöhtem LLS nach 24 h unter HH.

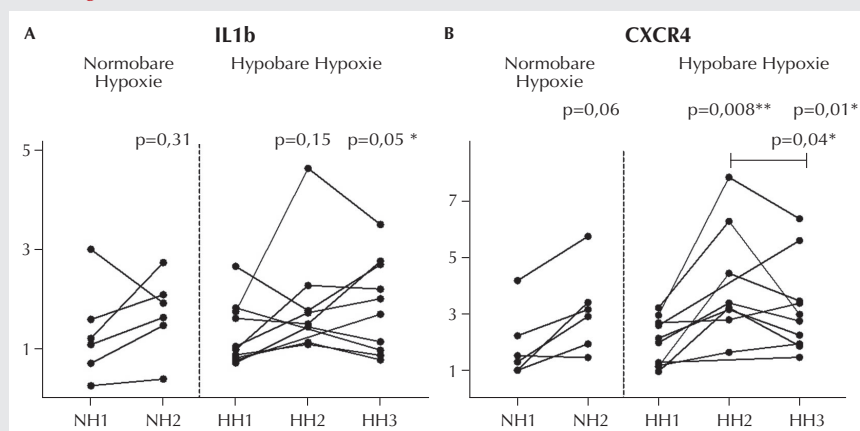
#### Interpretation

Die initiale Abnahme der zerebralen Sauerstoffsättigung unter akuter NH sowie HH war mit dem Auftreten einer AMS in der Höhe assoziiert. Die CXCR4- und IL-1 $\beta$ -mRNA-Expressionssteigerungen korrelierten mit einem erhöhten LLS nach 24 h unter HH. Weitere Untersuchungen müssen nun zeigen, ob diese Variablen als prädiktive Marker in der Lage sind, Personen mit reduzierter Hypoxietoleranz und erhöhtem Risiko für die Entwicklung einer akuten Bergkrankheit zu identifizieren.

#### Literatur

1. Grocott M, et al: Arterial Blood Gases and Oxygen Content in Climbers on Mount Everest. *N Engl J Med* 2009;360:140–149
2. Schäfer ST, et al: Hypoxia-inducible Factor and Target Gene Expression Are Decreased in Patients with Sepsis. *Anesthesiology* 2013;118(6):1426–1436
3. Frede S, et al: Regulation of Hypoxia-Inducible Factors During Inflammation. *Methods Enzymol* 2007;435:405–419.

Abbildung 1



Leukozytäre mRNA-Expression (qPCR) von IL-1 $\beta$  (A) und CXCR4 (B) in vivo unter normobarer (n=6) und hypobarer (n=10) Hypoxie. Messzeitpunkte: **NH1**=vor Belastung (520 m ü. NN); **NH2**=nach Belastung (simuliert 3883 m ü. NN); **HH1**=vor Belastung (520 m ü. NN); **HH2**=nach Belastung (3883 m ü. NN); **HH3**=nach 24 h (3883 m ü. NN). Unterschied zum Ausgangsniveau: \*  $p\leq 0,05$ , \*\*  $p<0,01$ .

### Aktivierung des Thromboxan A<sub>2</sub>-Rezeptors durch *Streptococcus pneumoniae*

M. Kiefmann<sup>1</sup> · C. Börnchen<sup>1</sup> · A. Schuster<sup>1</sup> ·  
A. Mecklenburg<sup>1</sup> · F. Gniech<sup>1</sup> ·  
S. Hammerschmid<sup>2</sup> · R. Kiefmann<sup>1</sup>

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg
- 2 Ernst Moritz Arndt Universität Greifswald, Interfakultäres Institut für Genetik und Funktionelle Genomforschung, Greifswald

**Korrespondenz:** mkiefman@uke.de

#### Fragestellung

*Streptococcus* (S.) *pneumoniae* ist der zweithäufigste grampositive Erreger bei einer Sepsis. Wir konnten bereits zeigen, dass dieser Keim in primär isolierten pulmonalen mikrovaskulären Endothelzellen über in sublytischer Konzentration freigesetztes Pneumolysin Ca<sup>2+</sup>-Oszillationen induziert. Dieses Calcium-Signal wird dabei u.a. durch eine Aktivierung der IP<sub>3</sub>-Kaskade initiiert [1]. Wir stellten uns daher die Frage, ob S. *pneumoniae* einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor (GPKR) aktiviert und – wenn ja – welchen.

#### Methodik

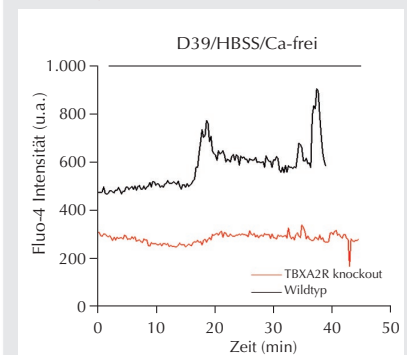
Die zytosolische Calcium-Konzentration ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>zyt</sub>) wurde in vitro in HEK-Zellen nach deren Färbung mit Fura-2 mittels Epifluoreszenzmikroskopie gemessen. An isoliert perfundierten Lungen von Wildtyp- oder Thromboxan A<sub>2</sub>-Rezeptor (TBXA<sub>2</sub>R)-knockout-Mäusen wurde in Endothelzellen pulmonaler Arteriolen nach jener Anfärbung mit Fluo-4 mittels 2-Photonenmikroskopie eine Änderung der [Ca<sup>2+</sup>]<sub>zyt</sub> in situ erfasst. Bei allen Experimenten wurden Wildtyp (D39)- oder Pneumolysin-defiziente (PN196) S. *pneumo-*

niae in einer Konzentration 5×10<sup>5</sup> CFU/ml verwendet. Zur weiteren Charakterisierung des Calcium-Signals wurden die Versuche entweder unter Calcium-haltigen oder unter Calcium-freien Bedingungen durchgeführt. Des Weiteren erfolgte ein Knockdown von Gα<sub>11</sub> und Gα<sub>q</sub> durch eine siRNA-Transfektion in HEK-Zellen, welche mittels qRT-PCR und Western Blot verifiziert wurde. Außerdem wurden die Zellen mit Antagonisten gegen GPKRs inkubiert. Zusätzlich wurde ein TBXA<sub>2</sub>R-Knockdown durchgeführt. Zur statistischen Auswertung wurde ein Mann-Whitney-Rank-Sum-Test verwendet.

#### Ergebnisse

D39 bewirkt in HEK-Zellen unter Calcium-haltigen Bedingungen [Ca<sup>2+</sup>]<sub>zyt</sub>-Oszillationen mit einer Amplitude von 159,8±120,0 nM (n=74). Im Gegensatz dazu induzierten PN196 kein Calcium-Signal. In Calcium-freiem Medium kam es nach D39-Inkubation zu einem singulären Peak des [Ca<sup>2+</sup>]<sub>zyt</sub> mit einer Amplitude von 54,7±30,5 nM (n=34). Der einmalige Anstieg des D39-induzierten Calcium-Peaks konnte durch den Knockdown von Gα<sub>q</sub>/Gα<sub>11</sub> komplett inhibiert werden. Im Rahmen des pharmakologischen Screenings zur Identifizierung des entsprechenden GPKR in HEK-Zellen führte lediglich der TBXA<sub>2</sub>R-Antagonist Terutuban zu einer Reduktion des unter Calcium-freien Bedingungen auftretenden Calcium-Signals (Amplitude: 21,9±10,6 nM, n=18, p<0,05 vs. D39 alleine). Dieses Ergebnis konnte durch den In-vitro-Knockdown des TBXA<sub>2</sub>R bestätigt werden. Auch in Endothelzellen von pulmonalen Arteriolen induzierte D39 unter Calcium-freien Bedingungen vereinzelte Calcium-Spikes (Abb. 1), deren Auftreten in den TBXA<sub>2</sub>R-Knockout-Lungen deutlich verringert

**Abbildung 1**



Repräsentative Calciumprofile von Fluo-4-gefärbten Endothelzellen pulmonaler Arteriolen.

war (Oszillationsfrequenz Wildtyp: 0,09±0,01 pro min; TBXA<sub>2</sub>R-Knockout: 0,02±0,01 pro min, p<0,05 vs. Wildtyp).

#### Interpretation

Wir können zeigen, dass D39 in HEK-Zellen in vitro und in Endothelzellen pulmonaler Arteriolen von Mäusen in situ einen transienten Anstieg der [Ca<sup>2+</sup>]<sub>zyt</sub> über die Aktivierung des TBXA<sub>2</sub>R bewirkt. Ob und in welchem Ausmaß die TBXA<sub>2</sub>R-Aktivierung eine Rolle bei der während einer Sepsis oft auftretenden intravasalen Gerinnungsaktivierung spielt, wird in weitergehenden Untersuchungen erforscht.

#### Literatur

1. Mecklenburg A, et al: In Pulmonary Endothelial Cells Calcium Signaling By S. pneumoniae Is Regulated By Calcium Influx From The Extracellular Space But Also By Calcium Release From Intracellular Stores. Am J Respir Crit Care Med 185;2012:A3281.



### Ischämische Präkonditionierung führt zu erhöhter Konzentration extrazellulärer Vesikel mit vermehrter Expression der kardioprotektiven miR-21

M. Klaaßen<sup>1</sup> · B. Giebel<sup>2</sup> · C. Ochsenfarth<sup>1</sup> · F. Murke<sup>2</sup> · M. Thielmann<sup>3</sup> · E. Kottenberg<sup>1</sup> · P. Kleinbongard<sup>4</sup> · A. Engler<sup>1</sup> · J. Peters<sup>1</sup> · U.H. Frey<sup>1</sup>

1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin

2 Institut für Transfusionsmedizin

3 Klinik für Thorax- und Kardiovaskuläre Chirurgie, und

4 Institut für Pathophysiologie

Universität Duisburg-Essen & Universitätsklinikum Essen

#### Korrespondenz:

marina.klaassen@stud.uni-due.de

### Fragestellung

Ischämische Fern-Präkonditionierung (remote ischemic preconditioning, RIPC) erhöht die Widerstandsfähigkeit lebenswichtiger Organe gegenüber Sauerstoffmangel [1]. Für den Transfer kardioprotektiver Signale werden u.a. extrazelluläre Vesikel (EVs) diskutiert, welche micro-RNAs (miRNAs) transportieren können [2]. Wir prüften die Thesen, dass RIPC bei Isofluran-anästhesierten Patienten vor aortokoronarer Bypass (ACB)-OP 1) zu einer Änderung der EV-Konzentration im Serum sowie 2) deren miRNA-Signatur führt.

### Methodik

Nach Zustimmung der Ethikkommission wurden 413 Patienten, welche sich einer elektiven ACB-OP unterzogen, zu RIPC oder Sham randomisiert. Bei 58 Patienten konnte das Studienprotokoll inklusive einer venösen Blut-

abnahme aus einem von der V. basilica in die V. subclavia vorgeschobenen Katheter (stromabwärts der RIPC-Armmanchette) komplettiert werden. Arteriell und venös Blut direkt stromabwärts der Blutdruckmanschette wurde jeweils vor sowie 5 und 60 Minuten nach RIPC/Sham gewonnen. EVs wurden durch Polymer-basierte Verfahren extrahiert und mittels „nanoparticle tracking analysis“ quantifiziert. Ferner verglichen wir die EV-Konzentrationen mit der postoperativen Troponin-I-Konzentration (cTnI; bis 72 h postoperativ, Area under curve; AUC). Die EV-miRNA Signatur wurde von zunächst 7 Patienten (RIPC, n=3; Sham, n=4) auf 384 Well-Array-Karten analysiert und in qPCR-Einzelaassays verifiziert. Statistik: 2-Wege-ANOVA mit Sidak's Post-hoc-Test; Lineare Regression; Student's t-Test adjustiert für multiples Testen;  $p < 0,05$ .

### Ergebnisse

Kontroll-EV-Plasmakonzentrationen betrugen  $2,2 \times 10^{11} \text{ ml}^{-1} \pm 1,0$  (arteriell) bzw.  $2,1 \times 10^{11} \text{ ml}^{-1} \pm 1,0$  (venös) und waren nicht unterschiedlich zwischen RIPC und Sham. 5 Minuten nach RIPC stiegen die EV-Plasmakonzentrationen im venösen Blut stromabwärts der Manschette im Vergleich zu Sham bereits an und zeigten im arteriellen Blut nach 60 Minuten die größten Unterschiede (Fold change (fc) RIPC: 1,33; Sham: 0,91;  $p = 0,0026$  für Interaktion). Eine positive Korrelation zwischen EV- und postoperativer Troponin-I-Konzentration konnte 60 Minuten nach Intervention nur in der Sham-, nicht aber in der RIPC-Gruppe nachgewiesen werden ( $p = 0,0006$ ). 5 Minuten nach RIPC zeigte sich bei 26 der 384 getesteten EV-miRNAs eine erhöhte Expression (Abb. 1A; Schwellenwert fc:4,0;  $p = 0,05$ ). Abbildung 1B zeigt die relative Erhöhung der

Expression von 26 miRNAs nach 5 Minuten sowie von 5 miRNAs 60 Minuten nach RIPC versus Sham. Insbesondere war die miR-21-Expression in Arrays zu beiden Zeitpunkten erhöht, was in qPCR-Einzelaassays von allen Patienten mit einem fc von 1,6 ( $p = 0,03$ ) bestätigt werden konnte.

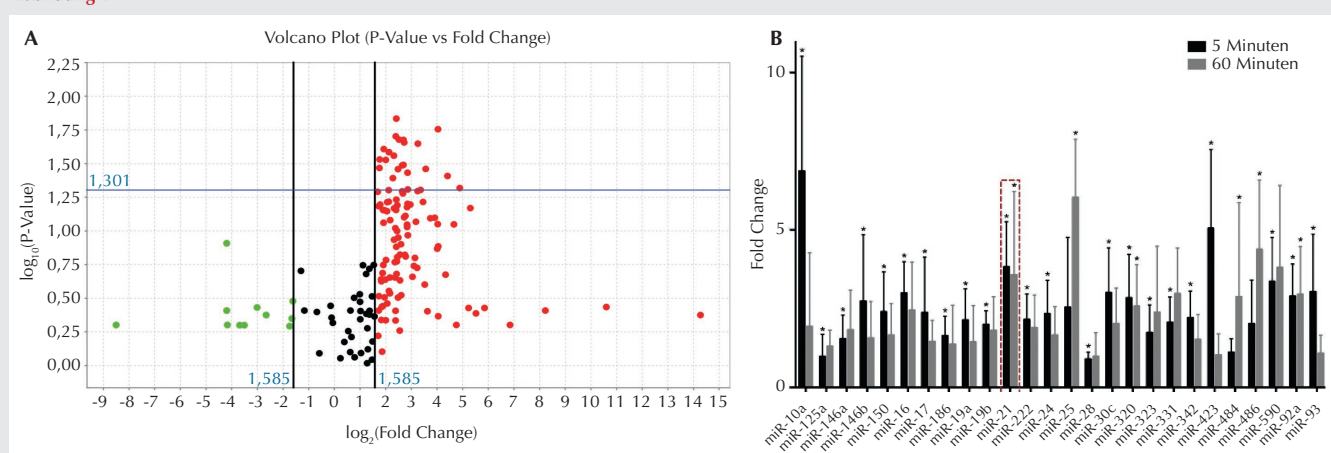
### Interpretation

RIPC erhöhte die Serum-EV-Konzentration. Dass dieser Anstieg venös stromabwärts der ischämischen/reperfundierten Extremität früher nachweisbar ist als arteriell, weist auf vermehrte EV-Sekretion aus der ischämischen Extremität hin. Ein kardioprotektiver Effekt dieser EVs wird durch die aufgehobene Korrelation zwischen EV- und postoperativen Troponin-I-Konzentrationen bei RIPC nahegelegt. EVs beinhalten eine miRNA-Signatur, die sich bereits 5 Minuten nach RIPC ändert und zu einer Hochregulation spezifischer miRNAs führt. Insbesondere die Hochregulation der miR-21, welche eine protektive Wirkung gegenüber Ischämie-induzierten kardialen Myozytenschäden hat [3], könnte zur Erklärung des unter Isofluran-Anästhesie nachgewiesenen RIPC-Effektes beitragen.

### Literatur

1. Heusch G: Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic. *Lancet* 2013;381:166–175
2. Giricz Z, Varga ZV, Baranyai T, Sipos P, Paloczi K, Kittel A, et al: Cardioprotection by remote ischemic preconditioning of the rat heart is mediated by extracellular vesicles. *J Mol Cell Cardiol* 2014;68:75–78
3. Dong S, Cheng Y, Yang J, Li J, Liu X, Wang X, et al: MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction. *J Biol Chem* 2009;284:29514–29525.

Abbildung 1



(A) Volcano Plot. miRNA-Expression im Gesamtserum 5 Minuten nach Intervention, verglichen zwischen RIPC (n=3) und Sham (n=4) (blaue Linie entspricht  $p = 0,05$ , Statistik: Student's t-Test adjustiert für multiple Vergleiche).

(B) miRNAs, deren Expression in der RIPC-Gruppe nach Analyse mittels Volcano Plot im Vergleich zur Sham-Gruppe höher war (\* $p < 0,05$ ).

### Der CHRM3 Polymorphismus rs2165870 ist ein unabhängiger PONV-Prädiktor, aber kombinierte Akupunktur/Dexamethason-Prophylaxe effektiv

S. Klenke<sup>1</sup> · G. de Vries<sup>1</sup> · L. Schiefer<sup>1</sup> · N. Seyffert<sup>1</sup> · H. Bachmann<sup>2</sup> · J. Peters<sup>1</sup> · U.H. Frey<sup>1</sup>

1 Klinik für Anästhesiologie & Intensivmedizin

2 Institut für Pharmakogenetik

Universität Duisburg-Essen & Universitätsklinikum Essen, Essen

**Korrespondenz:** stefanie.klenke@uk-essen.de

#### Fragestellung

Das Risiko für postoperative Übelkeit und Erbrechen (PONV) wird üblicherweise mit Hilfe des Apfel-Score evaluiert [1]. Große interindividuelle Variabilität und insbesondere das Auftreten von PONV bei Patienten mit niedrigem Apfel-Score legen jedoch genetische Einflüsse nahe. In einer genomweiten Assoziationsstudie war der muskarinerge Acetylcholin-Rezeptor M3 (CHRM3) rs2165870 Polymorphismus mit einer erhöhten PONV-Inzidenz assoziiert [2]. Standardtherapie zur Senkung der PONV-Inzidenz ist eine pharmakologische Prophylaxe, aber auch elektrische Akustimulation am P6 Punkt senkt das Risiko [3]. Im Hinblick auf eine kombinierte Prophylaxe prüften wir die Thesen, dass 1) Apfel-Score und rs2165870 Polymorphismus unabhängige Risikofaktoren für PONV sind und 2) eine kombinierte Prophylaxe das Risiko bei Patienten mit niedrigem Apfel-Score, aber hohem genetischen Risiko, verringern kann.

#### Methodik

In einer prospektiven, randomisierten, kontrollierten klinischen Studie (DRKS00005664) wurden nach Zustimmung der Ethikkommission und Screening von 1.481 Patienten (Zeitraum: 2014–2015) 454 Patienten, die sich einer elektiven mittelschweren Operation (Bereiche Gynäkologie, Hals-Nasen-Ohrenheilkunde und endokrine Chirurgie) unterzogen, 4 Gruppen alloziert: Akustimulation/Dexamethason, Akustimulation/Vehikel, Sham Akustimulation/Dexamethason oder Sham Akustimulation/Vehikel. DNA wurde aus einem Wangenabstrich extrahiert und die Patienten für den rs2165870 Polymorphismus mittels eines Genotyping-Assays (Assay ID: C\_9774837\_30, Life technologies, Karlsbad, USA) auf einem StepOne-Real-Time-PCR-Gerät (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany) genotypisiert. Die Assoziation von PONV mit dem rs2165870 Polymorphismus wurde mittels univariater Analyse und einer log-binomialen logistischen Regression untersucht. Der Effekt pharmakologischer Prophylaxe und/oder Akustimulation auf das PONV-Risiko wurde mittels relativer Risikoreduktion (RRR) der Behandlungskohorten im Vergleich zur Kontrollgruppe (Sham Akustimulation/Vehikel) ermittelt ( $\chi^2$ -Test für Trend). Statistik: Mittelwerte  $\pm$  95% Confidence Interval (CI).

#### Ergebnisse

Für den rs2165870 Polymorphismus ergab sich eine Minor A-Allelfrequenz von 0,35 (GG, n=191; GA, n=207; AA, n=56). Frühes PONV (2–6 h postoperativ) zeigte die höchste Inzidenz und trat bei 37% der Patienten auf (Abb. 1A), wobei das A-Allel des rs2165870 Polymorphismus im Sinne eines Gen-Dosis-Effekts ein Risikoallel für PONV war (relati-

ves Risiko (RR) 1,5 für GA vs. GG (95%CI: 1,1–1,9; p=0,003) und 1,6 für AA vs. GG (95%CI: 1,1–2,2; p=0,009)). In der multivariaten Analyse war diese Assoziation bemerkenswerterweise unabhängig vom Apfel-Score (RR pro Apfel Punkt: 1,3, 95% CI: 1,2–1,5; p<0,0001). Sowohl Dexamethason als auch Akustimulation reduzierten das PONV-Risiko in der Hochrisikogruppe der Patienten mit AA Genotyp bei geringem Apfel-Score (0–2) um 30%, die kombinierte Therapie sogar um 86% (p=0,015; Abb. 1B).

