

**Inhalt**

<b>Nocebo-Effekte bei modalitätsspezifischen Schmerzen: Generalisierungseffekte bei viszeralem Schmerz</b> J. L. Aulenkamp · R. J. Pawlik · H. Engler · J. Kleine-Borgmann · A. Icenhour · S. Elsenbruch	258
<b>Entwicklung eines auf Selbstbeurteilung basierenden Instruments zur Vorhersage postoperativer pulmonaler Komplikationen – eine prospektive Beobachtungsstudie</b> A. Dankert · P. Pujanek · L. Plümer · S. Sehner · C. Zöllner · M. Petzoldt	258
<b>Epigenetische Risikofaktoren der Schmerzpersistenz im komplexen regionalen Schmerzsyndrom: eine Methylomanalyse der Haut</b> F. Feurer · J. Weippert · M. Harnik · J. Becker · G. Kindl · H.L. Rittner · A.-K. Reinhold	259
<b>Identifikation und longitudinales Assessment von Subphänotypen der Sepsis aus klinischen Routinedaten: eine retrospektive mehrzeitige Latente Profilanalyse</b> C. Jung · N. Oetzmann · H.-J. Gillmann · T. Stüber	261
<b>Kardioprotektive Rolle von Semaphorin-3F beim myokardialen Ischämie-Reperfusionschaden</b> L. M. Herrmann · K. Lin Heck-Swain · V. Mirakaj · P. Rosenberger · M. Köppen	262
<b>Vorhersage des perioperativen Myokardschadens mittels maschinellen Lernens</b> S. Sari-Yavuz · B. Sailer · S. Biergans · M. Hardt · R. Verbücheln · L.-C. Achauer · P. Rosenberger · M. Köppen	263
<b>Molekulare Charakterisierung von Sepsis-Protein-Aktivitäten zur Rekonstruktion von Netzwerken der Signalweiterleitung (SPARKS)</b> C. Küpper · B. Dyck · A. Witowski · D. Ziehe · K. Rump · M. Unterberg · M. Adamzik · B. Koos	263
<b>Beeinträchtigung der Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase im menschlichen Kortex unter volatilen Anästhetika</b> M. Maechler · C. Lemale · C. von Haefen · I. Wallach · H. Alle · P. Fidzinski · T. Kalbhenn · J. Onken · S. Schaller · N. Berndt · J. Geiger · A. Liotta	265
<b>Entwicklung einer Methode zur Messung der Inflammationsaktivität in situ und deren translationale Anwendung im SepsisDataNet.NRW</b> F. Mehl · P. Thon · C. Küpper · B. Dyck · A. Witowski · B. Westhus · K. Rump · M. Unterberg · D. Ziehe · S. F. Ehrentraut · C. Putensen · A. Zarbock · M. Adamzik · B. Koos · T. Rahmel	267
<b>Einfluss der extrakorporalen Zirkulation auf perioperative Cefuroxim-Konzentrationen im Plasma und interstitiellen Gewebe bei Patienten mit koronarer Bypassoperation – eine prospektive, kontrollierte Studie</b> S. Nothofer · C. Dumps · C. Dorn · C. Lier · S. Stock · E. Girdauskas · A. R. Heller · P. Simon	268
<b>Cannabidiol zur Regionalanästhesie? Eine In-vitro-Studie zur Inhibition von neuronalen Natriumkanälen und zur Neurotoxizität</b> I. C. A. Pompeiro Stein · J. Schill · A. Heinemann · F. Echtermeyer · A. Leffler	269
<b>Dynamik klinischer Sepsis-Phänotypen und Analyse des Plasmaproteoms letaler Verläufe</b> B. Westhus · L. Palmowski · K. Kappler · T. Bracht · A. Witowski · B. Koos · SepsisDataNet.NRW Research Group, CovidDataNet.NRW Research Group · T. Rahmel · L. Bergmann · M. Adamzik · B. Sitek · H. Nowak	270
<b>GLUT1 – ein metabolischer Marker der Sepsis</b> A. Witowski · B. Dyck · C. Küpper · L. Palmowski · B. Westhus · D. Ziehe · K. Rump · M. Unterberg · T. Rahmel · S. F. Ehrentraut · C. Putensen · A. Zarbock · F. Wappler · D. Henzler · M. Adamzik · B. Koos	272

## Abstracts der 39. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI

**14.–15.03.2025, Würzburg**

Die Vorträge, deren Abstracts nachfolgend publiziert werden, wurden in einem verblindeten Verfahren von sieben Gutachtern ausgewählt und auf den Wissenschaftlichen Arbeitstagen der DGAI am 14.–15.03.2025 gehalten und diskutiert.

Die Ausschreibung für die Wissenschaftlichen Arbeitstage 2026 der Fresenius-Stiftung und das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung finden Sie auf der Seite 257.

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

Die 40. Wissenschaftlichen Arbeitstage der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin e. V. (DGAI) werden vom **06.–07.03.2026** in Würzburg, Residenzgaststätten B. Neumann, veranstaltet.

Nach Maßgabe der aktuell gültigen Statuten der Wissenschaftlichen Arbeitstage werden hiermit Interessenten, die Mitglieder der DGAI sind, eingeladen, ihre Teilnahme durch elektronische Einsendung eines Abstracts anzumelden.

Alle erforderlichen Informationen sowie die Abstraceinreichung sind auf u.g. Website zu finden.

2026 wird das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung für eine hervorragende Forschungsarbeit mit 15.000 € dotiert. Grundlagenforschung und klinische Forschung sollen gleichermaßen gefördert werden.

### **Nähere Informationen:**

[www.wat-wuerzburg.de](http://www.wat-wuerzburg.de)

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

## Nocebo-Effekte bei modalitätsspezifischen Schmerzen: Generalisierungseffekte bei viszeralem Schmerz

J. L. Aulenkamp<sup>1,2</sup> · R. J. Pawlik<sup>2</sup> · H. Engler<sup>3</sup> · J. Kleine-Borgmann<sup>2</sup> · A. Icenhour<sup>4</sup> · S. Elsenbruch<sup>3,4</sup>

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

2 Klinik für Neurologie, Zentrum für Translationale Neuro- und Verhaltenswissenschaften (C-TNBS), Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen

3 Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensimmunbiologie, Zentrum für Translationale Neuro- und Verhaltenswissenschaften, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen

4 Institut für Medizinische Psychologie und Medizinische Soziologie, Ruhr-Universität Bochum

**Korrespondenz:** jana.aulenkamp@uk-essen.de

### Hintergrund

Viszerale Schmerzen, die sich durch einen diffusen, schlecht lokalisierbaren und angstauslösenden Charakter auszeichnen, betreffen neuronale und sensorische Systeme innerhalb der Darm-Hirn-Achse [1]. Es gibt eine Reihe von Belegen, die die Empfindlichkeit dieser Schmerzen gegenüber psychosozialer Modulation, einschließlich Placebo-Effekten, stützen. Die Vulnerabilität viszeraler Schmerzen gegenüber Nocebo-Effekten ist jedoch nach wie vor unzureichend verstanden, insbesondere in komplexen Behandlungskontexten. Ziel der vorliegenden Studie mit akuten viszeralen und somatischen Schmerzreizen war es, (1) zu ermitteln, ob Nocebo-Effekte bei viszeralen Schmerzen ausgeprägter sind als bei somatischen Schmerzen und (2) zu untersuchen, ob die durch negative Behandlungserfahrungen bei somatischen Schmerzen hervorgerufene Generalisierung zum Ausmaß der viszeralen Schmerzenbeiträgt.

### Methoden

In einer randomisierten, kontrollierten, experimentellen Studie (Ethikvotum: 19-8897-BO) wurden 101 gesunde Probanden auf der Grundlage von Behandlungssuggestion (negativ vs. Kontrolle) und/oder Erfahrung (negativ vs. Kontrolle, siehe Studienprotokoll [2]) in drei Nocebo-Gruppen und eine Kontrollgruppe randomisiert. Negative Suggestionen beinhalteten Informationen bezüglich einer erhöhten Schmerzempfindlichkeit aufgrund einer 50 %igen Wahrscheinlichkeit der intravenösen Verabreichung von Naloxon (in Wahrheit Kochsalzlösung), während den Kontrollgruppen versichert wurde, dass ausschließlich Kochsalzlösung verabreicht würde. Die negative Behandlungserfahrung erfolgte durch eine verdeckte Verstärkung des ther-

mischen Schmerzes. Die Schmerzstimulationsintensitäten für viszerale (rektale Dehnung) und somatische (thermische kutane) Schmerzen wurden individuell kalibriert und nach einem etablierten Protokoll aufeinander abgestimmt [3]. Die Erfassung der Schmerzunangenehmheit (VAS), des Speichelcortisol und des emotionalen Zustands (STADI) erfolgte zu Beginn, während der Behandlung und in einer Testphase. Für die statistischen Analysen wurden verallgemeinerte lineare gemischte Modelle (GLMMs) verwendet.

### Ergebnisse

Negative Suggestionen führten zu erhöhten negativen Erwartungen und Cortisolwerten, während die thermische Schmerzmanipulation den somatischen Schmerz während der Behandlung verstärkte ( $p < 0,001$ ). In der Testphase wurde von den Gruppen mit negativer Suggestion ein höheres viszerales Schmerzempfinden berichtet, verglichen mit den Kontrollen ( $\beta = 22,759$ ;  $p = 0,004$ ;  $\beta = 17,766$ ;  $p = 0,023$ ). Auch negative Erfahrungen allein führten zu einem erhöhten viszeralen Schmerzempfinden ( $\beta = 19,708$ ;  $p = 0,011$ ), was auf Nocebo-Effekte durch Generalisierung von der somatischen zur viszeralen Schmerzmodalität hindeutet. Viszerale Schmerzen wurden durchgängig als unangenehmer bewertet als somatische Schmerzen ( $p < 0,001$ ). In der Testphase zeigte sich keine Differenz in der Unangenehmheit somatischer Schmerzen zwischen den Gruppen ( $p = 0,088$ ). Eine Erhöhung des Cortisol deutet auf eine Stressaktivierung in den Gruppen mit negativer Instruktion hin, trotz stabiler emotionaler Zustände (STADI: Angst:  $p = 0,394$ ; Depression:  $p = 0,441$ ).

### Diskussion

Die vorliegende Studie liefert erstmalig experimentelle Belege für eine modalitätsspezifische übergreifende Schmerzgeneralisierung bei viszeralen Schmerzen und belegt, dass negative somatische Behandlungserfahrungen viszerale Nocebo-Reaktionen verstärken können. In Abwesenheit von Nocebo-Effekten in der somatischen Modalität weisen diese Ergebnisse darauf hin, dass Generalisierung de novo Nocebo-Effekte auf der viszeralen Modalität erzeugt. Diese Ergebnisse betonen die erhöhte Empfindlichkeit viszeraler Schmerzen gegenüber Nocebo-Effekten, die durch psychosoziale und somatische Faktoren ausgelöst werden, einschließlich negativer Behandlungserfahrungen anderer körperlicher Symptome. Erhöhte Cortisolwerte in Verbindung mit negativen Suggestionen betonen die entscheidende Rolle der ärztlichen Kommunikation bei der Verdeutlichung von Nocebo-Effekten, insbesondere bei Störungsbildern, bei denen überlappende Schmerzphänotypen und Komorbiditäten das

Leiden der Patienten verstärken können. Künftige Forschungsarbeiten sollten untersuchen, wie diese Ergebnisse auf klinische Situationen übertragen werden können, insbesondere bei Patienten mit chronischen Schmerzen und Erkrankungen, die die Darm-Hirn-Achse betreffen.

### Literatur

- Elsenbruch S, Enck P: Placebo effects and their determinants in gastrointestinal disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015;12:472–485
- Aulenkamp JL, Icenhour A, Elsenbruch S: Nocebo effects in visceral pain: concept and design of the experimental randomized-controlled pain study ‚NoVis‘. *Front Psychiatry* 2023;14:1270189
- Koenen LR, Pawlik RJ, Icenhour A, Petrakova L, Forkmann K, Theysohn N, et al: Associative learning and extinction of conditioned threat predictors across sensory modalities. *Commun Biol* 2021;4:553.

## Entwicklung eines auf Selbstbeurteilung basierenden Instruments zur Vorhersage postoperativer pulmonaler Komplikationen – eine prospektive Beobachtungsstudie

A. Dankert<sup>1</sup> · P. Pujanek<sup>1</sup> · L. Plümér<sup>1</sup> · S. Sehner<sup>2</sup> · C. Zöllner<sup>1</sup> · M. Petzoldt<sup>1</sup>

1 Zentrum für Anästhesiologie, Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

2 Institut für medizinische Biometrie und Epidemiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

**Korrespondenz:** a.dankert@uke.de

### Hintergrund

Postoperative pulmonale Komplikationen beeinflussen das Langzeitoutcome und Wohlbefinden von Patienten nach operativen Eingriffen erheblich; bis dato ist allerdings wenig über optimale Strategien zur präoperativen Risikoprädiktion der postoperativen pulmonalen Komplikationen bekannt [1]. Multiple apparative diagnostische Verfahren wie Spirometrie, Blutgasanalyse, bildgebende Verfahren und Belastungstests wurden hinsichtlich ihrer diagnostischen Wertigkeit zur präoperativen pulmonalen Risikoevaluation untersucht, erwiesen sich allerdings als wenig effizient, kostspielig und zeitaufwändig [1–3]. Aktuell ist nicht bekannt, ob postoperative pulmonale Komplikationen durch eine Selbsteinschätzung der Patienten ausreichend vorhergesagt werden können. Ziel dieser Studie war daher die Entwicklung eines auf Selbstbeurteilung basierenden Instruments zur Vorhersage postoperativer pulmonaler Komplikationen.

## Methoden

Nach positivem Votum der Ethikkommission Hamburg (PV7061) und Studienregistrierung (ClinicalTrials.gov NCT04156594) wurden in einem Delphi-Prozesses 17 potenziell geeignete Fragen ausgewählt, welche auf sechsstufigen Likert-Skalen basieren. Konsekutive Patienten, bei denen eine nicht herzchirurgische Operation geplant war, wurden in die monozentrische prospektive Beobachtungsstudie (PRESELECT) eingeschlossen. Alle Patienten erhielten präoperativ einen Fragebogen, welcher alle im Delphi-Prozess ausgewählten, potenziell für das Selbstbeurteilungsinstrument geeigneten Fragen enthielt. Ferner wurden die Operationsart und soziodemografische Daten systematisch erfasst. Für die Modellentwicklung wurde eine 100-fach wiederholte und 10-fach kreuzvalidierte LASSO-Regression (Least Absolute Shrinkage Selector Operator) durchgeführt. Zur Quantifizierung der diagnostischen Performance des finalen LASSO-Regressionsmodells wurde die 10-fach kreuzvalidierte Fläche unter der Receiver-Operating-Characteristic-Kurve (cvAUROC) bestimmt.

## Ergebnisse

Zwischen April 2019 und November 2022 wurden 5.235 Patienten eingeschlossen. Die Inzidenz postoperativer pulmonaler Komplikationen betrug 5,0 % (262/5.235). Die LASSO-Regression identifizierte acht geeignete Fragen zur Selbstbeurteilung, welche insbesondere kardiopulmonale Symptome, körperliche Belastbarkeit, Exazerbationen, Alter und Operationsart beinhalteten. Die cvAUROC des

neu entwickelten Instruments für die Vorhersage postoperativer pulmonaler Komplikationen betrug 0,88 (95 %-Konfidenzintervall 0,86–0,90). Zudem zeigte der GiViTi-Kalibrierungsgürtel (Abb. 1) eine exzellente Übereinstimmung zwischen erwarteten und beobachteten Wahrscheinlichkeiten.