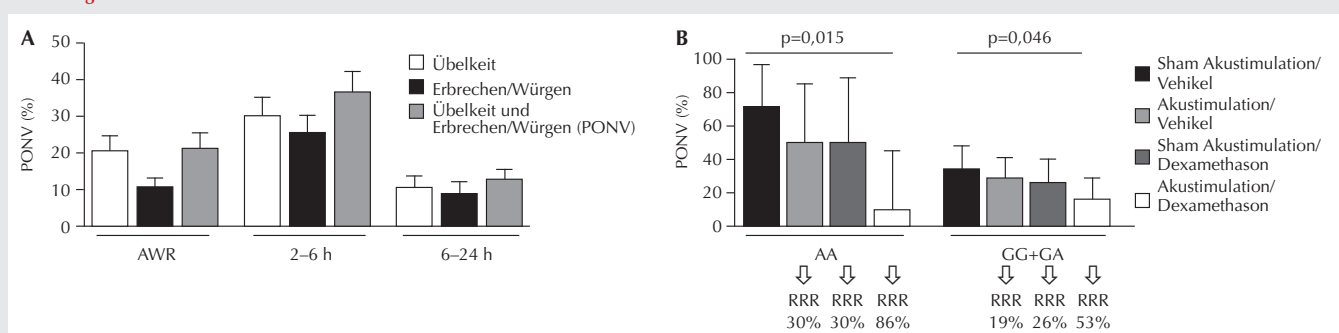
#### Interpretation

CHRM3 rs2165870 Polymorphismus und Apfel-Score sind unabhängige Prädiktoren für PONV. Die Genotypisierung des rs2165870 Polymorphismus ermöglicht somit die Identifizierung von Patienten, die trotz geringem Apfel-Score ein erhöhtes PONV-Risiko haben und hier von einer kombinierten PONV-Prophylaxe profitieren könnten. Zudem gibt es weitere, nicht bereits in den Apfel-Score einfließende genetisch bedingte Risiken für PONV.

#### Literatur

1. Apfel CC, Laara E, Koivuranta M, Greim CA, Roewer N: A simplified risk score for predicting postoperative nausea and vomiting: conclusions from cross-validations between two centers. *Anesthesiology* 1999;91:693–700
2. Janicki PK, Vealey R, Liu J, Escajeda J, Postula M, Welker K: Genome-wide Association study using pooled DNA to identify candidate markers mediating susceptibility to postoperative nausea and vomiting. *Anesthesiology* 2011;115:54–64
3. Frey UH, Scharmann P, Lohlein C, Peters J: P6 acustimulation effectively decreases postoperative nausea and vomiting in high-risk patients. *Br J Anaesth* 2009;102:620–625.

Abbildung 1



(A) PONV-Inzidenz zu verschiedenen Zeitpunkten (B) relative Risikoreduktion (RRR) durch PONV-Prophylaxe bei Patienten mit geringem Apfel-Score; AWR=Aufwachraum.



### Die mechanische Beatmungsleistung ist direkt assoziiert mit Letalität bei invasiv beatmeten Patienten ohne Lungenversagen

T. Kiss<sup>1</sup> · A. Serpa Neto<sup>2,3</sup> · R.O. Deliberato<sup>3</sup> · A. E. W. Johnson<sup>4</sup> · P. Pelosi<sup>5</sup> · M. J. Schultz<sup>2</sup> · T. Koch<sup>1</sup> · M. Gama de Abreu<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pulmonary Engineering Group, Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden

<sup>2</sup> Academic Medical Center, Amsterdam, Niederlande

<sup>3</sup> Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, Brasilien

<sup>4</sup> Harvard-MIT Health Sciences & Technology, Boston, USA

<sup>5</sup> Ospedale Policlinico San Martino University of Genoa, Italien

#### Korrespondenz:

Thomas.Kiss@uniklinikum-dresden.de

#### Fragestellung

Die durch das Beatmungsgerät generierte mechanische Energie wird bei der invasiven Beatmung auf den Patienten übertragen und kann in Form von Beatmungsvariablen (z.B. Atemzugvolumen, Plateaudruck, Atemfrequenz) am Monitor abgelesen werden. Die übertragene Energiemenge pro Zeiteinheit entspricht der mechanischen Leistung, auch Power genannt, welche sich unter Zuhilfenahme der Leistungsgleichung berechnen lässt [1]. Das Ausmaß der Ventilator-induzierten Lungenschädigung könnte mit der übertragenen Energie zusammenhängen. Unsere Hypothese lautet, dass bei invasiv beatmeten Patienten eine Assoziation zwischen mechanischer Leistung und Letalität besteht. Hierfür entnahmen wir Patientendaten aus einer großen offenen medizinischen Datenbank, berechneten die Beatmungsleistung mittels der Leistungsgleichung und untersuchten ihre Assoziation mit klinischen Outcome-Variablen.

#### Methodik

Ein Ethikvotum (Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, USA) lag vor. Wir analysierten Daten aus der „Medical Information Mart for Intensive Care“ (MIMIC-III)-Datenbank. Eingeschlossen wurden Intensivpatienten mit invasiver Beatmung länger als 48 Stunden; ausgeschlossen wurden Patienten mit der Diagnose Lungenversagen, Alter <16 Jahren, mit unvollständigem Datensatz für die

Leistungsberechnung sowie Patienten, welche bei Einschluss eine Trachealkanüle hatten. Nur Patienten mit einer Erstaufnahme auf Intensivstation (ITS) wurden eingeschlossen. Die mechanische Leistung wurde über die ersten 48 Beatmungsstunden gemittelt. Der primäre Endpunkt war die Krankenhaus-Letalität. Mittels multivariater Regressionsanalyse wurden Letalität beeinflussende Faktoren gesucht, die hinsichtlich ihrer klinischen Aussagefähigkeit ausgewählt wurden. Im ersten Schritt wurden für das Modell folgende Faktoren berücksichtigt (schrittweise Rückwärtselimination): Alter, SAPS-II (Simplified Acute Physiology Score), OASIS (Oxford Acute Severity of Illness Score), Elixhauser Comorbidity Index, Nierenersatztherapie am Tag 1, SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)-Score am Tag 1, niedrigster pH Wert, niedrigster Horowitz-Quotient, niedrigster arterieller Mitteldruck, niedrigste Sauerstoffsättigung, höchste Körpertemperatur, höchster Kohlendioxidpartialdruck. Dargestellt sind Median und Interquartile. Folgende Formel zur Berechnung der mechanischen Leistung (J/Minuten) wurde benutzt:  $0.098 \times \text{Atemfrequenz} \times \text{Tidalvolumen} \times (\text{Atemwegsspitzenenddruck} - \frac{1}{2} \times \text{Driving Pressure})$ .

#### Ergebnisse

Nach Anwendung der Ein- und Ausschlusskriterien auf einen Datensatz aus 53.423

Patienten standen 3.403 Datensätze für die Analyse zur Verfügung. Die in das Modell eingebrachten Variablen sind in Tabelle 1 beschrieben. Die Letalitätsrate im Gesamtkollektiv war 29,9%. Die mittlere mechanische Leistung betrug 20,8 (15,8–26,4) J/min und war signifikant höher ( $p=0,033$ ) bei den Verstorbenen (22,1 (17,1–28,3) J/min) gegenüber den Überlebenden (20,8 (15,9–26,3) J/min). Mechanische Leistung war signifikant assoziiert mit einer höheren Krankenhaus-Letalität (Odds Ratio (OR) 1,11; 95% Konfidenzintervall (KI) 1,01–1,23;  $p=0,034$ ), mit einer höheren ITS Letalität (OR 1,20; KI 1,08–1,33;  $p<0,001$ ), nicht jedoch mit 30-Tage- (OR 1,09; KI 0,99–1,21;  $p=0,067$ ) und 1-Jahres-Letalität (OR 1,09; KI 0,92–1,12;  $p=0,732$ ).

#### Interpretation

Bei erwachsenen Intensivpatienten ohne Lungenversagen und mit invasiver Beatmung für mindestens 48 Stunden ist eine höhere mechanische Beatmungsleistung (Power) mit einer höheren Krankenhaus-Letalität assoziiert.

#### Literatur

1. Gattinoni L, Tonetti T, Cressoni M, et al: Ventilator-related causes of lung injury: the mechanical power. Intensive Care Med 2016;42:1567–1575.

**Tabelle 1**

Multivariates Modell zur Beschreibung des Einflusses mechanischer Leistung auf die Krankenhaus-Letalität.

	Odds Ratio (95% Konfidenzintervall)	P Wert
<b>mechanische Leistung</b>	1,11 (1,01–1,23)	0,034
<b>Alter</b>	1,01 (1,00–1,02)	<0,001
<b>SAPS-II</b>	1,03 (1,01–1,04)	<0,001
<b>OASIS</b>	1,02 (1,01–1,04)	0,013
<b>Elixhauser Comorbidity Index</b>	1,02 (1,01–1,03)	0,008
<b>SOFA</b>	0,96 (0,93–0,99)	0,034
<b>niedrigster pH</b>	0,11 (0,03–0,50)	0,003
<b>niedrigster SpO<sub>2</sub></b>	0,99 (0,97–1,00)	0,226
<b>höchste Temperatur</b>	0,86 (0,75–0,99)	0,040
<b>höchster PaCO<sub>2</sub></b>	0,98 (0,97–0,99)	0,004

C-statistic: 0,692 Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit  $p=0,567$

**SAPS-II:** Simplified Acute Physiology Score II; **OASIS:** Oxford Acute Severity of Illness Score;

**SOFA:** Sequential Organ Failure Assessment; **SpO<sub>2</sub>:** Sauerstoffsättigung; **PaCO<sub>2</sub>:** Kohlendioxidpartialdruck.

### Plexin C1 induziert den pro-resolutions Phänotyp von Monozyten/Makrophagen und dient als Survival-Marker

A. Körner · A. Bernard · V. Mirakaj

Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

#### Korrespondenz:

andreas.koerner@uni-tuebingen.de

#### Fragestellung

Im Rahmen akuter Entzündungsreaktionen kommt es in der initialen Phase zu einer Invasion von neutrophilen Granulozyten (PMN) in das betroffene Gewebe. In der späten Phase, der sogenannten Resolutionsphase, folgt die Rekrutierung von Monozyten und deren Differenzierung zu Makrophagen sowie die Phagozytose apoptotischer PMN. Hierbei kommt vor allem spezialisierten Lipidmediatoren, sogenannten „specialized proresolving mediators“ (SPMs), eine bedeutende Rolle zu [1–2], indem sie die Resolutionsphase aktiv steuern. Die Gruppe der Neuronalen Guidance Proteine hat einen großen Einfluss in der Kontrolle der inflammatorischen Antwort [3]. Wir untersuchten in dieser Arbeit den Einfluss des Neuronalen Guidance Proteins Plexin C1 auf den Phänotyp von Monozyten und die Phasen der Inflammation sowie seine Rolle als Outcome-Marker bei abdominellem Kompartmentsyndrom (AKS).

#### Methodik

In vitro wurde der Einfluss auf die Apoptose von neutrophilen Granulozyten und die Phagozytose durch Makrophagen nach Stimulation mit einem Plexin C1 Antikörper ermittelt. Die Tierversuchsgenehmigung lag vor. In vivo wurde in einem Zymosan A (ZyA)- Peritonitismodell in Plexin C1-Knock-out (KO)- und Wildtyp (WT)-Mäusen die Rekrutierung inflammatorischer Zellen anhand einer Zeitkinetik evaluiert. Zu entsprechenden Zeitpunkten (4, 12, 24, 48 h) wurde eine Peritoneallavage durchgeführt und die Differenzierung der Leukozyten, die Phagozytose apoptotischer PMN und die Ly6C-Expression mittels Durchflusszytometrie (FACS) untersucht. Die Differenzierung wurde ebenfalls nach funktioneller Blockade mithilfe eines

Plexin C1-Antikörpers bestimmt. Weiterhin wurde ein Protein Microarray zur Untersuchung spezifischer intrazellulärer Pathways in peritonealen Makrophagen durchgeführt. Außerdem wurden die SPM mittels HPLC-MS/MS gemessen. Weiterhin wurden die Plexin C1-Spiegel bei einem pädiatrischen Patientenkollektiv mit abdomineller Hypertonie und abdominellem Kompartmentsyndrom untersucht. Die statistische Auswertung erfolgte mit Student's t-test oder einfaktorieller ANOVA mit anschließender Korrektur nach Bonferroni.

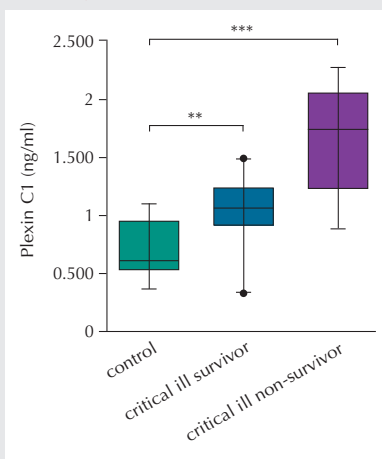
#### Ergebnisse

In vitro führte die Plexin C1-Blockade zu einer vermehrten Transkription spezifischer „find me“-Signale, wohingegen die „find me“- und „eat me“-Rezeptoren auf Makrophagen reprimiert waren. Des Weiteren führte die Stimulation mit einem Plexin C1-Antikörper zu einer signifikant erniedrigten Phagozytose. In vivo führte der Knock-out von Plexin C1 initial zu einer reduzierten Leukozytenzahl und einer Reduktion der PMN, während der Resolutionsphase hingegen zu einer erhöhten Leukozytenzahl und einer erhöhten Anzahl PMN sowie zu einer erniedrigten Phagozytose apoptotischer PMN. Es zeigte sich initial eine Aktivierung von M2-Makrophagen durch mTOR- und Akt-Signalwege in Plexin C1-KO-Tieren, 12 h nach Induktion der Inflammation konnte hier ein konträrer Effekt festgestellt werden. Die Plexin C1-Expression war 4 h nach Zymosan A-Injektion in den Ly6C<sup>hi</sup>- im Vergleich zu den Ly6C<sup>lo</sup>-Monozyten vermindert, 12 h nach Induktion war der Effekt auch hier konträr. Bei den SPM zeigten sich erniedrigte Konzentrationen in den KO-Tieren, dabei unter anderem der EPA-Metabolite 15- und 18-HEPE sowie der DHA-Metabolite Maresin 1 und Protectin DX. Bei einer observationellen klinischen Studie mit 41 pädiatrischen Patienten war die Plexin C1-Konzentration bei Patienten mit AKS im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht und korrelierte mit einem erhöhten PRISM-Score sowie Laborparametern wie S-CRP und Bilirubin.

#### Interpretation

Der Knock-out von Plexin C1 führt initial zu einer verminderten Einwanderung von Leukozyten, in der Resolutionsphase jedoch zu

Abbildung 1



Plexin C1-Konzentration bei pädiatrischen Intensivpatienten mit abdominellem Kompartmentsyndrom (n=12–18 pro Gruppe, \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001).

einer erhöhten Anzahl proinflammatorischer Monozyten und einer verminderten Phagozytose apoptotischer PMN. Außerdem ist die Bildung der SPM vermindert. Die Pathway-Analyse konnte einen Switch von einer initialen M2-Aktivierung in KO- hin zu WT-Zellen zeigen. Damit besitzt Plexin C1 initial eine proinflammatorische Funktion, im weiteren Verlauf wirkt es jedoch proresolutionär. Zusätzlich zeigen Patienten mit erhöhten Plexin C1-Spiegeln ein schlechteres Outcome mit einer erhöhten Mortalität (Abb. 1). Damit könnte Plexin C1 als potentieller Outcome-Marker künftig eine wichtige Rolle spielen.

#### Literatur

1. Serhan CN: Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*. 2014;510(7503):92–101
2. Schlegel M, Köhler D, Körner A, Granja T, Straub A, Giera M, et al: The neuroimmune guidance cue netrin-1 controls resolution programs and promotes liver regeneration. *Hepatology* 2016 May;63(5):1689–705
3. Körner A, Schlegel M, Theurer J, Frohnmeyer H, Adolph M, Heijink M, et al: Resolution of inflammation and sepsis survival are improved by dietary  $\Omega$ -3 fatty acids. *Cell Death Differ* 2018 Feb;25(2):421–431.

### Translationale Untersuchung zur Rolle des Macrophage Migration Inhibitory Factors als therapeutische Zielstruktur in der Behandlung des Multiorganversagens nach hämorrhagischem Schock

L. Martin<sup>1</sup> · N. Yamada<sup>2,3</sup> · L. Stiehler<sup>1</sup> · R. Halbgebauer<sup>4</sup> · M. Huber-Lang<sup>4</sup> · E. Zechendorf<sup>1</sup> · S. Krämer<sup>1</sup> · C. Stoppe<sup>1</sup> · J. Bickenbach<sup>1</sup> · C. Thiemermann<sup>2</sup> · G. Marx<sup>1</sup>

1 Klinik für Operative Intensivmedizin und Intermediate Care, Uniklinik RWTH Aachen

2 William Harvey Research Institute, Queen Mary University of London, UK

3 Advanced Critical Care Center, Gifu University, Gifu, Japan

4 Institut für Klinische und Experimentelle Trauma-Immunologie, Uniklinik Ulm

Korrespondenz: lmartin@ukaachen.de

#### Fragestellung

Das posttraumatische Multiorganversagen nach hämorrhagischem Schock (HS) ist mit einer ausgeprägten systemischen Inflamationsreaktion assoziiert und stellt eine häufige Todesursache des Krankheitsbildes dar [1]. Der Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) spielt als Modulator eine entscheidende Rolle in der Inflamationsreaktion [2]. (S,R)-3-(4-Hydroxyphenyl)-4,5-Dihydro-5-isoxazol-Essigsäuremethylester (ISO-1) bindet an die Tautomerase-Seite von MIF und hemmt spezifisch dessen Aktivität [3]. Die Rolle von MIF im HS-assoziierten Organversagen ist bisher ungeklärt. Ziel dieser translationalen Untersuchung war es, die Hypothese zu überprüfen, dass (i) MIF im Serum von Patienten mit Polytrauma erhöht vorliegt und (ii) die MIF-Inhibition in einem Rattenmodell des schweren HS zu einer Reduktion des Organversagens führt.

#### Methodik

Die Untersuchung gliederte sich in zwei Teile: (i) Nach Genehmigung (EK 94/14) wurden bei gesunden Probanden (n=5) und bei Patienten mit Polytrauma (Injury Severity Score  $\geq 25$ ; n=20) die MIF-Spiegel im Serum bei Eintreffen in der Notaufnahme sowie nach 8, 24, 48, 120 und 240 Stunden mittels ELISA quantifiziert. (ii) Nach Genehmigung (PPL:70/7348) wurde Wistar-Ratten (n=24) in Allgemeinanästhesie ein zentralvenöser Katheter (V.jug. int.) sowie ein arterieller Katheter (A. carotis) zur kontinuierlichen Aufzeichnung des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAD) implantiert. Die HS-Induktion erfolgte durch den druck-

kontrollierten Blutentzug (Ziel-MAD  $30 \pm 5$  mmHg) für 90 Minuten. Danach folgte die Reinfusion des Blutes sowie der gleichen Menge an Ringerlösung. Je nach Gruppe (n=8) erhielten die Tiere zu diesem Zeitpunkt ISO-1 (25 mg/kg i.v.) oder dessen Vehikel (Kontrolle, NaCl 0,9%). Scheinoperierte Tiere (Sham) erhielten keine HS-Induktion. Vier Stunden nach Reperfusion erfolgte die Bestimmung der Serumspiegel von Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Amylase, Lipase, Kreatinin, Laktat und Kreatinin-Clearance sowie der Aktivierung (Phosphorylierung) der I $\kappa$ B-Kinase- $\alpha$  (IKK $\alpha$ ) in der Leber und der Extracellular-Signal-Regulated Kinase (ERK) 1/2 in der Niere. Statistik: 1-way ANOVA und Bonferroni-Test oder repeated measures ANOVA; Signifikanzniveau  $p < 0,05$  (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung).

#### Ergebnisse

Patienten mit Polytrauma wiesen beim Eintreffen in die Notaufnahme signifikant erhöhte MIF-Serumspiegel im Vergleich zu gesunden Probanden auf, die während der 240-stündigen Beobachtungsdauer wieder signifikant abfielen (Abb. 1A;  $p < 0,0001$ ). Im Vergleich zu Sham-Tieren zeigten Tiere der Kontrollgruppe 4 Stunden nach Reperfusion einen signifikant niedrigeren MAD und einen signifikanten Anstieg der Serumspiegel von ALT, AST, Amylase, Lipase, Kreatinin, Laktat (Abb. 1B) sowie eine signifikante Abnahme der Kreatinin-Clearance (alle  $p < 0,01$ ). Tiere, die mit ISO-1 behandelt wurden, hatten hingegen einen signifikant höheren MAD und signifikant niedrigere Serumspiegel von ALT, AST, Amy-

lase, Lipase, Kreatinin, Laktat (Abb. 1B) sowie eine signifikant höhere Kreatinin-Clearance im Vergleich zur Kontrollgruppe (alle  $p < 0,01$ ). Im Vergleich zur Sham-Gruppe kam es in der Kontrollgruppe zu einer erhöhten Phosphorylierung von IKK $\alpha$  in der Leber sowie von ERK 1/2 in der Niere. Die Therapie mit ISO-1 hingegen resultierte in keiner erhöhten Phosphorylierung von IKK $\alpha$  in der Leber und ERK1/2 in der Niere im Vergleich zur Sham-Gruppe.

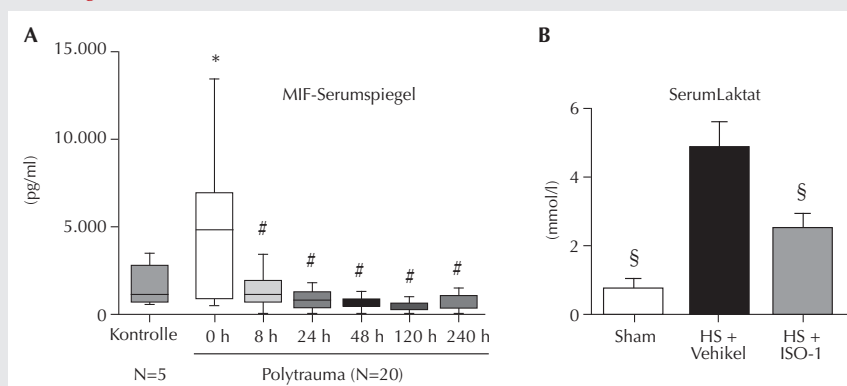
#### Interpretation

Patienten mit Polytrauma weisen bei Aufnahme in die Notaufnahme erhöhte MIF-Serumspiegel auf. Die MIF-Inhibition reduziert in einem Rattenmodell des schweren HS den Organschaden und ist mit einer reduzierten Aktivierung des IKK $\alpha$ -Signalwegs in der Leber und des ERK-Signalwegs in der Niere assoziiert. MIF könnte somit eine therapeutische Zielstruktur zur Therapie/Prävention des HS-assoziierten Multiorganversagens darstellen.

#### Literatur

1. Sauaia A, Moore EE, Johnson CL, Chin TL, Banerjee A, Sperry JL, et al: Temporal trends of postinjury multiple-organ failure. J Trauma Acute Care Surg 2014;76:582–592
2. Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, Pugin J, Metz CN, Hültner L, et al: Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. Nat Med 2000;6:164–170
3. Al-Abed Y, Dabideen D, Aljabari B, Valster A, Messmer D, Ochani M, et al: ISO-1 Binding to the Tautomerase Active Site of MIF Inhibits Its Pro-inflammatory Activity and Increases Survival in Severe Sepsis. J Biol Chem 2005; 280:36541–36544.

Abbildung 1



(A) MIF-Serumspiegel bei gesunden Probanden (n=5; Kontrolle) und Patienten mit Polytrauma (n=20) bei Eintreffen in der Notaufnahme sowie nach 8, 24, 48, 120 und 240 Stunden; (B) Laktatspiegel im Serum von Ratten mit schwerem hämorrhagischem Schock (HS; n=8 je Gruppe); \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle; #  $p < 0,05$  vs. Eintreffen in der Notaufnahme; §  $p < 0,05$  vs. HS + Vehikel.

### HMGB-1 induziert den Zellzyklusarrest in renalen Tubulusepithelzellen und reduziert die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung

M. Meersch · J. Rossaint · A. Margraf · M. Küllmar · A. Cappenberg · H. Block · A. Zarbock

Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Münster

**Korrespondenz:** meersch@uni-muenster.de

#### Fragestellung

Die akute Nierenschädigung (AKI) ist eine schwerwiegende Komplikation nach herzchirurgischen Eingriffen mit erheblichen Auswirkungen auf die Morbidität und Letalität [1]. Es konnte in einer multizentrischen Studie gezeigt werden, dass die entfernte ischämische Präkonditionierung (RIPC) bei Hochrisiko-Patienten die Rate an AKI signifikant reduziert [2]. RIPC führte vor der Operation zu einem transienten Anstieg der Zellzyklus-Arrest Marker Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2 (TIMP-2) und Insulin-like Growth Factor-Binding Protein 7 (IGFBP7). Diese transiente Erhöhung der Marker war mit einer signifikanten Reduktion der AKI Rate assoziiert. Gleichzeitig zeigte sich eine signifikante Erhöhung des endogenen Alarmins high mobility group box (HMGB)-1 im Urin von Patienten nach RIPC [2]. In tierexperimentellen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Applikation von rekombinantem HMGB-1 die AKI nach renaler Ischämie-Reperfusion (IRI) verhindert [3]. Die primäre Hypothese dieser Studie ist, dass RIPC zu einer Ausschüttung von HMGB-1 führt, welches glomerulär filtriert wird und dann im Tubulusepithel einen transienten Zellzyklus-Arrest induziert, welcher die Niere vor dem nachfolgenden Schaden schützt. Um diese Hypothese zu überprüfen und den genauen molekularen Mechanismus der renalen Protektion von RIPC zu evaluieren, wurden in einem IRI-Modell an der Maus der Effekt von RIPC und die Rolle von HMGB-1 untersucht.

#### Methodik

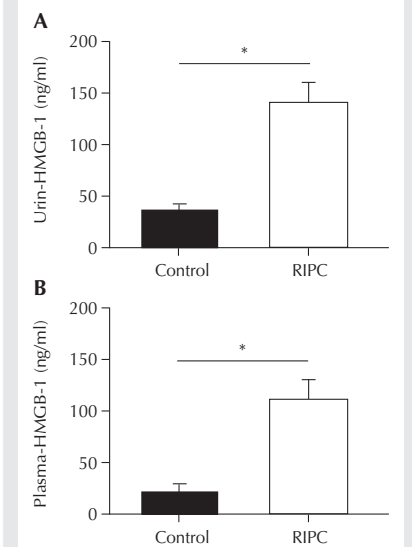
Alle hier aufgeführten Tierversuche wurden von der Tierschutzkommission genehmigt. Wildtyp-Mäuse (C57Bl/6) wurden mit intraperitonealer Ketamin- und Xylazin-Gabe anästhesiert. Nach Narkoseinduktion erhielten die Mäuse 3 Zyklen einer 5-minütigen RIPC

durch Aufpumpen einer Blutdruckmanschette an der hinteren Extremität auf 200 mmHg (Ischämie), gefolgt von 5-minütiger Cuff-Deflation (Reperfusion). In der Kontrollgruppe erfolgte eine Pseudo-Ischämie durch Cuff-Inflation auf 20 mmHg. Die Induktion des IRI erfolgte durch chirurgische Inzision und Abklemmen beider Nierenhilf für 32 Minuten mit Hilfe von hämostatischen Mikroclips. Mäuse der Sham-Gruppe erhielten einen identischen operativen Eingriff, jedoch ohne Abklemmen der Nierenhilf. Die Untersuchungen erfolgten mittels Durchflusszytometrie und ELISAs. Die statistischen Analysen wurden mittels ANOVA und nicht-parametrischem Scheffle-Test oder Mann-Whitney-U-Test durchgeführt.

#### Ergebnisse

Die Induktion des IRI führte im Vergleich zur Sham-Operation zur Entwicklung einer AKI ( $n=4$ ;  $p<0.05$ ). Dies konnte sowohl durch eine signifikante Erhöhung des Serumkreatinins ( $1,09\pm0,09$  vs.  $0,15\pm0,04$  mg/dl;  $p<0.05$ ) als auch durch die Rekrutierung neutrophiler Granulozyten ( $4,6\pm10^6\pm6,3\pm10^5$  vs.  $4,1\pm10^5\pm1,3\pm10^5$  PMNs/g Niere;  $p<0.05$ ) in die Nieren gezeigt werden. Die RIPC der hinteren Extremität vor Induktion des IRI reduzierte signifikant die Rekrutierung neutrophiler Granulozyten in die Niere ( $2,9\pm10^6\pm5,3\pm10^5$  vs.  $4,6\pm10^6\pm6,3\pm10^5$  PMNs/g Niere;  $n=4$ ;  $p<0.05$ ) und die Serumkreatinin-Konzentration ( $0,69\pm0,06$  vs.  $1,09\pm0,09$  mg/dl;  $n=4$ ;  $p<0.05$ ) und führte somit zu einer reduzierten Rate an AKI. RIPC zeigte, wie bereits zuvor in der klinischen Studie, auch im Mausmodell eine signifikante Erhöhung der HMGB-1 Konzentration sowohl im Urin ( $35,5\pm7,1$  vs.  $141,0\pm20,4$  ng/ml;  $n=6$ ;  $p<0.05$ ) als auch im Plasma ( $20,5\pm6,9$  vs.  $112,5\pm17,8$  ng/ml;  $n=6$ ;  $p<0.05$ ) (Abb. 1). Die alleinige Gabe von rekombinantem HMGB-1 vor Induktion der renalen IRI führte zu einer Reduktion der AKI im In-vivo-Modell (Neutrophile:  $2,7\pm10^6\pm5,0\pm10^5$  vs.  $5,2\pm10^6\pm7,9\pm10^5$  PMNs/g Niere;  $n=4$ ;  $p<0.05$ ; Serum-Kreatinin:  $0,71\pm0,11$  vs.  $1,06\pm0,11$ ;  $n=4$ ;  $p<0.05$ ). In vitro induzierte die Zugabe von rekombinantem HMGB-1 zu renalen Tubulusepithelzellen (IHKE1-Zellen) einen Zellzyklus-Arrest der Tubulusepithelzellen. Eine pharmakologische Blockade des Toll-Like-Rezeptors 4 (TLR4), einem Rezeptor für HMGB-1, hob den protektiven Effekt von RIPC in vivo vollständig auf. Dies zeigte sich durch unver-

Abbildung 1



HMGB-1-Konzentration in Mäusen nach RIPC  
A) im Urin, B) im Plasma ( $n=6$ ;  $*=p<0.05$ ).

änderte Neutrophilen- ( $5,2\pm10^6\pm7,9\pm10^5$  vs.  $6,2\pm10^6\pm7,6\pm10^5$  PMNs/g Niere,  $n=4$ ;  $p>0.05$ ) und Serum-Kreatinin-Konzentrationen ( $1,06\pm0,10$  vs.  $1,22\pm0,15$  mg/dl;  $n=4$ ;  $p>0.05$ ) in der Kontroll- und der Interventionsgruppe.

#### Interpretation

Die Ergebnisse zeigen, dass RIPC über eine Freisetzung von HMGB-1 einen transienten Zellzyklusarrest induziert und somit die Niere vor einem nachfolgenden Ischämie-Reperfusionsschaden schützt.

#### Literatur

1. Hu J, et al: Global Incidence and Outcomes of Adult Patients With Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Cardiothorac Vasc Anesth 2016;30(1):82–89
2. 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;313:2133–2141
3. Wu H, et al: Preconditioning with recombinant high-mobility group box 1 protein protects the kidney against ischemia-reperfusion injury in mice. Kidney Int 2014;85(4):824–832.



### Defizienz des aktiven Glukosetransportes SGLT-2 vermindert über eine Verringerung der Aktivierbarkeit der Thrombozyten den sekundären Hirnschaden nach Schädelhirntrauma im Mausmodell

S. Meyer<sup>1</sup> · C. Gözl<sup>2</sup> · A. Sebastiani<sup>1</sup> · T. Hirnet<sup>1</sup> · W. Song<sup>1</sup> · C.C. Förster<sup>2</sup> · H. Koepsell<sup>3</sup> · K. Jurk<sup>4</sup> · S.C. Thal<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie, Universitätsmedizin Mainz

<sup>2</sup> Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Würzburg

<sup>3</sup> Institut für Anatomie und Zellbiologie, Universität Würzburg

<sup>4</sup> Centrum für Thrombose und Hämostase, Universitätsmedizin Mainz

Korrespondenz: simonmey@uni-mainz.de

#### Fragestellung

Glukose ist als Substrat der oxidativen Phosphorylierung für Zellen von zentraler Bedeutung. Der Natrium-abhängige Glukose-Transporter (SGLT)-1 konnte im Gehirn in relevanten Mengen nachgewiesen werden, während SGLT-2 nur in geringsten Mengen im Mischgewebe des Gehirns vorhanden ist [1]. In Blutzellen ist SGLT-2 nachweisbar. SGLT-2-Inhibitoren bewirken in diabetischen Ratten eine Hemmung der Thrombozytenfunktion [2]. Wir postulieren, dass eine aktive Glukoseaufnahme für die Thrombozytenfunktion essentiell ist. Da die Blutgerinnung ein entscheidender Faktor für die Entstehung einer Läsion nach Schädelhirntrauma (SHT) ist [3], untersuchen wir in der vorliegenden Arbeit, ob eine genetische Defizienz für SGLT-2 die Aktivierbarkeit der Thrombozyten verändert und den sekundären Hirnschaden und die neurologische Funktion nach SHT beeinflusst.

#### Methodik

Nach Genehmigung durch das Landesuntersuchungsamt induzierten wir in randomisierten und verblindeten Versuchen ein experimentelles SHT mit dem Controlled Cortical Impact Modell (CCI). In einer Zeitreihenuntersuchung an C57/Bl6N-Mäusen wurde die Analyse der Veränderungen des histopathologischen Hirnschadens und der thrombozytären Gerinnung 0, 1, 3, 6 und 24 Stunden (h) nach CCI durchgeführt. Untersuchungen der thrombozytären Gerinnung erfolgten in nativen

und CCI-operierten SGLT-2-defizienten Mäusen und Wildtyp-Geschwistertieren (WT) mittels Multiplate®-Analyse (n=4–6 pro Gruppe). Der Einfluss auf Hirnläsionsvolumen (n=11 pro Gruppe) und neurofunktionelle Erholung erfolgte nach 1 und 5 Tagen (d). Statistik: Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung, T-Test, One-way-ANOVA bei multiplem Testen und Korrektur nach Tukey.

#### Ergebnisse

Bereits 6 h nach CCI kann eine Gerinnungsaktivierung mit Gerinnselbildung im periläsionalen Kortex immunhistochemisch sowie eine gesteigerte thrombozytäre Aktivierung in der Multiplate®-Analyse (ADP-Test nativ vs. 6 h post CCI 127,8±5,7 s vs. 163,3±9,0 s) gezeigt werden. Das Schadensvolumen 24 h (Abb. 1) und 5 Tage nach Insult ist in den SGLT-2-defizienten (KO-)Tieren im Vergleich zum WT signifikant erniedrigt und die Tiere zeigen signifikant geringere neurofunktionelle Ausfälle. In nativen Mäusen ist die thrombozytäre Gerinnung (PAR-4-Test: WT 48±4,5 AU\*min vs. KO 53,6±4,7 AU\*min) in SGLT-2-defizienten Tieren nicht beeinflusst, während nach Trauma die Gerinnungsaktivierbarkeit im PAR-4-Test in SGLT-2-KO-Tieren signifikant niedriger ist (WT 92,6±6,2 AU\*min vs. KO 61,5±7,42 AU\*min; p=0,0121), obwohl SGLT-2-KO-Tiere in der Blutbildanalyse signifikant höhere Thrombozytenzahlen aufweisen.

#### Interpretation

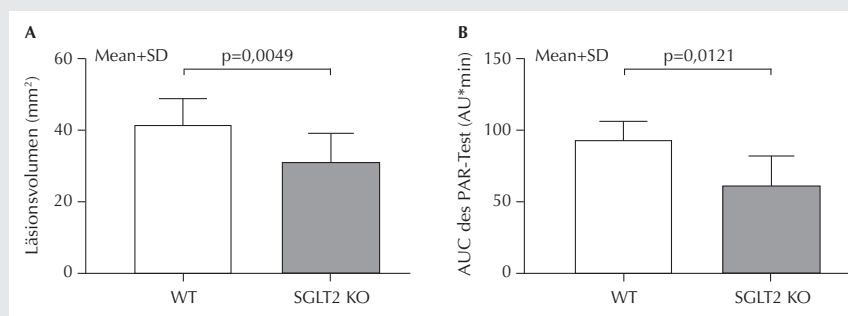
Das CCI bewirkt eine vermehrte Aktivierbarkeit der Thrombozyten in Vollblut mit Punctum maximum 6 h post CCI. Diese Aktivie-

rung der Gerinnung ist in SGLT-2-defizienten Tieren signifikant geringer ausgeprägt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der aktive Glukosetransport für eine maximale Aktivierung von Thrombozyten über den PAR-4-Weg essentiell ist. SGLT-2-defiziente Tiere zeigen somit nach Trauma eine reduzierte Gerinnungsfunktion. SGLT-2-Defizienz geht mit einem verringerten Läsionsvolumen und verbesserter Funktionalität nach CCI einher. Die Inhibition von SGLT-2 könnte somit einen interessanten Mechanismus darstellen, um nicht nur den Diabetes mellitus zu therapieren, sondern auch sekundäre Schädigungen nach akuten traumatischen und ischämischen Hirninsulten über eine Verringerung der maximalen Aktivierbarkeit der Gerinnung zu begrenzen.

#### Literatur

1. Sabolic I, Vrhovac I, Erer DB, Gerasimova M, Rose M, Breljak D, et al: Expression of Na<sup>+</sup>-D-glucose cotransporter SGLT2 in rodents is kidney-specific and exhibits sex and species differences. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012;302(8):C1174–1188
2. Steven S, Oelze M, Hanf A, Kroll-Schon S, Kashani F, Roohani S, et al: The SGLT2 inhibitor empagliflozin improves the primary diabetic complications in ZDF rats. *Redox biology* 2017;13:370–385
3. Herbert JP, Guillotte AR, Hammer RD, Litofsky NS: Coagulopathy in the Setting of Mild Traumatic Brain Injury: Truths and Consequences. Gurley JM, Greenwald BD, eds. *Brain Sciences* 2017;7(7):92. doi:10.3390/brainsci7070092.

Abbildung 1



A) Schadensvolumen 24 h post CCI

B) Fläche unter der Kurve des PAR-4-Tests 6 h post CCI zur Kontrolle der Thrombozytenaktivierbarkeit.







### Mukosal induzierte miRNA-147-Expression mildert die Inflammation im murinen akuten Lungenversagen durch Inhibition von Ticam2

V. Neudecker<sup>1</sup> · X. Yuan<sup>2</sup> · K.S. Brodsky<sup>3</sup> · H.K. Eltzschig<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Department of Anesthesiology McGovern Medical School, University of Texas Health Science Center at Houston, TX, USA

<sup>3</sup> Department of Medicine, Division of Cardiology, University of Colorado Denver, USA

#### Korrespondenz:

v.b.neudecker@gmail.com

#### Fragestellung

Das akute Lungenversagen (acute respiratory distress syndrome, ARDS) geht noch immer mit einer hohen Letalität einher. Aufgrund mangelnder erfolgreicher Behandlungsstrategien besteht großes Interesse an neuen Therapieansätzen. MicroRNAs (miRNAs), kurze, nichtproteinokodierende RNA Moleküle, sind ganz wesentlich in die Regulation der Genexpression während der akuten Inflammation involviert [1–3]. Vorausgegangene Studien zeigten, dass es während des ARDS zu einer Stabilisierung von Hypoxia Inducible Factor 1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) in Alveolarepithelzellen (AT II) kommt und dass insbesondere die mukosale HIF1 $\alpha$  Stabilisierung im ARDS schützt. Wir stellten daher die Hypothese auf, dass diese protektive Wirkung von HIF1 $\alpha$  im akuten Lungenversagen durch mukosal induzierte miRNAs vermittelt wird, die regulatorisch im NF $\kappa$ B Pathway agieren.

#### Methodik

Als klinisch relevantes In-vivo-Modell diente das murine ARDS-Modell des Ventilator-

induzierten Lungenschadens (VILI). Die Interventions- und Kontrollgruppen waren hinsichtlich Alter, Geschlecht und Gewicht angeglichen. Es wurden Wildtyp (WT)-sowie Mäuse mit HIF1 $\alpha$ -defizienten Alveolarepithelzellen (HIF1 $\alpha$ <sup>fl/fl</sup> Spc<sup>Cre</sup>) und Ticam2-defiziente (Ticam2<sup>-/-</sup>) Mäuse verwendet. Zur In-vivo-Inhibition von miR-147 wurden Mäusen Locked Nucleic Acids (3x100  $\mu$ l LNAs) intratracheal appliziert. Alle Tierversuche waren offiziell genehmigt. Als In-vitro-Modell diente das zyklische Dehnen humaner Lungeneithelzellen mittels FlexCell-Stretch-Gerät. Die In-vitro-Überexpression von miR-147 sowie die Repression von HIF1 $\alpha$  und Ticam2 erfolgten mittels lentiviraler Transduktion humaner Lungeneithelzellen. Zur Identifikation relevanter miRNAs während VILI sowie zur Identifikation möglicher Zielgene wurden PCR-Arrays verwendet. Änderungen der Genexpression auf transkriptioneller Ebene wurden mittels qRT-PCR und auf Proteinebene mittels Western Blot bzw. ELISA bestimmt. Mittels t-Test oder ANOVA ermittelte Unterschiede galten mit einem p-Wert  $\leq 0,05$  als statistisch signifikant.

#### Ergebnisse

Die Induktion eines murinen ARDS mittels mechanischer Ventilation (VILI) identifizierte 6 miRNAs, die eine mehr als 10-fach gesteigerte pulmonale Expression aufwiesen. Unter diesen miRNAs war nur miR-147 durch Hypoxie induzierbar. Die Expressionsanalyse von miR-147 in murinen Alveolarepithelzellen (AT II) zeigte eine signifikante Induktion nach VILI (Abb. 1A, N=4, p=0,025). Mäuse mit AT II-spezifischer HIF1 $\alpha$  Defizienz (Hif1 $\alpha$ <sup>fl/fl</sup> Spc<sup>Cre</sup>) zeigten nach VILI im Vergleich zu Wildtyp (WT)-Mäusen eine geringere miR-147-Expression. In vitro führte das zyklische Dehnen humaner Lungeneithelzellen zu einer rapiden signifikanten Induktion von miR-147,

die in HIF1 $\alpha$ -defizienten Lungeneithelzellen (Hif-1 $\alpha$  KD) ausblieb (Abb. 1B N=3, p=0,013). Die miR-147-Überexpression in humanen Lungeneithelzellen während des Dehnens führte zu einer Reduktion der Inflammationsmarker NF $\kappa$ B-Aktivität und IL-6 mRNA. Wir identifizierten Ticam2 als potientes Zielgen der miR-147. Genexpressionsanalysen sowie Luziferaseassays bestätigten die direkte Regulation von Ticam2 durch die miR-147. In vivo führte die miR-147 Inhibition zu einer signifikant höheren Albuminleckage nach VILI, wohingegen die Ticam2<sup>-/-</sup>-Mäuse im ARDS geschützt waren (Abb. 1C, N=6, p=0,003; 1D N=8, p=0,045).

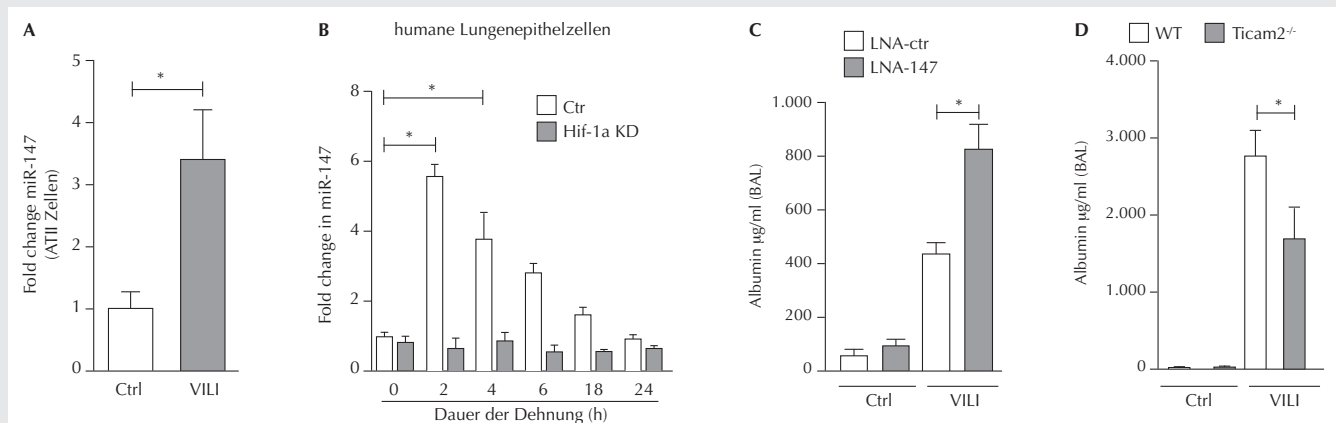
#### Interpretation

Die Inhibition von Ticam2 durch miR-147 führt zu einer verminderten pulmonalen Inflammation und weniger Lungenödem. Zusammengefasst implizieren die Ergebnisse unserer Studien eine therapeutische Option von miR-147 im ARDS.