## Schlussfolgerung

Ein auf präoperativer Selbstbeurteilung basierendes Instrument hat einen sehr hohen diagnostischen Wert zur Vorhersage postoperativer pulmonaler Komplikationen, ohne zusätzliche Kosten, Zeitverluste oder Belastungen für die Patienten zu verursachen. Der Score eignet sich daher zur präoperativen Risikoprädiktion von postoperativen pulmonalen Komplikationen in der klinischen Routine.

## Literatur

1. Zöllner C, Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Deutsche Gesellschaft für Chirurgie, Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin: Präoperative Evaluation erwachsener Patientinnen und Patienten vor elektiven, nicht herz-thorax-chirurgischen Eingriffen: Eine gemeinsame Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie und der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin. *Anaesthesiologie* 2024;73:294–323
2. Dankert A, Dohrmann T, Löser B, Zapf A, Zöllner C, Petzoldt M: Pulmonary Function Tests for the Prediction of Postoperative Pulmonary Complications. *Dtsch Arztebl Int* 2022;119:99–106
3. Dankert A, Neumann-Schirmbeck B, Dohrmann T, Greiwe G, Plümer L, Löser B, et al:

Preoperative Spirometry in Patients With Known or Suspected Chronic Obstructive Pulmonary Disease Undergoing Major Surgery: The Prospective Observational PREDICT Study. *Anesth Analg* 2023;137:806–818.

## Epigenetische Risikofaktoren der Schmerzpersistenz im komplexen regionalen Schmerzsyndrom: eine Methyloanalyse der Haut

F. Feurer<sup>1</sup> · J. Weippert<sup>1</sup> · M. Harnik<sup>1,2</sup> · J. Becker<sup>1</sup> · G. Kindl<sup>1</sup> · H.L. Rittner<sup>1</sup> · A.-K. Reinhold<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zentrum für Interdisziplinäre Schmerzmedizin, Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Würzburg

<sup>2</sup> Universitätsklinik für Anästhesiologie und Schmerzmedizin, Inselspital, Universitätsspital Bern, Schweiz

Korrespondenz: Feurer\_f@ukw.de

## Hintergrund

Das komplexe regionale Schmerzsyndrom (CRPS) ist eine chronische Schmerzerkrankung, die nach einem Extremitätentrauma auftreten kann. Charakteristisch sind anhaltende Schmerzen begleitet von lokalen Veränderungen der Hautfarbe und -temperatur, Ödemen sowie motorischen Einschränkungen [1].

Trotz intensiver Forschung ist die Pathophysiologie weitgehend unverstanden, insbesondere warum sich die Erkrankung bei einigen PatientInnen zurückbildet und bei anderen chronifiziert. Epigenetische Modifikationen wie DNA-Methylierung bieten hier neue Ansätze. Sie unterliegen ähnlichen Einflussfaktoren wie CRPS, könnten zudem durch das initiale Trauma oder Therapie verändert werden und so die Genexpression beeinflussen. Charakteristische Veränderungen der DNA-Methylierung im CRPS wurden in Leukozyten beschrieben [2]. Unklar ist, inwieweit diese die lokalen Veränderungen der betroffenen Extremität widerspiegeln. Die Haut spielt im CRPS eine zentrale Rolle, da sie das unmittelbar vom auslösenden Trauma betroffene Gewebe und den Ort der Hauptsymptome darstellt.

In dieser Studie analysierten wir die lokale DNA-Methylierung in Hautbiopsien, um prädiktive Marker für spätere Schmerzresolution zu identifizieren und neue Einsichten in pathophysiologische Mechanismen zu gewinnen.

## Methoden

In der ResolvePAIN-Studie wurden 90 PatientInnen mit akutem CRPS phänotypisiert und unter leitliniengerechter Therapie beobachtet. Primärer Endpunkt war die Schmerzveränderung: Schmerzresolution (Reduktion ≥ 2

Abbildung 1

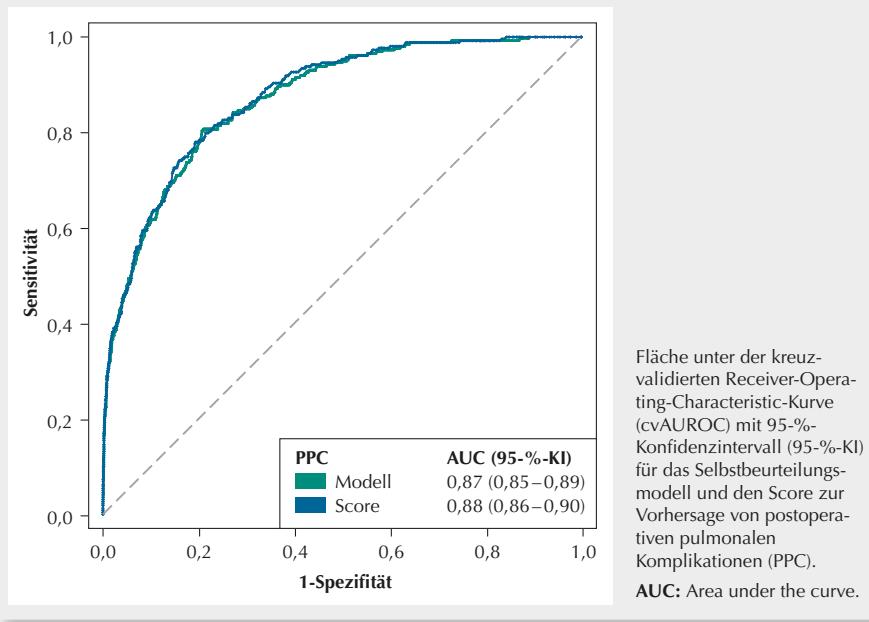
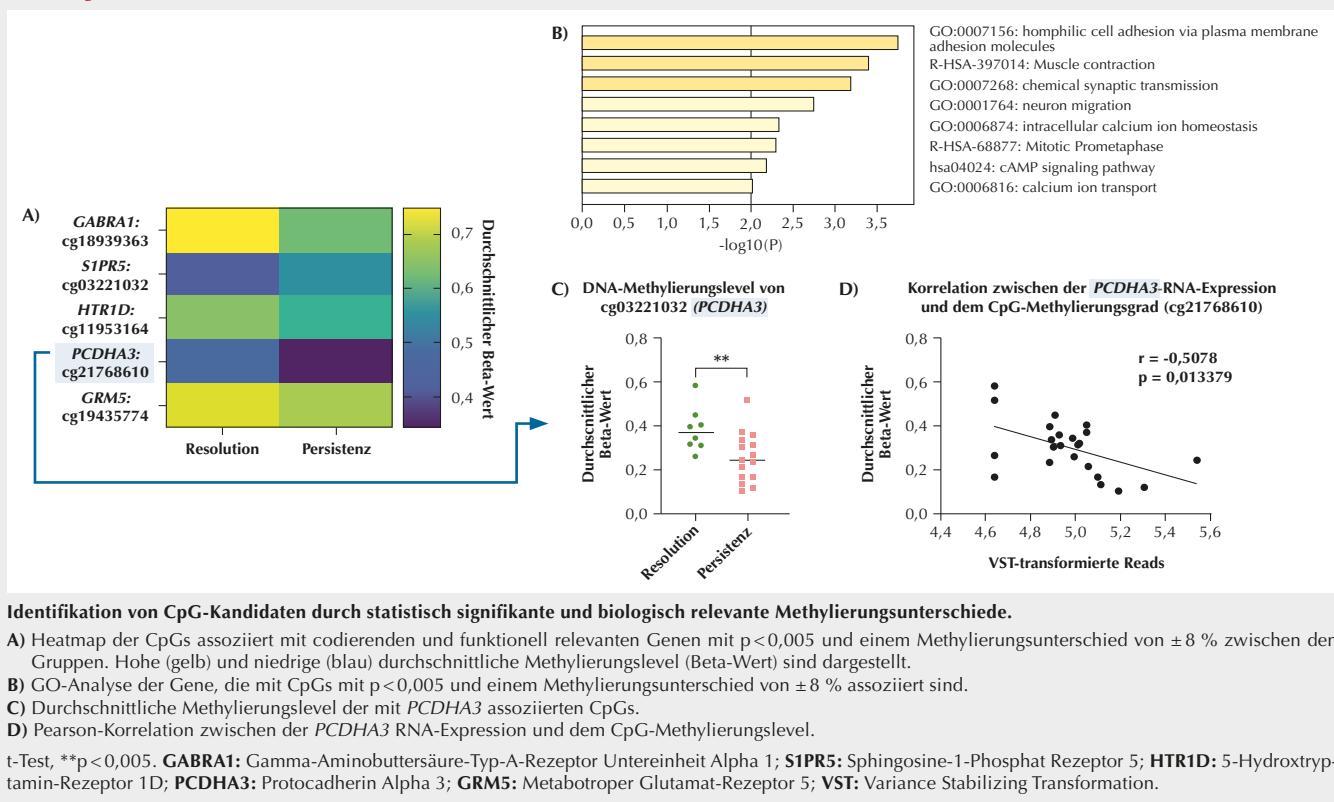


Abbildung 1



Punkte auf der numerischen Rating-Skala) oder -persistenz nach 12 Monaten. Wir analysierten das Methylom von Hautbiopsien der betroffenen Extremität in einer Subgruppe von 23 PatientInnen. Nach DNA-Extraktion und Bisulfitkonversion wurde mittels des Infinium MethylationEPIC v2.0 Arrays (Illumina) der Methylierungsstatus von 937.055 Cytosin-Guanin-Dinukleotiden (CpGs) von LIFE & BRAIN (Bonn) ermittelt. Daten wurden in GenomeStudio® (Illumina) verarbeitet. Die Analyse des Transkriptoms wurde mit NextSeq2000TM-Sequenzierung durch die Core Unit Systemmedizin (Würzburg) durchgeführt. Die Gene-Ontology(GO)-Analyse erfolgte mittels Metascape (letzter Zugriff 18.12.2024). Die statistische Signifikanz wurde mittels t-Test ermittelt und durch False Discovery Rate korrigiert. Bei 0 q-Werten  $< 0,05$  wurden alle CpGs mit  $p < 0,005$  in die weitere Analyse eingeschlossen. Biologische Relevanz wurde bei Gruppenunterschied der Methylierungslevel (Beta-Werte) von  $\pm 8\%$  angenommen. Eine Genehmigung der lokalen Ethikkommission (JMU Würzburg, AZ-242/17) lag vor.

## Ergebnisse

Die Subgruppen zeigten typische Klinik und Epidemiologie, ca. 1/3 der PatientInnen hat-

ten weniger Schmerzen nach 1 Jahr (Resolution). Zwischen Resolutions- ( $n = 8$ ) und Persistenzgruppe ( $n = 15$ ) zeigten 315.374 CpGs einen Methylierungsunterschied von  $\geq 1\%$ . Von diesen erfüllten 1.323 CpGs die Kriterien statistischer Signifikanz und biologischer Relevanz und wurden weiter untersucht. Am deutlichsten reguliert und damit mögliche Prädiktoren waren unter anderem CpG assoziiert mit *GABRA1*, *HTR1D*, *GRM5*, *S1PR5* und *PCDHA3* (A). Passend hierzu waren die höchstregulierten Prozesse Zelladhäsion, v. a. via Protocadherine, und synaptische Signalübertragung (B). Eine detaillierte Analyse der mit Protocadherin Alpha 3 (*PCDHA3*) assoziierten CpGs zeigte neben einem signifikanten Gruppenunterschied (C) auch eine negative, biologisch plausible Korrelation mit der RNA-Expression (D).

## Interpretation

Im akuten CRPS gibt es deutliche Unterschiede des Hautmethyloms zwischen späterer Schmerzresolution und -persistenz. Diese unterscheiden sich teilweise deutlich von Beschreibungen im Blut und scheinen somit hautspezifisch zu sein. Protocadherine, u. a. *PCDHA3*, sind essenziell für homophile (neuronale) Zell-Zell-Kontakte. Ihre epigenetische Modifikation ist in neurologischen Erkrankun-

kungen beschrieben, jedoch bisher nicht im CRPS [3]. Eine Analyse der Lokalisation, z. B. via Immunhistochemie, und Korrelation mit Hautveränderungen sind der nächste Schritt, um die Bedeutung der Protocadherine im CRPS zu verstehen. Inwieweit die regulierten CpGs als Prädiktoren für Schmerzresolution dienen, sollte in einer größeren Kohorte untersucht werden.

## Literatur

- Ferraro MC, O'Connell NE, Sommer C, Goebel A, Bultitude JH, Cashin AG, et al: Complex regional pain syndrome: advances in epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment. Lancet Neurol 2024;23:522–533
- Bruehl S, Gamazon ER, Van de Ven T, Buchheit T, Walsh CG, Mishra P, et al: DNA methylation profiles are associated with complex regional pain syndrome after traumatic injury. Pain 2019;160:2328–2337
- El Hajj N, Dittrich M, Haaf T: Epigenetic dysregulation of protocadherins in human disease. Semin Cell Dev Biol 2017;69:172–182.

## Identifikation und longitudinales Assessment von Subphänotypen der Sepsis aus klinischen Routinedaten: eine retrospektive mehrzeitige Latente Profilanalyse

C. Jung<sup>1</sup> · N. Oetzmann<sup>1</sup> · H.-J. Gillmann<sup>1</sup> · T. Stüber<sup>1</sup>

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

Korrespondenz: jung.carolin@mh-hannover.de

### Hintergrund

Die Definition der Sepsis als Organdysfunktion aufgrund einer dysregulierten Reaktion des Wirts auf eine Infektion subsummiert eine Patienten Kohorte mit einer heterogenen Pathophysiologie. Diese Heterogenität erschwert die Suche und wissenschaftliche Evaluation wirksamer Therapien. Probabilistische Klassifikationsverfahren wie die Latente Profilanalyse (LPA) erlauben eine Identifikation von Subgruppen syndromaler Erkrankungen, die im Idealfall einen eigenständigen, potenziell behandelbaren Pathomechanismus teilen [1]. In bisherigen Arbeiten zur Subphänotypisierung der Sepsis wurden zwei bis vier Subgruppen identifiziert [2,3]. Bislang fehlen unter anderem Daten zur Stabilität dieser Subgruppen über den Behandlungsver-

lauf. Die Darstellung des zeitlichen Verlaufs könnte Hinweise geben, ob identifizierte Subgruppen vor allem einen statischen Ausdruck des Schweregrades der Erkrankung darstellen oder zeitlich stabil sind und somit einen eigenständigen Pathomechanismus wider spiegeln könnten.

### Methodik

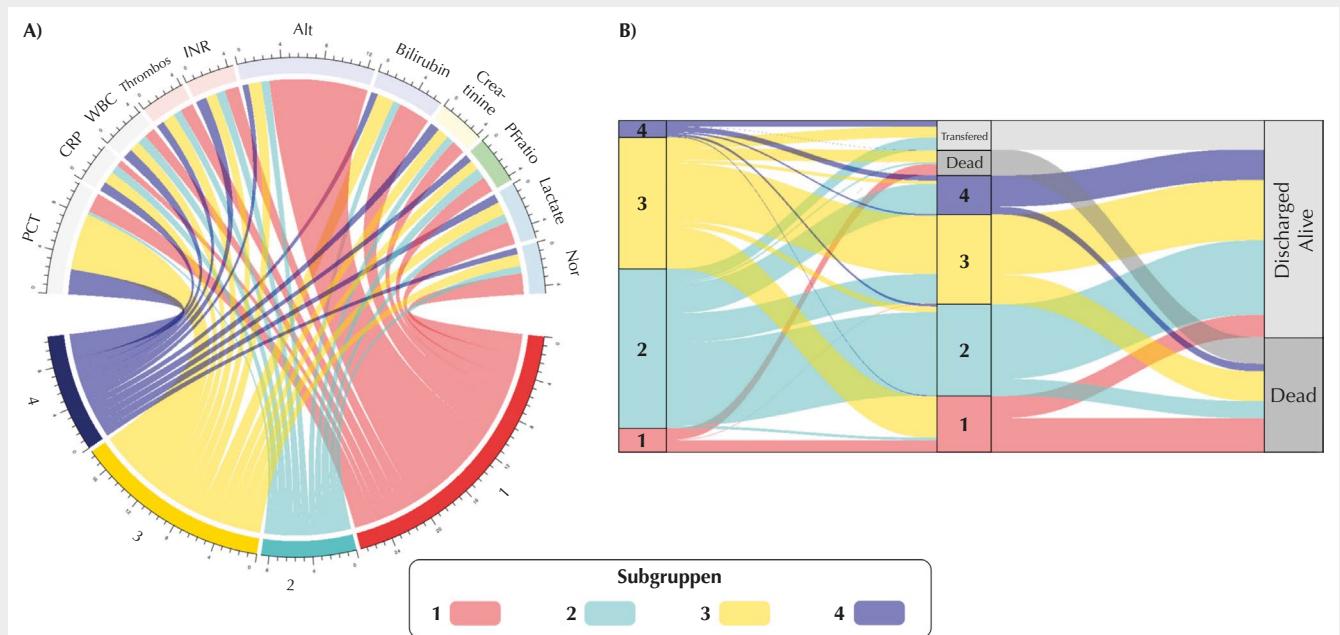
Ziel der Studie war die Identifikation von Subgruppen mit anschließender longitudinaler Analyse dieser Gruppen. Wir erhoben retrospektiv klinische und laborchemische Routinedaten aller Fälle, die zwischen 2013 und 2021 auf der anästhesiologischen Intensivstation eines deutschen Universitätsklinikums mit einer Sepsis nach Sepsis-3-Definition behandelt wurden. Zur Identifikation von Subgruppen (SG) erfolgte eine Latente Profilanalyse anhand von elf Inflammations- und Organdysfunktionsmarkern, die zu zwei Zeitpunkten gesammelt wurden: A) innerhalb der ersten 48 Stunden und B) 120–144 Stunden nach Erfüllen der Einschlusskriterien. Ein positives Votum wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Hochschule Hannover am 8. November 2022 unter der Nummer 10376\_BO\_SK\_2022 erteilt.

### Resultate

In die Analyse wurden 637 Patienten eingeschlossen. Die Gesamtkohorte war im Me-

dian (MD) 65 Jahre alt (Interquartialabstand (IQR) 55–74), hatte bei Einschluss einen SOFA-Score von MD 11 (IQR 8–13) und erfüllte in 84 % die Kriterien eines septischen Schocks. Die intensivstationäre Mortalität der Gesamtkohorte betrug 38 %. In der LPA zeigte gemäß dem Bayes'schen Informationskriterium ein Modell mit vier Profilen und klassenvariierender unbegrenzter Parametrisierung die beste Güte bei guter Entropie (0,93). 76 Patienten (12 %) wurden der Subgruppe (SG) 1, 242 (38 %) SG 2, 236 (37 %) SG 3 und 83 (13 %) SG 4 zugeordnet. Die mediane posteriore Wahrscheinlichkeit der korrekten Subgruppenzuordnung war hoch (1:1,00 (IQR 0,99–1), 2: 0,99 (IQR 0,94–0,99), 3:1,0 (IQR 0,99–1,0) und 4:0,99 (IQR 0,91–1,0). Die identifizierten SG zeigten eine jeweils distinkte Charakteristik (Abb. 1A) und unterschieden sich hinsichtlich des Outcomes (intensivstationäre Mortalität SG 1: 72 %, SG 2: 27 %, SG 3: 40 %, SG 4: 22 %). 77,5 % der bis dahin überlebenden Fälle aus SG 1 des frühen Zeitraums blieben zum späteren Zeitpunkt in dieser SG. Die SG 2–4 blieben zu jeweils etwa 40 % in ihrer initialen SG. Wenn Fälle zum späten Zeitpunkt in SG 1 wechselten, kamen sie überwiegend initial aus SG 3 (Abb. 1B), die durch die höchsten Inflammationswerte charakterisiert war.

Abbildung 1



A) Charakterisierung der identifizierten Subgruppen des frühen Modells (innerhalb 48 Stunden nach Einschluss). **PCT:** Procalcitonin; **CRP:** Creaktives Protein; **WBC:** Leukozyten (white blood cell count); **Thrombos:** Thrombozyten; **INR:** International Normalized Ratio; **ALT:** AlaninAminotransferase; **PFRatio:** Horovitz-Quotient; **Nor:** Noradrenalinosis zur Aufrechterhaltung eines mittleren arteriellen Drucks von 65 mmHg.

B) Zeitliche Entwicklung der Subgruppen-Zuordnung vom frühen Modell (early) über das späte Modell (late, 120–144 Stunden nach Einschluss) bis hin zum Entlassmodus aus der stationären Behandlung (Discharge). \*\*: Verlegt auf Normalstation.

## Diskussion

Anhand in der intensivmedizinischen Routine verfügbarer Variablen konnten wir in unserer Kohorte vier Subgruppen der Sepsis identifizieren, die denen der SENECA-Kohorte [2] ähneln. Sie ließen sich zu zwei Zeitpunkten identifizieren und zeigten zu beiden Zeitpunkten ein jeweils vergleichbares Profil. Insbesondere die Subgruppe 1, die durch eine hepatobiliäre Dysfunktion, Koagulopathie und kardiovaskuläre Instabilität charakterisiert ist, zeigte eine hohe zeitliche Stabilität. Die Subgruppen unterschieden sich hinsichtlich des Outcomes, wobei insbesondere die Subgruppe 1 durch eine sehr hohe intensivstationäre Mortalität auffiel. Die Kombination aus hepatobiliärer Dysfunktion und Koagulopathie hat sich auch in anderen Studien wiederholt [2,3] als hervorstechender Marker für eine schlechte Prognose in der Sepsis präsentiert und unterliegt möglicherweise einem eigenständigen Pathomechanismus. Der potenziell zugrundeliegende Pathomechanismus dieses Sepsis-Subphänotyps sollte Gegenstand zukünftiger Forschung sein.

## Literatur

- DeMerle KM, Angus DC, Baillie JK, Brant E, Calfee CS, Carcillo J, et al: Sepsis Subclasses: A Framework for Development and Interpretation. Crit Care Med 2021;49:748–759
- Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, Chang CH, Elliott CF, Xu Z, et al: Derivation, Validation, and Potential Treatment Implications of Novel Clinical Phenotypes for Sepsis. JAMA 2019;321:2003–2017
- Sinha P, Kercher VE, Willmore A, Chambers J, Zhuo H, Abbott J, et al: Identifying molecular phenotypes in sepsis: an analysis of two prospective observational cohorts and secondary analysis of two randomised controlled trials. Lancet Respir Med 2023;11:965–974.

## Kardioprotektive Rolle von Semaphorin-3F beim myokardialen Ischämie-Reperfusions-Schaden

L. M. Herrmann<sup>1</sup> · K. Lin Heck-Swain<sup>1</sup> · V. Mirakaj<sup>1</sup> · P. Rosenberger<sup>1</sup> · M. Köppen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universitätsklinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin Tübingen

### Korrespondenz:

Michael.Koeppen@med.uni-tuebingen.de

## Einleitung

Die myokardiale Ischämie zählt weltweit zu den häufigsten Todesursachen. Die therapeutische Reperfusion ist essenziell, führt jedoch infolge der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies und einer überschießenden Entzündungsreaktion oft zu einer Exazerbation des Gewebebeschadens [1]. Semaphorine, ursprünglich als neuronale Guidance-Prote-

ine beschrieben, modulieren inflammatorische Prozesse und könnten so den Verlauf der myokardialen Ischämie-Reperfusions (IR) beeinflussen. Erhöhte Semaphorin-3F(SEMA3F)-Plasmakonzentrationen konnten bei Patienten nach Herzstillstand nachgewiesen werden [2], und genetische Polymorphismen in SEMA3F korrelieren mit dem Auftreten von Myokardinfarkten [3]. Diese Studie zielt darauf ab, die gewebespezifischen kardioprotektiven Mechanismen von SEMA3F beim myokardialen Ischämie-Reperfusions-Schaden zu untersuchen.

## Methodik

Alle Tierversuche wurden gemäß den Vorgaben des Regierungspräsidiums Tübingen durchgeführt (Genehmigungsnummer: A07/20G). Ein etabliertes In-vivo-Mausmodell der myokardialen IR-Verletzung (60 Minuten Okklusion der linken Koronararterie (LCA), gefolgt von 120 Minuten Reperfusion) wurde verwendet. Hierbei kamen sowohl Wildtyp-Mäuse (C57BL/6J) als auch SEMA3F-Knockout-Mäuse (SEMA3F<sup>-/-</sup>) zum Einsatz. Die gewebespezifische SEMA3F-Deletion wurde in LysM-Cre- (Neutrophile/Makrophagen), Tie2-Cre- (Endothelzellen) und Myo-cre-Mäusen (Kardiomyozyten) durchgeführt.

## Ergebnisse

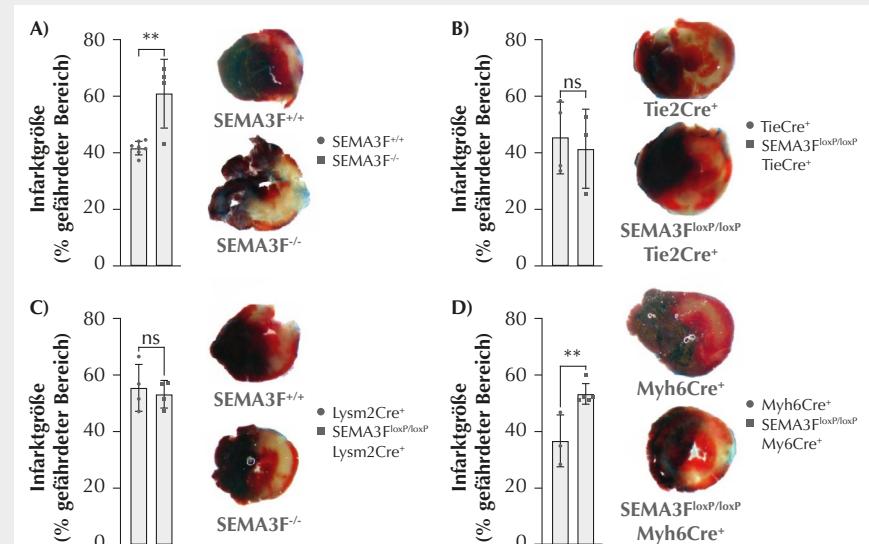
Nach IR zeigte sich bei Wildtyp-Mäusen eine signifikante Erhöhung der SEMA3F-Expression sowohl auf transkriptioneller als auch

translationaler Ebene ( $p < 0,05$ ). Immunfluoreszenzfärbungen wiesen darauf hin, dass SEMA3F primär von Kardiomyozyten freigesetzt wird. SEMA3F<sup>-/-</sup>-Mäuse wiesen im Vergleich zu ihren Wurfgeschwistern signifikant größere Infarktareale auf ( $p < 0,01$ ,  $n = 4–7$ ). Mäuse mit endothelspezifischer (Tie2-Cre) und neutrophilen-/makrophagenspezifischer (LysM-Cre) SEMA3F-Deletion zeigten keine signifikanten Unterschiede in den Infarktgrößen im Vergleich zu ihren Kontrolltieren. Dagegen waren die Infarktareale bei kardiomyozytenspezifisch deletierten (Myo-cre) Tieren signifikant vergrößert ( $p < 0,01$ ; Abb. 1). RNA-Sequenzierungen zeigten in diesen Tieren eine verstärkte Aktivierung proinflammatorischer Signalwege.

## Interpretation

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass SEMA3F, welches von Kardiomyozyten nach myokardialer IR-Verletzung freigesetzt wird, kardioprotektive Eigenschaften besitzt. SEMA3F scheint dabei regulierend auf inflammatorische Prozesse einzuwirken, was den Myokardschaden beeinflussen könnte. Die Erkenntnisse bieten Potenzial für neue kardioprotektive Therapien, die Myokardschäden durch Modulation von SEMA3F und inflammatorischen Prozessen begrenzen könnten. Diese Ergebnisse unterstreichen die Rolle von SEMA3F in der Regulation inflammatorischer Prozesse beim myokardialen IR-Schaden.

Abbildung 1



**SEMA3F wirkt kardioprotktiv beim myokardialen Ischämie-Reperfusions-Schaden.** Mäuse wurden 60 Minuten Ischämie, gefolgt von 120 Minuten Reperfusion unterzogen. Der gefährdete Bereich wurde mittels Evans-Blue-Gegenfärbung identifiziert. Die Infarktgröße wurde mittels TTC-Färbung bestimmt. Die Infarktgrößenmessung erfolgte in Relation zum gefährdeten Bereich.

A) SEMA3F-Knockout-Mäuse; B) Endothelspezifische SEMA3F-Knockout-Mäuse; C) Neutrophilen-/Makrophagenspezifische SEMA3F-Knockout-Mäuse; D) Kardiomyozytenspezifische SEMA3F-Knockout-Mäuse. (n: 3–7 pro Gruppe; Outlineranalyse durchgeführt; mean ± SD, t-Test für unabhängige Stichproben).

## Literatur

- Pell VR, Chouchani ET, Frezza C, Murphy MP, Krieg T: Succinate metabolism: a new therapeutic target for myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2016;111:134–141
- Reichert S, Scheid S, Roth T, Herkel M, Petrova D, Linden A, et al: Semaphorin 3F Promotes Transendothelial Migration of Leukocytes in the Inflammatory Response After Survived Cardiac Arrest. *Inflammation* 2019;42:1252–1264
- Fujimaki T, Kato K, Yokoi K, Oguri M, Yoshida T, Watanabe S, et al: Association of genetic variants in SEMA3F, CLEC16A, LAMA3, and PCSK2 with myocardial infarction in Japanese individuals. *Atherosclerosis* 2010;210:468–473.

## Vorhersage des perioperativen Myokardschadens mittels maschinellen Lernens

S. Sari-Yavuz<sup>1</sup> · B. Sailer<sup>2</sup> · S. Biergans<sup>2</sup> · M. Hardt<sup>2</sup> · R. Verbücheln<sup>2</sup> · L.-C. Achauer<sup>2</sup> · P. Rosenberger<sup>1</sup> · M. Köppen<sup>1</sup>

1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen  
2 Medical Data Integration Center, Universitätsklinikum Tübingen

### Korrespondenz:

Michael.Koeppen@med.uni-tuebingen.de

## Hintergrund

Perioperativer Myokardschaden (PMI) nach nicht herzchirurgischen Eingriffen tritt bei bis zu 16 % der Hochrisikopatienten auf und ist mit einer erheblichen Belastung für das Gesundheitswesen verbunden [1]. Prospektive Studien zeigen, dass ein postoperativer Anstieg des Troponins eng mit einer erhöhten 30-Tage-Mortalität assoziiert ist. Die Behandlung und das Management von PMI stellen eine besondere Herausforderung in der perioperativen Medizin dar. Ziel dieser Studie war die Entwicklung eines maschinellen Lernmodells, welches eine transparente und präzise Risikoabschätzung für PMI ermöglicht.