#### Literatur

1. Neudecker V, Haneklaus M, Jensen O, Khailova L, Masterson JC, Tye H, et al: Myeloid-derived miR-223 regulates intestinal inflammation via repression of the NLRP3 inflammasome. J Exp Med 2017; 214(6):1737–1752
2. Neudecker V, Brodsky KS, Clambey ET, Schmidt EP, Packard TA, Davenport B, et al: Neutrophil transfer of miR-223 to lung epithelial cells dampens acute lung injury in mice. Sci Transl Med 2017;9(408):eaah5360
3. Neudecker V, Brodsky KS, Kreth S, Ginde AA, Eltzschig HK: Emerging Roles for MicroRNAs in Perioperative Medicine. Anesthesiology 2017;124(2):489–506.

Abbildung 1



A Murine alveolarepitheliale miR-147-Expression nach VILI. B miR-147-Expression in humanen Lungeneithelzellen (Ctrl) und in HIF1 $\alpha$ -defizienten Lungeneithelzellen (Hif-1 $\alpha$  KD) nach zyklischer Dehnung. C-D Albuminkonzentration in bronchoalveolärer Lavage (BAL) nach VILI in (C) LNA-behandelten und in (D) Ticam2<sup>-/-</sup>-Mäusen.

### Die CX<sub>3</sub>CR1-Deletion führt im Mausmodell zur Rezeptor-interagierenden Proteinkinase (RIPK)-abhängigen pulmonalen Hyperinflammation

K.C. Ngamsri · J. Gamper-Tsigaras · F.M. Konrad

Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen

#### Korrespondenz:

franziska.konrad@uni-tuebingen.de

#### Fragestellung

Das akute Lungenversagen (ARDS, Acute Respiratory Distress Syndrome) stellt die Intensivmedizin weiterhin vor enorme Herausforderungen, da trotz jahrzehntelanger Forschung immer noch keine kausalen Therapiemöglichkeiten zur Verfügung stehen und somit die Letalität unverändert hoch bleibt. Ein zentraler Pathomechanismus ist die Einwanderung neutrophiler Granulozyten (PMNs) und deren Clearance im Verlauf. Vorarbeiten zeigen, dass das Chemokin Fraktalkin (CX<sub>3</sub>CL1) und sein Rezeptor (CX<sub>3</sub>CR1) bei der Clearance apoptotischer Zellen eine wichtige Rolle spielen [1]. Hierbei ist die Rolle der CX<sub>3</sub>CL1-CX<sub>3</sub>CR1-Achse in der LPS-bedingten pulmonalen Inflammation bisher unzureichend geklärt [2,3].

#### Methodik

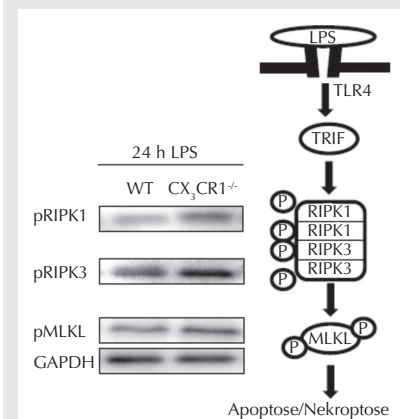
Die Tierversuchsgenehmigung des zuständigen Regierungspräsidiums liegt vor. In vivo wurde in einem LPS-bedingten Mausmodell der pulmonalen Inflammation der PMN-Influx mittels Durchflusszytometrie in allen drei Lungenkompartimenten (intravaskulär, interstitiell und intraalveolär) bei Wildtyp (WT, C57BL/6- und CX<sub>3</sub>CR1-gendefizienten (CX<sub>3</sub>CR1<sup>-/-</sup>) Tieren bestimmt und der Anteil der apoptotischen PMNs in der Lunge quantifiziert. In vitro wurde der Einfluss von CX<sub>3</sub>CR1 auf die Clearance humaner PMNs durch MM6-Zellen (Monozyten-Makrophagen Zelllinie) mittels pharmakologischer Blockade (anti-human CX<sub>3</sub>CR1, TP502, Torrey Pines Biolabs) oder durch Gen-Silencing (CX<sub>3</sub>CR1 siRNA, sc-39904, Santa cruz) evaluiert. Die

Expression und Freisetzung inflammatorischer Chemokine wurde mit RT-PCR und ELISA detektiert. In vivo und in vitro wurde durch das LPS die TLR4-bedingte Aktivität von intrazellulären Transduktionsproteinen, die mit dem Nekrosom-Komplex assoziiert sind, mittels RT-PCR und Western Blot-Analysen untersucht. Der Nekrosom-Komplex besteht aus den phosphorylierten Serin/Threonin-Kinasen RIPK1, RIPK3 und der dadurch aktivierten MLKL-Pseudokinase. Die Interaktion dieser intrazellulären Signalproteine entscheidet darüber, ob eine Zelle überlebt oder in die Apoptose bzw. Nekroptose übergeht. Die statistische Auswertung erfolgte bei 2 unabhängigen Stichproben mittels t-Test und bei >2 Stichproben mittels einfaktorieller Varianzanalyse + Bonferroni-Korrektur.

#### Ergebnisse

In vivo führt die LPS-bedingte pulmonale Inflammation bei CX<sub>3</sub>CR1<sup>-/-</sup> gegenüber den WT-Tieren zu einer signifikant gesteigerten PMN-Infiltration im Interstitium der Lunge und in der BAL (IS WT:  $1,6 \times 10^6 \pm 0,1 \times 10^6$  vs. CX<sub>3</sub>CR1  $2,7 \times 10^6 \pm 0,9 \times 10^6$ ;  $p < 0,05$ ; BAL  $1,5 \times 10^6 \pm 0,4 \times 10^6$  vs.  $3,0 \times 10^6 \pm 0,3 \times 10^6$ ;  $p < 0,05$ ;  $n=8$ ; Mittelwerte  $\pm$  SD). Die Expression und die Freisetzung von inflammatorischen Zytokinen (TNF $\alpha$  und IL6) und Chemokinen (CXCL1, CXCL2/3) war in der BAL von CX<sub>3</sub>CR1<sup>-/-</sup> gegenüber den WT-Tieren ebenfalls signifikant erhöht. Des Weiteren war bei den CX<sub>3</sub>CR1<sup>-/-</sup>-Tieren ein signifikant höherer Anteil an apoptotischen PMNs im Interstitium gegenüber den WT-Tieren zu beobachten. Eine deutliche Steigerung der Phosphorylierung von RIPK1, RIPK3 und MLKL im Lungengewebe von CX<sub>3</sub>CR1<sup>-/-</sup>-Tieren im Vergleich zu den WT-Tieren konnte in Western Blots detektiert werden (Abb. 1). In vitro führten die pharmakologische Blockade und das Gen-Silencing des CX<sub>3</sub>CR1 von MM6-Zellen zu einer reduzierten PMN-Clearance. Immunofluoreszenz-Färbungen von apoptotischen PMNs zeigten gegenüber nicht-apoptotischen PMNs eine gesteigerte Expression von RIPK1 (MFI:  $3198 \pm 122$  vs.  $1408 \pm 200$ ,  $p < 0,001$ ,  $n=6$ ), RIPK3 (MFI:  $6585 \pm 922$  vs.  $2164 \pm 495$ ;  $p < 0,001$ ,  $n=8$ ) und MLKL (MFI:  $5425 \pm 1224$  vs.  $954 \pm 278$ ,  $p < 0,05$ ;  $n=8$ ).

Abbildung 1



Western Blot-Bestimmungen der Nekrosom-assoziierten Proteinkinasen RIPK1, RIPK3 und MLKL im Lungengewebe von WT- und CX<sub>3</sub>CR1<sup>-/-</sup>-Tieren 24 Stunden nach LPS-Stimulation. Darstellung repräsentativer Blots aus 3 unabhängigen Versuchen;  $n=4$ .

#### Interpretation

Eine CX<sub>3</sub>CR1-Deletion führt in der LPS-bedingten pulmonalen Inflammation gegenüber den WT-Tieren zu einer unzureichenden Clearance apoptotischer Zellen. Das resultiert in einer Exazerbation der Inflammation durch eine gesteigerte Aktivierung des intrazellulären Nekrosom-Komplexes und mündet in einem gesteigerten Influx von PMNs und erhöhter Freisetzung inflammatorischer Chemokine.

#### Literatur

1. Pasparakis M, Vandenabeele P: Necroptosis and its role in inflammation. *Nature* 2015;517:311–320
2. Lionakis MS, Swamydas M, Fischer BG, Plantinga TS, Johnson MD, Jaeger M, et al: CX<sub>3</sub>CR1-dependent renal macrophage survival promotes Candida control and host survival. *J Clin Invest* 2013; 123:5035–5051
3. Najjar M, Saleh D, Zelic M, Nogusa S, Shah S, Tai A, et al: RIPK1 and RIPK3 Kinases Promote Cell-Death-Independent Inflammation by Toll-like Receptor 4. *Immunity* 2016;45:46–59.

### NaV1.9-abhängige Induktion von Kalziumtransienten und Aktionspotentialen durch oxidierte Phospholipide unter Entzündungsbedingungen in Spinalwurzelganglion-Neuronen der Maus

B. Oehler<sup>1,2</sup> · C. Martin<sup>2</sup> · J. Hugo<sup>1,2</sup> ·  
M. Mohammadi<sup>1</sup> · N. Roewer<sup>1</sup> · A. Brack<sup>1</sup> ·  
R. Blum<sup>2</sup> · H.L. Rittner<sup>1</sup>

1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie  
2 Institut für Klinische Neurobiologie  
Universitätsklinikum Würzburg

**Korrespondenz:** Oehler\_B@ukw.de

#### Fragestellung

Während einer Entzündung entstehen oxidierte Phospholipide wie oxidiertes 1-palmitoyl-2-arachidonyl-sn-glycero-3-phosphocholine (OxPAPC), eine Mischung aus verschiedenen oxidierten Phosphocholinen, die „transient receptor potential“ (TRP)-Kanal-vermittelte Hyperalgesie in Mäusen und Ratten induzieren [1]. Ein weniger reaktives, verzweigtes Endprodukt des OxPAPC ist 1-palmitoyl-2-glutaryl-sn-glycero-3-phosphocholine (PGPC), das den „transient receptor potential ankyrin 1“ (TRPA1)-Kanal aktiviert [1]. Wichtiger Bestandteil der Transduktion und Transmission von Schmerzsignalen sind span-

nungsabhängige Natriumkanäle. Der Subtyp NaV1.9 ist durch eine unterschwellige, zell-autonome Aktivität sowie eine langsame Öffnungskinetik gekennzeichnet [2,3]. In dieser Studie wurde untersucht, welchen Einfluss NaV1.9 auf die Aktivierbarkeit von Neuronen durch PGPC unter Entzündungsbedingungen hat.

#### Methodik

Einzelzellkalziummessungen an kultivierten Spinalwurzelganglien (dorsal root ganglion (DRG))-Neuronen von adulten Mäusen wurden in Fura-2- und Oregon Green 488/BAPTA-1-basierten Experimenten mit einer Aufnahme-frequenz von 0.5 Hz beziehungsweise 5 Hz durchgeführt. In elektrophysiologischen Messungen im „current clamp“-Modus wurden in den DRG-Neuronen Aktionspotentiale gemessen. Zur statistischen Analyse wurden eine Ein- oder Zwei-Wege-ANOVA post hoc Holm-Šidák mit OriginPro 2017 durchgeführt.

#### Ergebnisse

Mittels schneller, Oregon Green-basierter Kalziummessungen können Spontanerregungen in DRG-Neuronen dargestellt werden. Nach langanhaltender Stimulation sowie nach Impulsapplikation erhöht PGPC signifikant die intrazelluläre Kalziumkonzentration in kultivierten DRG-Neuronen von Wildtyp-

und von NaV1.9 KO-Mäusen. Verschiedene Arten von Kalziumtransienten waren in den DRG-Neuronen messbar (Abb. 1A). Aufgrund der besonderen Rolle von NaV1.9 unter Entzündungsbedingungen wurden anschließend die Kalziumtransienten sowie Aktionspotentiale in sensorischen Neuronen in einem Gemisch aus pro-inflammatorischen Entzündungsmediatoren (inflammatory soup (IS): 5 nM Bradykinin, 100 nM Histamin, 50 nM Prostaglandin E2) untersucht (Abb. 1B). Nach 30-minütiger Vorinkubation der Neurone in dem Gemisch erhöhte sich die Frequenz der Kalziumtransienten nach Stimulation mit PGPC nur in WT-, nicht aber in DRG-Neuronen von NaV1.9 KO-Mäusen. Entsprechende DRG-Neurone, die nicht mit IS behandelt wurden, dienten als Kontrolle. Die Ergebnisse wurden in elektrophysiologischen Messungen bestätigt.

#### Interpretation

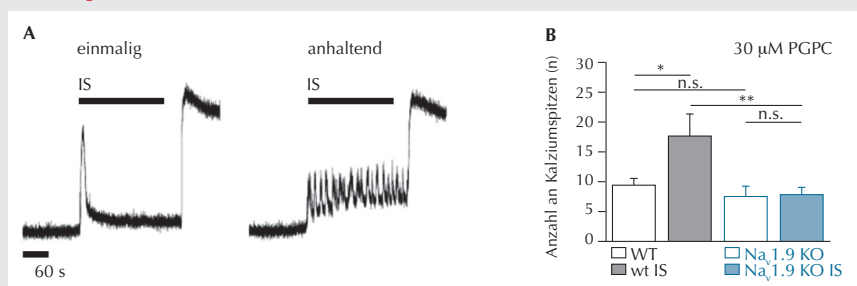
In vitro können spontane Kalziumtransienten, die Rückschlüsse auf ein Aktionspotential zulassen, in verschiedenen Kompartimenten von DRG-Neuronen durch schnelles Ca<sup>2+</sup>-Imaging dargestellt werden. Nach Vorinkubation in OxPAPC oder nach Applikation von PGPC werden verschiedene Formen von Kalziumtransienten in Anwesenheit von Entzündungsmediatoren in DRG-Neuronen registriert. Insbesondere im entzündlichen Milieu ist NaV1.9 ein wichtiger Schalter, der die PGPC-induzierte Aktivierung ermöglicht.

Gefördert durch das IZKF Würzburg (N-261), die Graduate School of Life Science (GSLs) und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG).

#### Literatur

- Oehler B, Kistner K, Martin C, Schiller J, Mayer R, Mohammadi M, et al: Inflammatory pain control by blocking oxidized phospholipid-mediated TRP channel activation. *Sci Rep* 2017;7(1):5447
- Dib-Hajj SD, Black JA, Waxman SG: NaV1.9: a sodium channel linked to human pain. *Nat Rev Neurosci* 2015;16(9):511–519
- Subramanian N, Wetzel A, Dombert B, Yadav P, Havlicek S, Jablonka S, et al: Role of Na(v)1.9 in activity-dependent axon growth in motoneurons. *Hum Mol Genet* 2012;21(16):3655–3667.

Abbildung 1



Kalziumspitzen in DRG-Neuronen von WT und NaV1.9 KO-Mäusen in Anwesenheit von Entzündungsmediatoren und oxidierten Phospholipiden.

**A** Beispiele von verschiedenen Oregon Green 488/BAPTA-1-basierten Kalziummessungen in WT-DRG-Neuronen nach Stimulation mit IS nach 24-stündiger Vorinkubation in OxPAPC (30 µM). Aufnahme-frequenz 5 Hz.

**B** Anzahl der Kalziumspitzen nach Stimulation von DRG-Neuronen aus WT- und NaV1.9 KO-Mäusen mit PGPC (30 µM) unter Standardmessbedingungen und nach Vorinkubation der Zellen in IS (WT n=37/20, NaV1.9 KO n=9/25, aus jeweils 5 Mäusen; Mittelwert ± SEM; Zwei-Wege-ANOVA, Holm-Šidák).

\* <0.05, \*\* <0.005



### Bestimmte präoperativ bestehende kognitive Leistungseinschränkungen prädisponieren für die Entwicklung eines postoperativen Delirs

C. Olotu<sup>1</sup> · A. Scherwarth<sup>2</sup> · J. Wiede<sup>3</sup> · J. Knothe<sup>1</sup> · I.O. Magnusson<sup>1</sup> · D. von Moers<sup>1</sup> · K. Vogt<sup>1</sup> · A. Guitan<sup>1</sup> · A. Assif<sup>1</sup> · K. Min<sup>1</sup> · L. Plümer<sup>1</sup> · R. Kieffmann<sup>1</sup>

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, UKE Hamburg
- 2 Institut und Poliklinik für Medizinische Psychologie, UKE Hamburg
- 3 Anästhesie und Schmerztherapie Klinikum Starnberg

#### Korrespondenz:

Email: c.olotu@uke.de

#### Fragestellung

Das postoperative Delir (POD) ist eine häufige Komplikation des älteren Patienten. Präoperativ bestehende kognitive Einschränkungen sind ein Hauptrisikofaktor für die Entstehung eines POD. In welchem Ausmaß dies jedoch der Fall ist, ist bislang nur wenig bekannt. Um zu untersuchen, inwiefern sich Patienten, die im späteren Verlauf ein POD entwickeln, bereits präoperativ in Hinblick auf kognitive Leistungsfähigkeit von denen unterscheiden, bei denen es nicht zu einem POD kommt, untersuchen wir 355 ältere Patienten einer ausführlichen neuropsychologischen Testung.

#### Methodik

In die Studie DelPOCD wurden Patienten mit einem Alter von  $\geq 60$  Jahren eingeschlossen, die sich einem elektiven kardiochirurgischen Eingriff am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf unterziehen mussten. Ausschlusskriterien waren u.a. Demenz, eine schwere kognitive Einschränkung (MMSE  $\geq 23$ ) sowie psychische Erkrankungen. Jeweils präoperativ sowie an 3 weiteren Zeitpunkten (7. Tag, 6 und 12 Monate postoperativ) wurde die kognitive Leistungsfähigkeit der Patienten mittels einer neuropsychologischen Testbatterie untersucht. Diese erfasst die Aufmerksamkeit (Psytest TAP mit Subtest Alertness, Subtest Go/Nogo, Subtest Inkompatibilität; Trail Making Test A+B (TMT-A, TMT-B)), Gedächtnis (Untertest „Zahlenspanne vorwärts und rückwärts“ des Wechsler-Gedächtnistest (WMS-R), verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT)) sowie Exekutivfunktionen (Subtest „Formallexikalischer und semantischer Kategorienwechsel“ des Regensburg Wortflüssigkeits-

Test (RWT)). Zusätzlich erfolgte die Erhebung von Depression und Angst (HADS). Ein Delirscreening wurde mit dem CAM-ICU in den ersten 5 postoperativen Tagen alle 8 h durchgeführt. Test-Rohwerte wurden mit dem Mittelwert der altersbezogenen Normwertprobe korreliert (z-Wert). Statistische Auswertung mittels SPSS: 2-faktorielle Varianzanalyse, Signifikanzniveau 0,05.

#### Ergebnisse

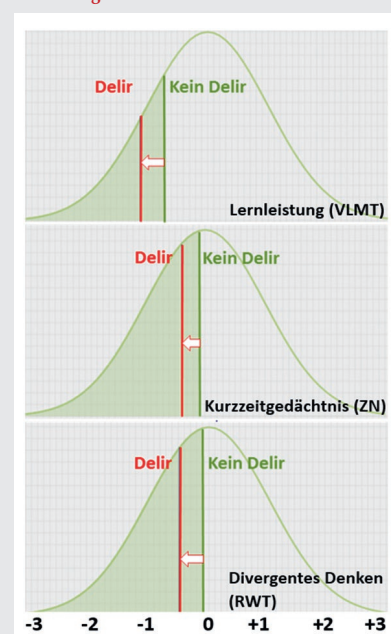
Von 355 Patienten wurde bei 62 innerhalb der ersten 5 postoperativen Tage zu mindestens einem Zeitpunkt ein POD diagnostiziert, entsprechend einer Rate von 17,4%. Die Gruppen „POD“ und „kein POD“ unterschieden sich nicht in Bezug auf Alter, Geschlecht, Bildungs- und Familienstand sowie Komorbiditäten und Dauermedikation. Patienten, die im Verlauf ein POD entwickelten, erreichten präoperativ in fast allen neuropsychologischen Tests schlechtere Ergebnisse als Patienten ohne POD, besonders ausgeprägt war dieser Effekt in Bezug auf Arbeits- und Langzeitgedächtnis (VLMT korrigierte Wiedererkennungslernleistung z-Wert – „Kein POD“:  $0,519 \pm 1,1$  vs. „POD“:  $1,00 \pm 1,4$ ), aber auch semantisches Gedächtnis, Exekutivfunktionen und Aufgabenwechsel (RWT semantische Kategorie z-Wert – „Kein POD“:  $0,028 \pm 0,9$  vs. „POD“:  $-0,353 \pm 0,9$ ) und Aufmerksamkeitsspanne (Zahlen nachsprechen z-Wert „Kein POD“:  $-0,207 \pm 0,9$  vs. „POD“:  $-0,575 \pm 0,9$ ). Die Unterschiede zwischen den Gruppen „kein POD“ und „POD“ in VLMT-, RWT- und Zahlen nachsprechen waren unmittelbar postoperativ (1 Woche nach OP) noch ausgeprägter als präoperativ und blieben auch nach 6 und 12 Monaten postoperativ größtenteils in dieser Ausprägung bestehen. Im MiniMentalStatusExamination-Test (MMSE) zeigten sich hingegen weder präoperativ noch im späteren postoperativen Verlauf Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Hinsichtlich Angst und Depression konnte präoperativ kein Unterschied festgestellt werden, postoperativ jedoch wurden in der Delirgruppe signifikant häufiger pathologische Werte als in der „Kein POD“-Gruppe erreicht (HADS A/D Summenscore  $> 7$  bei 45,1 vs. 29,3% der Patienten („Kein POD“ vs. „POD“)).