## Methodik

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universitätsklinik Tübingen (Aktenzeichen 287/2023BO2) genehmigt. Im Rahmen einer retrospektiven Kohortenanalyse wurden Daten von 9.334 Patienten an 10.617 Operationsterminen (2014–2022) ausgewertet. Eingeschlossen wurden ausschließlich Patienten mit postoperativen Troponin-Messungen innerhalb von sieben Tagen nach der Operation. Demographische Daten, präoperative Laborwerte und Vorerkrankungen wurden bis zu sieben Tage vor der Operation aus dem Krankenhausinformationssystem extrahiert.

Neben logistischer Regression, RandomForest und XGBoost wurde die Explainable Boosting Machine eingesetzt, um Maschinelles Lernen (ML) zur Vorhersage von PMI zu trainieren. Der interne Datensatz wurde in einen Trainingsdatensatz und Testdatensatz im Verhältnis 80:20 aufgeteilt. Das Training selbst wurde mit einer 10-fachen Kreuzvalidierung durchgeführt. Die Modelle wurden während des Trainingsprozesses auf **Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve** (ROC AUC) ausgerichtet. Im Anschluss wurde der Klassifikationsschwellenwert auf dem Trainingsdatensatz hinsichtlich der **balanced accuracy** optimiert. Der resultierende Schwellenwert variierte modellabhängig im Bereich zwischen 0,16 und 0,36.

## Ergebnisse

Von den 10.617 analysierten Operationsterminen wurde bei 3.683 Patienten (34,6 %) ein postoperativer Troponin-Anstieg festgestellt. Diese Patienten wiesen eine signifikant höhere Krankenhaussterblichkeit auf als Patienten ohne Troponin-Erhöhung (15,9 % vs. 4,7 %;  $p < 0,001$ ). Das mittlere Alter der PMI-Gruppe lag bei  $67,8 \pm 15$  Jahren, verglichen mit  $61,8 \pm 18$  Jahren in der Nicht-PMI-Gruppe ( $p < 0,0001$ ). Die Häufigkeit abdominaler Eingriffe war in beiden Gruppen vergleichbar, jedoch wurden die Patienten in der PMI-Kohorte häufiger thoraxchirurgischen Eingriffen unterzogen.

ML identifizierte niedrige, präoperative Thrombozyten- und Erythrozytenzahlen, eine reduzierte glomeruläre Filtrationsrate (GFR) sowie erhöhte Serum-Natrium- und -Kaliumspiegel als Risikofaktoren für PMI. Darüber

hinaus waren Vorerkrankungen wie koronare Herzkrankheit, Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus, akute Blutungsanämie und vorangegangene gefäßchirurgische Eingriffe mit einem erhöhten Risiko assoziiert. Diese Ergebnisse werden durch die in der Abbildung 1 dargestellte Feature-Importance-Analyse gestützt, die die relative Bedeutung dieser Merkmale für die Modellvorhersage veranschaulicht. Der maschinelle Lernalgorithmus zeigte eine hohe Vorhersagegenauigkeit, die anhand einer ROC AUC mit 0,81 ermittelt wurde. Die balanced accuracy lag bei 71,5 %, die Präzision bei 0,76 und die Sensitivität bei 0,52.

## Schlussfolgerung

Maschinelles Lernen erwies sich als effektives Werkzeug zur Prädiktion von PMI und zur Identifikation präoperativer Risikofaktoren. Die Explainable Boosting Machine bietet eine transparente Risikoabschätzung und könnte die Grundlage für gezielte präoperative Interventionen und personalisierte Medizin im perioperativen Management sein.

## Literatur

- Puelacher C, Lurati Buse G, Seeberger D, Szagary L, Marbot S, Lampart A, et al: Perioperative Myocardial Injury After Noncardiac Surgery: Incidence, Mortality, and Characterization. *Circulation* 2018;137:1221–1232.

## Molekulare Charakterisierung von Sepsis-Protein-Aktivitäten zur Rekonstruktion von Netzwerken der Signalweiterleitung (SPARKS)

C. Kümpel<sup>1</sup> · B. Dyck<sup>1</sup> · A. Witowskil<sup>1</sup> · D. Ziebel<sup>1</sup> · K. Rumpf<sup>1</sup> · M. Unterberg<sup>1</sup> · M. Adamzik<sup>1</sup> · B. Koos<sup>1</sup>

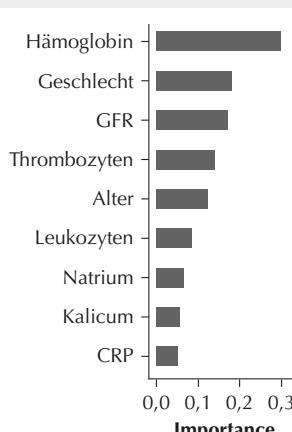
1 Zentrum für Perioperative Präzisionsmedizin (ZPM) – Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Knappschaft Kliniken Universitätsklinikum Bochum GmbH

**Korrespondenz:** bjoern.koos@rub.de  
charlotte.kuempel@rub.de

## Fragestellung

Sepsis ist ein komplexes, lebensbedrohliches Syndrom [1], bei dem der **Steady State** zwischen pro- und antiinflammatorischen Prozessen gestört ist. Aufgrund der Dynamik und der Nichtlinearität des Immunsystems lässt sich diese Störung durch einzelne Biomarker nicht vollständig erfassen [2]. Sie spiegelt vielmehr das Resultat eines eng vernetzten Systems aus verschiedenen Signalnetzwerken in unterschiedlichen Immunzellen wider. Daher ist eine integrative Herangehensweise notwendig, um ganze Netzwerkstrukturen in ihrer zeitlichen Dynamik zu rekonstruieren.

Abbildung 1



### Feature-Importance-Analyse.

Feature-Importance-Analyse der neun wichtigsten Variablen für die Modellvorhersage.

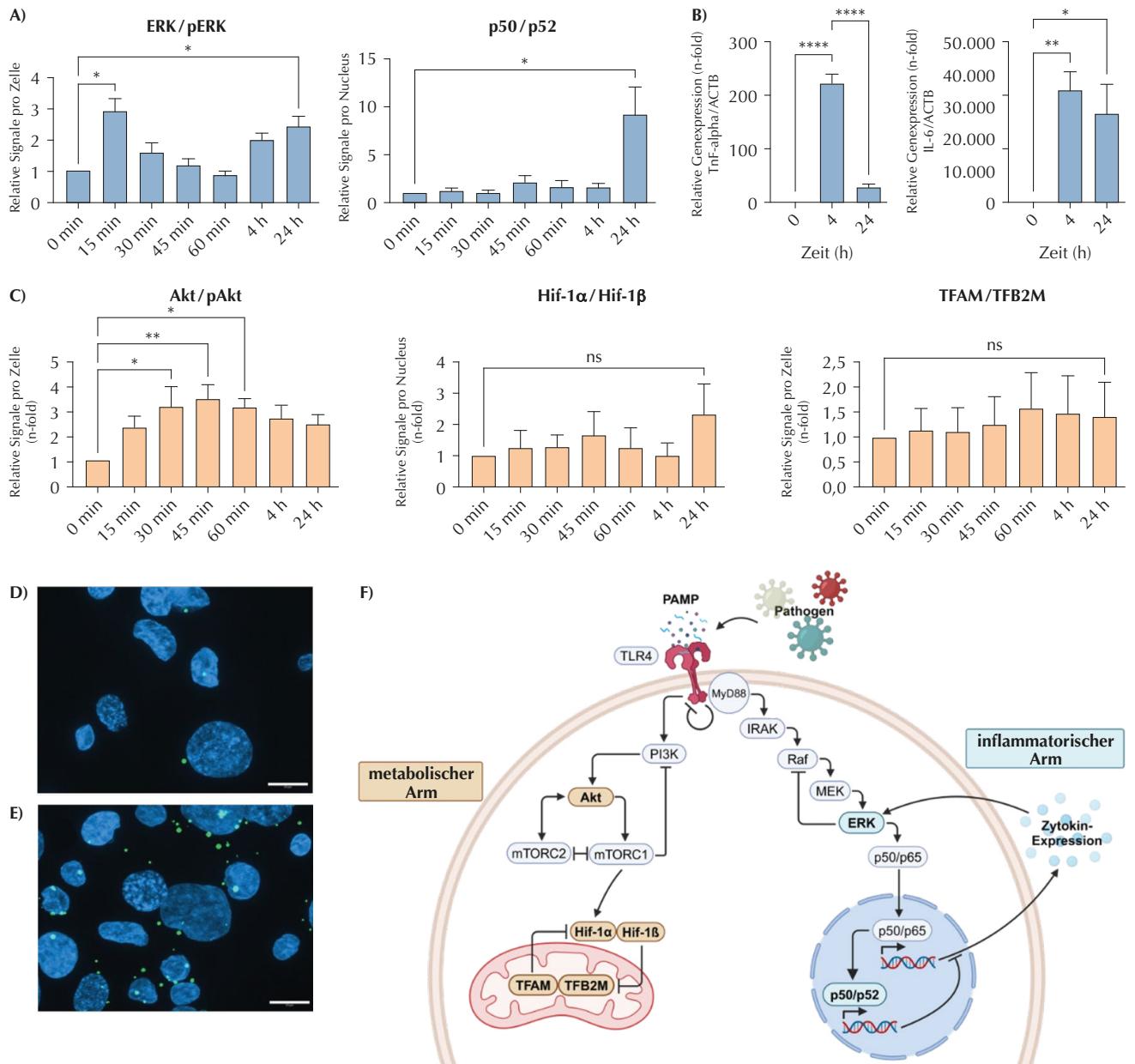
**GFR:** Glomeruläre Filtrationsrate; **CRP:** C-reaktives Protein

Hier möchten wir multiple Biomarker parallel analysieren und ihre Beziehungen zueinander charakterisieren, sodass sich zentrale Knotenproteine („Proxies“) und Interaktionsmuster identifizieren lassen. Dies erlaubt

tiefere Einblicke in das Zusammenspiel der inflammatorischen und metabolischen Arme des TLR4-Signalnetzwerks [3], was über die traditionelle Einzelmarker-Analyse hinausgeht. Damit legen wir eine Grundlage, um die

gestörte Homöostase im septischen Patienten besser zu verstehen und potentielle therapeutische Ansatzpunkte abzuleiten. In diesem Projekt untersuchten wir daher, ob wir die Beziehungen zwischen dem inflammatori-

**Abbildung 1**



**A)** Relative Signale pro Zelle (n-fold) der ERK-Phosphorylierung und relative Signale pro Neukleus (n-fold) der p50/p52-Interaktion im zeitlichen Verlauf nach LPS-Stimulation. **B)** Relative Genexpression (n-fold) und TNFa und IL-6 nach Stimulation mit LPS. **C)** Relative Signale pro Zelle (n-fold) der Akt-Phosphorylierung und relative Signale pro Nukleus (n-fold) der Hif-1 $\alpha$ -Hif-1 $\beta$ -Interaktion mit zeitlichen Verlauf nach LPS-Stimulation. **D–E)** Mikroskopieaufnahme der ERK-Phosphorylierung in THP-1 Makrophagen, die Zellkerne wurden mit DAPI gefärbt (blau), die PLA-Signale sind grün dargestellt (Atto 488), die Skalierung entspricht 20  $\mu$ m. **D)** Unstimuliert. **E)** 15-minütige FCS-Stimulation. **F)** Abgeleitetes Signalnetzwerk der Immunreaktion.

Erstellt mit BioRender.com.

**Statistik:** MW $\pm$ SEM, Friedman-Test mit Dunn-Test (Post-hoc) oder einfaktorieller ANOVA mit Tukey-Test (Post-hoc); ns: nicht signifikant; p<0,05 (\*); p<0,01 (\*\*); p<0,0001 (\*\*\*\*).

schen und dem metabolischen Arm des TLR4-Netzwerks in einem Lipopolysaccharid (LPS)-Zellkulturmödell rekonstruieren können.

## Methodik

In diesem Projekt haben wir ausdifferenzierte THP-1-Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten mit LPS stimuliert. Nach Fixierung der Zellen analysierten wir die Proteinaktivitäten ausgewählter Knotenproteine mithilfe des **Proximity Ligation Assay** (PLA). Dies erlaubte es uns, durch die Kombination verschiedener Antikörper sowohl Proteinteraktionen als auch posttranskriptionale Modifikationen (PTM) in einer Zeitreihe zu quantifizieren. Als Knotenproteine wählten wir aufgrund von Vorschlägen Akt (metabolischer Arm), HIF1 $\alpha$ /HIF1 $\beta$  (metabolischer Transkriptionskomplex), TFAM/TFB2M (mitochondriale Genregulation), ERK (inflammatorischer Signalweg) und p50/p52 (NF- $\kappa$ B-Signalweg) aus. Zusätzlich bestimmten wir die Expression verschiedener Zytokine mittels qPCR.

## Ergebnisse

Wir konnten alle Assays erfolgreich etablieren. In der Abbildung 1 sind die dynamischen Aktivierungsverläufe dargestellt. ERK als Marker des inflammatorischen Arms zeigte nach einem transienten Anstieg direkt nach der Stimulation (2,93-fache Erhöhung gegenüber Kontrolle;  $p = 0,0108$  bei 15 min;  $n = 5$ ) einen erneuten Anstieg bei etwa 4 h, was auf einen oszillierenden Verlauf hindeutet. Eine Aktivierung von p50/p52 erfolgte erst bei 24 h (9,19-fache Erhöhung gegenüber Kontrolle;  $p = 0,0325$ ;  $n = 5$ ), sodass hier keine spätere Dynamik mehr erfasst werden konnte. Der metabolische Arm, primär repräsentiert durch die Aktivierung von Akt, zeigte einen durchgehend aktivierte Verlauf (3,52-fache Erhöhung gegenüber Kontrolle;  $p = 0,003$  bei 45 min;  $n = 5$ ). Interessanterweise führte dieses Signal nicht zu einer erwarteten Aktivierung von HIF1 $\alpha$ /HIF1 $\beta$  (2,32-fache Erhöhung gegenüber Kontrolle; ns;  $n = 5$ ) oder Deaktivierung von TFAM/TFB2M (1,43-fache Erhöhung gegenüber Kontrolle; ns;  $n = 3$ ).

## Schlussfolgerung

In diesem Projekt konnten wir die Aktivitätsdynamik der beiden Arme des TLR4-Netzwerks in Makrophagen detailliert darstellen. Auf Basis dieser Daten leiteten wir ein Netzwerkmodell ab (Abb. 1), das wertvolle Einblicke in das Zusammenspiel innerhalb dieses wichtigen Netzwerks liefert. Der nächste Schritt besteht darin, dieses Netzwerk durch gezielte Perturbationen zu validieren, um seine Robustheit und kritische Knoten zu identifizieren. Langfristig planen wir, das Netzwerk durch weitere Assays zu erweitern und dessen Übertragbarkeit auf andere In-vitro- und In-vivo-Modelle zu prüfen, um somit künftig

gezieltere therapeutische Strategien gegen die sepsisbedingte Immun dysregulation entwickeln zu können.

## 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 (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:801–810
2. Leligdowicz A, Matthay MA: Heterogeneity in sepsis: new biological evidence with clinical applications. *Crit Care* 2019;23:80
3. Thon P, Rump K, Knorr A, Dyck B, Ziehe D, Unterberg M, et al: The Distinctive Activation of Toll-Like Receptor 4 in Human Samples with Sepsis. *Cells* 2022;11:3020.