#### Interpretation

Es ist bekannt, dass kognitive Funktionseinschränkungen in hohem Ausmaß für die Entstehung eines POD prädisponieren.

In welchem Umfang dies jedoch der Fall ist, ist bisher nicht beschrieben. Unsere Untersuchungen zeigen, dass bereits leichte kognitive Einbußen deutlich mit dem Auftreten von POD korreliert werden können. Der klinisch weit verbreitete MMSE scheint daher zur Identifikation kognitiv eingeschränkter Patienten im Rahmen der präoperativen Evaluation zu wenig sensitiv zu sein. Weiterhin wurde deutlich, dass nicht alle Leistungseinschränkungen gleichermaßen für ein POD prädispositionieren, sondern dass es vielmehr ein spezifisches Muster an „Risiko-Defiziten“ zu geben scheint. Die Kenntnis dieser spezifischen Funktionsverluste kann helfen, anhand eines kurzen, gezielten kognitiven Screenings besonders gefährdete Patienten bereits präoperativ zu identifizieren. Ob sich durch gezielte kognitive Stimulation der betroffenen Hirnleistungen ein präoperativer Präventions- bzw. postoperativer Therapieansatz des POD bietet, ist bereits Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Abbildung 1



Vergleich der präoperativen kognitiven Leistungen der Patienten mit und ohne POD im Bezug auf die Gesamtpopulation.

### Tetrazyklin verbessert den akuten Lungenschaden durch Inhibition des Nlrp3-Inflammasoms im Mausmodell

K. Peukert<sup>1</sup> · M. Fox<sup>1</sup> · C. Wilhelm<sup>2</sup> · E. Latz<sup>3</sup> · F. Steinhagen<sup>1</sup> · C. Bode<sup>1</sup>

- 1 Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Bonn
- 2 Institut für Klinische Chemie und Klinische Pharmakologie, Universitätsklinikum Bonn
- 3 Institut für Angeborene Immunität, Universitätsklinikum Bonn

#### Korrespondenz:

Konrad.Peukert@ukbonn.de

#### Fragestellung

Das akute Lungenversagen (ARDS) ist trotz großer Anstrengungen mit einer hohen Mortalität verbunden. Dabei wird die pulmonale Schädigung meist durch eine überschießende Immunreaktion auf eine bakterielle Infektion ausgelöst. Bedeutend für die Entwicklung des ARDS ist die Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 $\beta$  und IL-18, die durch die Aktivierung des intrazellulären Nlrp3-Inflammasoms produziert werden [1]. Die Immunmodulation durch Tetrazyklin zeigte jüngst einen Benefit in der Therapie inflammatorischer Erkrankungen [2]. Hierbei konnten Studien die Inhibition des Nlrp3-Inflammasoms als potentiellen Mechanismus identifizieren [3]. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, inwieweit eine Therapie mit Tetrazyklin das Outcome des ARDS verbessert und ob diese Effekte mit einer Inhibition des Nlrp3-Inflammasoms verknüpft sind.

#### Methodik

Zur Induktion eines Lungenschadens wurde C57/BL6j-Mäusen LPS intratracheal (i.t.) instilliert. Unmittelbar danach erhielten die Tiere (n $\geq$ 8) eine tägliche i.p. Injektion von Tetrazyklin (75  $\mu$ g/kg) oder PBS für 10 d. Der Lungenschaden wurde durch die Messung der Albuminkonzentration mittels ELISA und der durchflusszytometrischen Bestimmung von Leukozyten in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BALF) sowie anhand HE-gefärbter histologischer Schnitte der Lunge bestimmt (n $\geq$ 6). Die Konzentration von IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-18, IL-6 und TNF- $\alpha$  wurde mittels Multiplex-Assay in der BALF gemessen (n $\geq$ 8). Zur Prüfung des Effekts von Tetrazyklin auf die Aktivierung unterschiedlicher Signalwege wurden murine Knochenmarksmakrophagen mit LPS (TLR4) und dem Nlrp3-Inflammasom Aktivator Nigericin stimuliert und mit Tetrazyklin inkubiert (n=5). Nach 4 h wurden IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  mittels ELISA und LDH mittels Assay-Kit im Überstand gemessen. Ebenfalls im Überstand wurde aktive und im Zelllysate inaktive Caspase-1 per Western Blot untersucht (n=6). Die statistische Analyse erfolgte mittels nichtparametrischem Mann-Whitney-Test. Die Analyse der Überlebenskurve erfolgte mittels Log-rank (Mantel-Cox)-Test.

#### Ergebnisse

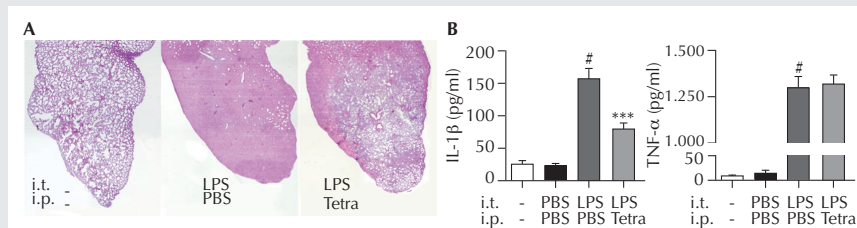
Innerhalb der ersten 10 d waren der Gewichtsverlust ab d1 bis d9 sowie die Mortalität der mit Tetrazyklin behandelten Tiere im Vergleich zur Kontrolle signifikant reduziert (p<0,05 und p<0,0001). In der BALF resultierte die Tetrazyklinbehandlung nach 8 h in einer

Reduktion des Albumingehalts (17,4 $\pm$ 4,6 vs. 37,9 $\pm$ 13,1; p<0,0003). In der Tetrazyklingruppe waren ebenfalls die Makrophagen (3179 $\pm$ 2973 vs. 8919 $\pm$ 8142; p<0,0047) und Neutrophilenpopulationen (1,5 $\times$ 10<sup>6</sup> $\pm$ 0,5 $\times$ 10<sup>6</sup> vs. 2,5 $\times$ 10<sup>6</sup> $\pm$ 0,3 $\times$ 10<sup>6</sup>; p<0,0022) 2 d nach LPS-Gabe reduziert. Es zeigte sich histologisch ein verminderter Lungenschaden bei Tetrazyklin-behandelten Tieren (Abb.1A). Die Konzentration von IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-6 und TNF- $\alpha$  war 8 h nach LPS-Gabe in der BALF signifikant gesteigert (p<0,05). Tetrazyklin reduzierte hierbei exklusiv die Nlrp3-Inflammasomabhängigen Zytokine IL-1 $\beta$  und IL-18 (Abb 1B; p<0,05). Zur Evaluation der Inhibition des Nlrp3-Inflammasoms wurden Makrophagen mit LPS und Nigericin in vitro stimuliert sowie mit Tetrazyklin inkubiert. Es zeigte sich nach Stimulation eine signifikante Reduktion i) der IL-1 $\beta$ -Expression und ii) der Prozessierung von Procaspase-1 in Caspase-1 bei Tetrazyklin-behandelten Zellen (p<0,05). Tetrazyklin zeigte keinen Effekt auf die inflammasom-unabhängige TNF- $\alpha$ -Expression durch alleinige Stimulation mit LPS. Ebenso konnte die durch Pyroptose bedingte LDH-Freisetzung nach Aktivierung des Nlrp3-Inflammasoms durch Tetrazyklin signifikant reduziert werden (p<0,022).

#### Interpretation

Erstmals konnte gezeigt werden, dass Tetrazyklin den akuten Lungenschaden durch Inhibition des Nlrp3-Inflammasoms reduziert und so das Outcome verbessert. Dies ist konsistent mit neuesten Studien, die einen Benefit von Tetrazyklin in der Behandlung von entzündlichen Erkrankungen demonstrierten [2]. Vorliegende Studie deutet darauf hin, dass die Immunmodulation durch Tetrazyklin eine vielversprechende Therapieoption beim ARDS des Menschen ist.

Abbildung 1



Tetrazyklin reduziert den Lungenschaden und exklusiv die Expression von Nlrp3-Inflammasomabhängigen Zytokinen im LPS-induzierten ARDS-Modell.

C57/BL6-Mäuse erhielten, LPS od. PBS i.t. und Tetrazyklin od. PBS i.p.

A) Abgebildet ist je ein HE-gefärbter Schnitt der basalen linken Lunge in Frontalebene (40fach).

B) Nach 8 h wurde die BALF auf den Gehalt an IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  untersucht. Gezeigt wird der Mittelwert + Standardfehler aus 3 Experimenten. (Kontrollen n=4; PBS n $\geq$ 4; Tetra n $\geq$ 4). # p<0,05 (vs. i); \*\*\* p=0,0003 (vs. LPS/PBS).

#### Literatur

1. De Nardo D, De Nardo CM, Latz E: New insights into mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome and its role in lung disease. Am J Pathol 2014;184(1):42–54
2. Metz LM, Li DKB, Traboulsee AL, Duquette P, Eliasziw M, Cerchiaro G, et al: Trial of Minocycline in a Clinically Isolated Syndrome of Multiple Sclerosis. N Engl J Med 2017;376(22):2122–2133
3. Shahzad K, Bock F, Al-Dabet MM, Gadi I, Nazir S, Wang H, et al: Stabilization of endogenous Nrf2 by minocycline protects against Nlrp3-inflammasome induced diabetic nephropathy. Sci rep 2016;6:34228.

### Eine vaskuläre Transplantatpflüfung mit Ropivacain reduziert eine akute Abstoßung nach allogener Maus-Lungentransplantation

T. Piegeler<sup>1</sup> · T. Maeyashiki<sup>2</sup> · J.H. Jang<sup>2</sup> · Y. Yamada<sup>2</sup> · S.N. Stehr<sup>1</sup> · R. Werdehausen<sup>1</sup> · I. Inci<sup>2</sup> · W. Weder<sup>2</sup> · W. Jungraithmayr<sup>2,3</sup>

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

<sup>2</sup> Klinik für Thoraxchirurgie, UniversitätsSpital Zürich, Schweiz

<sup>3</sup> Klinik für Thoraxchirurgie, Medizinische Hochschule Brandenburg, Neuruppin

#### Korrespondenz:

Tobias.Piegeler@medizin.uni-leipzig.de

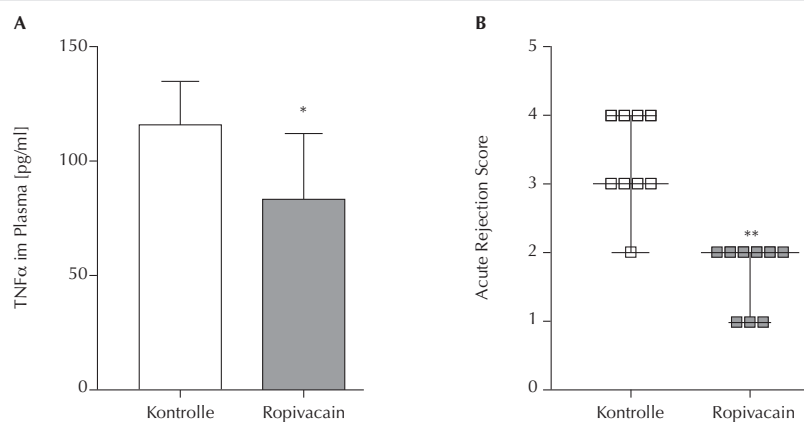
#### Fragestellung

Ischämie, Reperfusion und Inflammation sind wichtige pathophysiologische Vorgänge, die bei der Entstehung einer akuten Abstoßung nach Lungentransplantation eine Rolle spielen. Wir konnten zeigen, dass Ropivacain den experimentellen Lungenschaden durch Endotoxin [1] oder Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF- $\alpha$ ) [2] signifikant reduzieren kann. Die vorliegende Arbeit untersucht die Hypothese, dass Ropivacain die akute Abstoßung nach allogener Lungentransplantation in der Maus ebenfalls reduziert und die Funktion des transplantierten Organs verbessert.

#### Methodik

Die Experimente wurden von der zuständigen Tierschutzkommission genehmigt. Die Versuchstiere erhielten eine den lokalen und internationalen Standards entsprechende Pflege. Es erfolgte eine allogene, orthotope, linksseitige Lungentransplantation von BALB/c (Spender)- auf C57BL/6 (Empfänger)-Mäuse unter Isofluran-Narkose, wie von uns etabliert [3]. Nach chirurgischer Präparation wurde die Spender-Lunge vor der Entnahme über die Pulmonalarterie entweder mit Ropivacain (1  $\mu$ M, gelöst in 3 ml 0,9%iger Kochsalzlösung) oder mit 3 ml 0,9%iger Kochsalzlösung (Kontrollen) gespült (je n=9). Die kalte Ischämie-Zeit betrug eine Stunde, die Spüllösung mit oder ohne Ropivacain verblieb währenddessen im Organ. Drei Stunden nach Transplantation erfolgte eine venöse Blutentnahme zur Bestimmung von TNF- $\alpha$  im Plasma der Empfänger. Am fünften postoperativen Tag wurden der Horovitz-Quotient (arterieller Sauerstoff-Partialdruck/inspiratorische Sauer-

Abbildung 1



**A:** Plasmakonzentration von TNF- $\alpha$  drei Stunden nach allogener linksseitiger Lungentransplantation in der Maus mit oder ohne Transplantatpflüfung mit Ropivacain. N=9 für beide Gruppen. \*p=0,01 vs. Kontrolle.

**B:** Beurteilung der akuten Abstoßungsreaktion mittels Acute Rejection Score (Grad 1-4) der International Society for Heart and Lung Transplantation. N=9 für beide Gruppen. \*\*p<0,001 vs. Kontrolle.

stoff-Konzentration) sowie die Compliance der linksseitigen transplantierten Lunge ermittelt und diese für die weitere Analyse entnommen. Die Bewertung der akuten Abstoßung wurde histopathologisch nach Hämatoxylin-Eosin-Färbung von Paraffin-Schnitten nach Maßgabe der International Society for Heart and Lung Transplantation (Acute Rejection Score, Grad 0 bis 4) durch drei unabhängige Personen durchgeführt, welche für die Gruppenzugehörigkeit verblindet waren. Die statistische Analyse erfolgte mittels t-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test und die Daten sind als Mittelwerte und Standardabweichung (TNF- $\alpha$ , Horovitz, Compliance) oder als Median mit Spannweite (Acute Rejection Score) angegeben.

#### Ergebnisse

Die Plasma-Konzentration von TNF- $\alpha$  drei Stunden nach Transplantation war in der Ropivacain-Gruppe um 28% niedriger als in der Kontroll-Gruppe (84,5 $\pm$ 26,9 vs. 116 $\pm$ 18,7 pg/ml, p=0,01, Abb. 1A). Die Spflüfung der Transplantatlunge mit Ropivacain führte in der histopathologischen Bewertung zu einer signifikant geringeren Abstoßungsreaktion (3 [2-4] vs. 2 [1-2], p<0,001, Abb. 1B) am Tag 5. Der Horovitz-Index (303 $\pm$ 164 vs. 246 $\pm$ 117 mmHg, p=0,4) und die Compliance (0,013 $\pm$ 0,003 vs. 0,012 $\pm$ 0,001 ml/cmH<sub>2</sub>O,

p=0,2) der Ropivacain-Gruppe unterschieden sich nicht signifikant von den Kontrollen.

#### Interpretation

Eine Transplantatpflüfung mit Ropivacain im Rahmen einer allogenen Lungentransplantation in der Maus führt zu einer Abnahme der akuten Abstoßungsreaktion und zu einer reduzierten Freisetzung des proinflammatorischen Zytokins TNF- $\alpha$ . Die zugrundeliegenden Mechanismen sowie ein möglicherweise positiver Effekt auf die Funktion der transplantierten Lungen nach Ropivacain-Behandlung wird Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein.

#### Literatur

1. Piegeler T, Dull RO, Hu G, Castellon M, Chignalia AZ, Koshy R, et al: Ropivacaine attenuates endotoxin plus hyperinflation-mediated acute lung injury via inhibition of early-onset Src-dependent signaling. *BMC Anesthesiol* 2014;19:14:57
2. Piegeler T, Votta-Velis EG, Bakhshi FR, Mao M, Carnegie GK, Bonini MG, et al: Endothelial barrier protection by local anesthetics: Ropivacaine and Lidocaine block Tumor Necrosis Factor-alpha-induced endothelial cell Src activation. *Anesthesiology* 2014;120:1414-1428
3. Jungraithmayr W, Korom S, Hillinger S, Weder WJ: A mouse model of orthotopic, single-lung transplantation. *Thorac Cardiovasc Surg* 2009;137:486-489.



### microRNA-122-Expression ist ein valider Biomarker zur Detektion und frühzeitigen Risikostratifizierung in der Sepsis

T. Rahmel<sup>1</sup> · S.T. Schäfer<sup>2</sup> · U.H. Frey<sup>2</sup> · M. Adamzik<sup>1,2</sup> · J. Peters<sup>2</sup>

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, RUB & Universitätsklinikum Knappschafts-Krankenhaus, Bochum
- 2 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universität Duisburg-Essen & Universitätsklinikum Essen

#### Korrespondenz:

Tim.Rahmel@rub.de

#### Fragestellung

Die microRNA-122 (miR-122) ist ein leberspezifischer Regulator der Genexpression, und ihre vermehrte Expression im Serum bei Sepsis oder ARDS scheint mit einer akuten Leberschädigung und erhöhten Mortalität assoziiert [1–3]. Wir prüften die Thesen, dass die miR-122 1) sich zur Abgrenzung der Sepsis von einer Infektion ohne Organdysfunktion eignet, 2) ihre vermehrte Expression mit der Mortalität assoziiert ist und 3) den SOFA-Score sinnvoll zu ergänzen vermag.

#### Methodik

108 Patienten mit Sepsis (Infektion +  $\geq 2$ -SIRS-Kriterien + SOFA-Score  $\geq 2$ ) wurden retrospektiv nach Zustimmung der Ethikkommission eingeschlossen. Klinische Daten und Blutproben wurden unmittelbar nach Aufnahme auf die Intensivstation gewonnen. Als Kontrollen dienten 20 Patienten mit schwerer Infektion (Infektion + SOFA-Score  $\leq 1$ ). Die relative miR-122-Expression im Serum wurde mittels Zyklussschwellenwert (CT) über eine Spiked-in-Methode bestimmt und als  $2^{-\Delta CT}$  dargestellt. Statistik: deskriptiv, Chi-Quadrat-, Student-, Wilcoxon-Mann-Whitney- bzw. Kruskal-Wallis-Tests (Post-hoc-Dunn's Test), C-Statistik, Youden-Index, Net reclassification improvement (NRI), Integrated discrimination improvement (IDI), Multivariate COX-Regression, Kaplan-Meier-Kurven/Log-Rank-Test.

#### Ergebnisse

63% der Sepsispatienten überlebten. Die miR-122-Expression war bei Verstorbenen nahezu 40-fach ( $p=0,001$ ) und bei Überlebenden 6-fach höher ( $p=0,013$ ) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abb. 1a). Darüber hinaus zeigte sich eine signifikante Korrelation mit Variablen der Leberfunktion (ALT=44 U/l (IQA 23–147 U/l;  $p<0,001$ ), AST=59 U/l (IQA

29–170 U/l;  $p<0,001$ ), Bilirubin=1,4 mg/dl (IQA=0,6–2,9;  $p=0,001$ ), INR=1,24 (IQA 1,12–1,51;  $p=0,005$ ) sowie LDH=385 U/l (IQA 252–554 U/l;  $p<0,009$ )).

Bei einem Cut-off-Wert von 0,004 diskriminierte die miR-122-Expression zwischen Patienten mit Sepsis und solchen mit einer Infektion ohne Sepsis (AUC 0,760; Spezifität von 95%; Sensitivität 58,3%) sowie bei einem Cut-off-Wert von 0,04 zwischen überlebenden (30-Tage) und verstorbenen Sepsis-Patienten (Abb. 1b;  $p<0,001$ ; AUC 0,728; Sensitivität 42,5; Spezifität 94%). In der multivariaten Cox-Regressions-Analyse zeigte sich die miR-122 als unabhängiger Risikofaktor für das 30-Tages-Überleben (HR 4,2; 95% CI 2,0–8,7;  $p<0,001$ ). Auch die Aussagekraft des SOFA-Score bezüglich der 30-Tages-Letalität (AUC 0,668) konnte durch die Hinzunahme der miR-122 verbessert werden (AUC 0,743; NRI 0,366 mit  $p<0,001$ ; IDI 0,065 mit  $p=0,007$ ).

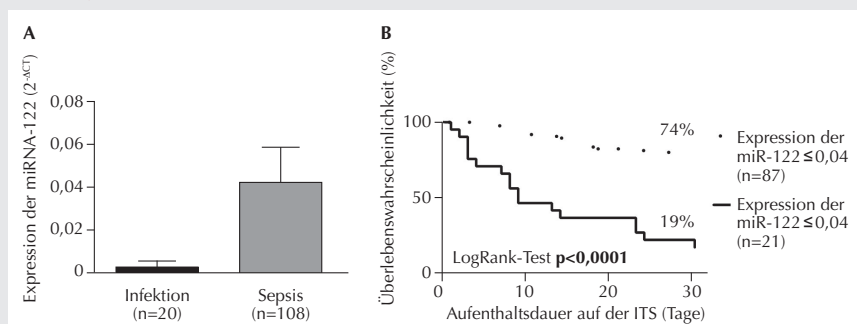
#### Interpretation

Eine erhöhte miR-122-Expression unterstützt sowohl die Differenzierung zwischen Infektion und Sepsis als auch eine frühzeitige Prognosebeurteilung des Sterberisikos und kann darüber hinaus die diagnostische Wertigkeit des SOFA-Score erhöhen. Mechanistische Untersuchungen sollten die biologische Rolle der miR-122 im Kontext von Infektion und Sepsis ergründen.

#### Literatur

1. Benz F, Roy S, Trautwein C, et al: Circulating MicroRNAs as Biomarkers for Sepsis. *Int J Mol Sci* 2016;17(1):78:1–17
2. Wang H, Yu B, Deng J et al: Serum miR-122 correlates with short-term mortality in sepsis patients. *Crit Care* 2014;18(6):704:1–4
3. Roderburg C, Benz F, Vargas Cardenas D, et al: Elevated miR-122 serum levels are an independent marker of liver injury in inflammatory diseases. *Liver Int* 2015;35:1172–1184.

Abbildung 1



**A**) Relative Expression der miR-122 ( $2^{-\Delta CT}$ ) in der Kontrollgruppe mit einer Infektion sowie bei Patienten mit Sepsis **B**) 30-Tages-Überleben bei Sepsispatienten stratifiziert nach der relativen miR-122-Expression ( $2^{-\Delta CT}$ ). Die Cut-off-Werte wurden durch korrespondierende ROC-Untersuchung definiert.







### Propofol ist mit epigenetischen Prozessen im cholinergen System assoziiert, dies könnte die postoperative kognitive Dysfunktion beeinflussen

K. Rump · C. Holtkamp · M. Unterberg · Z. Bazzi · M. Adamzik

Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Knappschafts Krankenhaus Bochum-Langendreer, Ruhr-Universität Bochum

#### Korrespondenz:

Katharina.k.rump@rub.de

#### Fragestellung

Bei etwa 12% der über 60-jährigen Patienten besteht auch drei Monate nach einer Operation weiterhin eine postoperative kognitive Dysfunktion (POCD) [1]. Bei der POCD kommt es unter anderem zu einer Dysbalance im cholinergen System, was wiederum zu einer langanhaltenden Neuroinflammation führt [2]. Des Weiteren ist bekannt, dass die POCD unter anderem mit der Applikation von Anästhetika wie Propofol assoziiert ist [3]. Offen ist, über welchen Mechanismus die Applikation von Propofol mit einer POCD assoziiert ist. Möglich scheint, dass Propofol durch epigenetische Prozesse wie die DNA-Methylierung oder Histonmodifikation eine langfristige Veränderung der Genexpression des cholinergen Systems bedingt. Epigenetische Veränderungen werden unter anderem durch DNA- und Histon-modifizierende Enzyme vermittelt. Folglich untersuchten wir folgende Hypothesen: 1) Propofol reduziert die Konzentration der Acetylcholinesterase (AChE) und der Butyrylcholinesterase (BChE). 2) Propofol beeinflusst die Methylierung des AChE- und des BChE-Promotors. 3) Die Promotoren von AChE und BChE werden über Methylierung reguliert. 4) Propofol führt an Position H3K27 zu Histonmodifikationen. 5) Propofol verändert die Expression Histon-modifizierender Enzyme.

#### Methodik

Zellen der Neuroblastomzelllinie SH-SY5Y und primäre Immunzellen (PBMCs) wurden mit Propofol (30 µg/ml, Stock: 100 µg/ml in Ethanol, Sigma) und TNF-α (10 ng/ml, Prospec) für 2 h. und 4 h. stimuliert. Es erfolgte erstens die quantitative Bestimmung der Konzentration der Acetyl- (AChE) und Butyrylcholinesterase (BChE) (Acetylcholinesterase Assay Kit (Fluorometric -Red), Abcam). Zweitens wurde die Methylierung des AChE-Pro-

motors (EZ DNA Methylation-Gold™ Kit) mittels qPCR bestimmt. Im dritten Schritt wurde erneut die Methylierung des AChE-Promotors und die AChE-Expression mittels RT-PCR nach Inkubation mit dem DNA-Demethylierungsreagenz Azadeoxycytidin (ADC) quantifiziert. Darüber hinaus wurde viertens in den mit Propofol stimulierten Zellen die Histonmodifikation des Histons H3 K27 mittels ELISA betrachtet (EpiQuik In Situ Histone H3K27 Tri-Methylation Assay Kit, Epigentek). Fünftens erfolgte die RNA-Gewinnung mit anschließender reverser Transkription (Qiagen) und Quantifizierung der Histon-modifizierenden Enzyme mittels qPCR (Promega). In einem letzten Schritt wurde mittels Chip-Assay die Bindung von Promotorregionen verschiedener Gene des cholinergen Systems an Histon H3K27 bestimmt. Statistik: Mittelwerte ± Standardabweichung, ungepaarter t-Test, ANOVA  $p < 0,05$ .

#### Ergebnisse

Die Inkubation der Neuroblastomzelllinie SH-SY5Y mit Propofol führte zu einer signifikanten Reduktion der AChE- und BChE-Konzentration nach 2 und 4 Stunden ( $p = 0,02$ , Abb. 1a). Eine Veränderung der Methylierung des AChE- und BChE-Promotors durch Propofol konnte jedoch nicht gezeigt werden. Die Inkubation der SH-SY5Y-Zellen mit ADC induzierte zwar eine signifikante Reduktion der Methylierung des AChE-Promotors, welche hingegen die AChE-Expression nicht veränderte. Interessanterweise war die Tri-Methylierung des Histons H3 an Position K27 durch Propofol signifikant vermindert ( $p = 0,0002$ ; Abb. 1 b). Gleichzeitig stieg sowohl in neuronalen Zellen (SH-SY5Y) als auch in

Immunzellen (PBMCs) die Expression der Histon-Lysin-Demethylase (KDM2A) signifikant ( $p < 0,05$ , Abb. 1c) an. Mittels Chip-Assay konnte eine Bindung von Genen des cholinergen Systems an das Histon 3 Position K27 bestätigt werden.

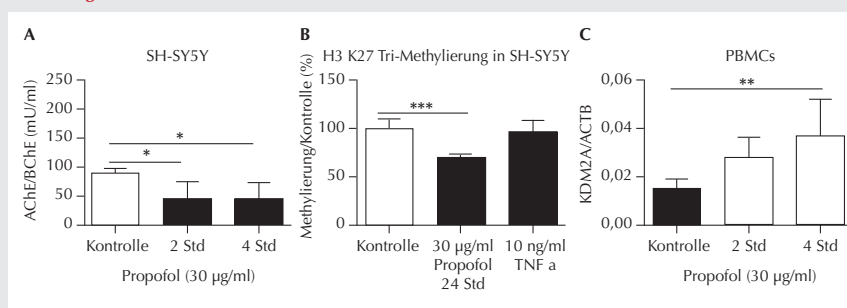
#### Interpretation

Die Inkubation von neuronalen Zellen mit Propofol in Zellkultur führt zu einer reduzierten Konzentration von AChE und BChE. Ursächlich hierfür scheint nicht eine verstärkte Methylierung im Promotorbereich der Gene des cholinergen Systems AChE und BChE zu sein, vielmehr könnte eine Demethylierung an H3K27 verantwortlich sein, da an dieser Position des Histons das Gen des Acetylcholin Rezeptors und das AChE-Gen binden. Des Weiteren könnte diese Assoziation durch eine veränderte Aktivität der Histon-modifizierenden Enzyme hervorgerufen werden, da Propofol deren Aktivität verändert.

#### Literatur

1. Krenk L, Rasmussen LS, Kehlet H: New insights into the pathophysiology of postoperative cognitive dysfunction. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2010;1;54(8):951–956
2. Terrando N, Eriksson LI, Kyu Ryu J, Yang T, Monaco C, Feldmann M, et al: Resolving postoperative neuroinflammation and cognitive decline. *Annals of Neurology*. 2011;70(6):986-995
3. Zhong T, Guo Q, Zou W, Zhu X, Song Z, Sun B, et al: Neonatal isoflurane exposure induces neurocognitive impairment and abnormal hippocampal histone acetylation in mice. *PLoS ONE* 2015;10(4):e0125815.

Abbildung 1



**A)** Konzentration der BChE und der AChE nach Inkubation mit Propofol (30 µg/ml) für bis zu 4 Stunden und unter Kontrollbedingungen (\* $p = 0,025$ ; \* $p = 0,024$ ;  $n = 3$ ) **B)** Tri-Methylierung des Histons H3K27 nach Stimulation mit Propofol (30 µg/ml), und TNF-α (10 ng/ml) (\*\* $p = 0,0002$ ;  $n = 6$ ). **C)** Expression der Histon-Lysin-Demethylase (KDM2A) nach Stimulation mit Propofol (20 µg/ml) für bis zu 4 Stunden (\*\* $p < 0,01$ ;  $n = 3$ ).

## Antinozeptive Wirkung von Delphinidin-SBEDC bei Entzündungsschmerzen in Ratten

R.S. Sauer<sup>1</sup> · B. Oehler<sup>1</sup> · M. Mohammadi<sup>1</sup> · F. Schöppler<sup>3</sup> · S. Shitjakov<sup>1</sup> · P. Güntzel<sup>2</sup> · U. Holzgrabe<sup>2</sup> · J. Broscheit<sup>1</sup> · N. Roewer<sup>1</sup> · A. Brack<sup>1</sup> · H.L. Rittner<sup>1</sup>

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Würzburg
- 2 Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Universität Würzburg
- 3 Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, Universität Würzburg

### Korrespondenz:

Sauer\_R2@ukw.de

### Fragestellung

Im Rahmen einer Entzündung entstehen reaktive Sauerstoffmoleküle, die über Lipidperoxidation und direkt Nozizeptoren aktivieren [1,2]. 4-Hydroxynonenal (4-HNE) ist ein Endprodukt der Lipidperoxidation, das direkt den „transient receptor potential ankyrin“ (TRPA)-1 aktiviert [3]. Delphinidin gehört als wasserlöslicher Pflanzenfarbstoff zu den Anthocyanen mit antioxidativer Wirkung, hat allerdings eine extrem kurze Halbwertszeit. In dieser Studie wurde untersucht, ob und wie eine Komplexierung von Delphinidin, die den schnellen Abbau verhindert, analgetisch wirken kann.

### Methodik

Delphinidin wurde mit Sulfobutylether- $\beta$ -Cyclodextrin (SBEDC) komplexiert. Schmerzschwellen (mechanisch: Randall-Sellito und thermisch: Hargreaves-Test), motorische Akti-

vität (Rota Rod), Ganganalyse (CatWalk) sowie Pfotenwvolumen wurden vor und nach Applikation (lokal und systemisch) von Delphinidin-SBEDC bei Wistar-Ratten mit kompletter Freund's-Adjuvans (CFA)-induzierter Pfotenentzündung gemessen. Dann wurden Immunfluoreszenzfärbungen und Western Blots für 4-HNE-Proteinaddukte sowie Adhäsionsmoleküle angefertigt. Calcium Imaging Experiments wurden in HEK-293<sup>TRPA1</sup>-Zellen mit Fura-2 durchgeführt. In der NMR-Analyse sowie in silico wurden die 4-HNE-Delphinidin-Interaktionen untersucht. Tierversuche wurden von der Regierung Unterfranken genehmigt (REG 108/13).

### Ergebnisse

Eine einmalige oder wiederholte intraplantare oder auch intraperitoneale Injektion von Delphinidin-SBEDC erhöht für 60 min selektiv mechanische Schmerzschwellen (Abb. 1A). Die motorische Aktivität der Tiere ist unverändert, die Ganganalyse im CatWalk zeigt eine größere Pfotenaufltrittsfläche. Die Vergleichssubstanz Parecoxib oder Antioxidantien wie Superoxiddismutase und Katalase haben eine ähnliche Wirkung/Kinetik. Repetitive Gaben von Delphinidin-SBEDC vermindern das Pfotenwvolumen, reduzieren die Bildung von 4-HNE- und 4-HNE-Proteinaddukten (Abb. 1B), die Einwanderung von CD68-positiven Makrophagen sowie die Expression von Adhäsionsmolekülen wie PECAM-1 und VCAM-1, während die Expression von Cyclooxygenase (COX)-2 unverändert ist. In vitro aktiviert 4-HNE HEK-293<sup>TRPA1</sup>-Zellen. Präinkubation von 4-HNE mit Delphinidin-SBEDC, aber nicht mit SBEDC allein reduziert signifikant die An-

zahl der reagierenden Zellen und die „area under the curve“ (Abb. 1C). Die Capsaicin-induzierte TRPV1-Aktivierung ist unverändert. Ebenso wird die pronozizeptive Wirkung von 4-HNE im Randall-Sellito, aber nicht im Hargreaves-Test durch Delphinidin-SBEDC komplett aufgehoben. Eine Analyse der Interaktion von 4-HNE mit Delphinidin zeigte sowohl im in-silico-Modeling als auch in der NMR-Analyse, dass die beiden Substanzen nicht direkt miteinander interagieren, sodass von einer generellen antioxidativen Wirkung als Radikalfänger auszugehen ist.

### Interpretation

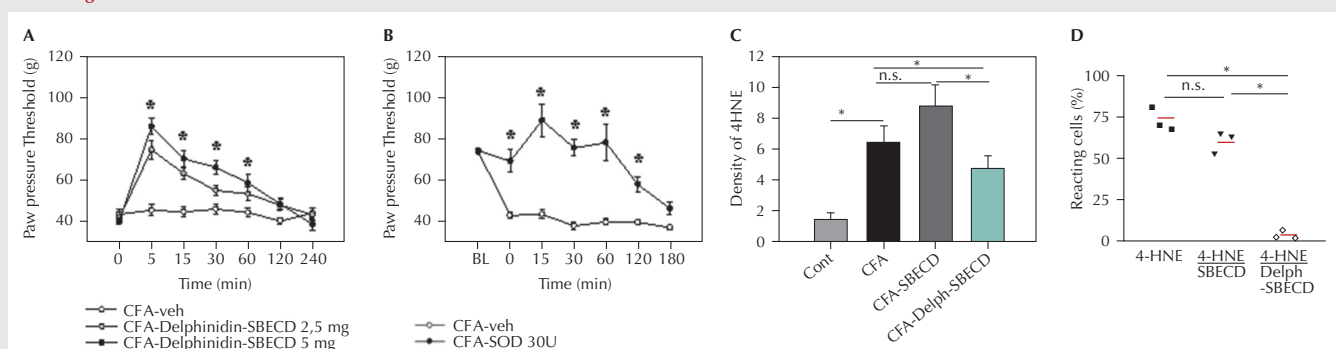
Delphinidin-SBEDC wirkt sowohl lokal als auch systemisch antinozeptiv, antioxidativ und antiinflammatorisch (vergleichbar mit der Wirkung von Parecoxib) und wäre daher insbesondere bei lokaler Gabe eine interessante Alternative zur bisherigen Behandlung von Entzündungsschmerzen mit COX-2-Hemmern.

Gefördert durch Mittel des Universitätsklinikums Würzburg und Sapiotec GmbH.

### Literatur

1. Hackel D, Pflucke D, Neumann A, et al: The connection of monocytes and reactive oxygen species in pain. *PLoS One* 2013;8(5):e63564
2. Sauer RS, Rittner HL, Roewer N, et al: A Novel Approach for the Control of Inflammatory Pain: Prostaglandin E2 Complexation by Randomly Methylated beta-Cyclodextrins. *Anesth Analg* 2017;124(2):675–685
3. Oehler B, Kistner K, Martin C, et al: Inflammatory pain control by blocking oxidized phospholipid-mediated TRP channel activation. *Sci Rep* 2017;7(1):5447.

Abbildung 1



Delphinidin-SBEDC wirkt antinozeptiv, reduziert 4-HNE-Bildung und 4-HNE-induzierte TRPA1-Aktivierung. (A,B) Mechanische Schmerzschwellen vor und nach intraplantarer Applikation von 2.5 bzw. 5 mg Delphinidin-SBEDC oder 30 U SOD bei Ratten mit CFA-induzierter Pfotenentzündung. (B) Quantifizierung von HNE-Proteinaddukten im entzündeten Pfotengewebe nach zweimaliger lokaler Delphinidin-SBEDC-Applikation und SBEDC-Kontrolle (n=6/Gruppe, MW±SEM \*p <0.05; Two-Way (RM)-ANOVA, Student-Newman-Keuls). (C) Messung der reagierenden Zellen im Ca-Imaging in HEK-293TRPA1 nach Applikation von 4-HNE bzw. Delphinidin-SBEDC und SBEDC allein (n=3/Gruppe, MW±SEM \*p<0.05; One-way-ANOVA, Student-Newman-Keuls).



## Molekularer Phänotyp der Leberdysfunktion unterscheidet bakterielle und fungale Sepsis trotz vergleichbarer Bilirubinwerte

B. Schaarschmidt<sup>1,2</sup> · S. Vlaic<sup>3</sup> · M. Bauer<sup>1,2</sup> · A.T. Press<sup>1,2</sup>

- 1 Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Jena
- 2 Center for Sepsis Control and Care, Universitätsklinikum Jena
- 3 Systembiologie und Bioinformatik, Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie

### Korrespondenz:

barbara.schaarschmidt@med.uni-jena.de

### Fragestellung

Das Auftreten einer Organdysfunktion unterscheidet die Sepsis von einer unkomplizierten Infektion [1]. Aktuelle Konzepte zur Organdysfunktion beschreiben diese als stereotype Antwort auf eine Infektion. Dieses Konzept unterscheidet dabei nicht nach auslösenden Pathogenen. Lebensbedrohliche Infektionen werden in der Regel als primäre bakterielle Infektionen behandelt [2]. Dies führt nicht selten zu der Zerstörung des physiologischen Mikrobioms und dessen Metaboliten. Die in der Sepsis zerstörte Immun-Homöostase, zusammen mit den Veränderungen im Metabolom, fördern und führen oft zu sekundären Pilzinfektionen [3]. Unsere Studie untersucht, ob Pathogene verschiedener Klassen (Bakterien vs. Pilze) die Wirtsantwort und das Organversagen differenziell beeinflussen.

### Methodik

In Mäusen wurde durch die intraperitoneale (i.p.) Injektion humaner Stuhlsuspension (Peritoneal Contamination and Infection, PCI) oder mittels intravenöser bzw. i.p. *C. albicans*-Injektion eine systemische Infektion mit Leberdysfunktion (Sepsis) ausgelöst. Tiere aus der Kontrollgruppe erhielten ein identisches Volumen physiologischer, steriler Kochsalzlösung appliziert. 6 und 24 h nach Injektion wurden die Tiere euthanasiert und Organe zur weiteren Analyse aufgearbeitet. Anhand von gewonnenen Transkriptom- und Metabolomdaten aus der Leber wurden Protein-Protein-Interaktionsnetzwerke erstellt. Darüber hinaus wurden spezifische Ansätze zur Detektion einzelner Metabolite durch verschiedene mikroskopische Verfahren genauer untersucht und validiert.

### Ergebnisse

Die Auswertung der Transkriptomdaten zeigt viele ähnliche qualitative Änderungen im Metabolismus zwischen den drei verschiedenen Infektionen, aber auch spezifische Unterschiede. Allerdings unterscheiden sich die verschiedenen Gruppen in der Art und Weise, wie es zu dieser Dysregulation kommt. Neben der Immunantwort ist vor allem die Unterdrückung des Lipidkatabolismus und der Gallensäuresynthese bereits nach 6 h in allen Gruppen auffällig. Die Veränderungen im Lipidkatabolismus sind in allen Gruppen durch eine signifikante Akkumulation von langkettigen Acylcarnitinen charakterisiert, wohingegen kurzkettige Fettsäuren in den Modellen

verschieden stark akkumulieren (Abb. 1A). Die veränderte  $\beta$ -Oxidation (mitochondriale Dysfunktion) beeinträchtigte den Energiemetabolismus bereits 6 h nach Infektion und hatte auch Auswirkung auf den Gallensäuremetabolismus. Die intrahepatische Gallensäureakkumulation ist ebenfalls in Abhängigkeit vom Erreger signifikant unterschiedlich (Abb. 1B). Während es bei der polymikrobiellen Infektion (PCI) zur Akkumulation von unkonjugierten Gallensäuren kam, führten die beiden *C. albicans*-Infektionsrouten zur Akkumulation der konjugierten Gallensäuren. Die Untersuchung der Biotransformation in der Leber durch Intravitalmikroskopie von DY-635 – ein Farbstoff, welcher von Hepatozyten über OATP-Transporter aufgenommen und dann in die Galle sezerniert wird – ergab, dass es bei polymikrobieller Infektion zu einer Störung der Konjugation und Exkretion des Farbstoffs kommt, während es bei Infektionen mit *C. albicans* bereits zu einer Störung der Aufnahmemechanismen von Xeno- und Endobiotika in Hepatozyten kommt.

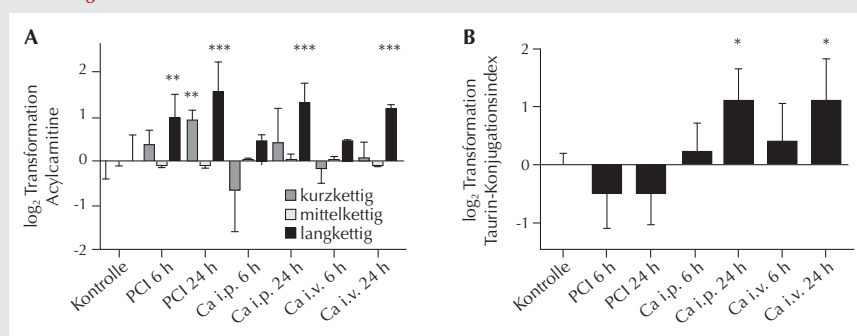
### Interpretation

Während viele Aspekte der Wirtsantwort in der Leber auf bakterielle und *C. albicans*-Infektionen konserviert scheinen, unterscheiden sich die Infektionen vor allem in den molekularen Phänotypen des Lipidmetabolismus und der Cholestase. Dies erlaubt die Differenzierung zwischen den untersuchten Infektionen und der Infektionsroute bereits in frühen Stadien mittels moderner klinischer Diagnostik. Dies hat Implikationen für die Diagnostik und Therapie der Leberdysfunktion bei Sepsis, die bei alleiniger Betrachtung von Bilirubin (SOFA-Score) nicht erkannt werden.

### Literatur

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al: The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis3). *JAMA* 2016;315(8):801–810
2. Otto GP, Sossdorf M, Claus RA, Rödel J, Menge K, Reinhart K, et al: The late phase of sepsis is characterized by an increased microbiological burden and death rate. *Crit Care* 2011;15(4):R183
3. Lopez CA, Kingsbury DD, Velazquez EM, Bäuml A: Collateral damage: microbiota-derived metabolites and immune function in the antibiotic era. *Cell Host Microbe* 2014;16(2):156–163.