## Beeinträchtigung der Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase im menschlichen Kortex unter volatilen Anästhetika

**M. Maechler<sup>1,2</sup> · C. Lemale<sup>1</sup> · C. von Haefen<sup>1</sup> · I. Wallach<sup>1</sup> · H. Alle<sup>1</sup> · P. Fidzinski<sup>1</sup> · T. Kalbhenn<sup>3</sup> · J. Onken<sup>1</sup> · S. Schaller<sup>2</sup> · N. Berndt<sup>1</sup> · J. Geiger<sup>1</sup> · A. Liotta<sup>1</sup>**  
 1 Charité – Universitätsmedizin Berlin  
 2 AKH Wien, Universitätsklinikum, Österreich  
 3 Ev. Klinikum Bethel, Universitätsklinik für Neurochirurgie, Bielefeld

### Korrespondenz:

mathilde.maechler@meduniwien.ac.at

## Fragestellung

Die Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase (NKA) verbraucht unter Ruhebedingungen ca. 50 % des zerebralen Adenosintriphosphats (ATP), um essenzielle elektrochemische Gradienten aufrechtzuerhalten, die zur Stabilisierung des Ruhemembranpotenzials erforderlich sind. Eine Beeinträchtigung der NKA führt zu einer erhöhten neuronalen Erregbarkeit und pathophysiologischen Phänomenen wie epileptischen Anfällen und Spreading Depolarisation. Im Jahr 2023 wurde erstmals eine Beeinträchtigung der  $\alpha$ 2/3-Isoformen der NKA im Rattenhirn unter Isoflurankonzentrationen beobachtet, die für eine tiefe Narkose relevant sind [1]. Je nach klinischer Situation und Patientengruppe kann eine tiefe Narkose – im EEG als Burst-Suppression-Muster erkennbar – sowohl neuroprotektiv als auch neurotoxisch wirken. Somit besitzt die Validierung dieser experimentellen Befunde im menschlichen Hirngewebe eine besondere translationale Relevanz.

## Methodik

In dieser Studie wurde die Wirkung von Isofluran und Sevofluran an gepaarten kortikalen Akutschnitten menschlichen Hirngewebes *in vitro* untersucht. Das Gewebe stammte aus den anterioren Temporallappen von Pa-

tient\*innen mit pharmakoresistenter Epilepsie (Ethik-Voten: EA4\_206\_20/EA2\_086\_20 Berlin; 2020-517-f-S Westfalen-Lippe). Es wurden 23 Patient\*innen (15 männliche und 8 weibliche) mit einem Medianalter von 33 Jahren untersucht (Abb. 1 A). Veränderungen der extrazellulären Ionenkonzentrationen von Kalium ([K<sup>+</sup>]<sub>o</sub>), Natrium ([Na<sup>+</sup>]<sub>o</sub>) und Kalzium ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>) wurden unter verschiedenen Konditionen gemessen (mit und ohne neuronale Aktivität sowie unter Hemmung von Two-Pore-Domain-Kaliumkanälen). Die Clearance stimulusinduzierter [K<sup>+</sup>]<sub>o</sub>-Anstiege wurde zur Beurteilung der NKA-Funktion analysiert. Zusätzlich wurde ein enzymatischer Assay basierend auf NADH-spektrofluometrischen Messungen an Gehirnhomogenaten zur direkten Bestimmung der NKA-Aktivität durchgeführt.

## Ergebnisse

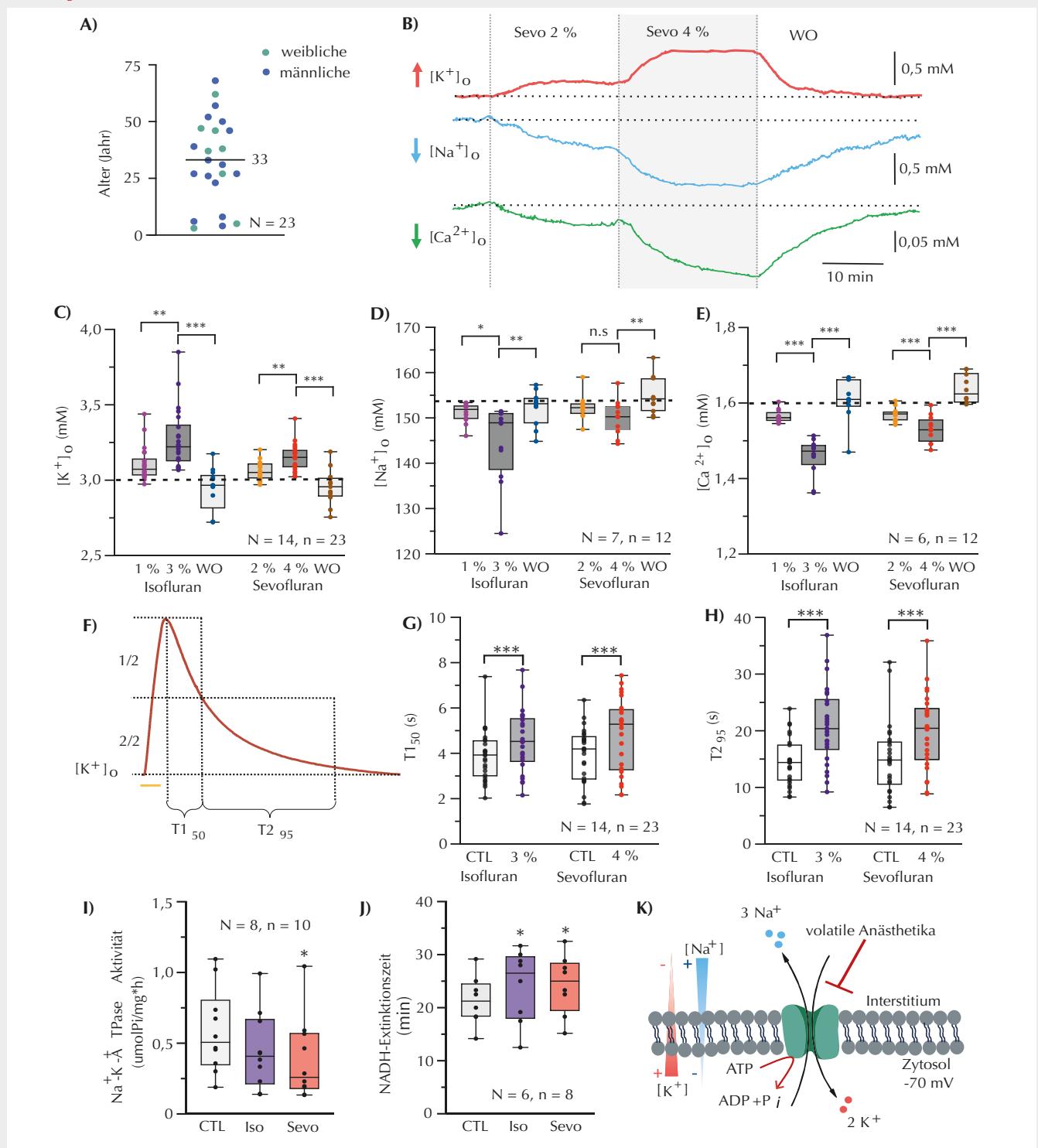
Wir beobachteten unter beiden Anästhetika, Isofluran sowie Sevofluran, eine konzentrationsabhängige Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration sowie eine Abnahme der extrazellulären Natrium- und Kalziumkonzentrationen. Alle Veränderungen waren signifikant bei Konzentrationen, die für eine tiefe Narkose relevant sind ( $p < 0,01$ ) (Abb. 1 B–E). Diese Effekte traten unabhängig von synaptischer Aktivität und Two-Pore-Domain-Kaliumkanälen auf ( $p < 0,05$ ). Zudem war die Kalium-Clearance nach Stimuli unter beiden Anästhetika signifikant verlangsamt ( $p < 0,001$ ) (Abb. 1 F–H). In den Enzym-Assays wurde ebenso unter beiden Anästhetika eine reduzierte Gesamtaktivität der NKA nachgewiesen, die mit signifikant verlängerten enzymatischen Extinktionszeiten assoziiert war ( $p < 0,05$ ) (Abb. 1 I–J).

## Interpretation

Sowohl Isofluran als auch Sevofluran – in Konzentrationen relevant für tiefe Narkose – beeinträchtigen die NKA im menschlichen Kortex und stören dadurch die Ionenhomöostase (Abb. 1 K). Dies könnte ein möglicher Mechanismus für das Auftreten von Burst-Aktivitäten und paradoxer Hypererregbarkeit während tiefer Anästhesie sein und zu den neurokognitiven Nebenwirkungen beitragen, die mit der Burst-Suppression-Anästhesie eingerheben [2].

## Literatur

1. Reiffurth C, Berndt N, Gonzalez Lopez A, Schoknecht K, Kovács R, Maechler M, et al: Deep Isoflurane Anesthesia Is Associated with Alterations in Ion Homeostasis and Specific Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase Impairment in the Rat Brain. *Anesthesiology*. 2023;138:611–623
2. Amzica F: What does burst suppression really mean? *Epilepsy Behav* 2015;49:234–237.

**Abbildung 1**

**A)** Patientenkollektiv mit einem Medianalter von 33 Jahren. **B)** Rohdatenbeispiel für extrazelluläre Ionenveränderungen unter Sevofluran. **C–E)** Extrazelluläre Ionenveränderungen von Kalium (C), Natrium (D) und Calcium (E) unter volatilen Anästhetika. **F)** Rohdatenbeispiel zur Berechnung von  $T1$  und  $T2$  nach tetanischer Stimulation. **G–H)** Verlängerungen von  $T1$  und  $T2$  unter volatilen Anästhetika. **I)** Velangsame Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase unter volatilen Anästhetika. **J)** Verlängerte NADH-Extinktionszeit als indirekter Parameter für die Enzymaktivität unter volatilen Anästhetika. **K)** Schematische Darstellung der Beeinträchtigung der  $Na^+-K^+$ -ATPase durch volatile Anästhetika.

**Statistik:** Abbildungen C–E und G–H: Repeated-Measures ANOVA mit Bonferroni-Korrektur; Abbildungen I–J: Gepaarter t-Test;  $p < 0,05$ : \*;  $p < 0,01$ : \*\*;  $p < 0,001$ : \*\*\*; **N:** Anzahl der Patient\*innen; **n:** Anzahl der Hirnschnitte; **CTL:** Kontrolle; **WO:** Wash-out; **ATP:** Adenosintriphosphat; **ADP:** Adenosindiphosphat.

### Entwicklung einer Methode zur Messung der Inflammasomaktivität *in situ* und deren translationale Anwendung im SepsisDataNet.NRW

F. Mehl<sup>1</sup> · P. Thon<sup>1</sup> · C. Küpper<sup>1</sup> · B. Dyck<sup>1</sup> · A. Witowski<sup>1</sup> · B. Westhus<sup>1</sup> · K. Rumpf<sup>1</sup> · M. Unterberg<sup>1</sup> · D. Ziehe<sup>1</sup> · S. F. Ehrentraut<sup>2</sup> · C. Putensen<sup>2</sup> · A. Zarbock<sup>3</sup> · M. Adamzik<sup>1</sup> · B. Koos<sup>1</sup> · T. Rahmel<sup>1</sup>

1 Zentrum für perioperative Präzisionsmedizin – Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Knapschaftskrankenhaus Bochum

2 Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Bonn

3 Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Münster

**Korrespondenz:** Fabian.Mehl@ruhr-uni-bochum.de

#### Fragestellung

Die Dysregulation des Immunsystems bei Sepsis ist durch Hyperinflammation und zugleich Immunsuppression gekennzeichnet [1]. Inflammasome, insbesondere das NOD-

like receptor family pyrin domain containing 3 (NLRP3)-Inflammasom, spielen eine zentrale Rolle bei der Immunaktivierung und der Bekämpfung von Pathogenen [2]. Obwohl bekannt ist, dass das Inflammasom den Krankheitsverlauf einer Sepsis maßgeblich beeinflusst, ist die Bestimmung der NLRP3-Inflammasom-Aktivierung in der Regel lediglich über die unspezifischen Surrogat-Parameter IL-1 $\beta$  und IL-18 möglich. Eine direkte Messung der tatsächlichen Aktivität des NLRP3-Inflammasoms wäre daher potenziell von erheblichem Vorteil. Diese Lücke adressieren wir in dieser Arbeit, indem wir zunächst einen Proximity Ligation Assay (PLA) zur Quantifizierung der NLRP3-Inflammasom-Aktivierung etablieren und anschließend die klinische Anwendbarkeit unseres Assays in mononukleären Zellen des peripheren Bluts (PBMCs) von 78 septischen PatientInnen evaluieren.

#### Methodik

Die Etablierung des Assays wurde in Zellkultur (THP-1 Makrophagen) durchgeführt. Hierzu wurden Zellen mit Lipopolysacchariden (LPS)

(10 µg/ml, 3 h) sowie für Adenosintriphosphat (ATP; 5 mM, 1 h) zur Inflammasom-Aktivierung behandelt. Der Erfolg der Stimulation wurde durch Caspase-1-Chemolumineszenz-Assay und IL-1 $\beta$ -Quantifizierung (Immulnplex-Assay; LEGENDplex™) überprüft. Nach Formaldehyd-Fixierung wurde ein Proximity Ligation Assay (PLA) zur Detektion der Interaktion zwischen NLRP3 und pro-Caspase-1 etabliert. Anschließend wurden 78 PatientInnen aus dem prospektiven, multizentrischen SepsisDataNet.NRW (Ethikvotum: 19-6606 3-BR) in diese Studie zufällig selektiert. Anschließend wurden der etablierte Assay an den PBMCs der Sepsis-PatientInnen angewendet, die NLRP3-Aktivierung quantifiziert und die Ergebnisse mit klinischen Daten, Zytokin-Konzentrationen im Serum und dem SOFA-Score korreliert. Eine weitere statistische Auswertung erfolgte durch Receiver-Operator-Charakteristik (ROC) und Kaplan-Meier-Analysen.

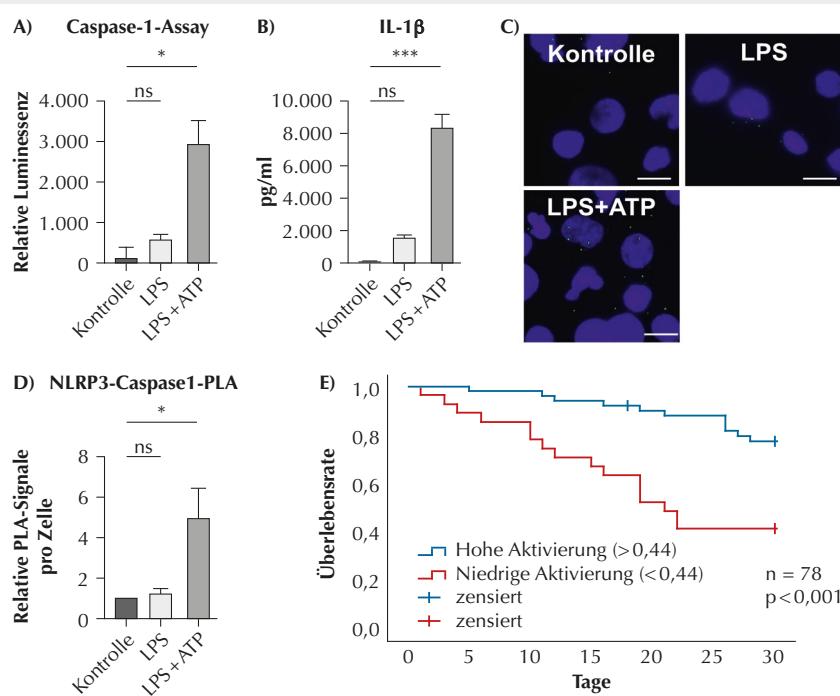
#### Ergebnisse

Die Ergebnisse des PLA-Assays korrelierten sehr gut mit der Aktivierung von Caspase 1 in der Zellkultur ( $r_s = 0,689$ ,  $p < 0,01$ ). Nach Anwendung des Assays auf PBMCs von 78 PatientInnen des SepsisDataNet.NRW konnte mithilfe einer Receiver-Operator-Charakteristik und des Youden-Index ein Grenzwert von 0,44 PLA-Signale/Zelle zur Differenzierung der Kohorte in eine hohe und niedrige Inflammasom-Aktivität festgelegt werden (Abb. 1). Die errechnete Sensitivität lag bei 61,5 % (95 %-Konfidenzintervall (KI): 35,5 % – 82,3 %), die Spezifität bei 77,8 % (95 %-KI: 57,7 % – 91,4 %). Die anschließende Kaplan-Meier-Analyse zeigte, dass PatientInnen mit niedriger Aktivierung eine 3,57-mal so hohe Sterblichkeitswahrscheinlichkeit im Vergleich zu PatientInnen mit hoher Aktivierung hatten (HR: 3,57; 95 %-KI: 1,64–7,69,  $p < 0,001$ ). In der multivariaten Cox-Regression zeigte auch der SOFA-Score einen Einfluss auf das 30-Tage-Sterblichkeitsrisiko (HR: 1,15; 95 %-KI: 1,04–1,26,  $p = 0,005$ ).