Abbildung 1



Metabolite erlauben Differenzierung zwischen Infektionstypen. (A) Akkumulation von kurz- (C2-8), mittel- (C9-12) und langkettigen (C14-18) Acylcarnitinen. (B) Taurin-Konjugationsindex zeigt Akkumulation von unkonjugierten (PCI) und konjugierten Gallensäuren (*Candida* spp.) Statistik: n=5; Mittelwert +SD; zweifaktorielle ANOVA mit Dunnett-Test; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 vs. Kontrolle.

### Lungenprotektion erfordert niedrigere Tidalvolumina sowie mechanische Beatmungsleistung im Modell der pulmonalen Inflammation an der Ratte

M. Scharffenberg<sup>1</sup> · R.S. Santos<sup>2</sup> · L. de A. Maia<sup>2</sup> · C. dos S. Samary<sup>2</sup> · M.M. Morales<sup>3</sup> · T. Koch<sup>1</sup> · P. Pelosi<sup>4</sup> · P.L. Silva<sup>2</sup> · P.R.M. Rocco<sup>2</sup> · M. Gama de Abreu<sup>1</sup>

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Pulmonary Engineering Group, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Dresden
- 2 Laboratory of Pulmonary Investigation, Federal University of Rio de Janeiro, Brasilien
- 3 Laboratory of Cellular and Molecular Physiology, Federal University of Rio de Janeiro, Brasilien
- 4 San Martino Policlinic Hospital, IRCCS for Oncology, Department of Surgical Sciences and Integrated Diagnostics, University of Genoa, Italien

#### Korrespondenz:

martin.scharffenberg@ukdd.de

#### Fragestellung

Während maschineller Beatmung wird Energie pro Zeit, sog. mechanische Beatmungsleistung (engl. Mechanical Power – MP), auf die Lungen übertragen. Diese kann einen Lungenschaden hervorrufen oder verstärken [1], wobei die Rolle des Tidalvolumens ( $V_T$ ) unzureichend geklärt ist. Es sollte der Effekt des  $V_T$  auf den beatmungsassoziierten Lungenschaden in Abhängigkeit von der Höhe der applizierten MP im Modell pulmonaler Inflammation untersucht werden.

#### Methodik

Nach behördlicher Genehmigung wurde bei 40 anästhesierten männlichen Wistar-Ratten eine pulmonale Inflammation per intratrachealer Applikation von Escherichia coli-Lipopolysaccharid induziert. 24 h später wurden 32 Ratten für 2 h volumenkontrolliert beatmet. Die Zuteilung in vier Gruppen (n=8) mit Kombinationen von hohem und niedrigem  $V_T$  (6 ml/kg; 11 ml/kg) bzw. hoher und niedriger MP erfolgte randomisiert. Die MP wurde wie folgt berechnet:  $MP=(\Delta P_{\text{L}}/E_{\text{L}})*RR$  (mit  $P_{\text{L}}$ : transpulmonaler Driving Pressure;  $E_{\text{L}}$ : Elastance der Lunge; RR: Atemfrequenz) [2]. Die RR wurde so angepasst, dass die hohe

MP das Dreifache der niedrigen MP betrug. Ein positiver endexpiratorischer Druck von 3 cmH<sub>2</sub>O wurde in allen Gruppen eingestellt. Acht Ratten wurden nicht beatmet und für molekularbiologische Referenzanalysen verwendet. Die Analysen umfassten u.a. verblindet durchgeführte licht- und elektronenmikroskopische sowie molekularbiologische Untersuchungen des Lungengewebes.

#### Ergebnisse

Die Lungenfunktion ( $paO_2/FiO_2$ ) unterschied sich nicht zwischen den Gruppen. Hingegen war der mediane diffuse alveoläre Schaden (DAD-Score: Ödem, Atelektasen und Überdehnung; repräsentative Mikroskopien siehe Abb. 1) nach Beatmung mit hohem  $V_T$  gegenüber niedrigem  $V_T$  sowohl bei niedriger MP (18 (15–20) vs. 11 (9–14),  $p<0,0125$ ) als auch hoher MP (29 (27–30) vs. 19 (16–25),  $p<0,0125$ ) signifikant stärker ausgeprägt. Trotz niedrigem  $V_T$  war der DAD-Score bei hoher MP signifikant größer als bei niedriger  $V_T$  mit niedriger MP (19 (16–25) vs. 11 (9–14);  $p<0,0125$ ). In der Elektronenmikroskopie zeigte sich bei niedriger und hoher MP mit hohem  $V_T$  eine verstärkte Lungenschädigung. In allen Gruppen war die Expression von Interleukin-6 (IL-6), Amphiregulin und Club Cell Protein 16 (CC16) gegenüber nicht beatmeten Tieren signifikant erhöht. Beatmung

mit hohem  $V_T$  verstärkte bei hoher MP gegenüber niedriger MP die Expression von IL-6 und Amphiregulin ( $p<0,0125$ ), während bei hoher MP/hohem  $V_T$  Amphiregulin und CC16 gegenüber hoher MP/niedrigem  $V_T$  signifikant stärker exprimiert wurden. Die MP korrelierte gut mit dem DAD-Score ( $r=0,7375$ ;  $p<0,0001$ ) sowie der Expression von IL-6 ( $r=0,5997$ ;  $p=0,002$ ).

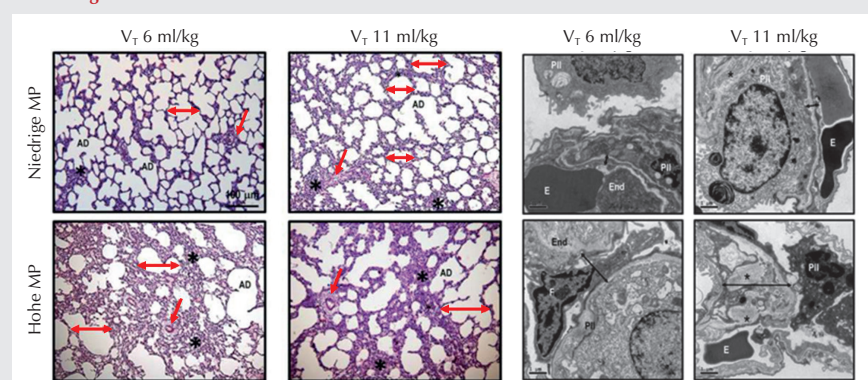
#### Interpretation

Selbst bei Beatmung mit niedrigem  $V_T$  kann eine hohe MP zur beatmungsassoziierten Lungenschädigung führen, wobei sich eine reduzierte MP nicht zwangsläufig lungenprotektiv auswirkt, wenn das  $V_T$  hoch ist. Um die Lungenprotektion zu gewährleisten, ist eine Beatmungsstrategie mit niedrigem  $V_T$  bei niedriger MP anzustreben.

#### Literatur

1. Cressoni M, Gotti M, Chiurazzi C, Massari D, Algieri I, Amini M, et al: Mechanical Power and Development of Ventilator-induced Lung Injury. *Anesthesiology* 2016;124:1100–1108
2. Guérin C, Papazian L, Reignier J, Ayzac L, Loundou A, Forel J-M, et al: Effect of driving pressure on mortality in ARDS patients during lung protective mechanical ventilation in two randomized controlled trials. *Crit Care* 2016;20:384.

Abbildung 1



**Links:** Repräsentative Lichtmikroskopien (Lunge). 200-fache Vergrößerung. **AD:** Alveolärer Durchmesser; **rote Pfeile:** Alveoläre Überdehnung; **Sternchen:** Kollabierte Alveolen.

**Rechts:** Repräsentative Elektronenmikroskopien (Lunge). **E:** Erythrozyt; **End:** Endothel; **MP:** Mechanical Power; **PII:** Typ-II-Pneumozyt; **Schwarze Doppelpfeile:** Dicke der Basalmembran; **Sternchen:** Kollagen; **V<sub>T</sub>:** Tidalvolumen.

## Expiratorische Ventilations-Assistenz verbessert die Oxygenierung beim akuten Lungenversagen im Schweinemodell

J. Schmidt · C. Wenzel · S. Spassov · S. Wirth · S. Schumann

Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin;  
Universitätsklinikum Freiburg, Medizinische  
Fakultät, Universität Freiburg

### Korrespondenz:

johannes.schmidt@uniklinik-freiburg.de

### Fragestellung

Die mechanische Beatmung kann ein akutes Lungenversagen (ARDS) aggravieren. Für eine flusskontrollierte Expiration (FLEX) konnte ein lungenprotektiver Effekt bei Schweinen im ARDS nachgewiesen werden [1]. Die Beatmung mit Expiratorischer Ventilations-Assistenz (EVA) [2], die eine vergleichbare Linearisierung des Expirationsverlaufs generiert wie eine FLEX, konnte die Oxygenierung bei lungengesunden Schweinen verbessern [3]. Daher überprüften wir die Hypothese, dass eine Beatmung mit EVA die Oxygenierung beim ARDS verbessert und den morphologischen Lungenschaden reduziert.

### Methodik

Nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium Freiburg (Az. 35 9185.81/G-16/77) wurde bei 14 Schweinen (40–50 kg) unter Allgemeinanästhesie mittels zentralvenöser Injektion von Ölsäure ein ARDS mit einem Horowitz-Quotient von 100–150 mmHg induziert. Nach Randomisierung wurden die Lungen der Tiere entweder mit Volumenkontrollierter Beatmung (VCV, n=7) oder mit EVA (n=7) bei identischen Beatmungseinstellungen beatmet (Tidalvolumen 7–8 ml/kg, PEEP 9 mbar,  $F_{iO_2}$  0,8, Frequenz angepasst bis  $etCO_2$  35–45 mmHg solange arterieller  $pH > 7,2$ ). Alle 30 min. (T30-T180) wurden respiratorische Parameter (arterieller Partialdruck von  $O_2$  ( $p_aO_2$ ) und von  $CO_2$  ( $p_aCO_2$ ), Trachealdruck, Minutenvolumen (MV)) und hämodynamische Parameter (mittlerer arterieller Druck, Herzfrequenz, Herzindex) aufgezeichnet und in der späteren Analyse als Mittelwert zusammengefasst. Nach 3 h wurden Lungengewebeproben entnommen, welche nach Fixierung, Kryotomie und Hämatoxylin-/Eosin-Färbung zur Bestimmung der alveolären Wanddicke sowie der Infiltration mit Entzündungszellen herangezogen wurden. Die statistische Analyse erfolgte mittels zweifaktorieller ANOVA für wiederholte

Messungen mit Bonferroni-korrigierten multiplen Vergleichstests. Einfache Vergleiche wurden mittels Mann-Whitney-Rangsummentest ausgewertet. Ein  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant angesehen. Die Ergebnisse sind angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung.

### Ergebnisse

Im Vergleich mit VCV erzielte die EVA-Beatmung einen höheren  $p_aO_2$  (Abb. 1A) sowie ein geringeres MV (Abb. 1C) bei vergleichbarem  $p_aCO_2$  (Abb. 1B). Der tracheale inspiratorische Spitzendruck war in beiden Gruppen vergleichbar ( $35 \pm 5$  vs.  $32 \pm 2$  mbar,  $p = 0,30$ ). Die hämodynamischen Parameter waren während der Interventionsphase vergleichbar. Die histologische Auswertung zeigte eine verminderte alveoläre Wandstärke nach EVA-Beatmung ( $7,8 \pm 0,5$  vs.  $5,8 \pm 1,0$   $\mu m$ ,  $p < 0,001$ ) sowie eine geringere Zellinfiltration ( $32 \pm 4$  vs.  $20 \pm 4$  n/Feld,  $p < 0,001$ ).

### Interpretation

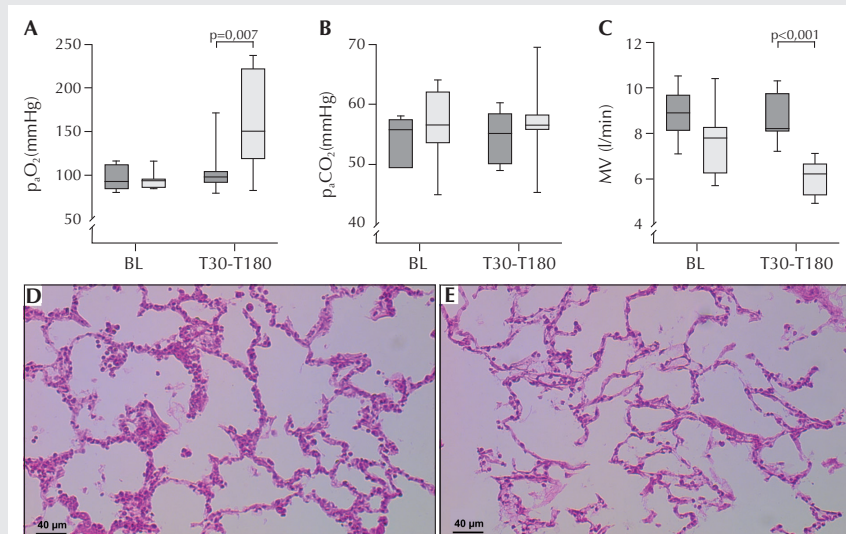
Im experimentellen ARDS zeigt die Beatmung mit EVA über die Stabilisierung der Alvearsepten eine verbesserte Oxygenierung sowie eine geringere Zellinfiltration in das pulmonale Interstitium. Die Beatmung mit EVA könnte ein weiterer Baustein einer lungenprotektiven Beatmungsstrategie sein.

Gefördert durch die Europäische Kommission (Horizont 2020, Projekt-Nr. 691519).

### Literatur

- Goebel U, Haberstroh J, Foerster K, Dassow C, Priebe H-J, Guttman J, et al: Flow-controlled expiration: a novel ventilation mode to attenuate experimental porcine lung injury. *Br J Anaesth* 2014;113:474–483
- Hamaekers AEW, Götz T, Borg PAJ, Enk D: Achieving an adequate minute volume through a 2 mm transtracheal catheter in simulated upper airway obstruction using a modified industrial ejector. *Br J Anaesth* 2010;104:382–386
- Schmidt J, Wenzel C, Mahn M, Spassov S, Cristina Schmitz H, Borgmann S, et al: Improved lung recruitment and oxygenation during mandatory ventilation with the new Expiratory Ventilation Assistance – a controlled interventional trial in healthy pigs. (im Druck, *Eur J Anaesthesiol*).

Abbildung 1



A-C: Arterielle Partialdrücke von  $O_2$  und  $CO_2$  ( $p_aO_2$ ,  $p_aCO_2$ ) sowie das Minutenvolumen (MV) der VCV Gruppe ■ und der EVA-Gruppe ■ als Ausgangswert (baseline, BL) und während der Intervention (T30 T180). Während der Ausgangsmessung waren alle Tiere noch mit VCV beatmet. Dargestellt ist jeweils der Median, der Interquartilsabstand sowie die gesamte Spannweite. D-E: Repräsentative Gewebeschnitte (Hämatoxylin-Eosin-gefärbt) der VCV-Gruppe (D) und der EVA-Gruppe (E).



### **Einfluss von Adipositas auf Plasma- und Gewebespiegel von Linezolid nach Einmalapplikation – Eine kontrollierte klinische Studie**

P. Simon<sup>1,2</sup> · D. Petroff<sup>2,3</sup> · S. Hochstädt<sup>1</sup> · A. Dietrich<sup>2</sup> · C. Kloft<sup>4</sup> · M. Zeitlinger<sup>5</sup> · F. Kees<sup>6</sup> · S. Stehr<sup>1</sup> · H. Wrigge<sup>1,2</sup>

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsmedizin Leipzig
- 2 IFB AdipositasErkrankungen, Universitätsmedizin Leipzig
- 3 ZKS Leipzig
- 4 Freie Universität Berlin
- 5 Medizinische Universität Wien, Österreich
- 6 Universität Regensburg

#### **Korrespondenz:**

Philipp.simon@medizin.uni-leipzig.de

#### **Fragestellung**

Antibiotika werden bei Erwachsenen häufig im Rahmen einer prophylaktischen oder therapeutischen Anwendung mit einer fixen Dosierung appliziert, oft ohne Berücksichtigung wesentlicher individueller pharmakokinetischer Einflussfaktoren [1]. Adipositas beeinflusst die Pharmakokinetik von Antibiotika aufgrund veränderter Verteilungsvolumina, Durchblutung und Eliminationsrate [2]. Unterdosierung von Antibiotika fördert – neben fatalen Konsequenzen für einzelne Patienten – die Entwicklung multiresistenter Bakterien. In dieser klinischen Studie wurde die perioperative Antibiotikaphylaxe vor abdominalchirurgischen Eingriffen als klinisch-pharmakologisches Modell für eine Einmalgabe von Antibiotika genutzt. Wir untersuchten die Hypothese, dass Linezolid-Plasma- und Gewebespiegel bei adipösen Patienten nach Standarddosierung nicht ausreichend hoch sind.

#### **Methodik**

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Leipzig sowie dem BfArM genehmigt und ist Teil eines größeren Projektes, in dem insgesamt 7 Antibiotika wesentlicher Klassen untersucht wurden (EudraCT Nr. 2012-004383-22). Es wurden Patienten mit BMI  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> und  $18,5 \leq \text{BMI} \leq 30$  kg/m<sup>2</sup> passend nach Alter und Geschlecht ausgewählt und nach deren Einwilligung im Rah-

men eines elektiven abdominalchirurgischen Eingriffs eingeschlossen. 60 Minuten vor Hautschnitt wurden eine intravenöse Bolusgabe von 600 mg Linezolid zur perioperativen Antibiotikaphylaxe als Kurzinfusion über 30 Minuten appliziert. Die Bestimmung von ungebundenem Linezolid in der interstitiellen Flüssigkeit des subkutanen Gewebes erfolgte mittels der Mikrodialysetechnik [3]. Dazu wurde präoperativ in beide Oberarme ein Mikrodialysekatheter subkutan platziert. Die Kalibrierung der Katheter erfolgte mittels Retrodialyse am Versuchsende. Es wurden serielle Blut- und Gewebeproben in Fraktionen von 0,5 oder 1 h bis 8 h nach Infusion gewonnen und Linezolid in den Proben mittels HPLC und UV-Detektion bestimmt. Die statistische Analyse erfolgte entweder mit Mann-Whitney-U-Tests oder mit ANOVA für Messwiederholungen mit Gruppe als Faktor. Ein p-Wert  $< 0,05$  galt als statistisch signifikant.

#### **Ergebnisse**

Es wurden insgesamt 30 Patienten in die Studie eingeschlossen, davon 15 adipöse (BMI  $49 \pm 11$  kg/m<sup>2</sup>) und 15 normalgewichtige (BMI  $24 \pm 2$  kg/m<sup>2</sup>). Die Antibiotikakonzentrationen im Plasma und Gewebe in der adipösen Gruppe (Abb. 1,  $p < 0,001$ ) waren signifikant niedriger als in der normgewichtigen Gruppe. Auch die „area under the curve“ (AUC<sub>0-8</sub>) war

in der adipösen Gruppe signifikant reduziert (AUC<sub>Plasma</sub>: 56,6 vs. 79,4 (µg/ml)\*h;  $p < 0,001$  & AUC<sub>Gewebe</sub>: 21,4 vs. 33,8 (µg/ml)\*h;  $p < 0,001$ ). Im Gewebe wurde in der adipösen Gruppe im Mittel eine angenommene minimale Hemmkonzentration (MHK) von 4 µg/ml, die zur Bekämpfung relevanter Bakterien nötig ist, nicht erreicht.

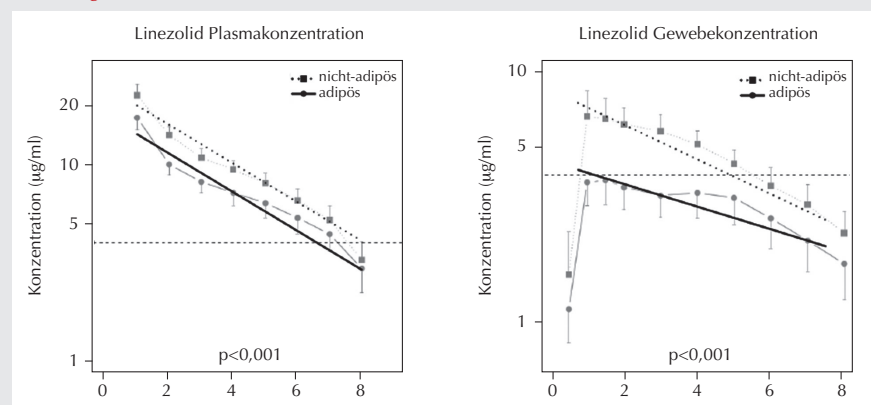
#### **Interpretation**

Adipöse Patienten haben nach einmaliger Gabe von 600 mg Linezolid i.v. signifikant niedrigere Plasma- und Gewebekonzentrationen. Dabei wird im Gewebe die MHK relevanter Bakterien nicht sicher erreicht. Weitere populationskinetische Analysen sind mit dem Ziel geplant, ein Modell zur Dosisanpassung zu entwickeln, das mögliche Unterdosierung verhindert.

#### **Literatur**

1. Meng L, Mui E, Holubar MK, Deresinski SC: Comprehensive Guidance for Antibiotic Dosing in Obese Adults. *Pharmacotherapy* 2017;37:1415–1431
2. Hanley MJ, Abernethy DR, Greenblatt DJ: Effect of obesity on the pharmacokinetics of drugs in humans, *Clin Pharmacokinet* 2010;49:71–87
3. Schmidt S, Banks R, Kumar V, Rand KH, Derendorf H: Clinical microdialysis in skin and soft tissues: an update. *J Clin Pharmacol* 2008;48:351–364.