#### Schlussfolgerung

Wir konnten einen Assay zur direkten Messung der Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms in PBMC etablieren und diesen erstmalig bei SepsispatientInnen klinisch anwenden. Aufgrund unserer Daten scheint eine gewisse Inflammasom-Aktivierung in Sepsis vorteilhaft zu sein. Diese Ergebnisse müssen in Erweiterung der bisherigen Literatur kontrovers diskutiert werden, zumal sie teilweise in Widerspruch stehen. Allerdings können wir zum Beispiel eine Ambivalenz bei sehr hoher Inflammasom-Aktivierung nicht adäquat beurteilen. Diese Subgruppe sollte in nachfolgenden größeren Studien nochmals ausführlich exploriert werden. Hiervon unabhängig können mithilfe dieses Assays PatientInnen

Abbildung 1



**Kombinierte Stimulation mit LPS und ATP induziert die Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms in THP-2 Makrophagen und eine erhöhte Aktivität hat einen positiven Einfluss auf das Überleben in Sepsis.**

**A)** Caspase-1-Chemolumineszenzassay; **B)** Immulfplex-Assay zu IL-1 $\beta$ ; **C)** PLA (grün) von NLRP3 und pro-Caspase-1 nach Stimulation von THP-1-Makrophagen, Stimulation mittels LPS (3 h) und ATP (1 h), Zellkerne (blau), Skalierung 10 µm; **D)** PLA von NLRP3 und pro-Shapiro-Will-Test (nicht normalverteilt), Kruskal-Wallis-Test mit Dunn-Test (Post-hoc); **ns:** nicht signifikant; **\***:  $p < 0,05$ ; **\*\***:  $p < 0,005$ ; **E)** Kaplan-Meier-Analyse – NLRP3-pro-Caspase-1 PLA bei Patientinnen und aus dem SepsisDataNet.NRW, Grenzwert 0,44 Signale/Zelle; **n:** 78.

**ATP:** Adenosintriphosphat; **LPS:** Lipopolysaccharide; **PLA:** Proximity Ligation Assay.

mit nicht ausreichender Immunaktivierung frühzeitig erkannt und u. U. personalisierten Therapieansätzen zugeführt werden. Weitere Arbeiten sind notwendig, um unsere Ergebnisse in größeren Kohorten zu bestätigen.

### Literatur

1. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG: The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol* 2017;17:407–420
2. Shi X, Tan S, Tan S: NLRP3 inflammasome in sepsis (Review). *Mol Med Rep* 2021;24:514
3. He W, Dong H, Wu C, Zhong Y, Li J: The role of NLRP3 inflammasome in sepsis: A potential therapeutic target. *Int Immunopharmacol* 2023;115:109697.

### Einfluss der extrakorporalen Zirkulation auf perioperative Cefuroxim-Konzentrationen im Plasma und interstitiellen Gewebe bei Patienten mit koronarer Bypassoperation – eine prospektive, kontrollierte Studie

S. Nothofer<sup>1\*</sup> · C. Dumps<sup>1\*</sup> · C. Dorn<sup>2</sup> · C. Lier<sup>2</sup> · S. Stock<sup>3</sup> · E. Girdauskas<sup>3</sup> · A. R. Heller<sup>1</sup> · P. Simon<sup>1</sup>

1 Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Medizinische Fakultät Universität Augsburg

2 Institut für Pharmazie, Universität Regensburg

3 Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie, Medizinische Fakultät Universität Augsburg

**Korrespondenz:** stefanie.nothofer@uni-a.de

\*beide Autoren haben gleichermaßen zu dieser Arbeit beigetragen.

### Fragestellung

Die extrakorporale Zirkulation (EKZ) in der Herzchirurgie geht mit Veränderungen in der Kreislaufphysiologie wie Hämodilution, Interaktionen mit dem Schlauchsystem, Hypothermie, nicht pulsatilem Blutfluss sowie inflammatorischen Prozessen einher. Außerdem hat sie einen signifikanten Einfluss auf die Pharmakokinetik (PK) applizierter Wirkstoffe im Rahmen der perioperativen Antibiotikaprophylaxe (PAP) [1]. Wenige unkontrollierte Studien mit kleinen Fallzahlen ergaben reduzierte Plasmakonzentrationen für gängige Antibiotika wie Cefuroxim und Cefazolin bei Patientinnen und Patienten mit koronarer Bypassoperation an der EKZ [2,3]. Daten aus Zielgeweben (interstitielle Flüssigkeit, ISF) fehlen bisher weitgehend. Ziel dieser Studie war es, systematisch den Einfluss der EKZ auf die perioperativen Cefuroximkonzentrationen im Plasma und in der ISF mithilfe der Mikrodialysetechnik zu untersuchen. Hierzu wur-

den Patientinnen und Patienten mit koronarer Bypassoperation mit und ohne EKZ verglichen.

### Methodik

In dieser prospektiven, monozentrischen, kontrollierten Studie wurden Patientinnen und Patienten mit koronarer Bypassoperation mit (On-pump-Gruppe) und ohne Einsatz der EKZ (Off-pump-Gruppe) eingeschlossen. Die Stichprobengröße wurde basierend auf einer Poweranalyse ( $\alpha = ,05$ , Power = ,90, erwarteter Effekt  $d = 0,2$ ) auf mindestens  $n = 15$  pro Gruppe festgelegt. Ein zustimmendes Votum der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München lag vor (Nr. 23-0076, 05/05/23). Die Studie wurde im Deutschen Register Klinischer Studien prä registriert (Nr. DRKS00030889, 27.06.2023). Bei allen Patientinnen und Patienten wurden präoperativ zwei Mikrodialysesonden in das Subkutangewebe beider Oberarme eingelegt und äquilibriert. Alle Patientinnen und Patienten erhielten als PAP 30–60 min vor Hautschnitt 3 g Cefuroxim als Kurzinfusion sowie 1,5 g nach Weaning von der EKZ (On-pump-Gruppe) bzw. zum Sternumverschluss (Off-pump-Gruppe). Plasma- und ISF-Proben wurden in 30-minütigen Intervallen über einen Zeitraum von 8 Stunden nach erster Antibiotikagabe abgenommen. Anschließend erfolgte die Kalibrierung der Mikrodialysesonden mithilfe der Retrodialyse. Der primäre Endpunkt war die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve ( $AUC_{0-8h}$ ) von Cefuroxim in Plasma und ISF. Weitere Endpunkte waren maximale totale und freie Cefuroxim-Konzentrationen, Verteilungsvolumen, Clearance, Halbwertszeiten sowie die Zeit oberhalb der minimalen Hemmkonzentration (MHK). Als MHK wurde 4 mg/l für *Staphylococcus aureus* und 8 mg/l für *Escherichia coli* als typische Erreger sternaler Wundinfektionen angenommen (EUCAST 2024 Breakpoints) [4]. Die statistische Analyse erfolgte mit einem zweiseitigen t-Test. Ein p-Wert <0,05 gilt als statistisch signifikant.

### Ergebnisse

Es wurden 30 Patientinnen und Patienten im Zeitraum von Juni 2023 bis April 2024 eingeschlossen. Das mittlere Alter ( $\pm$  Standardabweichung, SD) betrug 67 ( $\pm$  11) Jahre, der mittlere BMI lag bei 28,1 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm$  5). Die durchschnittliche Schnitt-Naht-Zeit betrug 193 ( $\pm$  58) min in der Off-pump- und 271 ( $\pm$  52) min in der On-pump-Gruppe mit einer mittleren EKZ-Zeit von 97 ( $\pm$  25) min. Es gab keinen signifikanten Unterschied der Plasma- ( $\text{mittlere } AUC_{0-8h} 490,7 (\pm 271,9)$  vs.  $650,0 (\pm 136,4) \text{ h}^*\text{mg}/\text{l}, p = 0,072$ ) und der ISF-Konzentrationen ( $488,4 (\pm 211,7)$  vs.  $507,7 (\pm 209,0) \text{ h}^*\text{mg}/\text{l}, p = 0,824$ ) zwischen der On- und Off-pump-Gruppe (Abb. 1A, B).

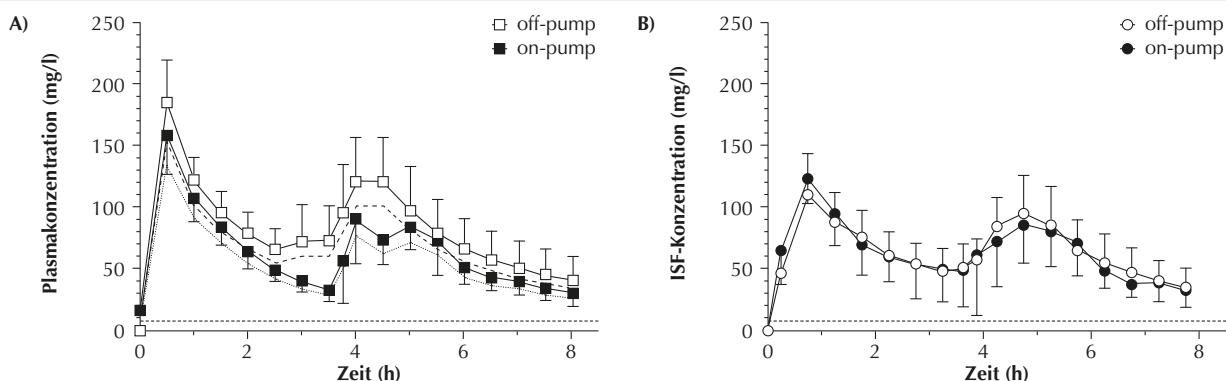
Weitere PK-Parameter wie das Verteilungsvolumen (on- vs. off-pump:  $23,5 (\pm 3,7) \text{ l}$  vs.  $21,5 (\pm 5,1) \text{ l}$ ), die Clearance ( $8,6 (\pm 2,2) \text{ l/h}$  vs.  $6,9 (\pm 3,2) \text{ l/h}$ ) sowie die Halbwertszeit ( $1,98 (\pm 0,48) \text{ h}$  vs.  $2,47 (\pm 0,83) \text{ h}$ ) unterschieden sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen. Basierend auf einer Extrapolation der Plasmadaten bis zur Gabe der hierfür ausgeschlossenen zweiten Dosis lagen alle Patientinnen und Patienten in der On-pump-Gruppe bis 4,5 h und in der Off-pump-Gruppe bis 4,8 h über der relevanten MHK von 8 mg/l.

### Interpretation

Eine kumulative Cefuroximdosierung von 3 g + 1,5 g führte bei allen Patientinnen und Patienten zu Plasma- und ISF-Konzentrationen oberhalb der relevanten MHK für typische Erreger postoperativer sternaler Wundinfektionen ( $fT_{>\text{MHK}} = 100\%$  für 4 und 8 mg/l für *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli*). Ab einer Zeit von 4,5 h nach Gabe der ersten Dosis ist eine zweite Dosis erforderlich, um Plasmakonzentrationen über einer MHK von 8 mg/l zu erreichen. Unsere Daten zeigen: Für koronare Bypassoperationen an der EKZ ist auf Basis dieser Ergebnisse keine Dosieranpassung von Cefuroxim als PAP nach dem verwendeten Dosierungsschema von 3 g + 1,5 g nötig. Obwohl MHK-Grenzwerte bisher nur für Plasmadaten validiert sind, könnte eine zusätzliche Betrachtung des ISF bei ausreichenden Konzentrationen zu einer Reduktion der verabreichten Antibiotikamenge im Sinne des Antibiotic Stewardship beitragen. Weitere Studien sollten evaluieren, ob bereits eine konservativere Dosierung entsprechend der überarbeiteten S3-Leitlinie zur PAP mit 1,5 g alle 8 h ohne Repetitivdosis diese Ergebnisse erzielt [5].

### Literatur

1. Shekar K, Fraser JF, Smith MT, Roberts JA: Pharmacokinetic changes in patients receiving extracorporeal membrane oxygenation. *J Crit Care* 2012;27:741.e9–e18
2. Bertholee D, ter Horst PG, Hijmering ML, Spanjersberg AJ, Hospes W, Wilffert B: Blood concentrations of cefuroxime in cardiopulmonary bypass surgery. *Int J Clin Pharm* 2013;35:798–804
3. Caffarelli AD, Holden JP, Baron EJ, Lemmens HJM, D'Souza H, Yau V, et al: Plasma cefazolin levels during cardiovascular surgery: effects of cardiopulmonary bypass and profound hypothermic circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;131:1338–1843
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST): Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. <https://www.eucast.org/breakpoints> (Zugriffsdatum: 18.09.24)
5. AWMF: S3-Leitlinie Perioperative und Periinterventionelle Antibiotikaprophylaxe. AWMF online. Version 5.0, Stand 2024.

**Abbildung 1**

A) Plasmakonzentrationen von Cefuroxim bei Patientinnen und Patienten mit koronarer Bypassoperation. Weiße Quadrate repräsentieren totale Konzentrationen und die gestrichelte Linie freie Plasmakonzentrationen der Off-pump-Gruppe. Schwarze Quadrate und die gepunktete Linie repräsentieren totale und freie Plasmakonzentrationen der On-pump-Gruppe.

B) ISF-Konzentrationen von Cefuroxim bei Patientinnen und Patienten mit koronarer Bypassoperation. Die Daten sind dargestellt als Mittelwert mit 95 %-Konfidenzintervall.