**Abbildung 1**



Linezolid Plasma- (links) und Gewebekonzentration (rechts) zu verschiedenen Zeitpunkten nach einer einmaligen i.v. Applikation von 600 mg; jeweils n=15; ANOVA bei Messwiederholung mit Gruppe als Faktor; Punktlinie: MHK für *Staphylococcus spec.*, *Enterococcus spec.*



### Reinigung eines Skorpiontoxins mit Schmerzsignalkaskaden-aktivierender Wirkung

M. van Cann<sup>1\*</sup> · J. Isensee<sup>1</sup> · A. Berkut<sup>2</sup> · A. Kuzmenkov<sup>2</sup> · A. Vassilevski<sup>2</sup> · T. Hucho<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Experimentelle Anästhesiologie und Schmerzforschung, Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Uniklinik Köln

<sup>2</sup> Molecular Instruments for Neurobiology, Department of Molecular Neurobiology, Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russland

\* Graduiertenprogramm „Pharmakologie und Therapieforchung“, Universität Köln, finanziell und ideell unterstützt von Bayer

#### Korrespondenz:

Tim.Hucho@uk-koeln.de

### Fragestellung

Venome enthalten in der Regel hochpotente bioaktive Toxine. Ob und wie diese Toxine schmerzrelevante intrazelluläre Signalkaskaden in nozizeptiven Neuronen modulieren, ist bisher wenig erforscht.

### Methodik

Sensorische Neurone aus Spinalganglien männlicher Ratten wurden isoliert, über Nacht kultiviert und anschließend mit Ve-

nomen oder deren Bestandteilen behandelt und fixiert. Mittels phospho-spezifischer immunzytochemischer Färbungen wurde die Aktivität der endogenen Kinasen „Typ-II Protein Kinase A“ (PKA-II) und „Extracellulär signal-regulated kinase 1/2“ (ERK1/2) bestimmt. Durch „High Content Screening“ (HCS)-Mikroskopie wurden die Neurone auf Einzelzellniveau quantifiziert [1–3]. Signalkaskaden-modulierende Venome wurden bis zum reinen Toxin alternierend mit HCS-Mikroskopie untersucht und biochemisch mittels Gelfiltration und „Reverse-Phase“ HPLC fraktioniert. Die statistische Analyse erfolgte mittels zweifaktorieller ANOVA Analyse und posthoc Bonferronis Test.

### Ergebnisse

Insbesondere drei Skorpionvenome aktivierten PKA-II und ERK1/2 in primären sensorischen Neuronen (Abb. 1A). Nach schrittweiser Fraktionierung konnte das Schmerzsignalkaskaden-aktivierende  $\alpha$ -Skorpion Toxin MeuNaTX1 aus *Mesobuthus eupeus* Venom mittels Massenspektrometrie und Edman Sequenzierung identifiziert werden. Rekombinantes MeuNaTX1 ist funktional (Abb. 1B).  $\alpha$ -Skorpion-Toxine führen zu Depolarisierung durch andauernde Öffnung spannungsabhän-

giger Natriumkanäle (VGSC). Präinkubation mit 30 nM Tetrodotoxin (TTX) verhinderte die MeuNaTX1-induzierte Aktivierung von PKA-II und ERK1/2. (Abb. 1C), was auf die Abhängigkeit von TTX-sensitiven VGSC hindeutet.

### Interpretation

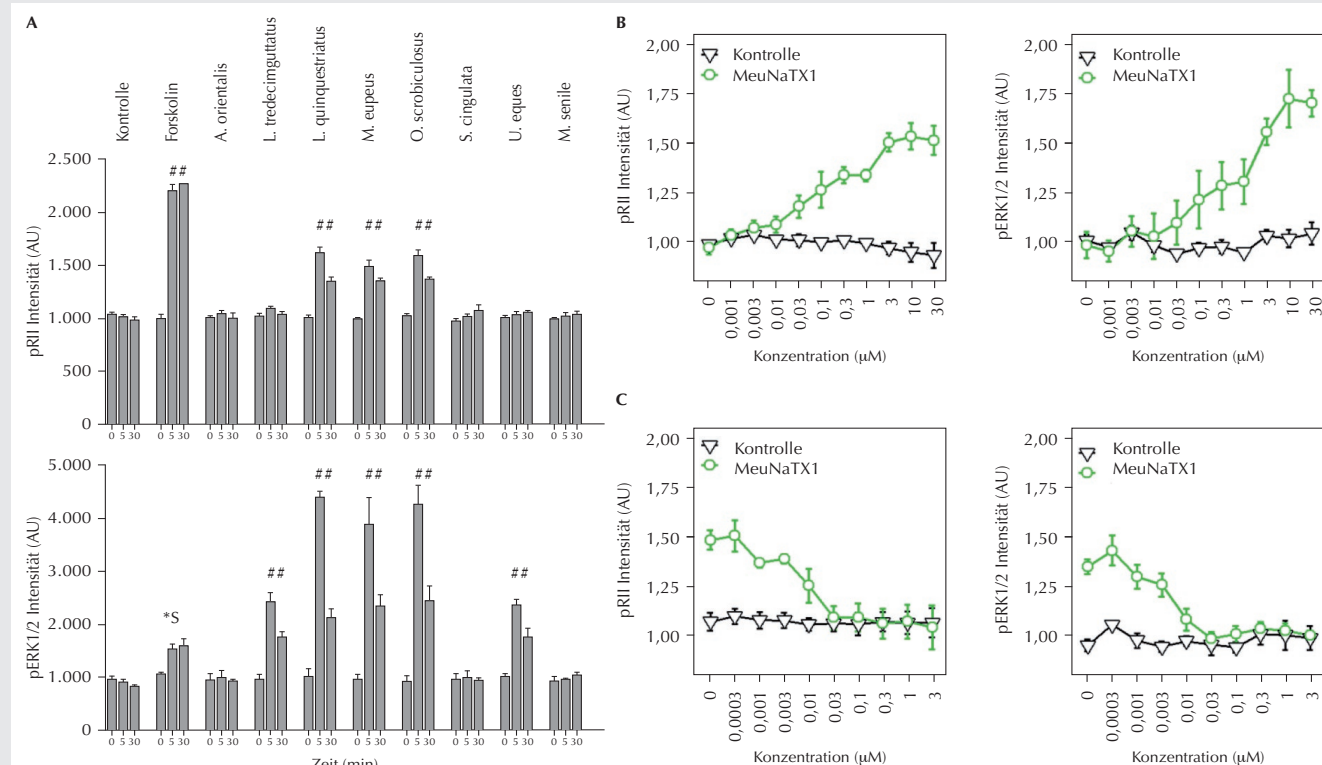
MeuNaTX1 aktiviert abhängig von TTX-sensitiven VGSC die Kinasen PKA-II und ERK1/2. Inwiefern diese ionenkanalabhängige Aktivierung von Signalkaskaden zu Sensitivierung nozizeptiver Neuronen führt, gilt es im Anschluss zu untersuchen.

Finanzierung: DFG HU-1636/4-1, Russian Foundation for Basic Research (RFRB)

### Literatur

1. Hucho T, Levine JD: Signaling pathways in sensitization: toward a nociceptor cell biology. *Neuron* 2007;55(3):365–376
2. Isensee J, et al: Pain modulators regulate the dynamics of PKA-R11 phosphorylation in subgroups of sensory neurons. *J Cell Sci* 2014;127(1):216–229
3. Isensee J, Schild C, Schwede F, Hucho T: Crosstalk from cAMP to ERK1/2 emerges during postnatal maturation of nociceptive neurons and is maintained during aging. *J Cell Sci* 2017;130(13):2134–2146.

Abbildung 1



(A) Signalanstieg der phospho-PKA-II (pRII)- und pERK1/2-Intensitäten nach Stimulation mit Venomen für 0,5 oder 30 Minuten (Mittelwerte ± SEM; Zweifaktorielle ANOVA mit Bonferronis-Test; Signifikanzen: p<0,05 (\*), p<0,01 (\$), p<0,001 (#)). (B-C) Dosis-Wirkungs-Beziehung der pRII- und pERK1/2-Intensität nach Stimulation mit MeuNaTX1 (B), bzw. nach Prästimulation mit Tetrodotoxin (TTX) bei konstanter Stimulation mit 3 µM MeuNaTX1 (C). (Kontrolle=Lösemittel; Forskolin 10 µM=Positivkontrolle; Intensitäten kontrollstimulierter Zellen wurden auf 1000 (A) bzw. 1,0 (B,C) normiert; Mittelwerte ± SEM; n=3–4 Tiere pro Gruppe).

### Verteilung von regionaler Perfusion und Belüftung nach variabler Beatmung und maximalem Rekrutierungsmanöver am lungengeschädigten Schwein

J. Wittenstein<sup>1</sup> · T. Bluth<sup>1</sup> · T. Kiss<sup>1</sup> · A. Braune<sup>1</sup> · L. Vivona<sup>1</sup> · R. Huhle<sup>1</sup> · M. Scharffenberg<sup>1</sup> · J. Kotzerke<sup>2</sup> · T. Koch<sup>1</sup> · M. Gama de Abreu<sup>1</sup>

1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Pulmonary Engineering Group,

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

#### Korrespondenz:

jakob.wittenstein@ukdd.de

#### Fragestellung

Beatmung mit variablen Tidalvolumina kann im akuten Lungenversagen zu einer Verbesserung der Lungenfunktion führen. Diese Studie vergleicht die kurzfristigen Effekte variabler Beatmung mit einem sog. maximalen Lungenrekrutierungsmanöver (maxRM) [1] auf Belüftung und Perfusion der Lunge. Wir stellten die Hypothese auf, dass variable Beatmung durch periodische Lungenrekrutierung zu einer besseren Reduktion von Atelektasen gegenüber maxRM führt.

#### Methodik

Nach behördlicher Genehmigung (DD24-5131/354/64) wurden neun Schweine analgosediert und druckkontrolliert beatmet: Driving Pressure ( $\Delta P$ )=15 cmH<sub>2</sub>O, Atemfrequenz (RR)=20/min, PEEP=5 cmH<sub>2</sub>O. Es erfolgte eine Lungenschädigung mit vier repetitiven Lungenlavagen mit isotoner (0,9%) Kochsalzlösung. Darauf folgend wurde ein maxRM mit einer schrittweisen PEEP-Erhöhung (15, 25, 35 und 45 cmH<sub>2</sub>O) und einem  $\Delta P$  von 15 cmH<sub>2</sub>O für 10–15 Atemzüge (RR=20/min, I:E=1:1) durchgeführt. Zur Bestimmung des besten PEEP (besterPEEP) anhand der höchsten Compliance des respiratorischen Systems erfolgte anschließend ein absteigender PEEP-Trial (volumenkontrollierte Beatmung (VCV),  $V_T$ =6 ml/kg; RR=30/min). Nach Trennung vom Beatmungsgerät für 30 s und anschließender Beatmung im VCV-Modus ( $V_T$ =6 ml/kg, RR=30/min, PEEP=besterPEEP) erfolgte eine

sequentielle Randomisierung: 1) maxRM wie oben beschrieben, gefolgt von 50 min VCV (maxRM-Gruppe); 2) variable Beatmung: mittleres  $V_T$ =6 ml/kg und zufällige Variation von  $V_T$  gemäß einer Normalverteilung mit einem Variationskoeffizienten von 30% (Noisy-Gruppe). Die nicht (0 bis -100 Hounsfield Units (HU)), minder- (-100 bis -500 HU), normal- (-500 bis -900 HU) und überbelüfteten (-900 bis -1000 HU) Kompartimente der Lunge wurden vor und nach Intervention mittels statischer Computertomographie ermittelt. Die relative Lungenperfusion wurde mittels Elektroimpedanztomographie, kombiniert mit Indikator-dilutionsmodellierung nach intravenöser Applikation von 10 ml 10% Kochsalzlösung als Bolus bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels T-Test und zweifaktorieller ANOVA für wiederholte Messungen. Statistische Signifikanz wurde bei einem P-Wert <0,05 angenommen.

#### Ergebnisse

Abbildung 1 zeigt die Verteilung von Belüftungskompartimenten und Perfusion in einem repräsentativen Tier. In beiden Gruppen kam es zu einer geringen Verschiebung des Belüftungszentrums nach dorsal entlang einer normierten ventrodorsalen Achse (0%=ventral; 100%=dorsal) (maxRM: -2,0±1,7% (p<0,05); Noisy: -3,3±1,0% (p<0,001)). Es kam jeweils

zu einer Zunahme der normal belüfteten (maxRM: 8,8±4,8 %Masse (p<0,001); Noisy: 10,4±2,3 %Masse (p<0,001)) und einer Abnahme der minder- (maxRM: -4,0±2,6 %Masse (p<0,01); Noisy: -3,5±4,4 %Masse (p<0,05)) und nicht belüfteten Lungenkompartimente (maxRM: -5,0±3,1 %Masse (p=0,001); Noisy: -6,9±2,7 %Masse (p<0,001)). Variable Beatmung führte dabei gegenüber maxRM zu einer größeren Reduktion nicht belüfteter Lungenanteile (p=0,046). In beiden Gruppen kam es zu keiner signifikanten Verschiebung des Perfusionszentrums.

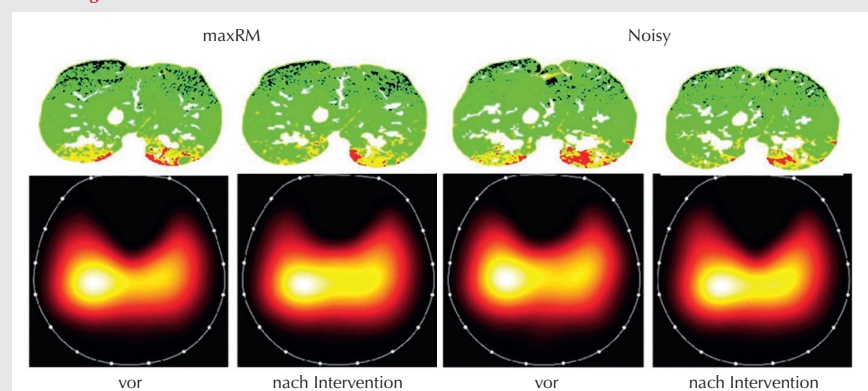
#### Interpretation

Im lungengeschädigten Schwein führte eine Beatmung mit variablen Tidalvolumina gegenüber einem maxRM gefolgt von konventioneller VCV-Beatmung zur besseren Rekrutierung von atelektatischen Lungenkompartimenten ohne signifikante Verschiebung der Lungenperfusion.

#### Literatur

1. Writing Group for the Alveolar Recruitment for Acute Respiratory Distress Syndrome Trial: Effect of Lung Recruitment and Titrated Positive End-Expiratory Pressure (PEEP) vs Low PEEP on Mortality in Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome: A Randomized Clinical Trial. JAMA 2017;318(14):1335–1345.

Abbildung 1



Verteilung von Belüftungskompartimenten (Computertomographie, oben) und Perfusion (Elektroimpedanztomographie, unten) in einem repräsentativen Tier jeweils vor und nach Intervention. **maxRM**=maximales Lungenrekrutierungsmanöver; **Noisy**=variable Beatmung, **schwarz**=überbelüftete, **grün**=normal belüftete, **gelb**=minderbelüftete, **rot**=nicht belüftete Lungenareale.

### Phosphodiesterase-4-Inhibition mit Rolipram reduziert die Extracorporeal Life Support (ECLS)-induzierte Gefäßpermeabilität und verbessert die Mikrozirkulation im extrakorporalen Reanimationsmodell der Ratte

J. Wollborn<sup>1</sup> · S. Siemering<sup>1</sup> · C. Steiger<sup>2</sup> · H. Bürkle<sup>1</sup> · U. Göbel<sup>1</sup> · M.A. Schick<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, USA

#### Korrespondenz:

jakob.wollborn@uniklinik-freiburg.de

#### Fragestellung

Extrakorporale kardiopulmonale Therapieverfahren werden in der Intensivmedizin zunehmend häufiger eingesetzt [1]. Operationen unter Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine können eine systemische Entzündungsreaktion hervorrufen, welche u.a. die Gefäßpermeabilität erhöhen kann [2]. Es wurde in verschiedenen Modellen gezeigt, dass Phosphodiesterase-4-Inhibitoren (PDE-4-I) die Gefäßpermeabilität herabsetzen können [3]. Wir formulierten die Hypothese, dass eine extrakorporale Zirkulation im Rattenmodell die Gefäßpermeabilität erhöht und diese durch den PDE-4-I Rolipram reduziert werden kann.

#### Methodik

Nach behördlicher Genehmigung wurden 25 Ratten anästhesiert und instrumentiert (Zentraler Venenkatheter (ZVK), Arterie, Tracheotomie, miniaturisierter „extracorporeal life support“ (ECLS)) sowie ein subkutaner Mikrodialysekatheter angelegt. Die Tiere wurden in die Gruppen Schein-OP, ECLS, ECLS+Rolipram, extrakorporale Reanimation (Reanimation durch ECLS (ECPR)) und ECPR+Rolipram randomisiert. Der Herz-Kreislauf-Stillstand (HKS) wurde in den Gruppen der ECPR durch Asphyxie ausgelöst. Nach 6 Minuten unbehandeltem HKS wurde die ECLS gestartet, Heparin verabreicht und der arterielle Mitteldruck (MAD) durch Adaptation der Flussrate (10–15 ml/min) auf  $\geq 60$  mmHg eingestellt. Die sistierte Beatmung wurde gestartet und eine pharmakologische Unterstützung mit Adrenalin sowie Natriumhydrogencarbonat durchgeführt. Nach Wiederherstellung eines auswurfrelevanten Eigenrhythmus wurde die ECLS-Flussrate auf 10 ml/min angepasst und die Tiere nach 2,5 h von der ECLS entwöhnt. Die Therapiegruppe erhielt mit Beginn der erfolgreichen Reanimation Rolipram (1 mg/kg/h). Die Katecholamintherapie erfolgte darüber hinaus mit Infusion von Adrenalin und Noradrenalin, um einen MAD  $\geq 60$

mmHg zu halten. Die Vergleichsgruppen ohne HKS wurden 2,5 h mit einer ECLS versorgt, ohne mit Katecholaminen behandelt zu werden. Drei Stunden nach Versuchsbeginn wurden die Tiere laparotomiert. Durch Gabe des Fluoreszenzfarbstoffs FITC-Albumin konnte die Barrierestörung in den mesenterialen, postkapillären Venulen mittels Intravitalmikroskopie visualisiert und die Mikrozirkulation quantifiziert werden. Die Gewinnung von Serum und Organproben erfolgte zur Bestimmung von Schädigungsmarkern. Bei parametrischen Datensätzen erfolgte die Statistikauswertung mittels ANOVA und Post-hoc-Testung nach Duncan und bei nicht-parametrischen Daten mit Kruskal-Wallis und Bonferroni-Korrektur ( $p \leq 0,05$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

#### Ergebnisse

Die ECLS induziert einen Anstieg von Komplement C3a im subkutanen Mikrodialysat. Diese Effekte waren bei vorausgegangenem HKS stärker ausgeprägt und konnten durch Rolipram-Applikation vermindert werden (ECPR+Roli  $13,4 \pm 1,1$  vs. ECPR  $23,8 \pm 3,3$  ng/ml;  $p = 0,04$ ). Auch das endotheliale Junctionsprotein VE-Cadherin stieg im Serum an (Abb. 1C). Zur weiteren Untersuchung wurden die mesenterialen Venulen untersucht: Hierbei zeigte sich eine Zunahme der FITC-Albumin-Extravasation nach ECLS (Abb. 1A und B). Dieser Effekt konnte durch Rolipram-Therapie vermindert sowie eine Reduktion der ECLS-induzierten Mikrozirkulationsstörung erzielt

werden (Abb. 1D). Der Abfall des zyklischen Adenosinmonophosphat nach ECLS und ECPR konnte durch Rolipram vermindert werden. Als Marker der Organschädigung wurde der Lungenschaden untersucht: Hierbei wurde ein verbesserter Horovitz-Quotient bei ECPR unter Rolipram-Therapie beobachtet (ECPR+Roli  $403 \pm 18$  vs. ECPR  $299 \pm 28$ ;  $p = 0,01$ ). Der histomorphologische Schaden und die Dicke der alveolokapillären Membran waren darüber hinaus reduziert.

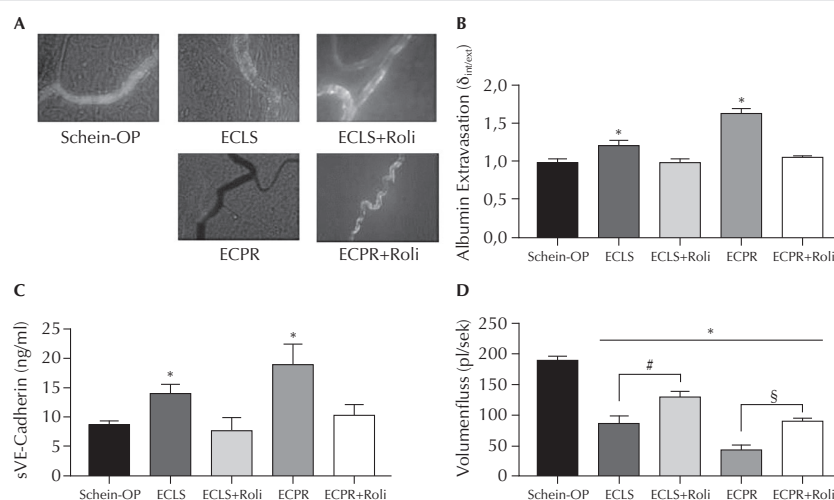
#### Interpretation

Die extrakorporale Zirkulation induziert im Rattenmodell eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität. Dieser Effekt kann durch PDE-4-I reduziert werden. Die Untersuchung der Lunge weist auf eine mögliche Organprotektion hin.

#### Literatur

1. Karagiannidis C, Brodie D, Strassmann S, Stoelben E, Philipp A, Bein T, et al: Extracorporeal membrane oxygenation: evolving epidemiology and mortality. *Intensive Care Med* 2016;42(5):889–896
2. Kubicki R, Grohmann J, Siepe M, Benk C, Humburger F, Rensing-Ehl A, et al: Early prediction of capillary leak syndrome in infants after cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013;44(2):275–281
3. Wollborn J, Schlegel N, Schick MA: Phosphodiesterase 4 inhibition for treatment of endothelial barrier and microcirculation disorders in sepsis. *Anaesthesist* 2017;66(5):347–352.

Abbildung 1



**A und B:** Extravasation von FITC-Albumin aus den mesenterialen, postkapillären Venulen; **C:** Serum VE-Cadherin; **D:** Mikrozirkulation: Mesenterialer Volumenfluss (\* $p \leq 0,05$  vs. Schein-OP; # vs. ECLS; § vs. ECPR).