## Cannabidiol zur Regionalanästhesie? Eine In-vitro-Studie zur Inhibition von neuronalen Natriumkanälen und zur Neurotoxizität

I. C. A. Pomeiro Stein<sup>1</sup> · J. Schill<sup>1</sup> ·

A. Heinemann<sup>1</sup> · F. Echtermeyer<sup>1</sup> · A. Leffler<sup>1</sup>

1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

Korrespondenz: Stein.Ines@mh-hannover.de

### Fragestellung

Spannungsgesteuerte Natriumkanäle ( $\text{Na}_v$ ) sind für die Initiierung des Aktionspotenzials verantwortlich. Mehrere  $\alpha$ -Untereinheiten ( $\text{Na}_v 1.1\text{--}1.9$ ) konnten identifiziert und funktionell charakterisiert werden [1]. Cannabidiol (CBD) erzeugt im Tiermodell analgetische Effekte, die genauen Wirkmechanismen konnten bislang nicht vollständig geklärt werden. CBD inhibiert aber  $\text{Na}_v$  schon bei niedrigen mikromolaren Konzentrationen durch unterschiedliche Interaktionen mit  $\text{Na}_v$ , die sich von der Lokalanästhetika-Bindungsstelle unterscheiden [2]. CBD inhibiert sowohl die Tetrodotoxin(TTX)-resistente  $\alpha$ -Untereinheit  $\text{Na}_v 1.8$  als auch TTX-sensitive  $\alpha$ -Untereinheiten in nozizeptiven C-Fasern [3]. Ziele dieser In-vitro-Studie waren: 1. Charakterisierung der direkten Inhibition von  $\text{Na}_v 1.8$  und TTX-sensitive Kanälen durch CBD, 2. Charakterisierung der Interaktion zwischen CBD und Lidocain am Natriumkanal und 3. Bestimmung der möglichen Neurotoxizität durch CBD.

### Methodik

Endogen exprimierte TTX-sensitive  $\alpha$ -Untereinheiten in der neuronalen Zelllinie ND7/23 sowie des transient exprimierten Ratten(r)-

$\text{Na}_v 1.8$  in ND7/23-Zellen wurden mittels der Whole-Cell-Patch-Clamp-Technik analysiert. Nach behördlicher Genehmigung wurden Spinalganglienzellen aus adulten C57/BL6-Mäusen isoliert und für Patch-Clamp-Experimente verwendet. Die Neurotoxizität von CBD und Lidocain wurde im In-vitro-Zellkulturnmodell an ND7/23-Zellen durch Färbung mit Annexin V und Propidiumiodid (PI) und nachfolgende FACS-Analyse quantifiziert.

### Ergebnisse

Die CBD-induzierte tonische Inhibition war stärker an  $\text{Na}_v 1.8$  ( $\text{IC}_{50} 1,4 \pm 0,5 \mu\text{M}$ ,  $n = 8$ ) als an TTX-sensitive Natriumströmen ( $\text{IC}_{50} 2,9 \pm 0,7 \mu\text{M}$ ,  $n = 10$ , Abb. 1A, B). Die Inhibition durch CBD wies eine „very slow in/very slow out“-Kinistik auf, eine vollständige Erholung von der Inhibition war auch nach mehreren Minuten nicht nachzuweisen. Der Effekt durch CBD war pH-unabhängig, d. h. auch bei einer Azidose (pH 6,4) oder Alkalose (pH 8,4) wurde eine unverändert starke tonische Inhibition beobachtet. Die frequenzabhängige Blockade bei 10 Hz durch 3  $\mu\text{M}$  CBD war ebenfalls stärker an  $\text{Na}_v 1.8$  ( $27 \pm 3\%$ ,  $n = 8$ ) als an TTX-sensitive Kanälen ( $14 \pm 5\%$ ,  $n = 8$ ). 3  $\mu\text{M}$  CBD induzierten eine Linksverschiebung der schnellen Inaktivierung von TTX-sensitive Kanälen, jedoch nicht an  $\text{Na}_v 1.8$ . Die spannungsabhängige Aktivierung von  $\text{Na}_v 1.8$  oder TTX-sensitive Kanälen wurde nicht durch 3  $\mu\text{M}$  CBD verschoben. Effekte von CBD in Kombination mit Lidocain wurden an TTX-sensitive Kanälen in ND7/23-Zellen untersucht. Bei der tonischen Inhibition zeigte sich eine additive bis supra-additive Inhibition von CBD und Lidocain. Auch bei der frequenzabhängigen Inhibition konnte eine additive Wirkung

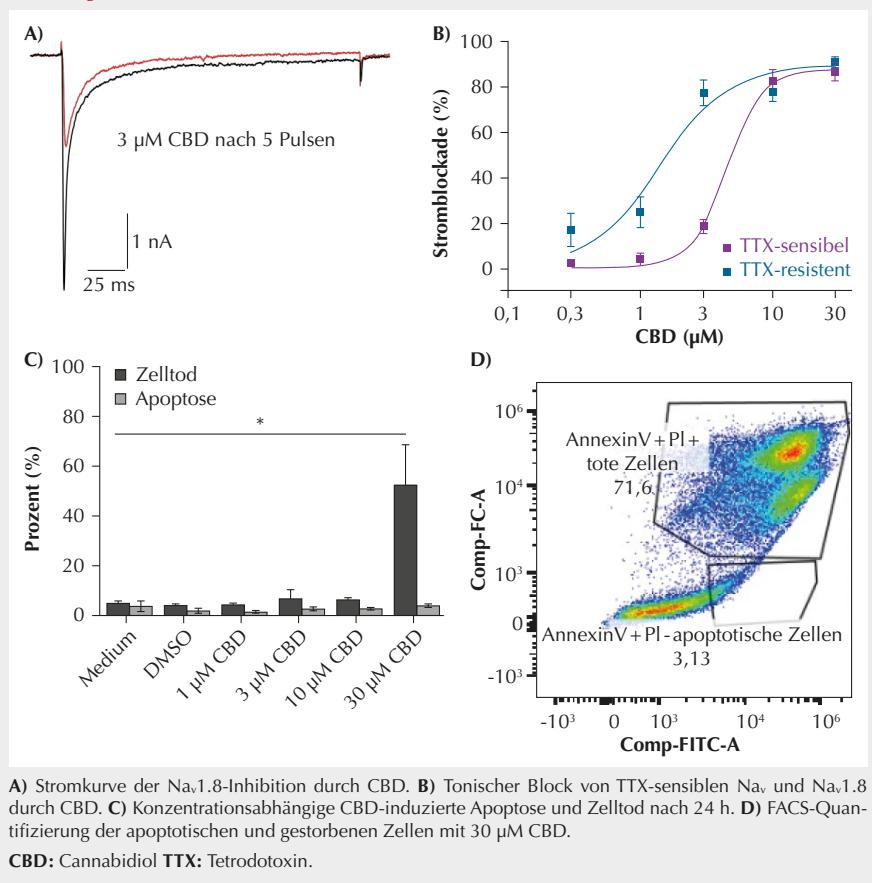
durch CBD und Lidocain beobachtet werden. Ähnliche Effekte durch die Kombination von CBD und Lidocain wurden an Natriumströmen in Spinalganglienzellen beobachtet. Sowohl CBD als auch Lidocain induzierten eine konzentrations- und zeitabhängige Zytotoxizität in ND7/23-Zellen. Allerdings führte nur die höchste Konzentration (30  $\mu\text{M}$ ) von CBD nach 24-stündiger Inkubation signifikant zum Zelltod (Abb. 1C, D, one-way ANOVA,  $p < 0,05$ ). Nach 24-h-Inkubation mit 30  $\mu\text{M}$  CBD waren  $52 \pm 16\%$  der Zellen tot, wohingegen nach 48 h die Mehrheit der Zellen gestorben sind ( $88 \pm 1\%$ ). 30  $\mu\text{M}$  CBD scheint eine Schwellendosis darzustellen, unter der es zu keinen signifikant erhöhten Werten von Apoptose oder Zelltod kam.

### Interpretation

Die hier beobachteten Eigenschaften von CBD als ein potenter, lang wirksamer und pH-unabhängiger Natriumkanalblocker mit einer relativ niedrigen Zytotoxizität könnten bedeuten, dass CBD als ein Adjuvans zur Wirkungsverlängerung bei regionalanästhetischen Verfahren eingesetzt werden könnte.

### Literatur

1. Catterall WA: Voltage-gated sodium channels at 60: structure, function and pathophysiology. *J Physiol* 2012;1:590:2577–2589
2. Ghovanloo MR, Shuart NG, Mezeyova J, Dean RA, Ruben PC, Goodchild SJ: Inhibitory effects of cannabidiol on voltage-dependent sodium currents. *J Biol Chem* 2018;293:16546–16558
3. Zhang HB, Bean BP: Cannabidiol Inhibition of Murine Primary Nociceptors: Tight Binding to Slow Inactivated States of  $\text{Nav}1.8$  Channels. *J Neurosci* 2021;41:6371–6387.

**Abbildung 1**

### Dynamik klinischer Sepsis-Phänotypen und Analyse des Plasmaproteoms letaler Verläufe

B. Westhus<sup>1</sup> · L. Palmowski<sup>1</sup> · K. Kappler<sup>1,2</sup> · T. Bracht<sup>1,3</sup> · A. Witowski<sup>1</sup> · B. Koos<sup>1</sup> · SepsisDataNet.NRW Research Group · CovidDataNet.NRW Research Group · T. Rahmel<sup>1</sup> · L. Bergmann<sup>1</sup> · M. Adamzik<sup>1</sup> · B. Sitek<sup>1,3</sup> · H. Nowak<sup>1,2</sup>

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Knappschaftskrankenhaus Bochum
- 2 Zentrum für Künstliche Intelligenz, Medizininformatik und Datenwissenschaften, Universitätsklinikum Knappschaftskrankenhaus Bochum
- 3 Medizinisches Proteom-Center, Ruhr-Universität Bochum

#### Korrespondenz:

britta.westhus@knappschaft-kliniken.de

### Einleitung

Die Einteilung von Sepsispatienten in klinische Phänotypen kann dazu beitragen, die Heterogenität in den Krankheitsverläufen bes-

ser zu verstehen und personalisierter zu therapiieren [1,2]. Die initiale Zuordnung zu einem Phänotyp bei Diagnosestellung vermag jedoch der Dynamik der Sepsis nicht gerecht zu werden. Daher untersuchten und charakterisierten wir in dieser Studie die Verläufe klinischer Sepsis-Phänotypen und analysierten die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen bei Patienten mit letalen Verläufen auf Basis des Plasmaproteoms. Schließlich testeten wir die Hypothese, dass sich über alle Sepsis-Phänotypen hinweg spezifische Veränderungen des Proteoms finden, die mit einem letalen Verlauf assoziiert sind.

### Methodik

In einer multizentrischen Kohorte intensivmedizinisch behandelter Sepsispatienten (n = 416, Sepsis/CovidDataNet.NRW) wurden longitudinale klinische und laborchemische Daten zu vier Zeitpunkten (Tag 1, 4, 7 und 14) erhoben. Die Analyse umfasste 27 klinische und Laborparameter. Es wurde ein k-Means-Clustering zur Identifikation initialer Sepsis-Phänotypen innerhalb der ersten 48 Stunden

nach Diagnosestellung und erneut zu den o. g. Zeitpunkten durchgeführt. Anschließend wurde der Verlauf über die Cluster analysiert. Das Plasmaproteom wurde massenspektrometrisch (LC-MS/MS) charakterisiert und die Daten wurden anschließend mithilfe von genontologischen Analysen biologischen Systemen zugeordnet.

### Ergebnisse

Es konnten drei klinische Cluster (A, B und C) identifiziert werden, die sich hinsichtlich Schweregrad, Organbeteiligung und Prognose deutlich unterschieden. Cluster A (n = 212) umfasste überwiegend ältere Patienten (63 Jahre, IQR: 53–74) mit moderatem SOFA-Score (7, IQR: 4–10) und milderem Verlauf (Mortalität: 29 %).

Cluster B (n = 167) war durch ein höheres Alter (69 Jahre, IQR: 60,5–79), einen SOFA-Score von 10 (IQR: 6–13) sowie eine Mortalitätsrate von 45 % gekennzeichnet.

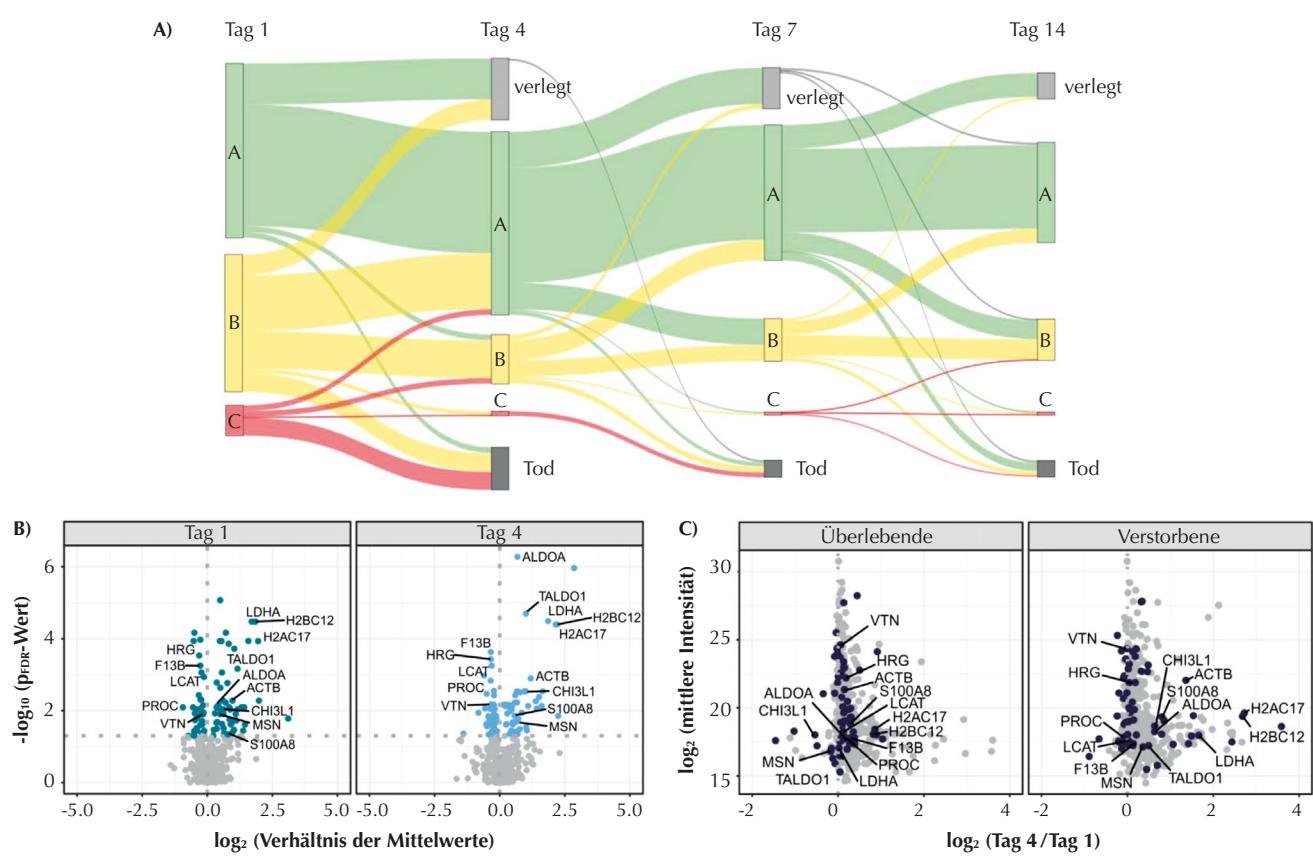
Cluster C (n = 37) zeigte bei vergleichbarem Alter die höchste Krankheitsschwere mit einem SOFA-Score von 15 (IQR: 12–16) und einer Mortalität von 92 %.

Die longitudinale Analyse offenbarte eine ausgeprägte Dynamik zwischen den Clustern, wobei Cluster B die größte Variabilität aufwies (Abb. 1A). Innerhalb von vier Tagen verließen 68 % der Patienten dieses Cluster – 41 % wechselten in das prognostisch günstigere Cluster A, 3 % in das ungünstigere Cluster C, und 29 % verstarben. Interessanterweise konnten alle drei Cluster letztlich in ein letales Outcome münden. Vor diesem Hintergrund wurde im nächsten Schritt das Plasmaproteom der Patienten longitudinal analysiert, differenziert nach Überlebenden und Verstorbenen. An Tag 1 zeigten sich 87 und an Tag 4 insgesamt 95 differenziell regulierte Proteine zwischen beiden Gruppen (Abb. 1B). Zudem wiesen die Verstorbenen eine deutlich stärkere Dynamik im Plasmaproteom zwischen Tag 1 und Tag 4 auf (Abb. 1C), was durch einen Levene-Test statistisch bestätigt wurde. Demnach war eine starke Dynamik im Plasmaproteom mit einem ungünstigen Outcome assoziiert. Zudem wurden bei den Verstorbenen im zeitlichen Verlauf insbesondere Veränderungen in der Gerinnungskaskade, im Komplementsystem sowie in glykolytischen Prozessen identifiziert.

### Schlussfolgerung

Unsere Daten zeigen erstmals, dass Patienten dynamisch und bidirektional zwischen allen drei klinischen Clustern wechseln können – ein Ausdruck der ausgeprägten Heterogenität von Sepsisverläufen. Da alle Cluster letztlich in ein letales Outcome münden können, wurden ergänzend proteombasierte

Abbildung 1



**A)** Dynamik der Sepsis-Phänotypen; **B)** Proteinveränderung zwischen Überlebenden und Verstorbenen an Tag 1 und Tag 4; **C)** Dynamik des Plasmaproteoms zwischen Überlebenden und Verstorbenen (Tag 4/Tag 1).

**A)** Sankey-Diagramm zur Visualisierung der longitudinalen Dynamik zwischen den Clustern über vier Zeitpunkte hinweg (Tag 1, 4, 7 und 14). Die Pfeile verdeutlichen Übergänge zwischen den Clustern sowie den Anteil der Patienten, die versterben. Besonders Cluster B zeigt eine ausgeprägte Variabilität, wobei Patienten in die prognostisch günstigeren oder ungünstigeren Cluster wechseln oder versterben. Cluster C weist eine hohe Letalität und begrenzte Übergänge in andere Cluster auf. **B)** Vulcano-Plots illustrieren die Proteinveränderung zwischen Überlebenden und Verstorbenen an Tag 1 und an Tag 4. Alle signifikant veränderten Proteine sind farblich markiert ( $p_{FDR}\text{-Wert} \leq 0,05$ , t-Test, Benjamini-Hochberg korrigiert). Insgesamt waren an Tag 1 87 Proteine und an Tag 4 95 Proteine zwischen den beiden Gruppen verändert. **C)** Streudiagramme stellen die relativen Veränderungen der Proteinintensitäten zwischen Tag 1 und Tag 4 (berechnet Tag 4/Tag 1) trennt für verstorbene und überlebende Patienten dar. Alle signifikant veränderten Proteine sind farblich markiert ( $p_{FDR}\text{-Wert} \leq 0,05$ , t-Test, Benjamini-Hochberg korrigiert). Bei den Verstorbenen zeigt sich zwischen Tag 1 und Tag 4 eine ausgeprägtere Dynamik im Plasmaproteom als bei den Überlebenden.

Unterschiede zwischen Überlebenden und Verstorbenen analysiert. Eine hohe Dynamik im Plasmaproteom war mit einem ungünstigen Verlauf assoziiert. Zudem wiesen die Verstorbenen im zeitlichen Verlauf signifikante Veränderungen insbesondere im Gerinnungs- und Komplementsystem sowie in der Glykolyse auf. Diese Systeme könnten künftig

als Ansatzpunkte für gezielte diagnostische und therapeutische Strategien im Sinne einer personalisierten Sepsistherapie dienen.

### Literatur

- Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, Chang CH, Elliott CF, Xu Z, et al: Derivation,
- Giamarellos-Bourboulis EJ, Aschenbrenner AC, Bauer M, Bock C, Calandra T, Gat-Viks I, et al: The pathophysiology of sepsis and precision-medicine-based immunotherapy. Nat Immunol 2024;25:19–28.

Validation, and Potential Treatment Implications of Novel Clinical Phenotypes for Sepsis. JAMA 2019;321:2003–2017

## GLUT1 – ein metabolischer Marker der Sepsis

A. Witowski<sup>1</sup> · B. Dyck<sup>1</sup> · C. Küpper<sup>1</sup> · L. Palmowski<sup>1</sup> · B. Westhus<sup>1</sup> · D. Ziehe<sup>1</sup> · K. Rump<sup>1</sup> · M. Unterberg<sup>1</sup> · T. Rahmel<sup>1</sup> · S. F. Ehrentraut<sup>2</sup> · C. Putensen<sup>2</sup> · A. Zarbock<sup>3</sup> · F. Wappler<sup>4</sup> · D. Henzler<sup>5</sup> · M. Adamzik<sup>1</sup> · B. Koos<sup>1</sup>

1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Knappschaft Kliniken Universitätsklinikum Bochum

2 Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Bonn

3 Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Münster

4 Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Klinikum Köln-Merheim

5 Klinik für Anästhesiologie, operative Intensiv-, Rettungsmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Klinikum Herford

### Korrespondenz:

andrea.witowski@knappschaft-kliniken.de

## Hintergrund

Die Sepsis geht mit einer Umprogrammierung des Stoffwechsels einher. Nachdem die Immunantwort durch Pattern-Recognition-Rezeptoren initiiert wird, kommt es, wahrscheinlich durch Aktivierung von HIF1α, zu einer gesteigerten Expression von Glukose-transporter-1 (GLUT1) [1]. Dieser metabolische Shift, weg von der oxidativen Phosphorylierung und hin zur Glykolyse, auch als Warburg-Effekt bekannt, dient der schnelleren Energiegewinnung und wird mit einer proinflammatorischen Immunantwort in Verbindung gebracht. Es ist jedoch bekannt, dass die Komplexität und Heterogenität der Sepsis eine lineare Einteilung in pro- und antiinflammatorische Phasen erschwert. Immunologische Therapieansätze zeigen im „One size fits all“-Prinzip bisher keinen Erfolg. Die Betrachtung des individuellen metabolischen und inflammatorischen Zustands ist somit für die Risiko-Nutzen-Stratifizierung in der Präzisionsmedizin von entscheidender Bedeutung [2].

Diese Studie prüfte daher die Hypothese, ob die GLUT1-Expression einen Einfluss auf das 30-Tage-Überleben hat.

## Methoden

Diese multizentrische prospektive Beobachtungsstudie schloss 106 Patienten, welche die Sepsis-3-Kriterien erfüllten, sowie 10 postoperative Patienten im Zeitraum von 2018 bis 2022 im Rahmen des SepsisDataNet.NRW gemäß Ethikvotum (19-6606 3-BR) ein. Am 1. Tag nach Aufnahme erfolgte die Blutentnahme mit anschließender Isolation von PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cells) mittels Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation. Zusätzlich wurde die Bestimmung

der GLUT1-Expression in PBMCs mittels Proximity Ligation Assay durchgeführt. Im Blutserum wurden Zytokine mittels humanem LEGENDplex-Assay gemessen. Weiter wurden Basischarakteristika und laborchemische Daten analysiert. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Python. Als primärer Endpunkt wurde der Einfluss der GLUT1-Expression auf das 30-Tage-Überleben definiert. Zur Analyse wurden eine Kaplan-Meier-Analyse mit Log-Rank-Test sowie eine multivariate Cox-Regression unter Adjustierung für Alter und SOFA-Score an Tag 1 durchgeführt. Zur Bestimmung eines optimalen Schwellenwerts der GLUT1-Expression wurde eine ROC-Analyse mit Berechnung des Youden-Index durchgeführt. Für Sekundäranalysen wurden neben der deskriptiven Statistik der Basischarakteristika und Laborparameter die GLUT1-Expressionslevel zwischen septischer und postoperativer Kontrollgruppe mittels geeigneter parametrischer bzw. nichtparametrischer Tests verglichen, abhängig vom Ergebnis der Normalverteilungstestung (Shapiro-Wilk-Test). Zur Untersuchung von Zusammenhängen zwischen GLUT1 und klinischen und laborchemischen Parametern wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Ein zweiseitiger p-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen. Die Konfidenzintervalle wurden mit einer Abdeckung von 95 % berechnet.

## Ergebnisse

Die septische Kohorte bestand aus 106 Patienten, davon 39 (37,5 %) weiblichen Geschlechts. Das mediane Alter lag bei 65 Jahren (IQR: 55–74). Der mediane SOFA-Score betrug bei Studieneinschluss 8 (IQR: 6–11) (Abb. 1A). Die 30-Tage-Mortalität der septischen Kohorte betrug 34 % (Abb. 1B). Die Kaplan-Meier-Kurve zeigt einen signifikanten Unterschied im Überleben in Abhängigkeit von der GLUT1-Expression in Patienten mit einem SOFA-Score ≤10 (Abb. 1C). So hatten Patienten mit erhöhter GLUT1-Expression ein um 25 % vermindertes 30-Tage-Überleben ( $p = 0,016$ ). Die Cox-Regressionsanalyse betrachtete neben der GLUT1-Expression die Faktoren Alter und SOFA-Score an Tag 1 der Sepsis (Abb. 1D). Hier erwies sich die GLUT1-Expression mit einer Hazard Ratio von 3,89 (95 %-Konfidenzintervall (KI): 1,13–13,41) als Risikofaktor für das 30-Tage-Überleben ( $p = 0,03$ ). Im Vergleich zur Kontrollgruppe wies die septische Kohorte eine signifikant geringere GLUT1-Expression auf ( $p = 0,02$ ). In der Korrelationsanalyse zeigten sich kardiovaskuläre Erkrankungen, C-reaktives Protein (CRP), Kreatinin und Glucose positiv korreliert mit GLUT1, während Bilirubin, Beatmungsstunden, IL-10, IFNa2, MCP1, IL-

1β und Insulin eine negative Korrelation zu GLUT1 aufwiesen (Abb. 1E).

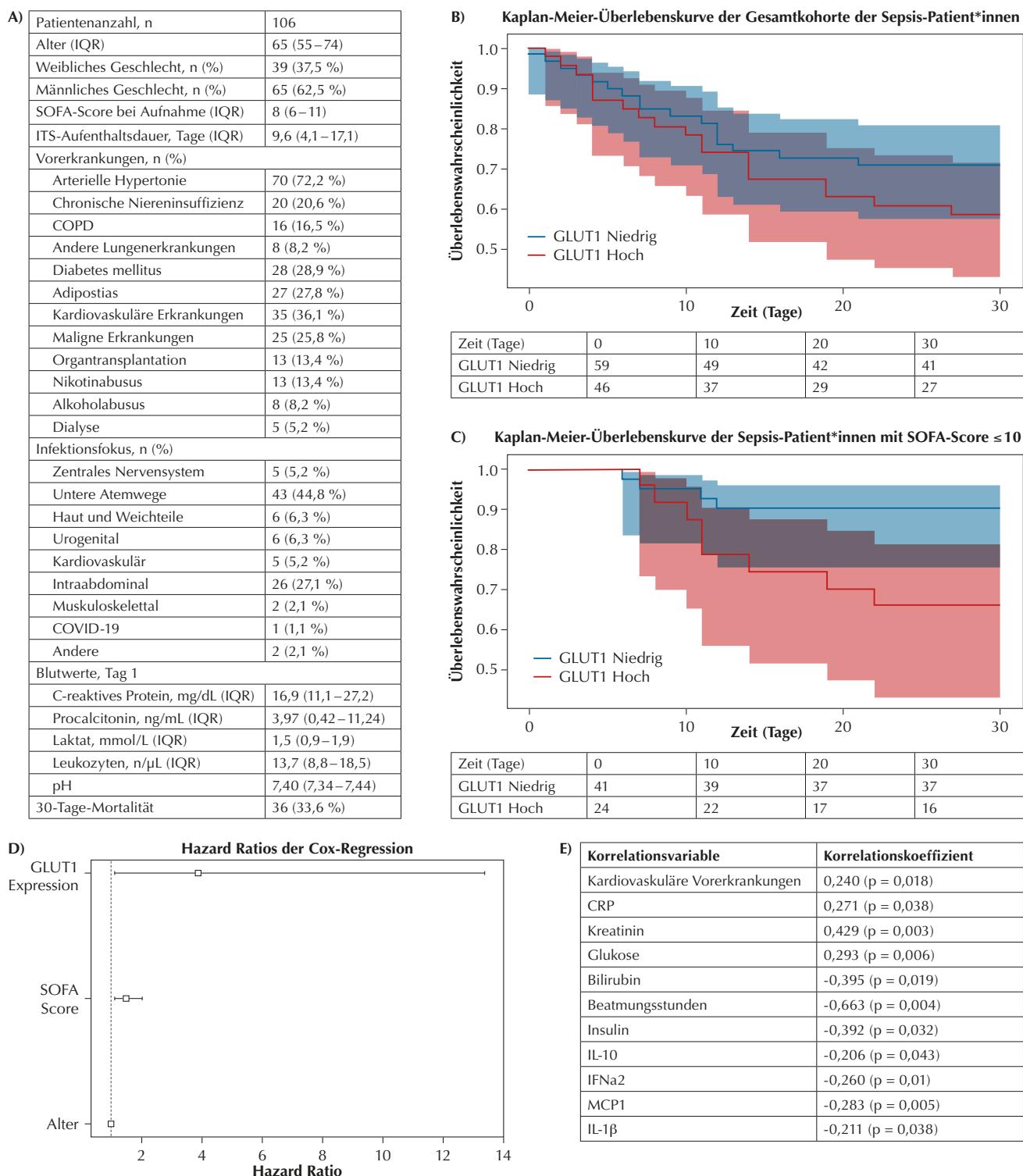
## Schlussfolgerung

Eine hohe GLUT1-Expression ist bei septischen Patienten mit einem SOFA-Score von ≤10 mit einem verringerten 30-Tage-Überleben assoziiert. Dieses Ergebnis könnte darauf hinweisen, dass Patienten mit einer initial milder Krankheits Schwere von therapeutischen Eingriffen in den Immunmetabolismus profitieren könnten. Weitere Untersuchungen des immunmetabolischen Netzwerks in der Sepsis sind erforderlich, um dieses Ergebnis zu validieren.

## Literatur

1. Koos B, Unterberg M, Rahmel T, Adamzik M: Immunmetabolismus in der Sepsis. Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 2024;59:78–94
2. Giamarellos-Bourboulis EJ, Aschenbrenner AC, Bauer M, Bock C, Calandra T, Gat-Viks I, et al: The pathophysiology of sepsis and precision-medicine-based immunotherapy. Nat Immunol 2024;25:19–28.

Abbildung 1



**A)** Basischarakteristika der Sepsis-Kohorte; **n:** 106 (Daten präsentiert als: n (%); Mittelwert ( $\pm$  SD); Median (IQR (25., 75. Perzentile)); **B)** Kaplan-Meier-Überlebenskurve der septischen Gesamtkohorte ( $p = 0,235$ ); **C)** Kaplan-Meier-Überlebenskurve der Sepsis-Patient\*innen mit einem SOFA-Score  $\leq 10$  ( $p = 0,02$ ); **D)** Multivariate Cox-Regression der Patientenkohorte mit SOFA-Score  $\leq 10$  (HR 3,89 (95 %-KI: 1,13–13,41)),  $p = 0,03$ ; **E)** Korrelationsanalysen der Sepsis-Kohorte.

**CRP:** C-reaktives Protein; **KI:** Konfidenzintervall.